

中南林业科技大学学报

Journal of Central South University of Forestry & Technology

ISSN 1673-923X，CN 43-1470/S

《中南林业科技大学学报》2026年第8期

Doi:10.14067/j.cnki.1673-923X.2026.08.021

论文标题： 西伯利亚杏*MAPK*基因家族鉴定及其在低温胁迫下的表达模式分析

作　　者： 孙春晓，王 淋，敖 敦，等

收稿日期： 2025-09-22

引文格式： 孙春晓,王淋,敖敦,等.西伯利亚杏*MAPK*基因家族鉴定及其在低温胁迫下的表达模式分析[J].中南林业科技大学学报,2026,46(8):216-228.

Sun C X, Wang L, Ao D, et al. Identification and expression analysis of *MAPK* gene family under low-temperature stress in *Prunus sibirica*[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2026,46(8):216-228.

相关论文推荐

Recommended articles

山杏种质创新培育及高效利用研究进展

Research progress on germplasm innovation cultivation and efficient utilization of *Prunus sibirica*

69个东北杏无性系果实表型多样性及优良无性系筛选

Phenotypic traits diversity analysis and selection of superior clones of 69 apricot (*Prunus mandshurica*) clones

西伯利亚杏种仁油脂积累及脂肪酸组分变化规律

The regularity of atty acid compositions and lipid accumulation changes in kernel of *Armeniaca sibirica*

内蒙古西伯利亚杏种子脂肪酸组分的遗传变异

Genetic variation of fatty acid components in seeds of *Armeniaca sibirica* in Inner Mongolia

西伯利亚杏花芽酵母cDNA文库构建及质量评价

Construction and quality evaluation of cDNA library of flower bud yeast from *Prunus sibirica*

杏RPW8基因家族鉴定与表达量分析

Identification and expression analysis of *RPW8* gene family in Apricot

Doi:10.14067/j.cnki.1673-923x.2026.08.021 http: //qks.csuft.edu.cn

西伯利亚杏 *MAPK* 基因家族鉴定及其在低温胁迫下的表达模式分析

孙春晓[1]，王 淋[2]，敖 敦[1]，马 明[1]，陈一潇[1]，陈俊兴[1]，夏举国[1]，包文泉[1]

（1. 内蒙古农业大学 a. 林学院；b. 资源与环境学院，内蒙古 呼和浩特 010000；
2. 中国林业科学研究院经济林研究所，河南 郑州 450003）

摘 要：【目的】基于西伯利亚杏全基因组数据，系统鉴定 *MAPK* 基因家族成员，分析其生物信息学特征及在低温胁迫下的表达模式，揭示 *MAPK* 家族成员参与低温应答的潜在功能。【方法】以西伯利亚杏 *Prunus sibirica* 基因组数据和转录组数据为基础，通过全基因组鉴定、保守基序分析、进化树构建以及共线性分析等方法，明确 *MAPK* 家族基因的基本信息、理化性质、基因结构、系统进化关系及其在低温胁迫下的响应机制。【结果】共鉴定出 84 个西伯利亚杏 *MAPK* 基因，其中包括 11 个 *PsMAPK* 基因、10 个 *PsMAPKK* 基因和 63 个 *PsMAPKKK* 基因，广泛分布于 8 条染色体上；系统发育分析显示，这些基因分为 MAPK、MAPKK 和 MAPKKK（含 MEKK、ZIK、Raf）3 个亚家族，各亚家族基序保守。在 44 个基因的启动子区域中存在低温应答元件。低温胁迫条件下共有 14 个基因发生差异表达，其中 *PsMAPK1*、*PsMAPKKK2* 等基因的表达量随着温度的降低显著上调。【结论】通过对西伯利亚杏 *MAPK* 基因家族成员的基因结构、染色体分布及进化关系进行全面分析，明确了 *MAPK* 家族成员的理化性质和分子特征。表达分析结果表明，*PsMAPK1*、*PsMAPKK7* 等 14 个基因参与了调控低温胁迫响应的关键信号通路。

关键词：*MAPK* 基因；全基因组鉴定；低温胁迫；表达分析；西伯利亚杏

中图分类号：S722 **文献标志码：**A **文章编号：**1673-923X(2026)08-0216-13

Identification and expression analysis of *MAPK* gene family under low-temperature stress in *Prunus sibirica*

Sun Chunxiao[1], Wang Lin[2], Ao Dun[1], Ma Ming[1], Chen Yixiao[1], Chen Junxing[1], Xia Juguo[1], Bao Wenquan[1]

(1. a. College of Forestry; b. College of Resources and Environmental Sciences, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010000, Inner Mongolia, China; 2. Research Institute of Non-Timber Forestry, Chinese Academy of Forestry, Zhengzhou 450003, Henan, China)

Abstract:【Objective】To systematically identify the *MAPK* gene family members based on the whole-genome data of *Prunus sibirica*, analyze their bioinformatics characteristics and expression patterns under low-temperature stress, and to reveal the potential functions of these family members in response to low-temperature stress.【Method】Based on the genomic and transcriptomic data of *P. sibirica*, methods such as genome-wide identification, conserved motif analysis, phylogenetic tree construction, and syntenic analysis were used to determine the basic information, physicochemical properties, gene structures, phylogenetic relationships, and response mechanisms under low-temperature stress of *MAPK* family genes. 【Result】A total of 84 *MAPK* genes were identified in *P. sibirica*, including 11 *PsMAPK*, 10 *PsMAPKK* and 63 *PsMAPKKK* genes, which were widely distributed across eight chromosomes. Phylogenetic analysis classified all MAPK family members into three subfamilies: MAPK, MAPKK, and MAPKKK (including MEKK, ZIK, and Raf). Conserved motif analysis revealed that motifs within each subfamily were conserved. Promoter cis-element prediction showed that the promoter regions of 44 genes were enriched in low-temperature-responsive elements. Transcriptome data indicated that 14 *MAPK* genes were differentially expressed under low-temperature stress, and the expression levels of genes such as *PsMAPK1* and *PsMAPKKK2* were significantly upregulated with decreasing temperature. 【Conclusion】Through comprehensive analysis of the gene structure,

收稿日期（Received）：2025-09-22 **修订日期**（Revised）：2025-12-07

基金项目：内蒙古自治区自然科学基金杰出青年基金项目（2024JQ13）；国家自然科学基金地区科学基金项目（32360400）。

第一作者：孙春晓（sunchunxiao0424@163.com），硕士研究生。**通信作者：**包文泉（bwq@imau.edu.cn），教授，博士，博士研究生导师。

引文格式：孙春晓,王淋,敖敦,等.西伯利亚杏*MAPK*基因家族鉴定及其在低温胁迫下的表达模式分析[J].中南林业科技大学学报,2026,46(8):216-228.

Sun C X, Wang L, Ao D, et al. Identification and expression analysis of *MAPK* gene family under low-temperature stress in *Prunus sibirica*[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2026,46(8):216-228.

chromosomal distribution, and phylogenetic relationships of the MAPK gene family members in *P. sibirica*, the physicochemical properties and molecular characteristics of the *MAPK* family members were clarified. Further expression analysis indicated that 14 genes, including *PsMAPK1* and *PsMAPKK7*, are involved in important signaling pathways responding to low-temperature stress.
Keywords: *MAPK* gene; genome-wide identification; low-temperature stress; expression analysis; *Prunus sibirica*

西伯利亚杏 *Prunus sibirica* 是蔷薇科李亚科杏属的多年生灌木，不但耐寒性极强，而且对贫瘠土壤也有良好的适应性，兼具重要的生态价值与经济价值 [1-2]。西伯利亚杏兼具耐寒与抗旱特性，既可用作嫁接砧木，也是选育耐寒杏品种的优良育种材料 [3]。其杏仁即苦杏是重要的医药与化工原料，富含杏仁油、蛋白质以及多种活性物质，被广泛应用于润滑油与生物柴油领域，市场价值较高 [4]。但由于西伯利亚杏开花时间早，花果期容易遭遇晚霜与寒流侵袭，进而引发冻害，出现冻花和冻果问题，最终导致减产甚至绝收，严重影响产业的产量与发展 [5]。研究西伯利亚杏的抗寒基因，可为培育抗寒性更强的杏树品种提供分子基础与理论指导，对扩大其种植范围以及提升产量与品质都具有重要意义 [6]。

丝裂原活化蛋白激酶（MAPK）通路是真核生物中广泛存在、高度保守的信号转导模块，它可以将受体或传感器产生的信号转化为细胞反应，从而调节植物的生长发育过程 [7]。该通路由 MAPKK 激酶（MAPKKK）、MAPK 激酶（MAPKK）和 MAPK 3 个连续的丝裂原活化蛋白激酶组成 [8-10]。MAPKKK 属于丝氨酸 / 苏氨酸（Ser/Thr）蛋白激酶，通过磷酸化 S/T-XXXXX(3/5)-S/T 基序中的 2 个丝氨酸或苏氨酸残基激活 MAPKKs[11]。作为一类双特异性激酶，被 MAPKKKs 激活的 MAPKKs 可以进一步通过磷酸化 T-(D/E)-Y 基序中的丝氨酸和苏氨酸残基激活 MAPKs[12-14]。激活后的 MAPKs 作用于下游效应蛋白，比如转录因子、蛋白激酶或其他信号组分，完成信号传递，最终调控植物生长发育、代谢和防御等 [15-16] 多个生物学过程。目前，在拟南芥、水稻、黄瓜等绝大多数植物中，已鉴定出 *MAPK* 基因家族成员。在拟南芥中鉴定出 20 个 *MAPK* 基因、10 个 *MAPKK* 基因和 80 个 *MAPKKK* 基因 [17]。在水稻中鉴定出 17 个 *MAPK* 基因、8 个 *MAPKK* 基因和 75 个 *MAPKKK* 基因 [18]。在黄瓜中鉴定出 14 个 *MAPK* 基因、6 个 *MAPKK* 基因和 59 个 *MAPKKK* 基因 [19]。

目前已有大量关于植物抗寒调控关键基因的研究报道，*CBF*（C-repeat binding factors）基因是调控植物抗寒性的关键转录因子 [20-21]，而 MAPK 信号通路能够通过调控 *CBF* 基因的表达，进而影响植物的低温适应性 [22]。在拟南芥中，低温会激活 *MAPK3/6* 的表达，激活后的 *MAPK3/6* 与 ICE1 互作引发 ICE1 磷酸化，从而降低 ICE1 的稳定性及其与 CBF3 启动子的结合能力，最终导致植株抗冻能力下降 [23]。Zhao 等 [24] 研究发现，*MEKK1-MEK2-MPK4* 级联反应可以拮抗 *MKK4/5-MAPK3/6* 途径，促进 *DREB/CBF* 的表达，提高植株的抗冻能力。在水稻中，OsMAPK6 可以与水稻冷信号通路中的 2 个关键调控因子 OsIPA1 和 OsICE1 相互作用并使其磷酸化，从而提高二者的蛋白质稳定性，正向调控水稻苗期的耐冷性 [25]。本研究通过全基因组筛选与鉴定，对西伯利亚杏的 *MAPK*、*MAPKK*、*MAPKKK* 基因家族成员进行了系统发育分析、基因结构分析、保守基序分析、染色体定位、启动子序列分析以及表达模式分析，为解析西伯利亚杏耐寒的分子机制以及培育强耐寒性的西伯利亚杏品种提供了理论基础。

1　材料与方法

1.1　试验材料与方法

本研究的低温处理试验材料直接沿用课题组前期已构建并经过验证的低温胁迫体系。具体操作步骤如下：以西伯利亚杏花芽为试验材料，从长势一致的 3 株参试植株的不同方位，分别选取着生健康花芽的枝条。处理开始前，所有枝条预培养 7 d，以适应人工培养环境。预培养的具体条件为：昼温 25 ℃、夜温 20 ℃，光照 14 h、黑暗 10 h，相对湿度 60% ～ 70%。低温处理阶段，对照组（CK）维持上述预培养条件不变，将 2 个试验组（T1 和 T2）分别放置在 2、−4 ℃的低温环境中处理 2 h，其余环境条件保持一致。本试验设置 3 次生物学重复，低温处理结束后立即采集花芽，放入液氮中速冻，随后转移至 −80 ℃超低温冰箱保存，用于后续试验，从而系统探究 *MAPK* 基因家族成员在低温胁迫下的动态表达模式。

1.2 西伯利亚杏中丝裂活化蛋白激酶（MAPK）基因家族鉴定

从 GDR 数据库（http://www.rosaceae.org/）下载西伯利亚杏的全基因组注释信息和序列信息，从拟南芥基因组数据库 TAIR 网站（https://www.arabidopsis.org/）下载拟南芥中 *MAPK*、*MAPKK* 和 *MAPKKK* 基因家族成员的蛋白质序列，将这 110 条拟南芥蛋白质序列作为诱饵序列。

在 NCBI 网站（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/）对西伯利亚杏相关序列进行 BLASTP 搜索，设置筛选阈值为 $E < 0.01$，先对初筛结果进行分析，再设置 blast identity ＞ 50 进行筛选。

在 Pfam 网站（http://pfam.xfam.org/）以 PF00069 为查询条件，下载隐马尔可夫（HMM）模型，然后利用 HMMER 3.0 程序中的 hmmbuild 命令，构建拟南芥 MAPK 多重比对序列的隐马尔可夫模型。本研究以丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶样结构域（PF00069）为查询条件，以 $E < 1\times10^{-5}$ 为阈值，通过 hmmsearch 算法在西伯利亚杏基因组中搜索与所构建 HMM 模型匹配的序列，最终得到筛选结果。

将 BLASTP 和 HMMER 筛选出的基因取交集，提交至 NCBI 网站的 CDD search 工具进一步分析，验证蛋白质结构域的存在性和完整性。

1.3 西伯利亚杏 MAPK 蛋白系统进化树构建

利用 MEGA11 软件中的邻接法（Neighbor-Joining）构建系统发育树，设置 1 000 次自展复制，通过 iTOL 网站（https://itol.embl.de/）进行可视化分析。

1.4 基因结构、保守基序和顺式作用调控元件分析

基于西伯利亚杏基因组的 Gff3 注释文件获取 *MAPK* 基因结构信息，并使用 TBtools 软件进行可视化统计分析。通过 MEME 网站（http://meme-suite.org/tools/meme）进行 Motif 预测，通过 PlantCARE 数据库（http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/）预测与低温响应相关的顺式作用调控元件，最后运用 TBtools 软件对上述预测结果进行可视化。

1.5 染色体定位和共线性分析

利用 TBtools 软件中的 Gene Location Visualize from GTF/GFF 工具，基于西伯利亚杏基因组注释文件，对 *PsMAPK* 基因在染色体上的分布进行可视化定位。进一步利用 MCScanX 工具，分析西伯利亚杏 *MAPK* 基因家族在基因组内的共线性关系。

1.6 低温胁迫下 *MAPK* 基因的差异表达分析

根据课题组已有的未公开转录组数据，通过聚类分析对差异表达基因（DEGs）进行分组，筛选出可能参与低温调控的核心基因。本研究以 TPM 值表征 *MAPK* 级联基因的表达水平，使用 TBtools 软件完成对 TPM 值的聚类分析与结果可视化。

2 结果与分析

2.1 西伯利亚杏中 *MAPK* 基因家族的鉴定及理化性质分析

下载 110 条拟南芥蛋白质序列，与西伯利亚杏蛋白质序列进行比对，将 BLAST 比对结果与 HMMER 程序筛选出的序列取交集，共鉴定出 87 个成员。随后将所得序列提交至 NCBI 网站的 CDD 程序，判断保守结构域的存在与完整性，保留具有完整家族特异性保守结构域的成员，最终共获得 84 个候选基因，其中 *MAPK* 成员 11 个，*MAPKK* 成员 10 个，*MAPKKK* 成员 63 个。NCBI CDD Search 结果显示，这些基因编码的所有蛋白质均含有丝裂原活化蛋白激酶样结构域（PF00069）。本研究将这些基因依次命名为 *PsMAPK1* ～ *PsMAPK11*、*PsMAPKK1* ～ *PsMAPKK10*、*PsMAPKKK1* ～ *PsMAPKKK63*（表 1）。

11 个 *PsMAPK* 基因编码的氨基酸数量为 342 ～ 626；分子量为 39 243.39 ～ 70 970.86 kDa；理论等电点为 5.18 ～ 9.29；不稳定性系数为 31.54 ～ 45.79，整体呈现相对稳定的特性；脂溶系数为 76.04 ～ 97.26；所有 PsMAPK 蛋白的疏水系数均小于 0，均为亲水性蛋白。

10 个 *PsMAPKK* 基因编码的氨基酸数量为 190 ～ 518；分子量为 21 039.01 ～ 57 752.03 kDa；理论等电点为 5.46 ～ 8.72；不稳定性系数为 43.90 ～ 69.31，高于 *PsMAPK* 家族；脂溶系数为 70.67 ～ 97.41；所有 PsMAPKK 蛋白疏水系数均小于 0，均为亲水性蛋白。

63 个 *PsMAPKKK* 基因编码的氨基酸数量为 151 ～ 1 470；分子量为 17 361.92 ～ 160 106.60 kDa；理论等电点为 4.57 ～ 9.42；不稳定性系数为

表 1　PsMAPK 蛋白理化性质
Table 1　Physicochemical properties of PsMAPK protein

编号 No.	基因家族 Gene family	基因名称 Gene name	氨基酸数量 Number of amino acid	分子量 Molecular weight /kDa	理论等电点 Theoretical pI	不稳定系数 Instability index	脂溶系数 Aliphatic index	疏水系数 Hydrophobicity index
1		*PsMAPK1*	368	42 392.29	8.46	33.10	96.44	−0.186
2		*PsMAPK2*	372	42 696.31	6.36	37.12	97.26	−0.250
3		*PsMAPK3*	370	42 589.79	5.18	45.61	95.89	−0.272
4		*PsMAPK4*	373	42 892.97	6.08	45.79	88.07	−0.365
5		*PsMAPK5*	407	46 427.04	5.76	44.78	86.07	−0.351
6	*MAPK*	*PsMAPK6*	376	43 179.20	6.21	42.49	87.39	−0.359
7		*PsMAPK7*	370	42 662.92	5.62	43.58	91.22	−0.312
8		*PsMAPK8*	626	70 970.86	6.70	41.01	76.04	−0.630
9		*PsMAPK9*	342	39 243.39	8.61	31.54	86.73	−0.322
10		*PsMAPK10*	618	70 571.82	9.10	33.01	81.29	−0.481
11		*PsMAPK11*	609	69 232.62	9.29	35.98	84.58	−0.429
12		*PsMAPKK1*	518	57 752.03	5.59	43.90	89.79	−0.147
13		*PsMAPKK2*	394	44 599.99	5.56	54.23	97.41	−0.221
14		*PsMAPKK3*	354	39 573.46	5.52	46.13	95.54	−0.089
15		*PsMAPKK4*	324	36 158.61	7.11	52.90	79.78	−0.199
16	*MAPKK*	*PsMAPKK5*	239	26 078.82	8.72	69.31	70.67	−0.231
17		*PsMAPKK6*	190	21 039.01	5.46	48.10	78.00	−0.182
18		*PsMAPKK7*	219	24 529.92	6.75	58.51	85.53	−0.342
19		*PsMAPKK8*	321	35 937.28	7.12	56.77	83.21	−0.245
20		*PsMAPKK9*	202	22 679.07	8.72	50.92	90.25	−0.247
21		*PsMAPKK10*	344	38 364.67	5.96	53.62	79.30	−0.283
22		*PsMAPKKK1*	388	42 747.15	5.89	55.95	72.11	−0.667
23		*PsMAPKKK2*	646	70 728.19	8.84	63.22	69.78	−0.493
24		*PsMAPKKK3*	696	76 125.02	9.42	59.65	62.66	−0.630
25		*PsMAPKKK4*	309	34 756.66	7.10	42.18	85.83	−0.327
26		*PsMAPKKK5*	491	53 601.58	5.31	41.35	77.58	−0.199
27		*PsMAPKKK6*	903	97 380.49	9.38	62.84	63.51	−0.569
28		*PsMAPKKK7*	421	47 577.38	4.57	60.02	78.93	−0.251
29		*PsMAPKKK8*	251	27 024.85	6.23	47.93	83.19	−0.104
30		*PsMAPKKK9*	890	96 690.30	9.14	58.83	65.13	−0.629
31		*PsMAPKKK10*	508	56 383.56	6.01	41.63	64.90	−0.618
32		*PsMAPKKK11*	1 431	157 355.97	5.88	42.20	92.08	−0.273
33		*PsMAPKKK12*	570	62 680.39	5.77	45.20	78.00	−0.474
34		*PsMAPKKK13*	676	74 388.32	5.97	51.32	72.97	−0.502
35	*MAPKKK*	*PsMAPKKK14*	643	70 068.86	9.30	47.71	70.40	−0.569
36		*PsMAPKKK15*	445	49 215.95	4.58	54.52	81.53	−0.326
37		*PsMAPKKK16*	381	42 294.67	5.70	37.59	82.36	−0.362
38		*PsMAPKKK17*	394	43 933.57	5.22	44.85	72.79	−0.413
39		*PsMAPKKK18*	296	33 676.17	5.22	35.85	84.26	−0.456
40		*PsMAPKKK19*	298	34 007.77	5.78	35.67	86.98	−0.416
41		*PsMAPKKK20*	633	70 493.41	4.80	44.78	79.83	−0.580
42		*PsMAPKKK21*	586	66 483.24	6.02	39.34	77.68	−0.521
43		*PsMAPKKK22*	649	72 504.16	5.05	42.61	83.19	−0.326
44		*PsMAPKKK23*	626	71 886.36	5.28	56.18	74.14	−0.647
45		*PsMAPKKK24*	738	84 327.45	5.44	44.99	75.42	−0.625
46		*PsMAPKKK25*	567	63 433.39	5.85	43.02	84.90	−0.283
47		*PsMAPKKK26*	476	53 766.68	8.83	45.70	89.50	−0.445
48		*PsMAPKKK27*	787	86 837.69	6.91	52.18	68.77	−0.623

续表 1
Continuation of table 1

编号 No.	基因家族 Gene family	基因名称 Gene name	氨基酸数量 Number of amino acid	分子量 Molecular weight /kDa	理论等电点 Theoretical pI	不稳定系数 Instability index	脂溶系数 Aliphatic index	疏水系数 Hydrophobicity index
49		*PsMAPKKK28*	574	64 269.52	5.65	54.65	82.53	−0.495
50		*PsMAPKKK29*	490	55 503.74	9.35	43.05	83.20	−0.466
51		*PsMAPKKK30*	417	46 847.53	6.61	39.98	82.54	−0.344
52		*PsMAPKKK31*	1 181	131 570.77	5.86	52.09	70.36	−0.628
53		*PsMAPKKK32*	843	93 116.58	5.90	45.97	83.01	−0.313
54		*PsMAPKKK33*	1 265	139 589.51	5.52	51.78	71.21	−0.628
55		*PsMAPKKK34*	344	39 174.37	9.13	42.22	85.26	−0.411
56		*PsMAPKKK35*	515	58 054.36	7.66	43.87	78.76	−0.652
57		*PsMAPKKK36*	373	42 297.74	8.89	50.66	79.22	−0.371
58		*PsMAPKKK37*	458	51 851.76	5.67	44.07	96.83	−0.295
59		*PsMAPKKK38*	385	43 051.30	7.06	35.54	82.26	−0.357
60		*PsMAPKKK39*	513	58 274.82	6.88	52.71	82.16	−0.413
61		*PsMAPKKK40*	954	105 196.08	6.02	42.57	77.45	−0.495
62		*PsMAPKKK41*	393	43 978.32	6.39	37.27	79.59	−0.318
63		*PsMAPKKK42*	573	65 066.35	5.81	51.08	80.44	−0.452
64		*PsMAPKKK43*	354	39 969.94	6.28	44.10	82.71	−0.292
65		*PsMAPKKK44*	1 243	137 953.82	5.25	52.37	74.72	−0.607
66	*MAPKKK*	*PsMAPKKK45*	1 035	113 535.36	5.68	48.45	77.86	−0.471
67		*PsMAPKKK46*	383	43 143.86	7.55	54.39	81.51	−0.362
68		*PsMAPKKK47*	502	56 263.42	6.47	42.09	88.94	−0.256
69		*PsMAPKKK48*	374	42 018.97	6.72	43.45	73.77	−0.49
70		*PsMAPKKK49*	663	73 722.97	8.38	46.36	91.57	−0.228
71		*PsMAPKKK50*	341	38 509.62	8.98	41.67	80.91	−0.408
72		*PsMAPKKK51*	365	41 408.89	8.91	43.76	90.58	−0.288
73		*PsMAPKKK52*	423	47 405.14	8.47	31.98	75.58	−0.477
74		*PsMAPKKK53*	1 470	160 106.60	5.27	46.64	73.26	−0.503
75		*PsMAPKKK54*	352	39 561.66	6.92	42.22	85.91	−0.218
76		*PsMAPKKK55*	1 355	150 150.04	5.31	48.32	72.44	−0.634
77		*PsMAPKKK56*	350	39 948.21	8.74	35.95	89.11	−0.386
78		*PsMAPKKK57*	151	17 361.92	5.43	48.18	65.17	−0.346
79		*PsMAPKKK58*	651	72 414.99	6.33	30.33	89.54	−0.117
80		*PsMAPKKK59*	570	64 013.00	5.19	43.74	85.70	−0.388
81		*PsMAPKKK60*	749	84 921.22	5.24	47.67	78.62	−0.511
82		*PsMAPKKK61*	351	39 965.81	8.50	46.79	80.85	−0.353
83		*PsMAPKKK62*	584	63 189.00	5.65	32.92	92.86	−0.039
84		*PsMAPKKK63*	419	47 065.74	6.65	34.84	79.36	−0.359

30.33 ～ 63.22；脂溶系数为 62.66 ～ 96.83；所有 PsMAPKKK 蛋白疏水系数均小于 0，均为亲水性蛋白。

综上，*PsMAPKKK* 家族成员编码的氨基酸数量跨度最大，分子量分布范围也最广，且该家族的最大分子量远高于其他 2 个家族。*PsMAPKKK* 家族与 *PsMAPK*、*PsMAPKK* 家族保有亲水性的共性特征，确保在细胞内相似的水溶性环境中协同发挥作用。

2.2 西伯利亚杏中 *MAPK* 基因家族成员的系统发育分析

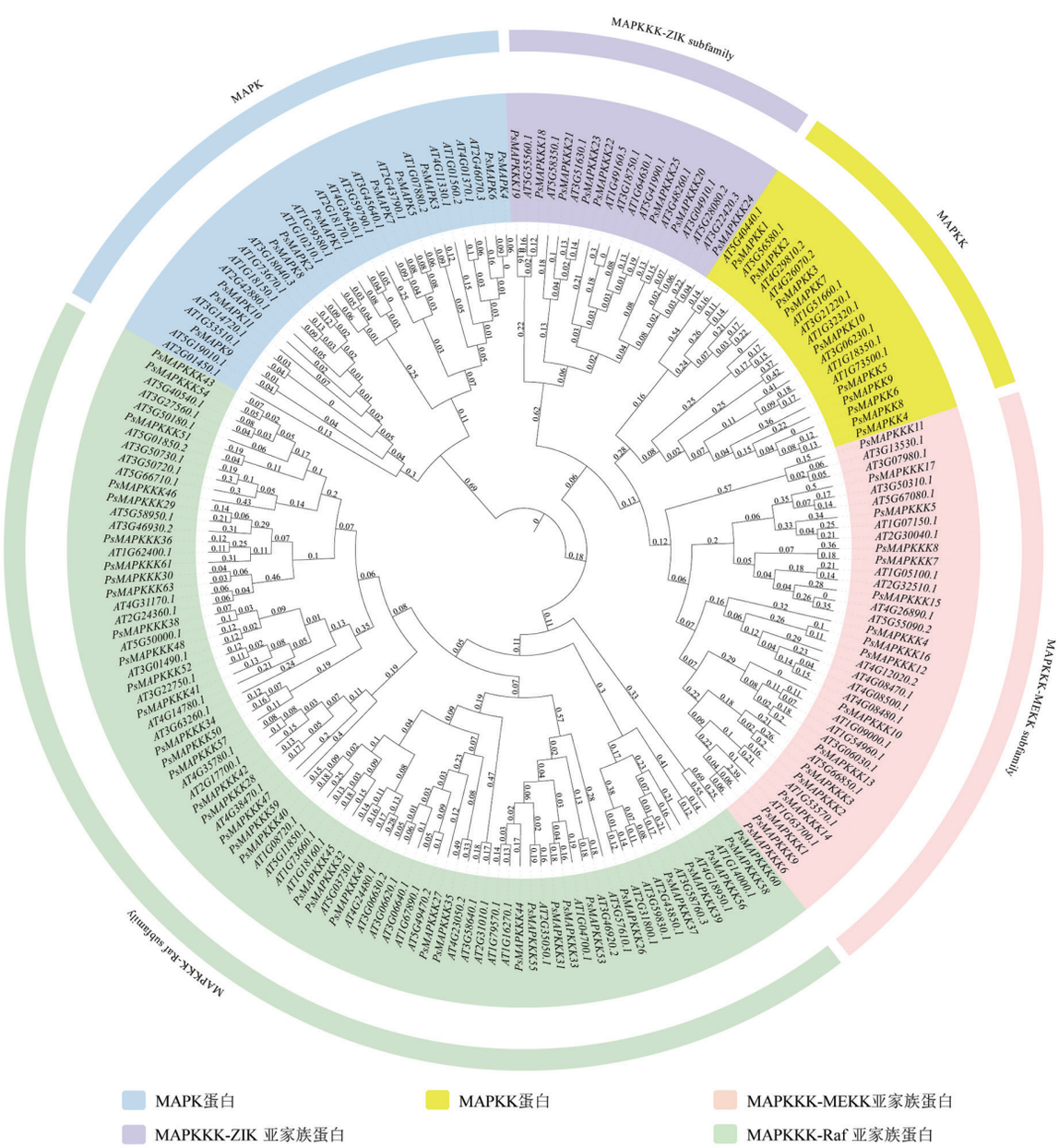
为解析 MAPK、MAPKK 与 MAPKKK 蛋白之间的系统发育关系，本研究选取拟南芥与西伯利

亚杏的序列构建 *MAPK* 家族成员系统进化树[26]。系统发育分析结果显示，拟南芥与西伯利亚杏的 *MAPK* 基因家族成员可以明确划分为 5 个进化支（图 1），这与该基因家族的分类高度一致：MAPK 与 MAPKK 亚家族成员各自独立成支，而 MAPKKK 亚家族可进一步细化为 MEKK、ZIK 和 Raf 这 3 个特征清晰的亚支。该系统发育结构不仅揭示了 MAPK 信号通路组分在植物中的进化保守性，也为阐明各亚家族的功能分化提供了重要的系统发育依据。

2.3　保守基序和基因结构分析

在基序分析结果（图 2）中，所有 PsMAPK 包含 Motif 1、2、3、5、6、7、8 和 10，所有 PsMAPKK 包含 Motif 1、2、4、5、6、7、8、9，所有 PsMAPKKK 包含 Motif 1、2、3、6、7、8、9。Motif 1、2、5、6、7、8 是 PsMAPK、PsMAPKK 和 PsMAPKKK 家族共有的核心保守基序，推测这些基序可能是维持其激酶核心功能的关键元件，说明 MAPK 家族蛋白在进化过程中的功能保守性。

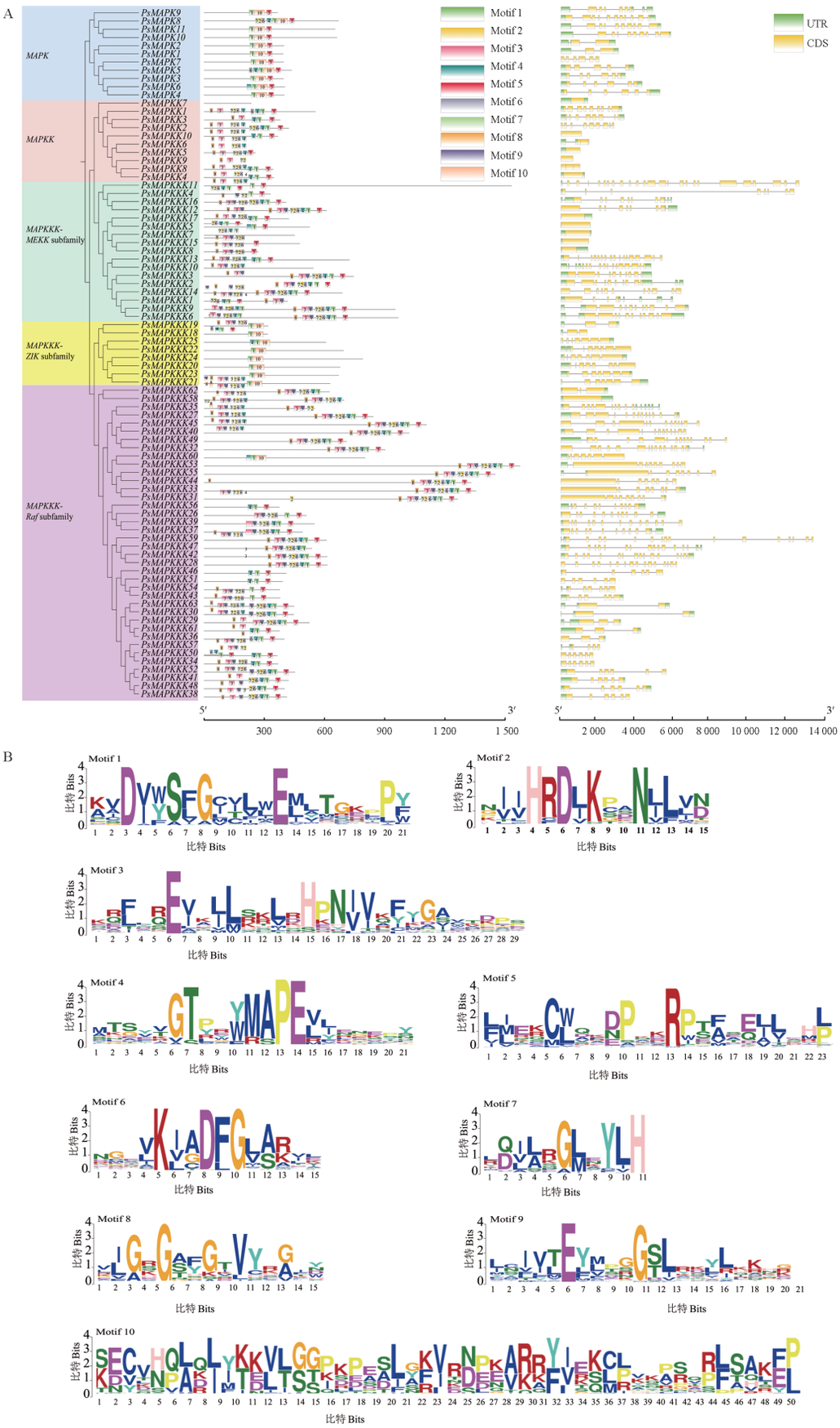
在基因结构层面，*PsMAPK*、*PsMAPKK*、*PsMAPKKK* 家族及其亚家族的内含子数量均存在显著差异。*PsMAPKKK* 家族内部的结构分化最为剧烈，内含子数量为 7 ～ 24 个；其次是 *PsMAPK* 家族成员，内含子数量为 2 ～ 9 个；而 *PsMAPKK* 家族的结构则相对保守，内含子数量为 1 ～ 6 个。



Ps 为西伯利亚杏，AT 为拟南芥，数字代表自展值。Ps is *Prunus sibirica,* AT is *Arabidopsis thaliana,* the numbers represent bootstrap values.

图 1　PsMAPK 系统发育关系树

Fig. 1　phylogenetic analysis of PsMAPK



A 为 PsMAPK 家族蛋白的基序和基因结构分析；B 为 PsMAPK 家族蛋白的不同基序分析，不同数字代表不同基序，字母代表氨基酸，字母越高保守性越高，反之越低。

A is the motif and gene structure analysis of the PsMAPK family proteins, B is the analysis of different motifs in the PsMAPK family proteins, with different numbers representing different motifs. The letters represent amino acids. The higher the letters, the higher the conservation, and vice versa.

图 2 *PsMAPK* 家族基因结构和保守基序

Fig. 2 Gene structures and conserved motifs of the *PsMAPK* gene family

研究结果表明，内含子数量的变异，可能是这些基因家族在进化历程中实现功能分化、适应环境变化的重要分子机制之一。

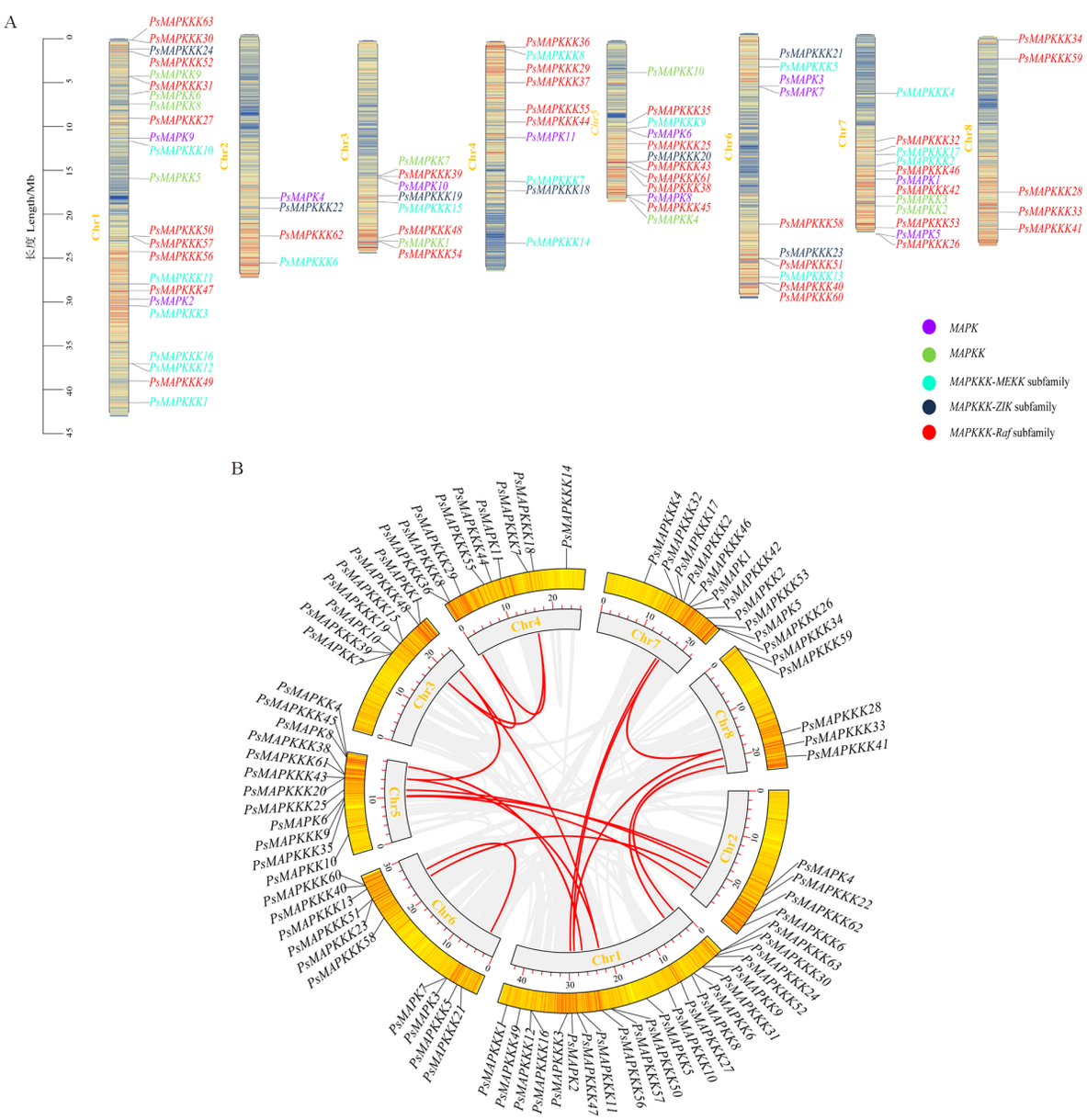
2.4　染色体位置与共线性分析

如图 3A 所示，84 个 *PsMAPK* 基因不均匀地分布在西伯利亚杏 8 条染色体上。其中，Chr 1 的基因分布最为密集，共定位 23 个基因，占家族成员总数的 27.38%；而 Chr 1、Chr 8 的基因数量最少，仅有 4 个和 5 个成员。

对西伯利亚杏进行种内共线性分析（图 3B），*PsMAPK* 有 2 对共线性基因，*PsMAPKK* 有 1 对共线性基因，*PsMAPKKK* 有 15 对共线性基因，共线性的基因在 Chr 1、Chr 6 和 Chr 7 上分布较多。结果表明，西伯利亚杏 *MAPK* 基因家族成员间存在明显的共线性关联，且不同基因亚家族的共线性基因数量存在显著差异。在西伯利亚杏的进化过程中，*MAPKKK* 基因家族可能经历了更频繁的基因复制事件，其家族扩张程度显著高于 *MAPK* 和 *MAPKK* 基因家族。

2.5　顺式作用元件的预测分析

通过对 *PsMAPK* 家族基因转录起始上游 2 000 bp 的启动子序列进行分析，共鉴定出 41 个顺式作用元件（图 4）。结果显示，*PsMAPK* 的启动子区调控元件主要分为三大类：激素信号转导相关调控



A 为 *PsMAPK* 家族成员基因的染色体位置分析，B 为 *PsMAPK* 家族成员基因间的共线性分析。
A is the chromosomal location analysis of genes in the *PsMAPK* family, B is the collinearity analysis among genes of the *PsMAPK* family members.

图 3　*PsMAPK* 家族基因在染色体上的分布及共线性分析

Fig. 3　Distribution and collinearity analysis of *PsMAPK* family genes on chromosomes

元件（茉莉酸响应元件、脱落酸响应元件、赤霉素响应元件）、胁迫响应（光响应、干旱响应、低温响应）相关调控元件以及植物生长相关调控元件。启动子顺式作用元件分析表明，*MAPK* 家族成员所含调控元件约 20 个，光响应元件在 84 个成员中均被检测到，表明其作为该基因家族的保守调控模块，可能在维持基础转录调控中发挥重要作用。进一步分析发现，69 个成员启动子区含有 MYB 结合基序，67 个成员含有茉莉酸甲酯（MeJA）响应元件，低温响应元件在 44 个成员中被鉴定，说明 *PsMAPK* 基因在低温反应中起着关键作用。

2.6　低温胁迫下 *PsMAPK* 基因的差异表达分析

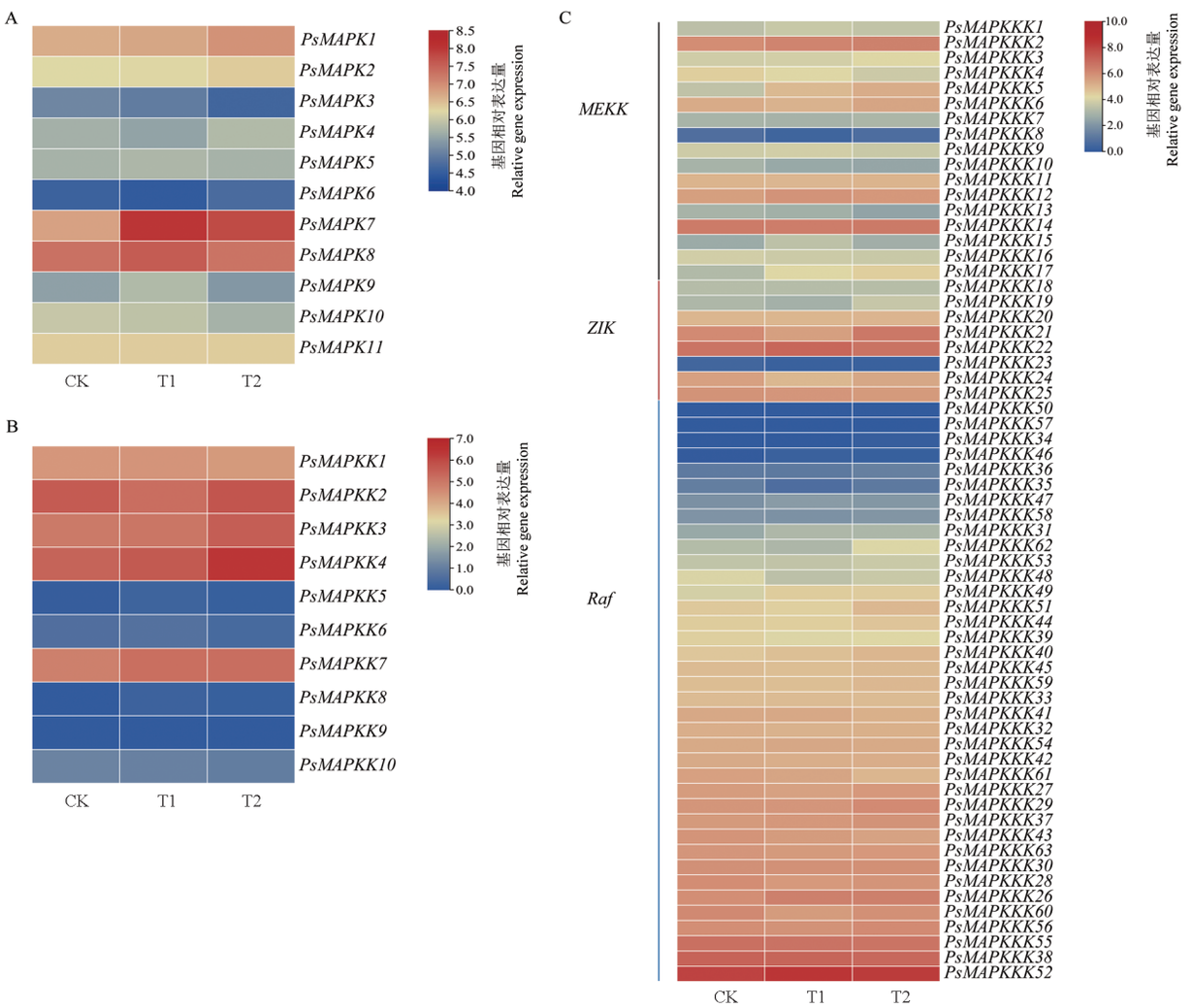
对转录组数据进行筛选，以常温（24 ℃）为对照组（CK），将 2 个试验组（T1 和 T2）分别放置在 2、−4 ℃的低温环境，分别对已鉴定出的 84 个基因家族成员进行差异表达分析，以 $P < 0.05$



图 4　*PsMAPK* 基因启动子顺式元件分析

Fig. 4　Cis-element analysis of *PsMAPK* genes

和表达变化倍数大于 1 为阈值进行筛选，共筛选出 14 个差异表达基因（图 5）。根据其表达动态，这些基因可分为 2 类：第 1 类包含 *PsMAPK1*、*PsMAPKK7*、*PsMAPKKK2*、*PsMAPKKK17*、*PsMAPKKK26*、*PsMAPKKK37*、*PsMAPKKK40*、*PsMAPKKK49* 和 *PsMAPKKK53* 共 9 个基因，为持续上调型基因，随着处理温度的降低，基因相对表达量呈持续上升趋势，T1、T2 处理下的基因相对表达量均高于 CK，且在 T2 处理下达到峰值；第 2 类包含 *PsMAPK7*、*PsMAPKKK1*、*PsMAPKKK12*、*PsMAPKKK31* 和 *PsMAPKKK52* 共 5 个基因，随着处理温度的降低，基因相对表达量呈现先升高后降低的趋势，T2 处理下的基因表达量仍高于 CK。结果表明，14 个差异表达基因可能在西伯利亚杏低温响应过程中发挥关键调控作用。



A：*PsMAPK* 在低温胁迫下的表达谱；B：*PsMAPKK* 在低温胁迫下的表达谱；C：*PsMAPKKK* 在低温胁迫下的表达谱。
A: Expression of *PsMAPK* under low temperature stress; B: Expression of *PsMAPKK* under low temperature stress; C: Expression of *PsMAPKKK* under low temperature stress.

图 5　*PsMAPK* 基因在低温胁迫下的表达谱
Fig. 5　Expression patterns of *PsMAPK* under cold based on various transcriptomes

3　讨论与结论

目前，*MAPK* 基因家族已在苹果 [27]、拟南芥 [28] 等物种中被广泛鉴定。然而，关于西伯利亚杏的 *MAPK* 基因家族的研究报道较少。本研究共鉴定出 84 个西伯利亚杏 *MAPK* 基因，分布于 8 条染色体。系统发育分析结果表明，该家族成员可明确划分为 MAPK、MAPKK 和 MAPKKK 3 个主要类群，其中 MAPKKK 进一步分为 MEKK、ZIK 和 Raf 3 个亚家族，与其他植物中的 *MAPK* 家族成员数量及亚家族分类基本一致。同一亚家族成员在保守结构域及内含子数量方面表现出较高的保守性。所有鉴定的 *MAPK* 成员均具有典型的 -T(E/D)Y 激活环结构，该结构为 MAPKK 的磷酸化靶点 [29]，与已报道的低温响应 *MAPK* 基因（如拟南芥 *AtMAPK3/6* 基因 [30]）具有较高的同源性，提示其可能参与低温信号转导过程。此外，部分成员（如

PsMAPK3）启动子区富含 CRT/DRE 等低温响应元件及 MYB 结合位点，所有成员均含有光响应元件，表明该元件为该家族中高度保守的调控元件。在 84 个成员中，69 个含有 MYB 结合位点，67 个含有 MeJA 响应元件。

MAPKK 家族成员均具有典型的 –D(L/I/V)K 基序，其激活环中包含保守的 S/T xxxx S/T 基序，为 MAPKKK 激酶的磷酸化位点，该结果与 MAPKK 激酶的基序特征一致 [31]。西伯利亚杏 *MEKK* 亚家族成员含有 1 个保守的 G(T/S)Px(W/Y/F)MAPEV 基序，而 *Raf* 亚家族则包含 GTxx(W/Y)MAPE 基序，其中 MAPE 为 MAPKKK 激酶结构域的核心氨基酸残基，该特征与拟南芥等物种中报道的 MAPKKKs 相似 [32]。

MAPK 级联信号通路是高等植物中典型的信号转导途径，通过逐级传递刺激信号，形成复杂的调控网络，进而参与植物生长发育和胁迫应答过程 [33]。例如，拟南芥中的 AtMEKK1-AtMKK2/AtMEK1-AtMAPK4/AtMAPK6 通路可增强植株对低温和高盐胁迫的耐受性 [34]；水稻中的 OsMKK6-OsMPK3 通路则为关键的低温信号传导途径，参与调节低温胁迫应答 [35]。

转录组数据分析显示，在低温胁迫条件下，*PsMAPK* 基因家族中有 14 个成员呈现差异表达。其 中，*PsMAPK1*、*PsMAPKK7*、*PsMAPKKK2*、*PsMAPKKK17*、*PsMAPKKK26*、*PsMAPKKK37*、*PsMAPKKK40*、*PsMAPKKK49* 和 *PsMAPKKK53* 共 9 个基因的表达量持续上升。在 2℃和 −4℃处理下，这些基因的表达量均高于对照，且在 −4℃时达到最高，表明其可能参与早期低温信号感知过程。该表达模式与拟南芥中已报道的 *AtMAPK3/6* 介导的低温信号通路及 *AtMAPK4* 调控的低温适应性反应高度相似 [36-38]。而 *PsMAPK7*、*PsMAPKKK1*、*PsMAPKKK12*、*PsMAPKKK31* 和 *PsMAPKKK52* 这 5 个基因的表达量呈现先上升后下降的趋势，但在 −4℃时高于对照。相关研究指出，此类表达模式可能与后期渗透调节物质（如脯氨酸和可溶性糖）的合成及抗冻保护作用有关，从而维持植物在低温环境中的生存与生长能力 [39-41]。

为进一步阐明 *PsMAPK* 在低温胁迫应答中的调控机制，本研究对差异表达基因在 MAPK 信号通路中的层级关系及其潜在功能进行深入解析。研究结果显示，*PsMAPK1* 和 *PsMAPKK7* 等基因在低温胁迫下持续上调表达，其编码蛋白与拟南芥中已报道的低温信号通路关键组分 AtMAPK4 和 AtMKK2 具有高度同源性。在拟南芥中，AtMKK2-AtMAPK4/6 模块通过磷酸化 ICE1 转录因子调控下游低温调节基因的表达 [42]。基于这一保守机制，推测 *PsMAPK*1 和 *PsMAPKK7* 可能在西伯利亚杏中形成类似的信号转导模块，通过调控脯氨酸合成关键基因 *P5CS* 的表达，进而影响渗透调节物质的合成与积累 [43]。

在上游调控层面，本研究鉴定到多个持续上调表达的 *MAPKKK* 基因，其中 *PsMAPKKK2* 与拟南芥 AtMEKK1 在激酶结构域表现出高度保守性。研究结果表明，AtMEKK1 通过磷酸化 AtMKK2 启动 MAPK 级联反应，并参与活性氧稳态调控 [44]。由此推测，*PsMAPKKK2* 可能作为西伯利亚杏低温信号感知的上游组分，通过调节 SOD、CAT 等抗氧化酶基因的表达，维持细胞内的氧化还原平衡。此外，部分 *MAPKKK* 基因（如 *PsMAPKKK12*、*PsMAPKKK31* 等）呈现先升后降的表达模式，与脯氨酸合成相关基因的表达趋势相似 [45]，说明这些基因可能主要参与调控低温胁迫后期的渗透调节过程。基于上述讨论，“PsMAPKKK2-PsMAPKK7-PsMAPK1”三级级联通路可能在西伯利亚杏低温应答中发挥重要作用，可能通过协同调控活性氧稳态和渗透调节物质合成，共同增强植株的低温适应性。这些结果为进一步解析木本植物 MAPK 信号网络的低温应答机制提供了新的理论依据。

本研究基于西伯利亚杏 *MAPK* 基因家族的系统发育、基因结构与表达模式的综合分析，揭示了该家族成员在响应低温胁迫中的潜在调控作用。结果表明，14 个关键基因在低温胁迫下呈现显著差异表达，其表达模式同时受到环境信号与发育阶段的协同调控，说明其在西伯利亚杏低温应答过程中可能发挥核心作用。后续研究将聚焦于对这些候选基因开展功能验证，并深入解析其分子调控机制，最终为阐明西伯利亚杏的抗寒分子机理和推进抗寒育种工作提供理论基础。

参考文献：

[1] 侯智霞 , 翟明普 , 原牡丹 , 等 . 中国仁用杏栽培生理研究进展 [J]. 中国农学通报 ,2008,24(12):189-192.
Hou Z X, Zhai M P, Yuan M D, et al. Progress of cultivated and physiological researches on kernel-apricot (*Armeniaca vulgaris* Lam.) in China[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2008,24(12):189-192.

[2] 陈俊兴 , 包文泉 , 敖敦 , 等 . 西伯利亚杏花芽酵母 cDNA 文库构建及质量评价 [J]. 中南林业科技大学学报 ,2025,45(2):131-138.

Chen J X, Bao W Q, Ao D, et al. Construction and quality evaluation of cDNA library of flower bud yeast from *Prunus sibirica*[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology, 2025,45(2):131-138.

[3] 金山 . 北疆重点保护农业野生植物资源及其分布 [J]. 新疆农业科技 ,2006,28(6):37-38.
Jin S. Resources and distribution of key protected agricultural wild plants in northern Xinjiang[J]. Xinjiang Agricultural Science and Technology,2006,28(6):37-38.

[4] 刘宁 , 刘威生 , 赵锋 , 等 . 我国仁用杏主产区生产发展概述 [J]. 北方果树 ,2004(增刊 1):48-49.
Liu N, Liu W S, Zhao F, et al. Production review of main producing area about kernel-used apricot in China[J]. Northern Fruits,2004(S1):48-49.

[5] 李慧 . 仁用杏抗（避）倒春寒的栽培技术研究 [D]. 长沙 : 中南林业科技大学 ,2016:2-3.
Li H. The research of cultivation technology on almond-apricot resistance and avoidance of the coldness in late spring[D]. Changsha: Central South University of Forestry & Technology,2016:2-3.

[6] 杨巾迪 , 刘本玉 , 孙永强 , 等 . 不同种源西伯利亚杏无性系花粉的生物学特性 [J]. 经济林研究 ,2024,42(2):1-12.
Yang J D, Liu B Y, Sun Y Q, et al. Pollen biological characteristics of different provenances of *Prunus sibirica* clones[J]. Non-wood Forest Research,2024,42(2):1-12.

[7] 张轲 . 水稻长粒型两系不育系 1146S 长粒 QTL *qLGG1* 的遗传分析与基因定位 [D]. 长沙 : 湖南农业大学 ,2022:39-40.
Zhang K. Genetic analysis and gene mapping of long grain QTL *qLGG1* in a two-line sterile rice 1146S with long grain[D]. Changsha: Hunan Agricultural University,2022:39-40.

[8] Asai T, Tena G, Plotnikova J, et al. MAP kinase signalling cascade in *Arabidopsis* innate immunity[J]. Nature,2002,415: 977-983.

[9] Jonak C, Ökrész L, Bögre L, et al. Complexity, cross talk and integration of plant MAP kinase signalling[J]. Current Opinion in Plant Biology,2002,5:415-424.

[10] Teige M, Scheikl E, Eulgem T, et al. The MKK2 pathway mediates cold and salt stress signaling in *Arabidopsis*[J]. Molecular Cell,2004,15:141-152.

[11] 畅丽萍 , 魏琦超 , 周岩 . 马铃薯促分裂原活化蛋白激酶基因的电子克隆与生物信息学分析 [J]. 广东农业科学 ,2012,39(15): 159-162.
Chang L P, Wei Q C, Zhou Y. Electronic cloning and bioinformatical analysis of *MAPKK* Gene from *Solanum tuberosum*[J]. Guangdong Agricultural Sciences,2012,39(15): 159-162.

[12] Zhang D, Jiang S, Pan J, et al. The overexpression of a maize mitogen-activated protein kinase gene (*ZmMPK5*) confers salt stress tolerance and induces defence responses in tobacco[J]. Plant Biology,2014,16:558-570.

[13] 李婷婷 . 盐胁迫下丹参 *MKK2* 基因的功能分析 [D]. 济南 : 山东师范大学 ,2024:4-5.
Li T T. Functional analysis of *SmMKK2* in plant response to salt stress in *Salvia mitiorrhiza* Bunge[D]. Jinan: Shandong Normal University,2024:4-5.

[14] Zhang M M, Su J B, Zhang Y, et al. Conveying endogenous and exogenous signals: MAPK cascades in plant growth and defense[J]. Current Opinion in Plant Biology,2018,45:1-10.

[15] Colcombet J, Hirt H. *Arabidopsis* MAPKs: a complex signalling network involved in multiple biological processes[J]. The Biochemical Journal,2008,413:217-226.

[16] Cai G H, Wang G D, Wang L, et al. A maize mitogen-activated protein kinase kinase, ZmMKK1, positively regulated the salt and drought tolerance in transgenic *Arabidopsis*[J]. Journal of Plant Physiology,2014,171(12):1003-1016.

[17] 李晓翠 , 康凯程 , 黄先忠 , 等 . 小拟南芥 *MKK* 基因家族全基因组鉴定及进化和表达分析 [J]. 遗传 ,2020,42(4):403-421.
Li X C, Kang K C, Huang X Z, et al. Genome-wide identification, phylogenetic analysis and expression profiling of the *MKK* gene family in *Arabidopsis pumila*[J]. Hereditas,2020,42(4):403-421.

[18] 杨晨桉 , 刘霄 , 杜艳 , 等 .‘Kitaake’ 水稻 *MAPK* 级联基因家族鉴定及辐射后表达分析 [J]. 植物生理学报 ,2025,61(3): 263-276.
Yan C A, Liu X, Du Y, et al. Identification of *MAPK* cascade gene family and its expression analysis after radiation in rice variety ‘Kitaake’[J]. Plant Physiology Journal,2025,61(3):263-276.

[19] Wang J, Pan C T, Wang Y, et al. Genome-wide identification of *MAPK, MAPKK*, and *MAPKKK* gene families and transcriptional profiling analysis during development and stress response in cucumber[J]. BMC Genomics,2015,16:386.

[20] 陈利娜 , 曹尚银 , 唐丽颖 , 等 . 石榴 *MAPK* 家族基因鉴定及其响应冷胁迫的表达分析 [J]. 果树学报 ,2023,40(10):2076-2088.
Chen L N, Cao S Y, Tang L Y, et al. Identification of *MAPK* family and analysis of their expression patterns in response to cold stress in pomegranate[J]. Journal of Fruit Science,2023,40(10): 2076-2088.

[21] Zhang F, Jiang Y, Bai L P, et al. The ICE-CBF-COR pathway in cold acclimation and AFPs in plants[J]. Middle-East Journal of Scientific Research,2011,8(2):493-498.

[22] 柳璐 , 王梦 , 郑晓美 , 等 . 艾草 *CBF* 基因家族的鉴定及表达分析 [J]. 园艺学报 ,2025,52(10):2703-2712.
Liu L,Wang M, Zheng X M, et al. Identification and expression analysis of *CBF* gene family of *Artemisia argyi*[J]. Acta Horticulturae Sinica,2025,52(10):2703-2712.

[23] Li H, Ding Y L, Shi Y T, et al. MPK3- and MPK6-mediated *ICE1* phosphorylation negatively regulates *ICE1* stability and freezing tolerance in *Arabidopsis*[J]. Developmental Cell,2017,43:630-642.

[24] Zhao C Z, Wang P C, Si T, et al. MAP kinase cascades regulate the cold response by modulating ICE1 protein stability[J]. Developmental Cell,2017,43:618-629.

[25] Liu J L, Liu J X, He M L, et al. *OsMAPK6* positively regulates rice cold tolerance at seedling stage via phosphorylating and stabilizing *OsICE1* and *OsIPA1*[J]. Theoretical and Applied Genetics,2023,137:10.

[26] 周桦楠 , 于涛 , 刘冠求 , 等 . 甘薯 *MAPK* 基因家族的鉴定及生物信息学分析 [J]. 沈阳农业大学学报 ,2021,52(5):513-520.
Zhou H N, Yu T, Liu G Q, et al. Genome-wide identification and bioinformatic analysis of mitogen-activated protein kinase gene family in sweet potato[J]. Journal of Shenyang Agricultural University,2021,52(5):513-520.

[27] Zhang S Z, Xu R R, Luo X C, et al. Genome-wide identification and expression analysis of *MAPK* and *MAPKK* gene family in *Malus domestica*[J]. Gene,2013,531:377-387.

[28] 李晓翠 . 新疆小拟南芥 *MAPK* 和 *MKK* 基因家族的鉴定及表达特征分析 [D]. 石河子 : 石河子大学 ,2020:16-18.
Li X C. Identification and expression profile analysis of *MAPK* and *MKK* gene family in *Arabidopsis pumila*[D]. Shihezi: Shihezi University,2020:16-18.

[29] 李敏 . 山葡萄 *VaMAPKKK15* 基因在低温胁迫响应中的功能分析 [D]. 兰州 : 甘肃农业大学 ,2024:4-5.
Li M. Functional analysis of *Amur grape VaMAPKKK15* gene in response to cold stress[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University,2024:4-5.

[30] Zhan F F, Liang L Q, Wang S Y, et al. Genome-wide identification, phylogenetic analysis and expression pattern profiling of the aquaporin family genes in *Leuciscus waleckii*[J]. Fishes,2023,8:107.

[31] Wang H B, Gong M, Guo J Y, et al. Genome-wide identification of *Jatropha curcas MAPK*, *MAPKK*, and *MAPKKK* gene families and their expression profile under cold stress[J]. Scientific Reports,2018,8:16163.

[32] Paul A, Srivastava A P, Subrahmanya S, et al. *In-silico* genome wide analysis of Mitogen activated protein kinase kinase kinase gene family in *C. sinensis*[J]. PLoS One,2021,16(11):e0258657.

[33] Zhang L, Ma C, Kang X, et al. Identification and expression analysis of *MAPK* cascade gene family in foxtail millet (*Setaria italica*)[J]. Plant Signaling & Behavior,2023,18(1):e2246228.

[34] Du X Z, Jin Z P, Liu D M, et al. Hydrogen sulfide alleviates the cold stress through *MPK4* in *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Physiology and Biochemistry,2017,120:112-119.

[35] Xie G S, Kato H, Imai R. Biochemical identification of the OsMKK6-OsMPK3 signalling pathway for chilling stress tolerance in rice[J]. The Biochemical Journal,2012,443:95-102.

[36] Ma H G, Chen J, Zhang Z Z, et al. MAPK kinase 10.2 promotes disease resistance and drought tolerance by activating different *MAPKs* in rice[J]. The Plant Journal,2017,92:557-570.

[37] Ding H D, He J, Wu Y, et al. The *tomato* mitogen-activated protein kinase *SlMPK1* is as a negative regulator of the high-temperature stress response[J]. Plant Physiology,2018,177:633-651.

[38] Na Y J, Choi H K, Park M Y, et al. *OsMAPKKK63* is involved in salt stress response and seed dormancy control[J]. Plant Signaling & Behavior,2019,14(3):e1578633.

[39] Wang Z, Wan Y Y, Meng X J, et al. Genome-wide identification and analysis of *MKK* and *MAPK* gene families in *Brassica* species and response to stress in *Brassica napus*[J]. International Journal of Molecular Sciences,2021,22:544.

[40] Guan Y F, Lu J F, Xu J, et al. Two mitogen-activated protein kinases, MPK3 and MPK6, are required for funicular guidance of pollen tubes in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology,2014,165:528-533.

[41] Chen X X, Ding Y L, Yang Y Q, et al. Protein kinases in plant responses to drought, salt, and cold stress[J]. Journal of Integrative Plant Biology,2021,63(1):53-78.

[42] Ichimura K, Mizoguchi T, Yoshida R, et al. Various abiotic stresses rapidly activate *Arabidopsis* MAP kinases ATMPK4 and ATMPK6[J].The Plant Journal,2000,24(5):655-665.

[43] 王翠平 , 华学军 . 拟南芥脯氨酸合成关键酶 *P5CS1* 的功能鉴定及原核表达 [J]. 扬州大学学报 (农业与生命科学版),2017,38(3):90-95.
Wang C P, Hua X J. Characterization of *P5CS1* gene involving in proline biosynthesis in *Arabidopsis* and its prokaryotic expression[J]. Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Science Edition),2017,38(3):90-95.

[44] 赵昕 . 冷胁迫下拟南芥 MAPK4 蛋白及基因表达差异变化 [D]. 长春 : 吉林大学 ,2009:1-3.
Zhao X. Differential changes of mitogen-activated protein kinase4 under cold stress in *Arabidopsis thaliana*[D]. Changchun: Jilin University,2009:1-3.

[45] 汪忠杰 . 茶树逆境胁迫下脯氨酸代谢的分子机制研究 [D]. 合肥 : 安徽农业大学 ,2020:38-40.
Wang Z J. Study on the molecular mechanism of proline metabolism under stress of tea plant[D]. Hefei: Anhui Agricultural University,2020:38-40.

[本文编校：戴欧琳]