

· 研究报告 ·

## 谷子 $\beta$ -胡萝卜素异构酶家族基因的表达与变异分析

张慧, 梁红凯, 智慧, 张林林, 刁现民\*, 贾冠清\*

中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081

**摘要** 株型是影响谷类作物产量的重要性状, 株型改良对提高作物产量具有重要意义。独脚金内酯(strigolactones, SLs)作为一种最新被鉴定的植物激素, 其通过抑制腋芽的伸长调控分枝/分蘖的形成。 $\beta$ -胡萝卜素异构酶(D27s)是SLs合成途径的关键酶, 通过对谷子(*Setaria italica*)  $\beta$ -胡萝卜素异构酶典型结构域Pfam:DUF4033进行分析, 鉴定到3个谷子D27s基因家族成员(*Seita.8G168400*、*Seita.6G088800*和*Seita.3G050900*)。蛋白质特性分析显示, 谷子D27s蛋白由271–277个氨基酸残基组成, 分子量为30.1–30.4 kDa, 等电点为5.85–9.31, 不稳定系数介于38.48–74.47之间, 且均定位于叶绿体; 系统进化分析发现, 谷子D27s家族成员位于3个不同进化分支; 顺式作用元件预测显示, *SiD27-1* (*Seita.8G168400*)可能参与调控生物节律、生长素介导的生长发育以及干旱和低温等胁迫应答过程。基因表达分析显示, *SiD27-1*在谷子多分蘖材料中表达下调, 在低磷胁迫处理下, D27s基因均能产生不同程度的响应, 并且*SiD27-1*的响应较其它成员更快速。单倍型分析结果表明, *SiD27-1*的H001单倍型为优异单倍型, 对谷子的株高、抽穗期和产量改良具有重要应用价值。综上, 推测*SiD27-1*极可能在SLs合成中发挥关键作用并对谷子株型产生影响。研究结果为深入揭示D27s对谷子分蘖形成的调控机制奠定了基础, 也为谷子株型分子设计育种提供了优异的等位变异位点。

**关键词**  $\beta$ -胡萝卜素异构酶, 基因家族, 表达, 单倍型变异, 谷子

张慧, 梁红凯, 智慧, 张林林, 刁现民, 贾冠清 (2023). 谷子 $\beta$ -胡萝卜素异构酶家族基因的表达与变异分析. 植物学报 58, 34–50.

植物激素是影响植株生长发育和环境适应的重要调控因素(常金科和黎家, 2017), 参与作物株型、水分及营养利用等重要农艺性状的调控, 对作物产量和品质形成发挥关键调节作用(许智宏和李家洋, 2006)。传统植物激素包括生长素、赤霉素、细胞分裂素、脱落酸及乙烯5大类。近年来, 陆续发现了新型植物激素, 如油菜素甾醇(BRs)、茉莉素、水杨酸和独脚金内酯(strigolactones, SLs)(黎家, 2018)。其中, 独脚金内酯是调控植物分枝的新型植物激素(Gomez-Roldan et al., 2008; Umehara et al., 2008), 在株型改造(王闰霞等, 2014)和作物产量(李学勇等, 2003)形成中发挥重要作用。

株型是作物产量提升的重要限制因素之一(Zhang et al., 2017)。分蘖性可直接通过影响作物株

型及亩穗数影响产量。已有研究利用水稻(*Oryza sativa*)分蘖突变体克隆了参与独脚金内酯合成的D27、D17和D10等关键基因, 并初步阐明了SLs调控水稻分蘖性的遗传机制(黎舒佳等, 2015; Gao et al., 2019)。研究发现, 当SLs存在时, D53可与D14和D3形成蛋白复合体, 使其更易被降解, 从而解除对下游基因的转录抑制, 调控分蘖发育(Wang et al., 2018; Gao et al., 2019)。SLs和油菜素甾醇可以通过调控转录复合体OsBZR1-RLA1-DLT进一步控制水稻分蘖数(Fang et al., 2020)。

SLs最初是由Cook等(1966)从植物根际分泌物中分离出的刺激根寄生植物独脚金(*Striga asiatica*)种子发芽的物质, 该物质是一种通过类胡萝卜素合成的内酯。SLs的合成过程对环境条件十分敏感, 光照

收稿日期: 2022-07-28; 接受日期: 2022-12-01

基金项目: 国家自然科学基金(No.31871630)、财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系(No.CARS-06-14.5-A04)和中国农业科学院创新工程

\* 通讯作者。E-mail: diaoxianmin@caas.cn; jiaguanqing@caas.cn

及磷和氮处理均会影响SLs的生物合成。已有研究表明, 在番茄(*Solanum lycopersicum*)中, 不同光照强度与番茄根部SLs水平呈正相关, 增加光照强度可促进根中SLs积累(Koltai et al., 2011)。在水稻中, 缺磷导致分蘖芽生长受到抑制, SLs缺陷和不敏感突变体可以消除幼苗在缺磷条件下分蘖芽生长受到抑制的表型(Umehara et al., 2010)。在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中, 突变体 $max2$ 表现出SLs分泌下降, 在缺磷条件下, SLs合成增加(Matusova et al., 2005; Ito et al., 2016); 在缺氮条件下, 拟南芥突变体 $max1-1$ 和 $atd14-1$ 中 $MAX3$ 和 $MAX4$ 的表达水平发生改变, 进而影响SLs的合成(Ito et al., 2016)。

已有研究表明, SLs的生物合成先由类胡萝卜素脱氢和氧化后生成独脚金醇, 然后进一步生成有活性的独脚金内酯(Matusova et al., 2005)。目前已经鉴定出4种合成通路关键酶与SLs合成有关, 分别为 $\beta$ -胡萝卜素异构酶(D27)、类胡萝卜素裂解双加氧酶7(CCD7)、类胡萝卜素裂解双加氧酶8(CCD8)和细胞色素P450家族成员MAX1。其中,  $\beta$ -胡萝卜素异构酶(D27)是SLs合成通路上游的关键限速酶(Abuauaf et al., 2018), 可将反式 $\beta$ -类胡萝卜素转化为9-顺式- $\beta$ -类胡萝卜素。D27编码一种定位于叶绿体的含铁蛋白, 该基因突变后表现出分蘖增多和矮化表型(Lin et al., 2009); 在水稻中,  $OsD27$ 突变导致 $dwarf27$ 多分枝、矮化和SLs合成缺陷等特征(Lin et al., 2009); 在拟南芥中, 对 $Atd27$ 突变体外施SLs合成物GR24可以恢复突变体多分枝表型(Waters et al., 2012)。此外, 对水稻和拟南芥多分枝突变体外施SLs类似物GR24后表型得以恢复, 表明SLs可调控植物分枝(Gomez-Roldan et al., 2008; Umehara et al., 2008)。

谷子(*Setaria italica*)是起源于我国且最古老的作物之一, 具有抗旱节水的特性, 正逐渐成为新一代模式作物(贾冠清和刁现民, 2017; 刁现民, 2019)。分蘖是影响谷子株型和产量的重要性状, 本研究通过生物信息学手段对谷子D27s基因家族进行鉴定和结构变异分析, 对该家族基因的全生育期表达模式进行研究, 明确磷胁迫条件下家族成员的表达变化, 探究该基因家族的亚细胞定位特点, 并开展单倍型变异规律及遗传效应分析, 旨在为深入开展D27s基因家族的功能研究以及育种利用奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 谷子D27s基因家族成员鉴定

从Phytozome数据库(<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>)下载谷子(*Setaria italica* L.)、玉米(*Zea mays* L.)、拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)、二穗短柄草(*Brachypodium distachyon* (L.) Beauv.)、高粱(*Sorghum bicolor* (L.) Moench)、大麦(*Hordeum vulgare* L.)和青狗尾草(*Se. viridis* L.) 7个物种的基因组数据。在Ensemble Plants数据库(<https://plants.ensembl.org/index.html>)下载水稻(*Oryza sativa* Japonica Group IRGSP-1.0)基因组数据。在Pfam数据库(<http://pfam.xfam.org/>)下载D27s蛋白保守结构域序列的HMM文件(PF13225)。基于下载的HMM模型, 使用HMMER软件对谷子基因组D27s基因进行鉴定, 选取E-value<0.001的基因, 对获得的候选D27s蛋白, 经Pfam (<http://pfam.xfam.org/>)、NCBI CDD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd/>)和SMART (<http://smart.embl.de/>) 3大数据库进一步筛选, 其中含有D27结构域的蛋白被认定为D27s蛋白。

### 1.2 生物信息学分析

#### 1.2.1 基因结构、结构域、系统进化分析及同源建模

利用谷子基因组注释文件(v2.2版本)和TBtools软件(Chen et al., 2020)中的Gene Structure View进行基因结构可视化。利用MEME软件(Bailey et al., 2006)对谷子D27s蛋白序列进行保守基序分析, Motif数量设置为8个。

分别从谷子、水稻、玉米、拟南芥、二穗短柄草、高粱、大麦和青狗尾草基因组数据中提取D27s蛋白序列, 使用IQtree (Minh et al., 2020)对8个物种氨基酸序列进行多序列比对, 并利用邻接法(neighbor-joining)构建系统发育树, 其中Bootstrap值设为1 000, 具体参数为: -m MFP -bb 1000 -nt 4。

利用提取到的不同物种D27s蛋白序列, 通过SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>)预测蛋白质三维结构模型。利用ClustalW进行多序列比对, 分析保守结构域, 并利用Jalview软件(<https://www.jalview.org/>)进行编辑和美化。采用ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>)分析不同家族成员基

本物理和化学参数,如分子量、等电点、不稳定系数和亲水性。利用SOPMA ([https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa\\_automat.pl?page=/NPSA/npsa\\_sopma.html](https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html))预测不同成员的二级结构,对 $\alpha$ 螺旋、 $\beta$ 折叠、延伸链和无规则卷曲进行统计。利用PSORT Prediction (<https://wolfpsort.hgc.jp/>)和Softberry (<http://linux1.softberry.com/berry.phtml?topic=protcompan&group=programs&subgroup=proloc>)对蛋白进行亚细胞定位预测。

### 1.2.2 顺式作用元件分析

提取谷子D27s基因上游2 000 bp作为启动子序列,提交到Plant CARE (Lescot et al., 2002)数据库 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>),对谷子D27s基因进行顺式作用元件分析。

### 1.3 全生育期组织表达特异性分析

在Phytozome公开数据库提取豫谷1号(Yugu1)不同组织中D27s基因的RNA-seq数据,利用TBtools绘制热图。

选取分蘖表型极端的青狗尾草多分蘖株系A10和谷子少分蘖品种豫谷1号为实验材料,种植于中国农业科学院(北京)温室(光周期为10小时光照/14小时黑暗)。对其全生育期的各组织进行取样,将样品迅速置于液氮中速冻,然后转移至 $-80^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。分别提取各时期各组织总RNA,用1%琼脂糖凝胶电泳检测RNA的完整性,以能够看到清晰明亮的28s和18s条带为准,同时利用Nanodrop ND 1000分光光度计(Nano Drop, 美国)检测RNA浓度。利用PrimeScript™ II 1st Strand cDNA Synthesis Kit试剂盒(Takara, Cat No.6210A)将提取好的RNA定量反转录为cDNA。设计特异的荧光定量PCR引物QRT-8G-F/R和Cullin内参基因荧光定量引物Cullin-F/R(表1)。使用Realtime PCR Super mix SYBR green with anti-Taq试剂盒(聚合美, Cat No.MF013-01)进行荧光定量PCR反应。每个实验设4次技术重复。

### 1.4 谷子D27s基因磷响应

以育成品种豫谷1号为实验材料,将种子放入装满霍格兰德营养液(刘艳等, 2016)的培养盒中培养(以种子可接触液体为准),磷的供应元素为 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 。缺磷处

表1 引物列表

Table 1 List of primers

Primer name	Primer sequence (5'-3')
D27-8G-N-F	GCTGTACAAGACTAGTATGGAGGTC-GCGGCCACTTC
D27-8G-N-R	GGGGAAATTCGAGCTCTCAAATCAC-TTGACGATTCT
D27family-6G-N-F	GCTGTACAAGACTAGTATGGCAGCA-GCCCTGCCCAT
D27family-6G-N-R	GGGGAAATTCGAGCTCCTATGTCTG-AAGTTTGGGGC
D27family-3G-N-F	GCTGTACAAGACTAGTATGGCGACG-CCGCTCGCGAC
D27family-3G-N-R	GGGGAAATTCGAGCTCTCAAATTCG-GGGGCAACCGA
QRT-8G-F	ATGAAACGAAGCTACTACACGA
QRT-8G-R	CAGATTGTGGAACAGTTGTC
QRT-6G-F	GATGGGGGAGAAGACGGAGTA
QRT-6G-R	TTCTTCTTCTTCTCCAACCTCCG
QRT-3G-F	CGCCTCTATTGCTTGCTCTATA
QRT-3G-R	AACTGAACATGTGCCCATTAAC
Culin-F	TATGGGTCATCAACAGCTTGTC
Culin-R	GTAGTCCCTCGTGATGAGATCC

理采用不添加 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 的营养液,对照溶液为完全营养液。待植株长至8–10 cm时(约10–14天)转移至缺磷营养液中,并在转移后的0、1、6、12和24小时分别取样,取样部位包括根、上茎、下茎、叶和叶鞘。其中,除顶端两叶外,其余剥去叶与叶鞘的部分为茎,植株茎的上端1/3为上茎,剩余部分为下茎。将取好的样品置于液氮中速冻后转移至 $-80^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。利用相同的方式提取RNA,并通过1%琼脂糖凝胶电泳和Nanodrop ND 1000分光光度计检测RNA的质量与浓度。通过PrimeScript™ II 1st Strand cDNA Synthesis Kit试剂盒将提取好的RNA定量反转录为cDNA。利用设计好的荧光定量PCR引物(QRT-8G-F/R、QRT-6G-F/R和QRT-3G-F/R)和Cullin内参基因荧光定量引物(Cullin-F/R)(表1),使用Realtime PCR Super mix SYBR green with anti-Taq试剂盒进行荧光定量PCR反应。每个实验设4次技术重复。

### 1.5 亚细胞定位分析

以豫谷1号孕穗期顶部新展开叶的cDNA为模板,以D27-8G-N-F/R、D27family-6G-N-F/R和D27family-3G-N-F/R为引物,分别扩增Seita.8G168400、Seita.-

6G088800及 *Seita.3G050900* 基因的CDS序列。采用限制性内切酶 *SpeI* 和 *SacI* 双酶切PUC-N端载体, 将扩增得到的PCR片段及酶切载体进行纯化, 并利用同源重组酶进行连接, 分别构建35S::GFP:SiD27、35S::GFP:6G和35S::GFP:3G的亚细胞定位载体。将构建好的亚细胞定位载体分别转化到大肠杆菌 (*Escherichia coli*) (DH5 $\alpha$ 感受态), 挑取单克隆, 利用PUC-N-Test-F/R进行检测, 选取条带大小正确的菌液送测序, 选择与参考序列完全一致的单克隆提取质粒(浓度不低于1 000 ng $\cdot\mu\text{L}^{-1}$ )。以避光条件下长至2–3叶期的豫谷1号幼嫩黄化苗的叶片组织为实验材料, 提取原生质体, 在室温条件下利用40% PEG诱导质粒转化谷子原生质体, 暗培养14–20小时后, 在激光共聚焦显微镜(德国, LSM700)下观察转化后的谷子原生质体。

### 1.6 单倍型变异分析

利用本实验室已测序的1 071份谷子核心种质材料的测序数据(尚未发表)分别对3个D27s基因进行单倍型分析。使用Network软件分析单倍型之间的衍生关系。株高、抽穗期、穗长、穗粗和穗粒重等农艺性状指标于2010年海南三亚、2011年河南安阳、2011年北京顺义和2011年山西长治进行调查, 将位点变异情况和表型进行关联, 两两比较并通过T检验进行差异显著性分析, 结果以箱式图的形式呈现。

## 2 结果与讨论

### 2.1 谷子D27s基因鉴定及基本生物信息学分析

基于HMM模型在谷子、玉米、拟南芥、二穗短柄草、高粱、大麦和青狗尾草的全基因组中均分别鉴定到3个D27s家族成员, 对不同物种的25个D27s蛋白的基本特征(包括氨基酸序列长度、分子量、等电点、不稳定系数、亲水性、二级结构参数及亚细胞定位预测)进行统计分析(表2)。其中25个D27s基因编码的多肽长度介于155–369个氨基酸残基之间, LOC\_Os05g04090编码的多肽长度最短, *Sobic.007G0-16600* 编码的多肽长度最长; 仅AT4G01995和LOC\_Os11g37650预测为疏水蛋白; 预测的D27s亚细胞定位大部分在叶绿体中, 只有AT1G03055和

LOC\_Os05g04090分别定位于质体和细胞质中。谷子的3个D27s (*Seita.8G168400*、*Seita.6G088800* 和 *Seita.3G050900*) 蛋白长度介于271–277个氨基酸残基之间, 分子量为30.1–30.4 kDa, 等电点为5.85–9.31; 不稳定系数为38.48–74.47。

### 2.2 D27s蛋白的系统发育进化分析及同源建模

为进一步分析来自不同物种D27s之间的系统发育关系, 利用已鉴定的8个物种25个D27s蛋白质的氨基酸序列构建系统进化树。结果表明, D27s聚类到3个分枝, 分别命名为Class1、Class2和Class3, 其中Class3数量最多, 玉米D27s三个成员均聚在Class3。其它7个物种的3个家族成员在每组中呈现均等分布, 但拟南芥的不同成员均独立分布, 可能与拟南芥为双子叶植物, 与其它单子叶植物进化关系较远有关(图1)。

同源建模可以进一步了解同一家族成员之间的关系, 我们利用SWISS-MODEL对不同物种的D27s蛋白进行建模, 得到蛋白质三维结构。结果表明, 进化树中Class1–Class3中组内蛋白结构基本相似, 并且同一物种不同组蛋白间的结构差异很大(图2)。

### 2.3 D27s基因结构及保守基序分析

对25个D27s基因的序列进行结构分析, 发现Class1均包含6个外显子和6个内含子, 且基因序列最长; Class2包含5–7个内含子, 基因序列长度居中; 而Class3包含2–3个内含子, 基因序列最短。其中谷子 *Seita.8G168400* (*SiD27-1*) 有6个内含子且基因序列最长, *Seita.6G088800* (*SiD27-2*) 有3个内含子, *Seita.3G050900* (*SiD27-3*) 有7个内含子(图3A)。

利用NCBI、SMART、Pfam数据库及MEME软件对25个成员保守结构域(图3A)及其保守基序进行分析, 结果发现D27s蛋白序列在C端较保守, 包含motif1和motif2的保守结构域(图4), 25个成员中, motif1最为保守, 其次是motif2和motif4。Class1–3具有不同的基序分布, 相比于Class1, Class3中存在特异的motif6, Class2中存在特异的motif3; 并且同一类中保守结构域大多以相同的顺序依次排列, 如Class1中的排列顺序为motif4、motif7、motif2和motif1, 表明同一组内蛋白可能具有相似的功能。值得注意的是, 分布在同一类Class3中的3个玉米D27s

表2 不同物种D27s基因基本特征

Table 2 Characteristics of D27s genes from different plant species

Gene ID	Species	Primary structure				GRAVY	Subcellular location	Secondary structure			
		Length of amino acids	Molecular weight (kDa)	Theoretical PI	Instability index (II)			Alpha helix	Beta bridge	Extended strand	Random coil
AT4G01995	<i>Arabidopsis thaliana</i>	258.00	28636.56	7.97	38.48	0.030	Chloroplast	0.34	0.03	0.15	0.49
AT1G03055	<i>A. thaliana</i>	264.00	29795.14	8.94	53.39	-0.358	Chloroplast	0.35	0.03	0.16	0.46
AT1G64680	<i>A. thaliana</i>	250.00	28162.63	8.52	51.89	-0.333	Chloroplast	0.33	0.03	0.12	0.52
BdiBd21-2.2G0489400	<i>Brachypodium distachyon</i>	268.00	29298.93	8.28	56.92	-0.093	Chloroplast	0.34	0.05	0.11	0.51
BdiBd21-4.4G0220000	<i>B. distachyon</i>	277.00	30715.66	8.76	52.53	-0.091	Chloroplast	0.34	0.02	0.11	0.54
BdiBd21-3.3G0180800	<i>B. distachyon</i>	275.00	30152.06	9.16	58.90	-0.147	Chloroplast	0.33	0.03	0.11	0.53
Seita.6G088800	<i>Setaria italica</i>	271.00	30429.45	8.93	54.85	-0.380	Chloroplast	0.37	0.03	0.09	0.52
Seita.3G050900	<i>S. italica</i>	277.00	30185.83	8.66	58.84	-0.170	Chloroplast	0.32	0.05	0.12	0.51
Seita.8G168400	<i>S. italica</i>	277.00	30185.83	8.66	58.84	-0.170	Chloroplast	0.36	0.03	0.13	0.48
LOC_Os08g02210	<i>Oryza sativa</i>	261.00	28906.58	8.88	49.96	-0.244	Chloroplast	0.35	0.05	0.10	0.50
LOC_Os05g04090	<i>O. sativa</i>	118.00	13355.34	5.85	56.27	-0.186	Cytoplasm	0.23	0.04	0.17	0.56
LOC_Os05g04070	<i>O. sativa</i>	270.00	29343.02	7.94	58.60	-0.047	Chloroplast	0.31	0.04	0.13	0.51
LOC_Os11g37650	<i>O. sativa</i>	365.00	40864.68	8.52	55.08	0.024	Chloroplast	0.34	0.00	0.16	0.45
Sobic.009G030800	<i>Sorghum bicolor</i>	277.00	30225.93	8.51	64.68	-0.182	Chloroplast	0.31	0.05	0.09	0.55
Sobic.005G168200	<i>So. bicolor</i>	292.00	32325.36	8.72	54.69	-0.216	Chloroplast	0.37	0.03	0.13	0.47
Sobic.007G016600	<i>So. bicolor</i>	369.00	30202.19	8.79	62.57	-0.383	Chloroplast	0.33	0.03	0.10	0.54
Sevir.6G087800	<i>Setaria viridis</i>	271.00	30483.49	8.83	55.49	-0.403	Chloroplast	0.38	0.03	0.09	0.49
Sevir.8G177900	<i>Se. viridis</i>	289.00	32243.38	8.82	54.93	-0.187	Chloroplast	0.36	0.03	0.13	0.48
Sevir.3G051400	<i>Se. viridis</i>	277.00	30185.83	8.66	58.84	-0.170	Chloroplast	0.32	0.05	0.12	0.51
Zm00008a034103	<i>Zea mays</i>	202.00	22824.65	9.31	65.45	-0.249	Chloroplast	0.34	0.04	0.18	0.44
Zm00008a023158	<i>Z. mays</i>	155.00	17878.49	8.22	56.01	-0.370	Chloroplast	0.46	0.07	0.14	0.33
Zm00008a023504	<i>Z. mays</i>	235.00	26224.37	8.93	67.47	-0.340	Chloroplast	0.36	0.03	0.12	0.49
HORVU1Hr1G015940	<i>Hordeum vulgare</i>	307.00	33309.59	9.29	65.88	-0.191	Chloroplast	0.34	0.04	0.10	0.52
HORVU7Hr1G076030	<i>H. vulgare</i>	294.00	33156.27	8.63	65.27	-0.413	Chloroplast	0.34	0.05	0.12	0.49
HORVU7Hr1G096970	<i>H. vulgare</i>	275.00	30372.12	8.89	74.47	-0.130	Chloroplast	0.38	0.03	0.13	0.45

GRAVY: 亲水性 GRAVY: Grand average of hydropathicity

具有不同的基序, 除保守序列外, Zm00006a02315-8\_P01特异性具有motif5, Zm00006a023504\_P01特异性具有motif6 (图3B)。

## 2.4 顺式作用元件分析

为探明谷子D27s基因的表达调控模式, 采用PlantCare对谷子D27s基因上游2 000 bp启动子序列进行分析, 结果显示, 3个谷子D27s基因均包含与植

物激素响应相关的ABA响应元件和MeJA响应元件, 与植物生长发育相关的分生组织表达调控元件以及与胁迫相关的光响应元件和厌氧诱导元件。*Seita.6G088800*启动子具有IAA调控元件, *Seita.8G168400*启动子具有种子特异性调控元件、防御和应激反应元件以及昼夜节律调控元件, 表明谷子D27s基因可能在植物激素、生长发育和胁迫应答通路中发挥作用(图5)。

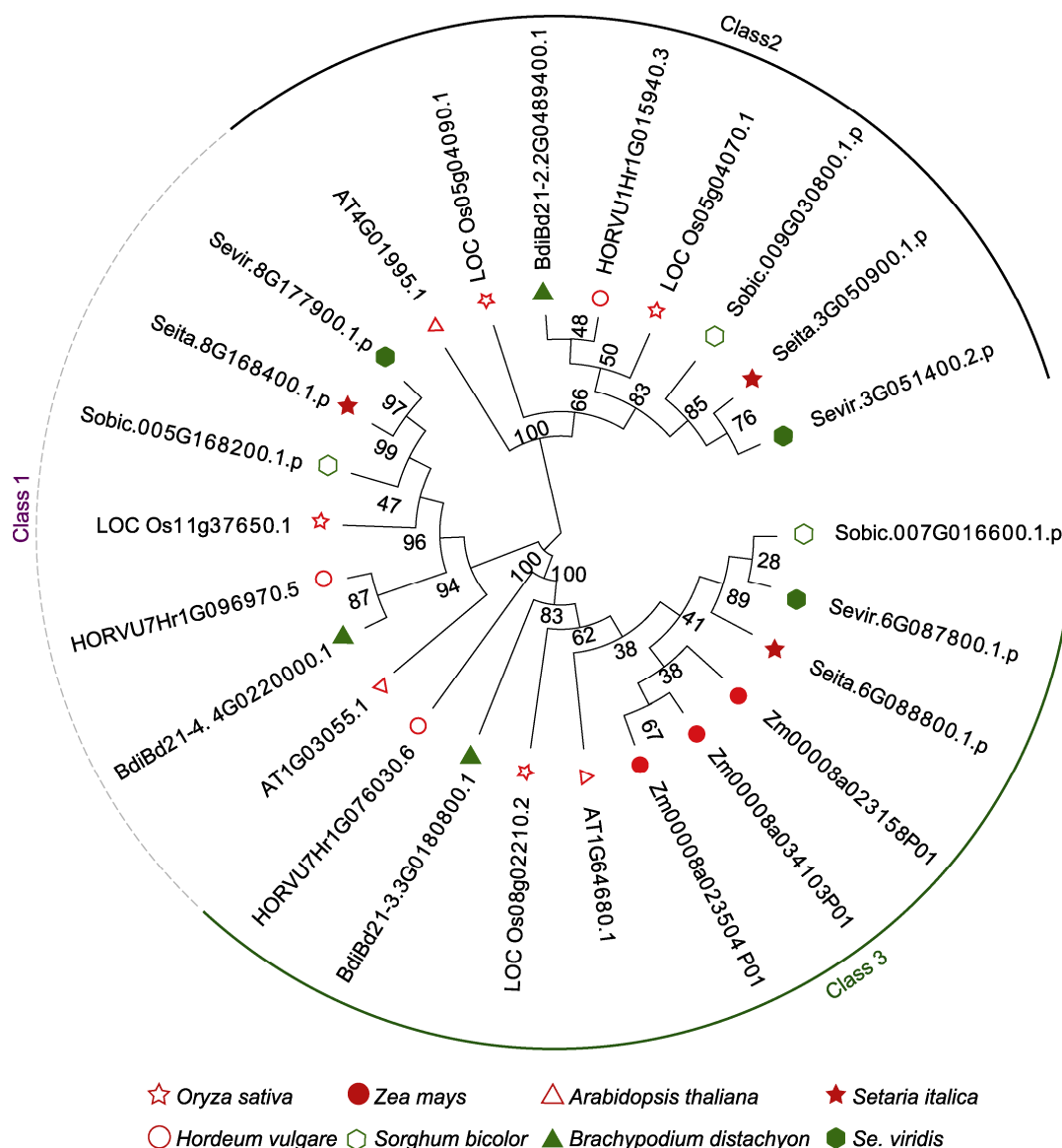


图1 不同作物D27s基因的系统进化树

使用邻接法, 利用8个物种中鉴定的D27s蛋白质的氨基酸序列构建系统进化树。

Figure 1 Phylogenetic trees of D27s genes in different crops

The phylogenetic tree was constructed by using amino acid sequences of D27 proteins from 8 crop species, and the neighbor-joining method.

## 2.5 谷子D27s基因全生育期组织表达特性分析

利用Phytozome 公开数据库中豫谷1号各组织的RNA-seq数据, 对谷子D27s基因分别进行分析, 结果表明, *SiD27-1*基因在穗中高表达, 另外2个成员在叶部及芽中表达, 虽然表达量存在差异, 但表达模式基本相同(图6A)。上述结果表明, 属于同一基因家族的成员表达模式并不完全相同。

此外, 本研究在分析RNA-seq表达谱数据的基础上, 通过温室种植多分蘖材料A10(青狗尾草)和少分蘖材料豫谷1号, 并对植物全生育期(两叶一心期、五叶期、七叶期、孕穗期、抽穗期和开花期)的根、茎、幼叶、老叶、叶鞘和幼穗组织中D27基因的表达量进行鉴定。结果显示, 该基因在2种不同分蘖特征材料的不同组织中均有表达, 在幼叶和叶鞘中高表达, 且在谷子产生分蘖的五叶期, 多分蘖材料茎和叶鞘中D27基

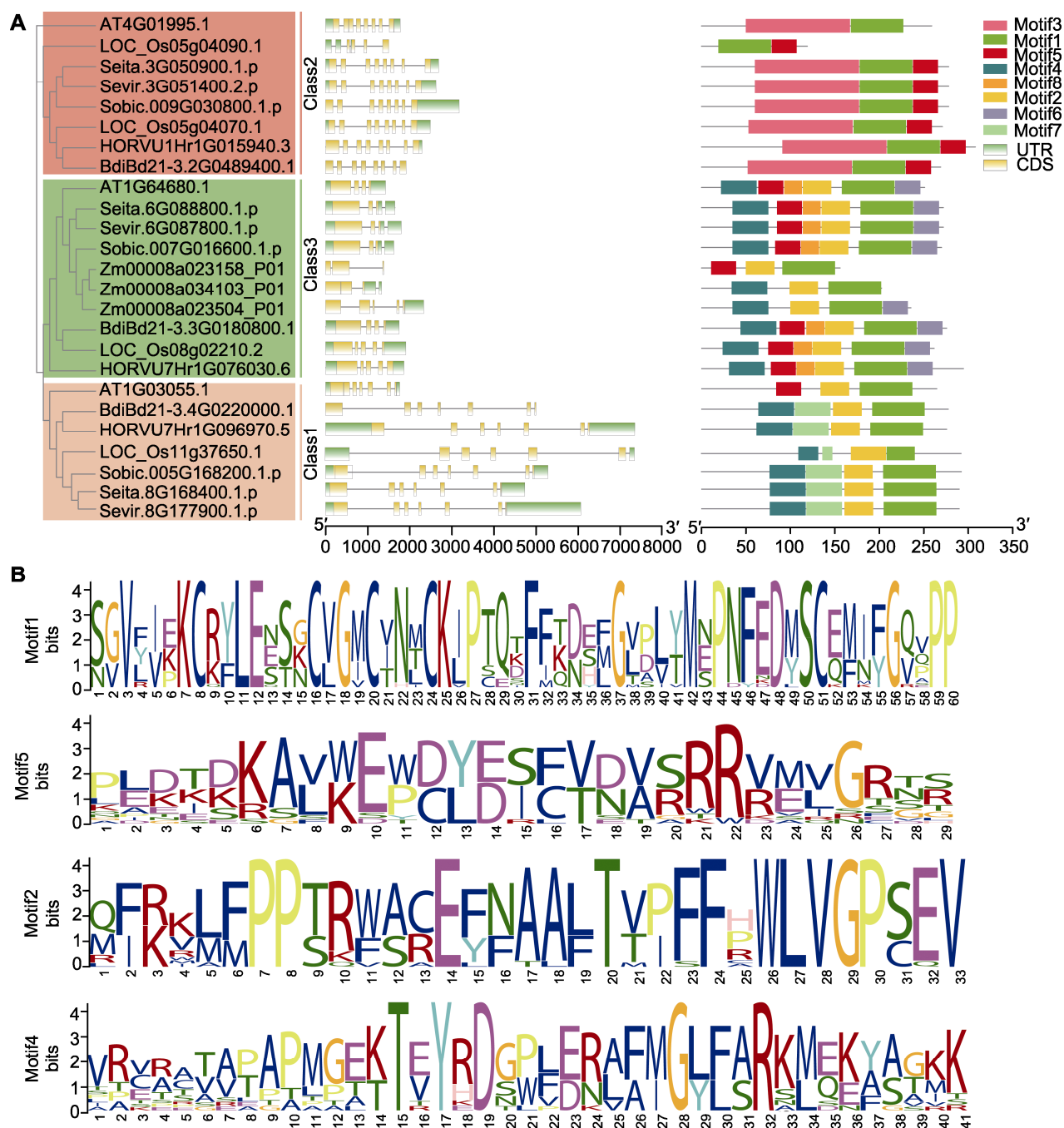
Species	Class1	Class2	Class3
<i>Arabidopsis thaliana</i>			
<i>Brachypodium distachyon</i>			
<i>Hordeum vulgare</i>			
<i>Oryza sativa</i>			
<i>Setaria italica</i>			
<i>Se. viridis</i>			
<i>Sorghum bicolor</i>			
<i>Zea mays</i>			

**图2** 不同物种D27s的三级结构

根据系统进化树对拟南芥、二穗短柄草、大麦、水稻、谷子、青狗尾草、高粱和玉米不同分支成员三级结构进行可视化，其中Class1、Class2和Class3分别对应系统进化树中的第一、二和三分支。

**Figure 2** Tertiary structure of D27s in different species

The tertiary structure of D27s in *Arabidopsis thaliana*, *Brachypodium distachyon*, *Hordeum vulgare*, *Oryza sativa*, *Setaria italica*, *Se. viridis*, *Sorghum bicolor* and *Zea mays* are visualized according to the phylogenetic tree. Class1, Class2 and Class3 correspond to the first, second and third clades of the phylogenetic tree, respectively.

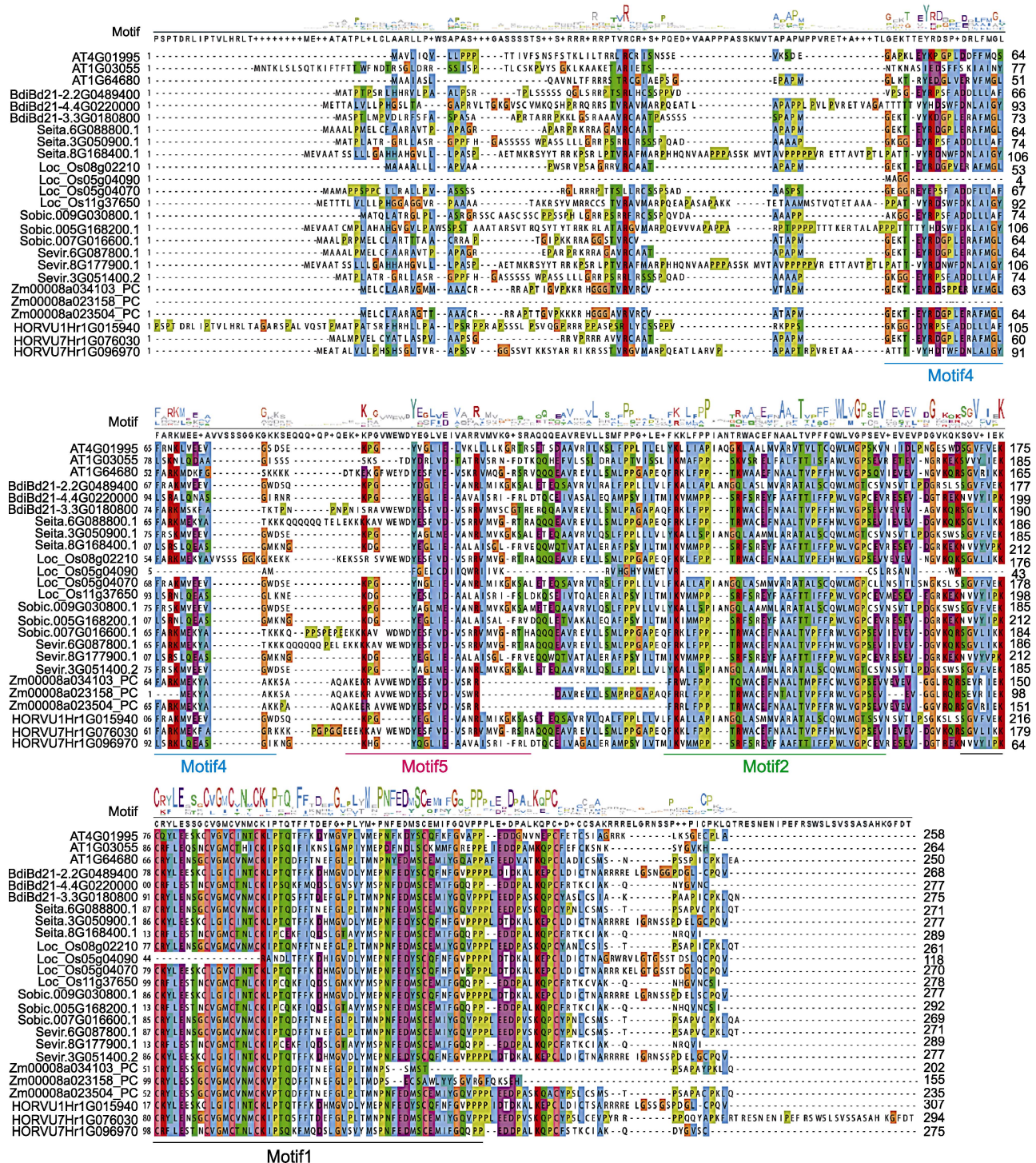


**图3** *D27s*基因的结构及其编码蛋白质的保守基序分析

(A) *D27s*基因的结构及其编码蛋白质的保守结构域分析(基于进化树分类(左侧), 对25个*D27s*基因的结构(中间)及其编码蛋白的保守结构域(右侧)进行了分析; 中间部分横线代表内含子, 右侧部分的不同颜色代表不同保守结构域; 下方比例尺代表基因或蛋白长度); (B) 25个*D27s*成员序列比对生成的保守基序logo。UTR: 非翻译区; CDS: 编码序列

**Figure 3** A gene structures of *D27s* genes and conserved motifs in the *D27s*

(A) Analysis of *D27s* gene structure and *D27* protein conserved domains (based on evolutionary tree (left), 25 *D27s* genes were analyzed for gene structure (middle) and protein conserved domains (right); horizontal lines in the middle represent introns, different colors in the right part represent different conserved domains; the lower scale represents gene or protein length); (B) The conservative motif logo generated by comparison of amino acid sequences of 25 *D27s* members. UTR: Untranslated region; CDS: Coding sequence



**图4** 8个不同物种D27氨基酸序列的多重比对  
8个物种的25个D27s成员蛋白序列均存在motif1、motif2、motif4和motif5，其中motif1用黑色标注；motif2用绿色标注；motif4用蓝色标注；motif5用红色标注。

**Figure 4** Alignment of amino acid sequences of D27s from 8 different species  
Motif1, motif2, motif4 and motif5 are found in 25 D27s sequences of 8 species, and motif1 is marked in black; motif2 is marked in green; motif4 is marked in blue; motif5 is marked in red.

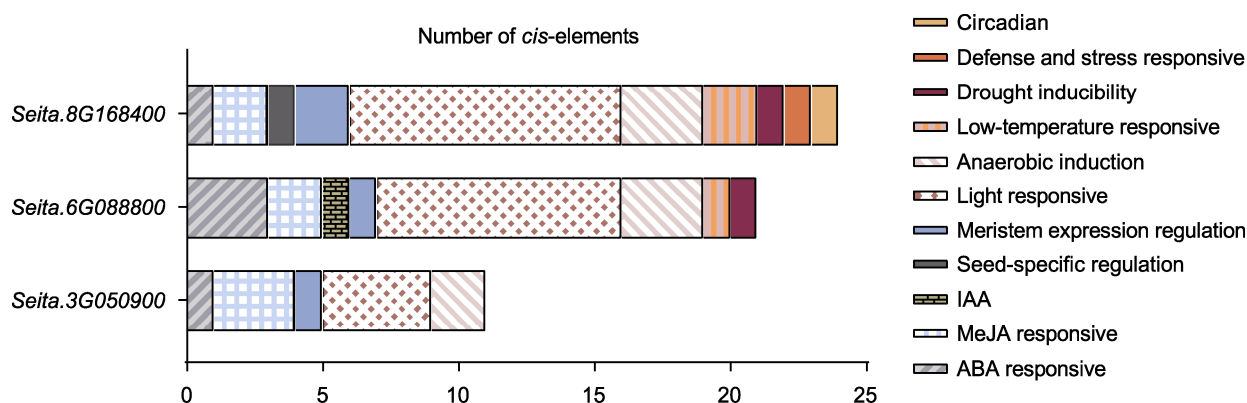


图5  $D27s$ 顺式作用元件预测

谷子 $D27$ 基因上游2 000 bp启动子区顺式作用元件示意图。不同颜色的矩形框代表不同的顺式作用元件。

### Figure 5 Prediction of $D27s$ cis-element

Diagram of *cis*-acting elements in the 2 000 bp upstream promoter regions of foxtail millet  $D27$  genes. Rectangular boxes with different colors represent different *cis*-elements.

因表达量低于少分蘖材料(图6B, C)。

## 2.6 $SiD27s$ 基因对磷胁迫的响应

磷元素是影响植物生长发育的关键元素,也是植物适应环境的重要基础。缺磷导致根际分泌SLs增加,而 $D27$ 是SLs的上游合成基因。为了明确磷元素如何影响 $D27s$ 基因的表达,通过水培种植少分蘖材料豫谷1号进行缺磷胁迫。结果显示,在缺磷条件下,该家族的3个基因响应模式基本相同,基因表达量均先上升后下降。 $Seita.8G168400$  ( $SiD27-1$ )基因在缺磷胁迫1小时后表达水平迅速上升达到峰值,随后缓慢下降,在茎中表达量上调最快,而其它2个成员在缺磷胁迫后表达量缓慢上升,直至胁迫6小时后达到峰值,即 $SiD27-1$ 基因的缺磷响应速度快于其它基因(图7A–C)。

## 2.7 $D27s$ 蛋白质的亚细胞定位

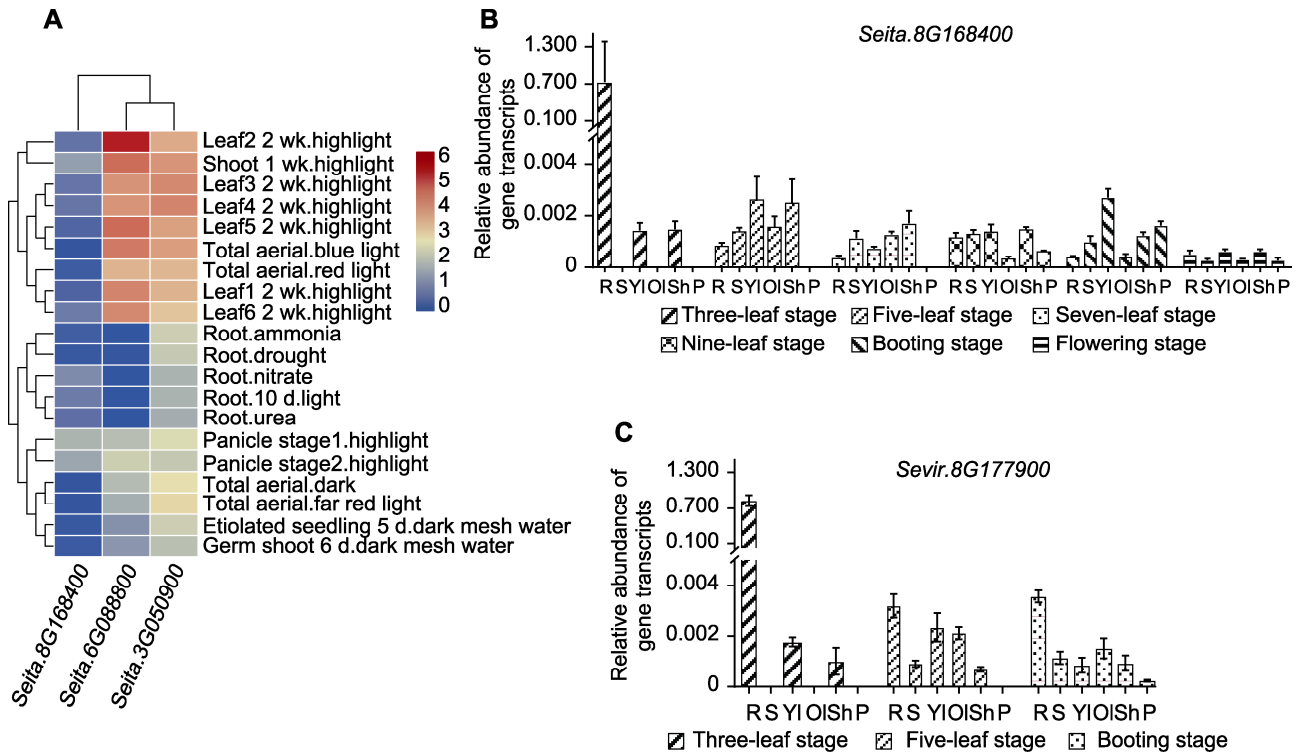
分别构建以PUC载体为骨架的亚细胞定位载体,利用谷子原生质体进行蛋白瞬时表达,结果表明,空载35S::GFP在细胞膜及细胞质中均存在荧光信号, $D27s$ 成员融合蛋白均仅在叶绿体中有绿色荧光信号,表明该家族蛋白在谷子中均定位于叶绿体(图8)。

## 2.8 谷子 $D27s$ 基因编码区核苷酸序列遗传多态性分析

为明确谷子 $D27s$ 基因的遗传多态性,利用已测序的1 701份不同来源种质资源(包括1 122份育成品种和

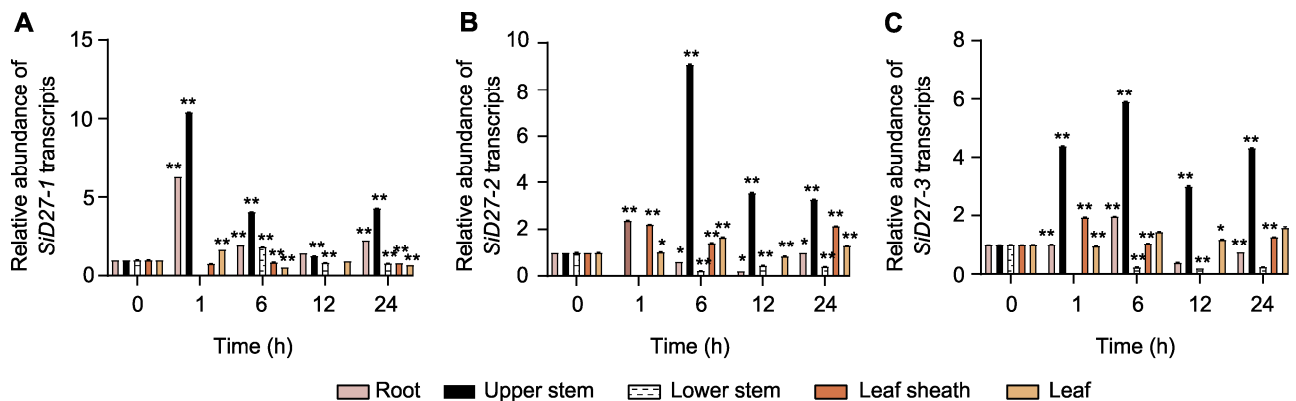
579份野生品种)对 $D27s$ 基因的编码区变异位点进行分型分析(图9A, B)。结果表明,  $SiD27-2$  ( $Seita.6G088800$ )仅1个位点发生变异,共2种单倍型(HAP1和HAP2),其中大部分材料(1 587份)属于HAP1, HAP2仅84份材料;  $SiD27-3$  ( $Seita.3G050900$ )编码区序列保守,无变异(数据未附上)。  $SiD27-1$ 外显子区存在3个位点的变异分型,且均为非同义突变,分别为T140G (L21R)、G275C (S66T)和A769T (I231L),共组合成6种单倍型。其中H001 (单倍型频率为572)、H002 (单倍型频率为760)、H004 (单倍型频率为254)和H006 (单倍型频率为106)为主要单倍型; H024和H231所涵盖的材料数不足1%,为稀有单倍型(图9)。

将 $SiD27-1$ 变异位点与基因结构和基序相结合,发现T140G (L21R)和G275C (S66T)位于第1外显子, A769T (I231L)位于第5外显子,且位于C端保守的结构域motif1 (DUF4033)。将 $SiD27-1$ 基因的4类主要单倍型与2010年海南三亚、2011年河南安阳、2011年北京顺义和2011年山西长治的1 701份表型数据进行关联分析,结果显示,  $SiD27-1$ 各类单倍型在不同环境下分蘖表型均无差异,但H001单倍型在不同环境下相比其它单倍型均呈现出较短的抽穗期(25–42天)、较大的穗长、穗粗及穗粒重。仅将位于保守结构域的2个位点与分蘖表型进行关联,发现H006表现出显著的多分蘖。因此,  $SiD27-1$ 的H001是育种过程中可选择利用的优异单倍型,且G275C (S66T)和A769T (I231L)可能是影响分蘖的关键位点(图10)。



**图6** *D27s*基因在不同分蘖材料中的全生育期表达谱  
(A) *D27s*基因在豫谷1号不同组织中的表达模式; (B) *SiD27-1*在少分蘖材料豫谷1号全生育期不同组织中的表达; (C) *SvD27-1*在多分蘖材料A10全生育期不同组织中的表达。R代表根, S代表茎, YI代表幼叶, OI代表老叶, Sh代表叶鞘, P代表穗。

**Figure 6** Expression of *D27s* genes throughout the reproductive period in different tiller materials  
(A) Expression patterns of *D27s* genes in different tissues of Yugu1; (B) Expression of *SiD27-1* in different tissues of less tiller material Yugu1 reproductive period; (C) Expression of *SvD27-1* in different tissues of multi-tiller material A10 reproductive period. R stand for root, S stand for stem, YI stand for young leaf, OI stand for old leaf, Sh stand for leaf sheath, and P stand for spike.



**图7** *D27s*在缺磷条件下不同组织中的响应模式  
(A) *Seita.8G168400* (*SiD27-1*); (B) *Seita.6G088800* (*SiD27-2*); (C) *Seita.3G050900* (*SiD27-3*)。\*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$

**Figure 7** Responsive pattern of *D27s* in different tissues under phosphorus (P) deficiency treatment  
(A) *Seita.8G168400* (*SiD27-1*); (B) *Seita.6G088800* (*SiD27-2*); (C) *Seita.3G050900* (*SiD27-3*)。\*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$

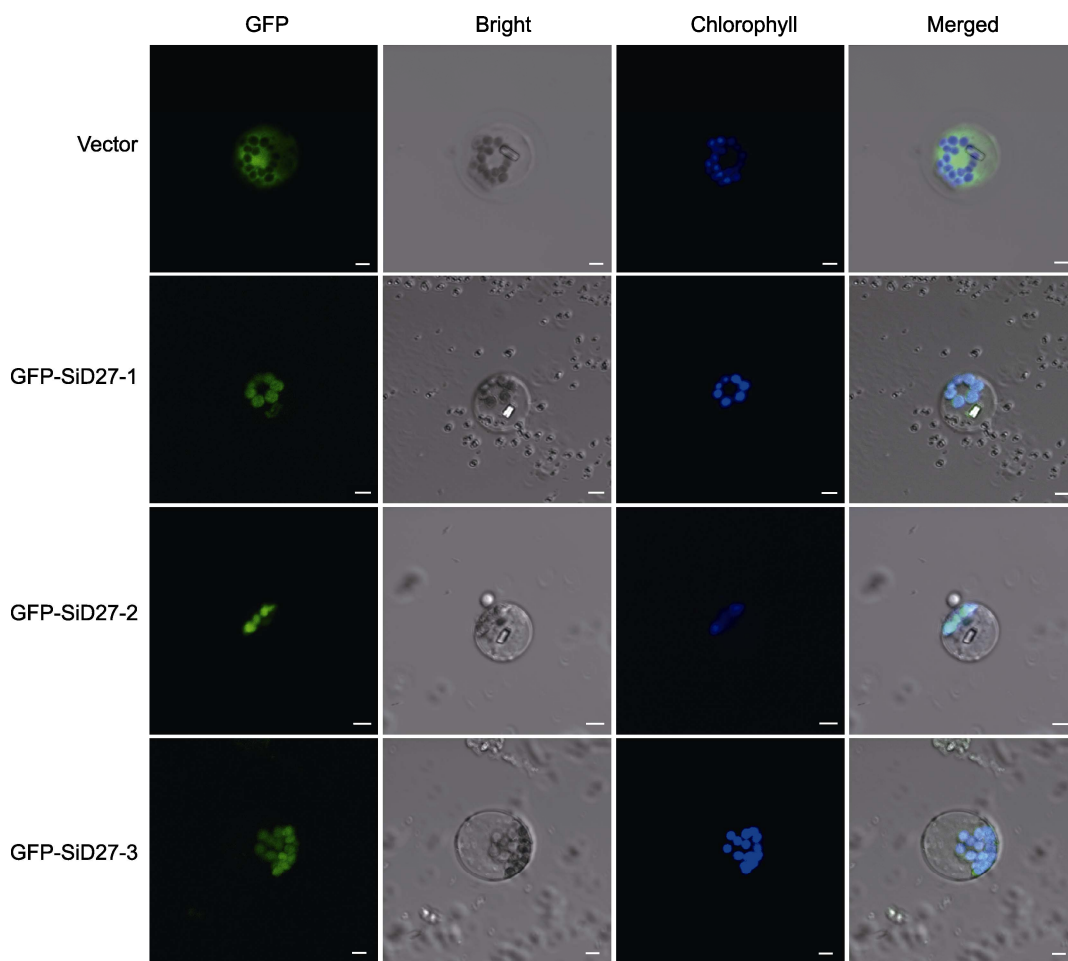


图8 D27s蛋白的亚细胞定位  
GFP代表绿色荧光蛋白。Bars=5  $\mu$ m

Figure 8 Subcellular localization of D27 proteins  
GFP represents green fluorescence protein. Bars=5  $\mu$ m

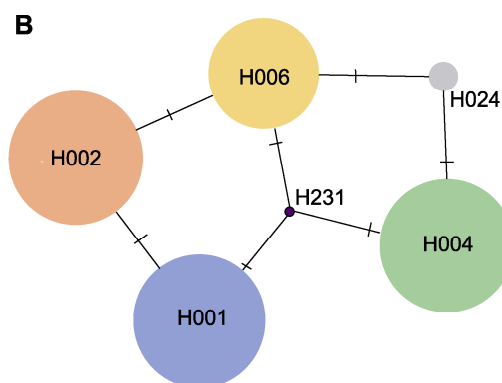
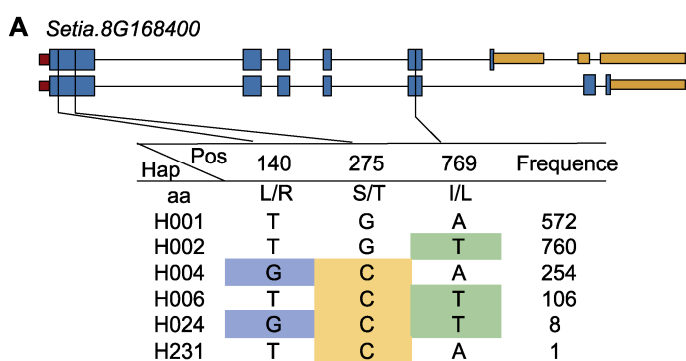


图9 *SiD27-1*序列多态性分析

(A) *SiD27-1*的基因结构和单倍型分析; (B) 单倍型变异分析(圆的大小表示每个Hap中的品种数量; 导线表示2个Haps之间的变化程度)

Figure 9 Sequence polymorphism analysis of *SiD27-1*

(A) The gene structure of *SiD27-1* and its haplotypes; (B) Haplotype variation analysis (circle size indicate the number of varieties in each Hap; traverse lines represent the extent of variation between two Haps)

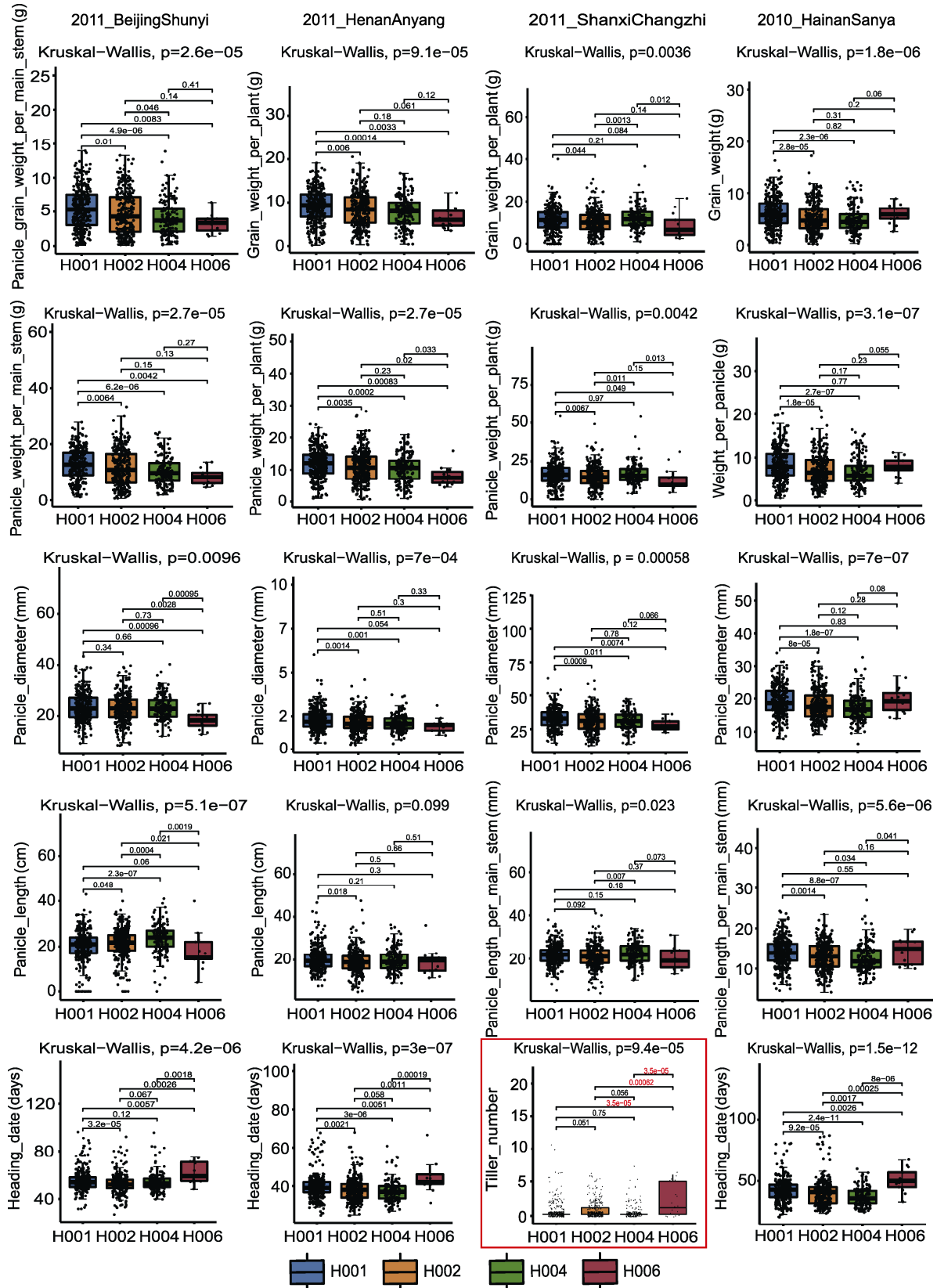


图 10  
Figure 10

图10 *SiD27-1*与不同年份表型数据关联的箱式图  
红框代表*SiD27-1*基因型与分蘖表型的关联分析

Figure 10 Box plot of *SiD27-1* associated with phenotypic data in different years  
The red box represent the association analysis between *SiD27-1* genotype and tiller phenotype

## 2.9 讨论

### 2.9.1 *SiD27-1*是谷子*D27s*家族基因中对磷胁迫响应最快的成员且负调控分蘖性

SLs由类胡萝卜素经脱氧和氧化等过程生成独脚金醇, 然后转化为有生物活性的SLs (Koltai and Beveridge, 2013), 是一种能抑制叶腋发育和植物分枝的新型植物激素(Gomez-Roldan et al., 2008)。目前, 在甘蔗(*Saccharum officinarum*) (吴转娣, 2017)和菊花(*Dendranthema grandiflorum*) (Wen et al., 2016)中已鉴定出SLs合成通路上游基因*D27*的家族成员, 且在拟南芥(Waters et al., 2012; Abuauf et al., 2018)和水稻(Gomez-Roldan et al., 2008; Umehara et al., 2008)中均已报道关于SLs合成途径*D27*基因对分枝/分蘖的影响, 说明*D27*基因通过SLs合成减少植株分蘖性。但目前谷子上尚无该基因的相关报道。本研究中, *SiD27-1* (*Seita.8G168400*)编码蛋白长度为277个氨基酸残基, 等电点为8.60, 分子量为30.185 kDa, 具有DUF4033结构域, 包含4个motifs, 定位于叶绿体, 且*Seita.8G168400* (*SiD27-1*)在不同分蘖材料的全生育期各个组织中均有表达, 在多分蘖材料中的表达量低于少分蘖材料, 说明在多分蘖材料中该基因表达受到抑制, 这与水稻(Lin et al., 2009)和小麦(*Triticum aestivum*) (Zhao et al., 2020)中的研究结果一致。

SLs的合成亦受环境因素影响。磷元素是植物生长发育的必需营养元素之一, 以各种形式存在并具有不可替代的作用。土壤中的磷主要以无机正磷酸盐( $H_2PO_4$ )的形式被植物根系吸收利用。磷胁迫下植物通常通过根系形态的适应性变化提高植物对土壤磷的吸收能力(Kronzucker et al., 1998)。低磷胁迫是一个长距离的系统信号转导过程(Hammond and White, 2011)。植物通过改变根系形态和分泌更多的根系分泌物来适应低磷胁迫。研究表明, 相比正常磷供应, 豆科植物红车轴草(*Trifolium pratense*) (俗名红三叶)和非豆科植物番茄和水稻, 在低磷条件下SLs的合成分泌显著增加。在转入正常供磷条件后,

SLs的合成分泌则会迅速下降(Yoneyama et al., 2007; López-Ráez et al., 2008)。在高粱中也发现, 低磷和低氮条件均能上调SLs的生物合成和分泌(Marro et al., 2022)。本研究对谷子*D27s*基因家族成员进行低磷胁迫, 并对不同组织的基因表达量进行分析, 结果显示, 3个基因在收到磷胁迫信号后产生不同程度的响应, 尤其是茎和根部。值得注意的是, *SiD27-1*在受到低磷胁迫1小时后迅速发生响应, 基因表达量达到峰值, 而其它2个成员在磷胁迫6小时后才达到峰值, 推测在受到磷胁迫后, *SiD27-1*作为第一响应基因, 迅速上调从而促进SLs的合成, 而另外2个基因可能对长时间受到磷胁迫的SL合成有一定的辅助作用。

### 2.9.2 谷子*D27s*基因协同调控昼夜节律和植物生长发育

*D27*基因编码一种植物特有蛋白, 该蛋白在动物或真菌中不存在。本研究表明, 谷子*D27s*基因家族成员数量较少(3个), 推测该基因家族较为保守; 同时, 谷子*D27s*基因家族成员蛋白长度和分子量相似, 但不稳定系数差异却很大, 可能不同成员的核苷酸序列存在影响蛋白稳定性的位点或残基。对8个物种的25个成员进行多序列比对, 发现包含4个保守结构域, 且与其它物种同源蛋白进行比对后发现蛋白序列C端较为保守, 可能C端结构域是基因功能的主要结构域。

顺式作用元件预测结果显示, *D27s*基因家族所有成员的启动子均含有ABA响应元件、MeJA响应元件、分生组织表达调控、光响应元件和厌氧诱导元件, 说明该家族可能受植物激素影响, 并且参与光信号途径, 从而影响分生组织活性表达。其中, *Seita.-8G168400*启动子中存在种子特异性调控元件、防御和应激反应元件及昼夜节律调控元件, 表明*Seita.-8G168400*可能受胁迫诱导和昼夜节律调控。*Seita.-6G088800*启动子上有IAA调控元件。Dun等(2009)研究表明, SLs主要在植物的根部和茎下部合成, 并向地上部运输至侧芽, 从而抑制侧芽生长(Brewer et al., 2009; Umehara et al., 2010)。因此, *Seita.6G-*

088800除了受ABA和MeJA影响,可能对生长素也有特异性响应,推测其通过改变生长素极性运输活性影响分蘖性。

**2.9.3 *SiD27-1*存在育种中可利用的H001优异单倍型**  
株型改良是提高农作物单产的有效途径,单倍型分析可为分子育种手段的研发提供关键变异信息。本研究利用已测序的1701份谷子种质资源对*D27s*基因家族3个成员进行单倍型分析,表明*SiD27-2*和*SiD27-3*序列保守,仅*SiD27-1*存在明显分型,但*SiD27-1*各类单倍型在不同环境下分蘖表型均无差异,而仅位于保守结构域的2个位点与表型关联,发现H006呈现显著多分蘖,可能T140G (L21R)位点对分蘖影响较小,而A769T (I231L)位点位于保守的DUF4033结构域上,可能对基因功能影响较大。此外,分蘖性状受环境影响较大,导致分蘖数在不同年份不同地点的数据不稳定。研究表明,SLs途径的基因突变通常导致植物分蘖或分枝数目改变,分蘖数增加的同时伴随株高降低(Liao et al., 2019)、抽穗期提前(Kebrom and Mullet, 2016; Li et al., 2021)以及穗数增加(Wang et al., 2020)。因此,对分蘖性状的鉴定通常伴随使用株高和抽穗期等性状。将*SiD27-1*的4类主要单倍型与抽穗期和产量性状进行关联,发现*SiD27-1*基因的H001单倍型相比其它单倍型表现为较短的抽穗期(25–42天)、较大的穗长、穗粗及穗粒重,是育种过程中可选择利用的优异单倍型,该基因的G275C (S66T)和A769T (I231L)两个位点可能是影响分蘖的关键调控位点。

## 参考文献

常金科,黎家 (2017). 独脚金内酯信号感知揭示配体-受体作用新机制. 植物学报 **52**, 123–127.

刁现民 (2019). 禾谷类杂粮作物耐逆和栽培技术研究新进展. 中国农业科学 **52**, 3943–3949.

贾冠清,刁现民 (2017). 谷子(*Setaria italica* (L.) P. Beauv.) 作为功能基因组研究模式植物的发展现状及趋势. 生命科学 **29**, 292–301.

黎家 (2018). 植物激素——植物学研究永恒的话题. 生物技术通报 **34**, 5–6.

黎舒佳,高谨,李家洋,王永红 (2015). 独脚金内酯调控水稻分蘖的研究进展. 植物学报 **50**, 539–548.

李学勇,钱前,李家洋 (2003). 水稻分蘖的分子机理研究. 中国科学院院刊 **18**, 274–276.

刘艳,彭晓丹,李洋 (2016). 几种水培液对香根草生长情况的影响. 农技服务 **33**, 23–25.

王闵霞,彭鹏,龙海馨,王平,白玉路,李学勇 (2014). 独脚金内酯途径相关基因的研究进展. 分子植物育种 **12**, 603–609.

吴转娣,刘新龙,刘家勇,管逢刚,李旭娟,刘洪博,林秀琴,陈学宽,苏火生,赵培方,吴才文 (2017). 甘蔗独脚金内酯生物合成关键基因*ScD27*的克隆与表达分析. 作物学报 **43**, 31–41.

许智宏,李家洋 (2006). 中国植物激素研究:过去,现在和未来. 植物学报 **23**, 433.

Abuauf H, Haider I, Jia KP, Ablazov A, Mi JN, Blilou I, Al-Babili S (2018). The *Arabidopsis DWARF27* gene encodes an all-*trans*-*l9-cis*- $\beta$ -carotene isomerase and is induced by auxin, abscisic acid and phosphate deficiency. *Plant Sci* **277**, 33–42.

Bailey TL, Williams N, Misleh C, Li WW (2006). MEME: discovering and analyzing DNA and protein sequence motifs. *Nucleic Acids Res* **34**, W369–W373.

Brewer PB, Dun EA, Ferguson BJ, Rameau C, Beveridge CA (2009). Strigolactone acts downstream of auxin to regulate bud outgrowth in pea and *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **150**, 482–493.

Chen CJ, Chen H, Zhang Y, Thomas HR, Frank MH, He YH, Xia R (2020). TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data. *Mol Plant* **13**, 1194–1202.

Cook CE, Whichard LP, Turner B, Wall ME, Egley GH (1966). Germination of witchweed (*Striga lutea* Lour.): isolation and properties of a potent stimulant. *Science* **154**, 1189–1190.

Fang ZM, Ji YY, Hu J, Guo RK, Sun SY, Wang XL (2020). Strigolactones and brassinosteroids antagonistically regulate the stability of the D53-OsBZR1 complex to determine *FC1* expression in rice tillering. *Mol Plant* **13**, 586–597.

Gao HB, Wang WG, Wang YH, Liang Y (2019). Molecular mechanisms underlying plant architecture and its environmental plasticity in rice. *Mol Breeding* **39**, 167.

Gomez-Roldan V, Fermas S, Brewer PB, Puech-Pagès V, Dun EA, Pillot JP, Letisse F, Matusova R, Danoun S, Portais JC, Bouwmeester H, Bécard G, Beveridge CA, Rameau C, Rochange S (2008). Strigolactone inhibition of shoot branching. *Nature* **455**, 189–194.

Hammond JP, White PJ (2011). Sugar signaling in root

- responses to low phosphorus availability. *Plant Physiol* **156**, 1033–1040.
- Ito S, Ito K, Abeta N, Takahashi R, Sasaki Y, Yajima S** (2016). Effects of strigolactone signaling on *Arabidopsis* growth under nitrogen deficient stress condition. *Plant Signaling Behav* **11**, e1126031.
- Kebrom TH, Mullet JE** (2016). Transcriptome profiling of tiller buds provides new insights into PhyB regulation of tillering and indeterminate growth in sorghum. *Plant Physiol* **170**, 2232–2250.
- Koltai H, Beveridge CA** (2013). Strigolactones and the coordinated development of shoot and root. In: Baluška F, ed. Long-Distance Systemic Signaling and Communication in Plants. Berlin: Springer. pp. 189–204.
- Koltai H, Cohen M, Chesin O, Mayzlish-Gati E, Bécard G, Puech V, Dor BB, Resnick N, Wininger S, Kapulnik Y** (2011). Light is a positive regulator of strigolactone levels in tomato roots. *J Plant Physiol* **168**, 1993–1996.
- Kronzucker HJ, Kirk GJD, Siddiqi MY, Glass ADM** (1998). Effects of hypoxia on  $^{13}\text{NH}_4^+$  fluxes in rice roots: kinetics and compartmental analysis. *Plant Physiol* **116**, 581–587.
- Lescot M, Déhais P, Thijs G, Marchal K, Moreau Y, Van De Peer Y, Rouzé P, Rombauts S** (2002). PlantCARE, a database of plant *cis*-acting regulatory elements and a portal to tools for *in silico* analysis of promoter sequences. *Nucleic Acids Res* **30**, 325–327.
- Li B, Du X, Fei YY, Wang FQ, Xu Y, Li X, Li WQ, Chen ZH, Fan FJ, Wang J, Tao YJ, Jiang YJ, Zhu QH, Yang J** (2021). Efficient breeding of early-maturing rice cultivar by editing *PHYC* via CRISPR/Cas9. *Rice* **14**, 86.
- Liao ZG, Yu H, Duan JB, Yuan K, Yu CJ, Meng XB, Kou LQ, Chen MJ, Jing YH, Liu GF, Smith SM, Li JY** (2019). SLR1 inhibits MOC1 degradation to coordinate tiller number and plant height in rice. *Nat Commun* **10**, 2738.
- Lin H, Wang RX, Qian Q, Yan MX, Meng XB, Fu ZM, Yan CY, Jiang B, Su Z, Li JY, Wang YH** (2009). DWARF27, an iron-containing protein required for the biosynthesis of strigolactones, regulates rice tiller bud outgrowth. *Plant Cell* **21**, 1512–1525.
- López-Ráez JA, Charnikhova T, Gómez-Roldán V, Matusova R, Kohlen W, De Vos R, Verstappen F, Puech-Pages V, Bécard G, Mulder P, Bouwmeester H** (2008). Tomato strigolactones are derived from carotenoids and their biosynthesis is promoted by phosphate starvation. *New Phytol* **178**, 863–874.
- Marro N, Lidoy J, Chico MÁ, Rial C, García J, Varela RM, Macías FA, Pozo MJ, Janoušková M, López-Ráez JA** (2022). Strigolactones: new players in the nitrogen-phosphorus signaling interplay. *Plant Cell Environ* **45**, 512–527.
- Matusova R, Rani K, Verstappen FWA, Franssen MCR, Beale MH, Bouwmeester HJ** (2005). The strigolactone germination stimulants of the plant-parasitic *Striga* and *Orobanch* spp. are derived from the carotenoid pathway. *Plant Physiol* **139**, 920–934.
- Minh BQ, Schmidt HA, Chernomor O, Schrepf D, Woodhams MD, Von Haeseler A, Lanfear R** (2020). IQ-TREE 2: new models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. *Mol Biol Evol* **37**, 1530–1534.
- Umehara M, Hanada A, Magome H, Takeda-Kamiya N, Yamaguchi S** (2010). Contribution of strigolactones to the inhibition of tiller bud outgrowth under phosphate deficiency in rice. *Plant Cell Physiol* **51**, 1118–1126.
- Umehara M, Hanada A, Yoshida S, Akiyama K, Arite T, Takeda-Kamiya N, Magome H, Kamiya Y, Shirasu K, Yoneyama K, Kozuka J, Yamaguchi S** (2008). Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. *Nature* **455**, 195–200.
- Wang B, Smith SM, Li JY** (2018). Genetic regulation of shoot architecture. *Annu Rev Plant Biol* **69**, 437–468.
- Wang YX, Shang LG, Yu H, Zeng LJ, Hu J, Ni S, Rao YC, Li SF, Chu JF, Meng XB, Wang L, Hu P, Yan JJ, Kang SJ, Qu MH, Lin H, Wang T, Wang Q, Hu XM, Chen HQ, Wang B, Gao ZY, Guo LB, Zeng DL, Zhu XD, Xiong GS, Li JY, Qian Q** (2020). A strigolactone biosynthesis gene contributed to the green revolution in rice. *Mol Plant* **13**, 923–932.
- Waters MT, Brewer PB, Bussell JD, Smith SM, Beveridge CA** (2012). The *Arabidopsis* ortholog of rice DWARF27 acts upstream of *MAX1* in the control of plant development by strigolactones. *Plant Physiol* **159**, 1073–1085.
- Wen C, Zhao QC, Nie J, Liu GQ, Shen L, Cheng CX, Xi L, Ma N, Zhao LJ** (2016). Physiological controls of chrysanthemum *DgD27* gene expression in regulation of shoot branching. *Plant Cell Rep* **35**, 1053–1070.
- Yoneyama K, Yoneyama K, Takeuchi Y, Sekimoto H** (2007). Phosphorus deficiency in red clover promotes exudation of orobanchol, the signal for mycorrhizal symbionts and germination stimulant for root parasites. *Planta* **225**, 1031–1038.
- Zhang L, Yu H, Ma B, Liu GF, Wang JJ, Wang JM, Gao RC, Li JJ, Liu JY, Xu J, Zhang YY, Li Q, Huang XH, Xu JL, Li JM, Qian Q, Han B, He ZH, Li JY** (2017). A natural tandem array alleviates epigenetic repression of *IPA1* and

leads to superior yielding rice. *Nat Commun* **8**, 14798.

Zhao B, Wu TT, Ma SS, Jiang DJ, Bie XM, Sui N, Zhang

XS, Wang F (2020). *TaD27-B* gene controls the tiller number in hexaploid wheat. *Plant Biotechnol J* **18**, 513–525.

## Analyses on the Transcription and Structure Variation of $\beta$ -carotene Isomerase Gene Family in Foxtail Millet

Hui Zhang, Hongkai Liang, Hui Zhi, Linlin Zhang, Xianmin Diao\*, Guanqing Jia\*

*Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China*

**Abstract** Plant architecture is of great importance for yield improvement of cereal crops, and improvement of plant architecture is of great significance for improving crop yield potential. As a newly identified plant hormone, strigolactones is one of plant hormones regulating branching and tillering by inhibiting the elongation of axillary buds.  $\beta$ -carotene isomerase is the key enzyme for strigolactone synthesis. By the typical domain Pfam:DUF4033, all members in the  $\beta$ -carotene isomerase gene family in foxtail millet (*Setaria italica*) were identified (*Seita.8G168400*, *Seita.6G088800*, *Seita.3G-050900*), encoding 271 to 277 amino acid residues with molecular weight ranging from 30.1 kDa to 30.4 kDa, isoelectric point ranging from 5.85 to 9.31, and instability coefficient ranging from 38.48 to 74.47. All members were subcellularly localized in chloroplast, and were grouped into three different evolutionary branches. *Cis*-element analysis revealed that *SiD27-1* (*Seita.8G168400*) was involved in regulating circadian rhythm, auxin-mediated development, and response to drought and low temperature. Transcription of *SiD27-1* was down-regulated in foxtail millet accessions with more tillers, and in low phosphorus treatment could respond to faster than all other members. Haplotype variation analysis revealed that H001 of *SiD27-1* may contribute more to plant height, heading date and grain yield than other haplotypes. We inferred that *SiD27-1* was involved in strigolactone synthesis and plant architecture in foxtail millet. It laid the foundation for in-depth analysis of regulatory mechanism of *D27s* on the formation of foxtail millet tillering, and provided allelic variation sites for molecular breeding of foxtail millet.

**Key words**  $\beta$ -carotene isomerase, gene families, transcription, haplotype variation, foxtail millet

Zhang H, Liang HK, Zhi H, Zhang LL, Diao XM, Jia GQ (2023). Analyses on the transcription and structure variation of  $\beta$ -carotene isomerase gene family in foxtail millet. *Chin Bull Bot* **58**, 34–50.

---

\* Authors for correspondence. E-mail: diaoxianmin@caas.cn; jiaguanqing@caas.cn

(责任编辑: 朱亚娜)