

玉米 *ARF* 家族基因在雌花序发育过程中的表达分析

王景超, 程彬, 于晓菲, 齐云, 于军, 张君, 张娟\* (山东省产品质量检验研究院, 山东济南 250100)

**摘要** 利用实时定量 PCR 方法对玉米中的 35 个 *ARF* 家族基因在雌花序不同发育时期的表达模式进行了分析。利用 Genevestigator 网站中转录组数据库的信息, 分析发现, 玉米 7 个不同发育时期均有 1 到多个 *ARF* 基因表达, 表明 *ARF* 家族基因在玉米不同发育时期的调控中发挥重要作用。转录组数据还显示, 每个 *ARF* 基因均在玉米花序发育时期具有较高表达水平。为了探究玉米雌花序发育过程中 *ARF* 基因家族的表达模式, 利用 qRT-PCR 技术对玉米 *ARF* 家族成员在雌花序不同发育时期的基因表达水平进行了检测。根据 *ARF* 基因的表达模式, 可将这 35 个基因分成 4 类: 第 1 类的 15 个 *ARF* 基因在小穗对原基 (SPM) 时期高表达; 第 2 类的 13 个 *ARF* 基因在小穗原基 (SM1) 时期高表达; 第 3 类的 6 个 *ARF* 基因在花器官原基 (F) 时期高表达; 第 4 类的 1 个 *ARF* 基因在花原基 (FM) 时期高表达。研究结果表明, 玉米 *ARF* 家族基因在雌花序不同发育时期发挥重要作用。该研究将为解析玉米 *ARF* 家族基因在雌花序生长发育过程中的生物学功能提供重要信息。

**关键词** *ARF*; 雌花序; 表达; 玉米

中图分类号 S513 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2021)24-0132-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.24.031



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

### Expression Analysis of *ARF* Family Genes in Female Inflorescence Development of Maize

WANG Jing-chao, CHENG Bin, YU Xiao-fei et al (Shandong Product Quality Inspection Research Institute, Jinan, Shandong 250100)

**Abstract** In this study, we analyzed the expression patterns of 35 members of this gene family in female inflorescences at different developmental stages. Using the information of the transcriptome database in Genevestigator website, it was found that one or more *ARF* genes were expressed in maize at seven different developmental stages, indicating that *ARF* family genes regulate different developmental processes cooperatively. In addition, each *ARF* gene was expressed at a high level during inflorescence development. In order to explore the role of *ARF* family members in the development of female inflorescences of maize, we used real-time quantitative PCR to detect gene expression levels in six female inflorescences at different developmental stages. According to the expression pattern of *ARF* gene, the 35 *ARF* genes could be divided into four classes; the first class, 15 *ARF* genes were highly expressed in spikelet-pair meristem (SPM); in the second class, 13 *ARF* genes were highly expressed in spikelet meristem (SM1). Six *ARF* genes of the third class were highly expressed in flower organ meristem (F) stage, and one *ARF* gene of the fourth class was highly expressed in floral primordium (FM) stage. These results indicated that *ARF* gene plays an important role in the development of female inflorescence in maize. The results of this study will provide important information for studying the function of *ARF* gene in the development of female inflorescence in maize.

**Key words** *ARF*; Female inflorescence; Expression; Maize

生长素信号转导过程涉及多种早期响应基因, 如 *GH3*、*AUX/IAA*、*SAUR* 基因家族和能与生长素响应元件 (AuxREs) 相互作用的生长素响应因子 *ARF* (auxin response factor) 基因家族<sup>[1]</sup>。*ARF* 基因调控生长素参与许多生物学过程, 如向性运动、顶端优势等<sup>[2-4]</sup>。研究显示, *ARF* 基因家族存在于双子叶和单子叶植物中, 但在其他生物物种中却并未发现, 说明 *ARF* 基因家族是特异存在于植物中的一类基因<sup>[5]</sup>。拟南芥中有 22 个 *ARF* 成员<sup>[6]</sup>, 其中 MP/*ARF5* 蛋白在胚胎发生与维管形成过程中发挥着重要作用<sup>[2]</sup>, *NPH4/ARF7* 蛋白影响拟南芥植株的向光性和向重力性<sup>[3]</sup>。此外, 水稻中的 Os-*ARF1* 受生长素的诱导, 参与胚芽鞘的向性运动<sup>[4]</sup>。通过玉米全基因组序列比对分析, 共得到 35 个 *ARF* 候选基因, 并对其基因结构、染色体位置和进化关系等进行了分析<sup>[7]</sup>, 但对基因生物学功能的研究相对较少。生长素合成基因 *YUC* 家族和转运基因 *PIN* 家族均在玉米雌花序原基的发育过程中发挥作用<sup>[8-10]</sup>, 但 *ARF* 基因家族在玉米雌花序生长发育过程中的生物学功能鲜见相关报道。为此, 笔者利用 qRT-PCR 技术对 35 个玉米 *ARF* 基因在不同发育时期雌花序中的表达水平进行了检测, 以期解析玉米 *ARF* 基因家族在雌花序生

长发育过程中的生物学功能提供重要信息。

### 1 材料与方法

**1.1 试验材料** 参照李文兰等<sup>[9]</sup>的取材时期, 对处于花序原基、小穗对原基、小穗原基早期、小穗原基后期、花原基期和花器官原基期 6 个不同时期的雌花序分别取材, 迅速用液氮进行冷冻, 并置于 -80 °C 冰箱保存, 用于实时定量 PCR 分析。试验选用的材料是玉米 B73 自交系。

**1.2 RNA 提取和实时定量 PCR 分析** 利用 Trizol 试剂提取不同样品的总 RNA, 根据反转录试剂盒说明书的提示完成 cDNA 的合成与纯化。利用 Bio-Rad CFX96 实时定量检测系统 (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) 对不同样品进行实时定量 PCR 分析, 所用的定量引物序列见表 1。将玉米的 18S rRNA 基因作为实时定量 PCR 的内参基因。得到的试验数据利用 SPSS 18.0 软件进行差异性分析。

**1.3 利用转录组数据对 *ARF* 基因进行表达分析** 通过玉米 *ARF* 基因的 ID 号 (来源于 MaizeGDB 数据库) 在 Genevestigator 网站 (<http://www.genevestigator.com/gv/>) 进行转录组数据分析, 获得玉米 *ARF* 家族基因在不同发育时期的表达模式<sup>[11]</sup>。

### 2 结果与分析

**2.1 玉米 *ARF* 家族基因在不同发育时期的表达模式** 为了探究玉米 *ARF* 家族基因在不同发育时期的表达模式, 利用 Genevestigator 网站中转录组数据库的信息分析了 *ARF* 家族

**作者简介** 王景超 (1988—), 男, 山东济南人, 工程师, 从事肥料检测研究。\* 通信作者, 研究员, 从事肥料检测研究。

**收稿日期** 2021-08-16; **修回日期** 2021-08-19

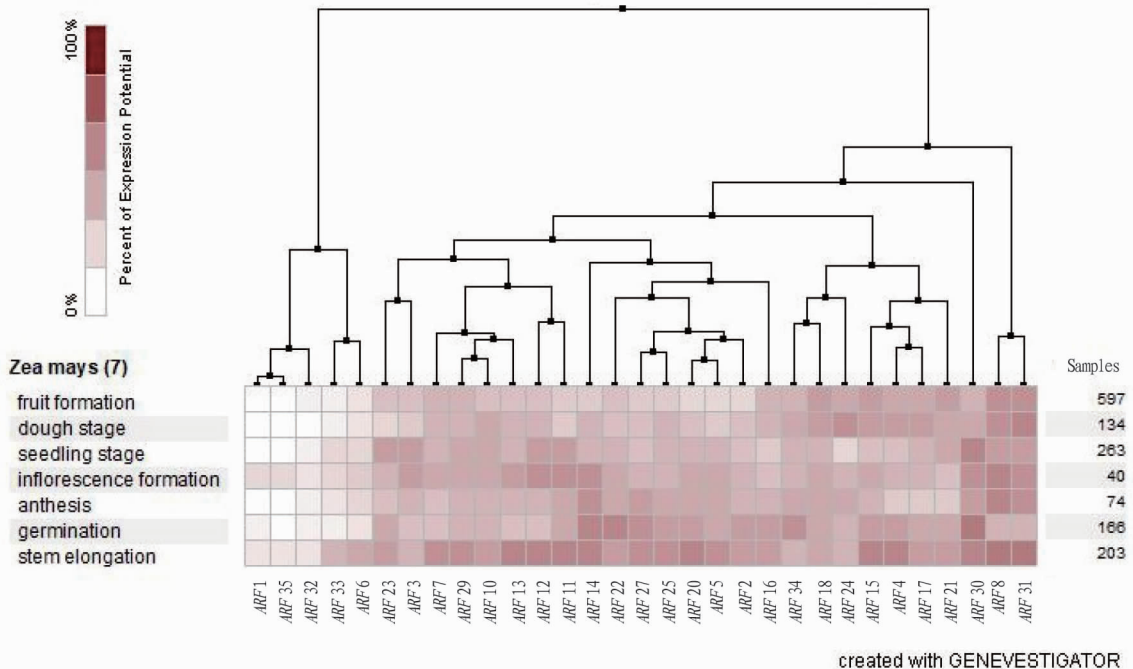
基因在 7 个不同发育时期(灌浆期、果穗形成期、萌发期、开花期、花序形成期、茎伸长期和幼苗期)的表达水平。从图 1 可见,除了 ARF9、ARF19、ARF26 和 ARF28 这 4 个基因的表达信息未检测到,其他 31 个玉米 ARF 基因的表达信息均有获得。在检测的 7 个不同发育时期,均有 1 到多个 ARF 基因有

表达,说明 ARF 家族基因在玉米不同发育过程中发挥协同调控作用,并且这些 ARF 基因在花序发育过程均有较高水平表达,而李文兰等<sup>[12]</sup>的实时定量 PCR 结果显示,多个玉米 ARF 基因均在花序中优势表达,推测玉米 ARF 基因在花序发育过程中发挥着重要功能。

表 1 实时定量 PCR 的引物序列

Table 1 Primer sequences for real-time quantitative PCR

引物名称 Primer name	序列 5'—3' Sequences (from 5' to 3')	引物名称 Primer name	序列 5'—3' Sequences (from 5' to 3')	引物名称 Primer name	序列 5'—3' Sequences (from 5' to 3')
arf1-s	CGTGTATATGTATCCCTTCC	arf13-s	CAAGGCAATCACAATCTG	arf25-s	CCCTCTCTGTCTTATGTTT
arf1-a	ATTGCTTCTGAGTACCA	arf13-a	CTGTCTGTCATCCCAA	arf25-a	TACTTCTTCACGGTTGGT
arf2-s	AAACGACTCTGGGTATGT	arf14-s	AATGACCGTTCTACTCCAATCA	arf26-s	GCATTCCGCCCTTCTGTT
arf2-a	CTGAAGGACTTGTCTCTG	arf14-a	CTATCTCAATGCCAAAGAATCT	arf26-a	AGGCTCGCTTCCATTTACA
arf3-s	AACGGCATCTCTAACTAC	arf15-s	ATGAGGTCTTCGCCAGGAT	arf27-s	TTCGATCTCAATCCTCAT
arf3-a	ACGAATCTATGGAATGGAAC	arf15-a	GGACTGTGTCAGCGTCTTG	arf27-a	TCTATCCTCTTTCTTATTGAC
arf4-s	AGTTCGGATGGCAGTGT	arf16-s	AGAAGTTGCTGATAGAT	arf28-s	TTATGGTCCAATACAAGAA
arf4-a	CGAGGAACCGATGCAGAT	arf16-a	TTGTATGACCTTTGAAT	arf28-a	CTCATTCTATTCTTAGC
arf5-s	CGCAACAACAACAGGCATG	arf17-s	CCGTATATCCAAGGGTTTTG	arf29-s	TTCAAGATCAGGGTTCAG
arf5-a	GGGCTAAAAGGACTGGTT	arf17-a	ATGTGGGGTCTCTTATGTCA	arf29-a	GATTCAACCGTCAGAGAA
arf6-s	AATCTCAGCAGCAGTTAA	arf18-s	GCAGCAGATGGGGAAGCA	arf30-s	CAAGTCTTCAACATCAG
arf6-a	CTTGGACTCTTGGTTTA	arf18-a	AACAGAACCGAACCGAGC	arf30-a	ATCCTGATTTATGGTTCAA
arf7-s	CTAGTGACGCCCTGTACC	arf19-s	AGAGGACGGCGCAAGAT	arf31-s	ACTCGCTGGGAAGAGGGCT
arf7-a	AGTAATAGACAGCCTCGC	arf19-a	TGCTCGCCCTCGGGTACT	arf31-a	CCTTTTCTCTGCTTCACCAC
arf8-s	GTAGTTGAAGTGATAATTGT	arf20-s	CCACCAATGAAGCAAGAA	arf32-s	AGCTGGTCCGGGGCAAC
arf8-a	TCTGGAGAAGGCTGATTA	arf20-a	GATAGACAACATCTGACACAT	arf32-a	CCTGCAAGCCCTCAATGAC
arf9-s	TCTGAACCTCTGGTATCC	arf21-s	AACAGAACAGCATTGAGT	arf33-s	AGTGAATGCTCTGGTA
arf9-a	AACAATTATCCACTTCAACTAC	arf21-a	TGATTGAGTGGAAAGATG	arf33-a	GTGAATCTGTGCTTCTFTG
arf10-s	TGAACTCGAAATCAGCTGC	arf22-s	GCTTTCGCCAGCCTCA	arf34-s	ATGCTGGGTTGTTGGTFT
arf10-a	AACTCCAACCTCCACTTGC	arf22-a	CCGGTGTACCACCGATG	arf34-a	GGGCTAGAAAGTGGAAAT
arf11-s	ATGTTACAGGGAATGGGAATG	arf23-s	CTGAGGACCGGTGAGCAA	arf35-s	ATGATATTGGAGCAGATG
arf11-a	CAACAGTTTGGAGCAGACCG	arf23-a	CGCCAGCCGAGAGGT	arf35-a	AAGAGCATTATGGTGTTC
arf12-s	ATGCTAGACTTGATAGGA	arf24-s	GCCACTTCAAGTCAGATT		
arf12-a	CATATTCACAGTCCAGTA	arf24-a	TTGGATTGTGCTCTCAGA		



注:每个基因在所有检测组织器官中的表达量设为 100%,颜色的深浅代表表达百分率

Note: The relative expression of each gene in all detected development stages was set at 100%, and the shade of color represents the percentage of relative expression levels

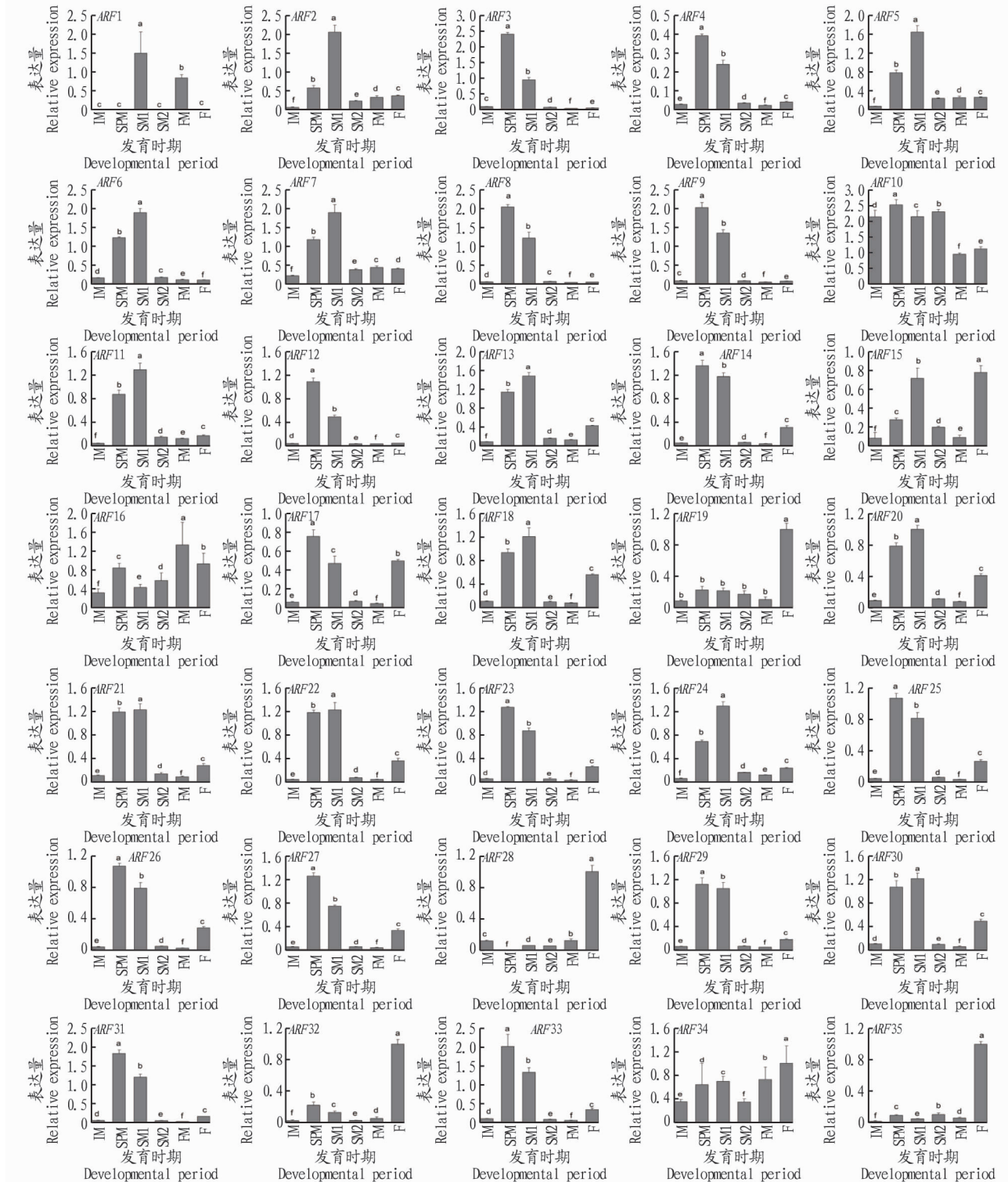
图 1 利用转录组数据获得的玉米 ARF 家族基因在不同发育时期的表达水平

Fig.1 Expression profile of ARF genes in different development stages by Genevestigator analysis

2.2 玉米 ARF 家族基因在雌花序发育过程中的表达 玉米 雌花序的发育通常与产量密切相关。前人研究表明,生长素

合成相关基因 *YUC* 家族和生长素转运相关基因 *PIN* 家族在雌花序原基的发育过程中发挥作用<sup>[9]</sup>。为了探究玉米 *ARF* 家族基因在雌花序不同发育时期的作用,笔者通过 qRT-

PCR 技术对 35 个玉米 *ARF* 家族基因在 6 个不同发育时期雌花序中的基因表达量进行了检测。从图 2 可见,根据 *ARF* 基因在雌穗发育 6 个不同时期的表达模式,可将这 35 个基因



注:IM.花序原基期;SPM.小穗对原基期;SM1.小穗原基早期;SM2.小穗原基后期;FM.花原基期;F.花器官原基期。柱上不同小写字母表示显著差异( $P < 0.05$ )

Note:IM.Stage of inflorescence meristem;SPM.Stage of spikelet-pair meristem;SM1.Early stage of spikelet meristem;SM2.Late stage of pikelet meristem; FM.Stage of floral meristem;F.Stage of floral organ meristem.Different lowercase letters on column indicate significant differences between treatments ( $P < 0.05$ )

图 2 *ARF* 家族基因在玉米雌花序不同发育时期的表达水平

Fig.2 Expression levels of *ARF* family genes at different inflorescence development stages in maize

分成 4 类。第 1 类包括 *ARF3*、*ARF4*、*ARF8*、*ARF9*、*ARF10*、*ARF12*、*ARF14*、*ARF17*、*ARF23*、*ARF25*、*ARF26*、*ARF27*、*ARF29*、*ARF31* 和 *ARF33* 这 15 个基因,在 SPM 时期高表达;第 2 类包括 13 个基因,分别是 *ARF1*、*ARF2*、*ARF5*、*ARF6*、*ARF7*、*ARF11*、*ARF13*、*ARF18*、*ARF20*、*ARF21*、*ARF22*、*ARF24* 和 *ARF30*,在 SM1 时期高表达;第 3 类包含 6 个基因,分别是 *ARF15*、*ARF19*、*ARF28*、*ARF32*、*ARF34* 和 *ARF35*,在 F 时期高表达;第 4 类包含 1 个基因 *ARF16*,在 FM 时期高表达。SPM 时期是小穗对原基形成期,SM1 时期是小穗原基形成期,F 时期是花器官原基形成期,*ARF* 基因在这 4 个时期高表达,表明 *ARF* 基因在玉米雌花序发育过程中发挥重要作用。

### 3 讨论与结论

生长素是植物侧生器官与腋生原基起始的一种重要信号<sup>[13]</sup>。*ARF* 基因作为一类生长素响应因子,通过与生长素响应元件(AuxREs)相互作用来激活或抑制生长素调控基因的转录,进而调控植物的生长发育<sup>[14]</sup>。拟南芥中的 *ARF17* 精细调控花药发育和花粉形成<sup>[15]</sup>,*ARF2-5* 是雌雄配子体发育所必需的<sup>[16]</sup>;黄瓜中的 *Csa019264* 和 *Csa019265* (*AtARF8* 的同源基因)在单性结实和非单性结实品种中的表达水平差异大,可能参与了果实的发育和形态建成<sup>[17]</sup>。以上结果表明,*ARF* 基因家族在生殖器官发育过程中发挥重要作用,并且在花序发育过程中的功能相对保守。

前人研究表明,玉米中有 35 个 *ARF* 基因<sup>[7]</sup>。笔者利用 qRT-PCR 技术对玉米 35 个 *ARF* 成员在不同发育时期雌花序中的表达模式进行了分析,结果显示,有 15 个 *ARF* 基因在 SPM 时期高表达,有 13 个 *ARF* 基因在 SM1 时期高表达,有 6 个 *ARF* 基因在 F 时期高表达,有 1 个 *ARF* 基因在 FM 时期高表达,表明玉米 *ARF* 基因参与雌花序不同发育时期的调控过程,也印证了 *ARF* 基因在花序发育过程中的功能保守。

通过对 *ARF* 家族基因在玉米雌花序发育过程中的表达模式进行分析,发现 *ARF* 家族基因主要在玉米雌花序发育的小穗对原基期、小穗原基早期和花器官原基期中具有较高的

表达量,表明 *ARF* 基因在雌花序各类原基形成过程中发挥重要作用。

### 参考文献

- ABEL S, THEOLOGIS A. Early genes and auxin action[J]. *Plant Physiol*, 1996, 111(1): 9-17.
- HARDTKE C S, BERLETH T. The *Arabidopsis* gene MONOPTEROS encodes a transcription factor mediating embryo axis formation and vascular development[J]. *EMBO J*, 1998, 17(5): 1405-1411.
- HARPER R M, STOWE-EVANS E L, LUESSE D R, et al. The *NPH4* locus encodes the auxin response factor ARF7, a conditional regulator of differential growth in aerial *Arabidopsis* tissue[J]. *Plant Cell*, 2000, 12(5): 757-770.
- WALLER F, FURUYA M, NICK P. OsARF1, an auxin response factor from rice, is auxin-regulated and classifies as a primary auxin responsive gene[J]. *Plant Mol Biol*, 2002, 50(3): 415-425.
- 吴蓓, 吴建勇, 蔡刘体, 等. 生长素反应因子[J]. *植物生理学通讯*, 2005, 41(3): 273-278.
- REMINGTON D L, VISION T J, GUILFOYLE T J, et al. Contrasting modes of diversification in the *Aux/IAA* and *ARF* gene families[J]. *Plant Physiol*, 2004, 135(3): 1738-1752.
- LIU Y, JIANG H Y, CHEN W J, et al. Genome-wide analysis of the auxin response factor (ARF) gene family in maize (*Zea mays*) [J]. *Plant Growth Regul*, 2011, 63(3): 225-234.
- GALLAVOTTI A, YANG Y, SCHMIDT R J, et al. The relationship between auxin transport and maize branching[J]. *Plant Physiol*, 2008, 147(4): 1913-1923.
- 李文兰, 孟昭东. 玉米 PIN 家族基因在雌花序发育过程中的表达分析[J]. *山东农业科学*, 2019, 51(6): 17-21.
- 李文兰, 李文才, 孙琦, 等. 生长素响应及转运信号在玉米不同节位腋芽发育过程中的分布模式分析[J]. *玉米科学*, 2020, 28(4): 22-25.
- GRENNAN A K. Genevestigator. Facilitating web-based gene-expression analysis[J]. *Plant Physiol*, 2006, 141(4): 1164-1166.
- 李文兰, 李文才, 孙琦, 等. 玉米生长素响应因子家族基因的表达模式分析[J]. *作物学报*, 2021, 47(6): 1138-1148.
- CHENG Y F, ZHAO Y D. A role for auxin in flower development[J]. *J Integr Plant Biol*, 2007, 49(1): 99-104.
- ULMASOV T, HAGEN G, GUILFOYLE T J. Activation and repression of transcription by auxin-response factors[J]. *PNAS*, 1999, 96(10): 5844-5849.
- WANG B, XUE J S, YU Y H, et al. Fine regulation of ARF17 for anther development and pollen formation[J]. *BMC Plant Biol*, 2017, 17(1): 1-12.
- LIU Z N, MIAO L M, HUO R X, et al. ARF2-ARF4 and ARF5 are essential for female and male gametophyte development in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell Physiol*, 2018, 59(1): 179-189.
- 王垒, 陈劲枫, 娄丽娜, 等. 黄瓜 ARF 家族序列特征及部分成员在果实发育早期的表达分析[J]. *园艺学报*, 2011, 38(4): 717-724.
- 李晓兵. 国际土地利用-土地覆盖变化的环境影响研究[J]. *地球科学进展*, 1999, 14(4): 395-400.
- 李波, 张俊鹰, 李海鹏. 中国农业碳排放时空特征及影响因素分解[J]. *中国人口·资源与环境*, 2011, 21(8): 80-86.
- 田成诗, 陈雨. 中国省际农业碳排放测算及低碳化水平评价: 基于衍生指标与 TOPSIS 法的运用[J]. *自然资源学报*, 2021, 36(2): 395-410.
- 黎孔清, 马豆豆, 李义猛. 基于 STIRPAT 模型的南京市农业碳排放驱动因素分析及趋势预测[J]. *科技管理研究*, 2018, 38(8): 238-245.
- 赵先超, 宋丽美, 谭书佳. 基于 LMDI 模型的湖南省农业碳排放影响因素研究[J]. *环境科学与技术*, 2018, 41(1): 177-183.
- 戴小文, 何艳秋, 钟秋波. 基于扩展的 Kaya 恒等式的中国农业碳排放驱动因素分析[J]. *中国科学院大学学报*, 2015, 32(6): 751-759.
- OECD. Indicators to Measure Decoupling of Environmental Pressure from Economic Growth [R]. Paris: OECD, 2002.
- 段华平, 张悦, 赵建波, 等. 中国农田生态系统的碳足迹分析[J]. *水土保持学报*, 2011, 25(5): 203-208.
- 国涓, 刘长信, 孙平. 中国工业部门的碳排放: 影响因素及减排潜力[J]. *资源科学*, 2011, 33(9): 1630-1640.
- 李志学, 孙敏. 我国各省区碳退耦指数与减排潜力的测算[J]. *统计与决策*, 2017(14): 101-104.

(上接第 121 页)

改良土壤, 提倡发展精准农业, 减少投入物不必要的浪费和流失。③调整能源消费结构, 提倡使用清洁能源。煤的含碳量最高, 油次之, 其他形式的能源例如太阳能、风能、水能等自然能源是无碳的, 所以要积极推广先进环保的低排放的技术理念, 减少化石燃料使用。④提高减排政策执行的有效性和效率是推进农业碳排放与经济增长间加速退耦的关键。当前, 长江经济带农业的节能减排工作已经取得了较好的成效, 但节能减排、发展绿色农业是一个长远的计划, 所以要提高并保持相关部门的监督和执法力度, 保证政策的执行是有效和高效的。并且把减排因素纳入经济决策中去, 充分考虑当地环境的承载能力, 以此为条件进行决策。

### 参考文献

- 赵其国, 钱海燕. 低碳经济与农业发展思考[J]. *生态环境学报*, 2009, 18(5): 1609-1614.