DOI: 10. 11686/cyxb2025006 http://cyxb. magtech. com. cn
徐宏申, 窦苗苗, 孙慧琼, 等. 藜麦生长素响应因子(*ARF*)基因家族的鉴定与表达分析. 草业学报, 2026, 35(12): 210－226.
XU Hong-shen, DOU Miao-miao, SUN Hui-qiong, *et al*. Identification and expression analysis of the auxin response factor (*ARF*) gene family in *Chenopodium quinoa*. Acta Prataculturae Sinica, 2026, 35(12): 210－226.

藜麦生长素响应因子(*ARF*)基因家族的鉴定与表达分析

徐宏申, 窦苗苗, 孙慧琼, 王新宇, 刘卓君, 郝昱宁, 史小霞, 郭子浩, 姜晓东*, 张春来*
(山西农业大学农学院, 教育部省部共建黄土高原特色作物高效生产协同创新中心, 山西 晋中 030801)

摘要: 生长素响应因子(auxin response factor, ARF)通过特异性地结合生长素响应元件调节下游靶基因的转录, 调控着植物的诸多生长发育和抵抗逆境胁迫过程。本研究基于藜麦基因组数据, 通过生物信息学方法鉴定了藜麦*ARF*基因家族成员, 并对其基因结构、理化性质、保守基序、系统进化树、顺式作用元件、特异性表达与自然等位变异等进行了分析。结果表明: 藜麦的基因组中共鉴定出30个*CqARF*家族成员, 不均匀地分布在16条染色体上, 编码蛋白的氨基酸长度、分子量、等电点及二级结构存在较大的差异。顺式作用元件分析表明*CqARFs*主要受光照、低温、生长素和赤霉素等激素的调控。系统进化树分析显示甜菜、菠菜、拟南芥和藜麦ARF蛋白共分为Ⅰ～Ⅳ四大类, 藜麦与菠菜、甜菜ARF蛋白亲缘关系更近; 且*CqARFs*基因发生了片段复制现象, 受到了纯化选择作用的影响。*CqARF1*、*CqARF2*、*CqARF6*、*CqARF15*、*CqARF16*、*CqARF24*、*CqARF30*在花、籽粒中的表达水平较高, *CqARF2*与*CqARF24*在藜麦籽粒中的表达水平明显高于花; *CqARFs*基因调控藜麦籽粒发育的具体功能可能因籽粒颜色不同而有所差异。DNA变异分析发现*CqARFs*具有较多的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)变异。预测的互作蛋白有BRASSINAZOLE-RESISTANT 1蛋白(BZR1), 生长素反应蛋白IAA12、IAA17, 转录因子PIF4、BPE等。该研究结果为进一步探讨*CqARF*基因功能, 调控藜麦生长发育提供了一定的理论基础与试验依据。

关键词: 藜麦; 生长素响应因子(ARF); 基因表达; 系统进化树; 顺式作用元件; 自然等位变异

Identification and expression analysis of the auxin response factor (*ARF*) gene family in *Chenopodium quinoa*

XU Hong-shen, DOU Miao-miao, SUN Hui-qiong, WANG Xin-yu, LIU Zhuo-jun, HAO Yu-ning, SHI Xiao-xia, GUO Zi-hao, JIANG Xiao-dong*, ZHANG Chun-lai*
College of Agronomy, Shanxi Agricultural University, Ministry of Education and Shanxi Province Co-Funded Collaboration and Innovation Centre for Speciality Crops, Jinzhong 030801, *China*

Abstract: Auxin response factor (ARF) regulates the transcription of downstream target genes by specifically binding to auxin-responsive elements, which regulates many aspects of plant growth and development and resistance to biotic and abiotic stress. In this study, focused on quinoa (*Chenopodium quinoa*) genomic data, members of the quinoa *ARF* gene family were identified by bioinformatic methods, and their gene structure, physicochemical

收稿日期: 2025-01-07; 改回日期: 2025-04-07
基金项目: 山西农业大学生物育种工程项目(YZGC104), 黄土高原特色作物优质高效生产省部共建协同创新中心基金项目(SBGJXTZXKF-11), 国家自然科学基金(31971994), 山西省重点研发计划项目(201803D221012-2)和中国科技部中巴援助项目(KY202-002002)资助。
作者简介: 徐宏申(2000－), 男, 江西赣州人, 在读硕士。E-mail: gtxuhongshen@126. com
*通信作者 Corresponding author. E-mail: sxaujiangxd@163. com, chunlaiz@hotmail. com

properties, conserved motifs, phylogenetic tree, *cis*-acting elements, specific expression and natural allelic variation were analyzed. The analysis identified a total of 30 *CqARF* family members in the genome of quinoa. These were unevenly distributed on 16 chromosomes, and the coding proteins had large differences in amino acid length, molecular weight, isoelectric point and secondary structure. The *cis*-acting element analysis showed that *CqARFs* were mainly regulated by factors such as light, low temperature, growth hormone and gibberellin. The phylogenetic tree of ARF proteins from sugar beet (*Beta vulgaris*), spinach (*Spinacia oleracea*), *Arabidopsis thaliana* and quinoa showed a total of four major classes (designated Ⅰ to Ⅳ) and the phylogeny of quinoa ARF proteins was closer to spinach and beet. The *CqARFs* genes were subjected to purifying selection using the phenomenon of fragment duplication. *CqARF1*, *CqARF2*, *CqARF6*, *CqARF15*, *CqARF16*, *CqARF24*, *CqARF30* were expressed in flowers and seeds; the expression levels of *CqARF2* and *CqARF24* in seeds were significantly higher than those in flowers. The specific functions of *CqARFs* genes in regulating quinoa seed development may vary according to seed color. The predicted interacting proteins were BRASSINAZOLE-RESISTANT 1 protein (BZR1), growth hormone-responsive proteins IAA12 and IAA17, and the transcription factors PIF4, BPE. DNA variation analysis revealed that *CqARFs* had many single nucleotide polymorphism (SNP) variants. The results of this study provide a genomic analysis and experimental validation for further exploration of *CqARF* gene family function and for regulating the growth and development of quinoa.

Key words: quinoa; auxin response factor (ARF); gene expression; phylogenetic tree; *cis*-acting elements; natural allelic variation

生长素是(auxin)是一种重要的植物内源激素,化学本质主要是吲哚乙酸(indole acetic acid, IAA),参与植物生长发育的各个阶段,如植物的胚胎分化、顶端优势、根的向地生长和茎的向光反应等。而IAA主要由色氨酸(L-tryptophan, Trp)产生,合成以吲哚-3-丙酮酸(indole-3-pyruvic acid, IPyA)途径为主,其他冗余途径并行运行[1]。生长素在调节植物生长、发育的过程中涉及早期响应基因(*AUX/IAA*、*GH3*和*SAUR*基因家族等)和与生长素应答元件AuxREs相互作用的生长素响应因子(auxin response factor, ARF)家族基因[2]。ARF蛋白特异性结合到生长素早期响应基因启动子区的生长素响应元件AuxREs(5′-TGTCTC-3′)上,抑制或激活这些基因的转录,从而调控植物生长发育的各阶段[3]。第一个*ARF*基因是以人工合成的生长素响应元件AuxREP3(4X)为诱饵,通过酵母单杂系统筛选拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)cDNA文库克隆得到的,即*AtARF1*[3]。目前已在拟南芥[4]、水稻(*Oryza sativa*)[5]、高粱(*Sorghum bicolor*)[6]、小麦(*Triticum aestivum*)[7]、玉米(*Zea mays*)[8]、谷子(*Setaria italica*)[9]和花生(*Arachis hypogaea*)[10]等植物中分别鉴定出了23、25、25、69、36、24和29个*ARF*成员,而尚未在动物和微生物中鉴定到*ARF*类似基因。

研究表明,ARF蛋白包括3个保守的结构域,位于N-端的B3-DNA结合域(DNA binding domain, DBD)、中间区域的激活或者抑制结构域(auxin-resp)和C-端的二聚化结构域(C-terminal dimerization domain, CTD)[11]。其中,B3结构为植物特有而且保守性强,与AuxREs结合需要其他氨基酸的辅助,与外源生长素的使用无关[12];CTD结构域与Aux/IAAs结构域有较高的相似度,负责ARF蛋白之间的同源聚集或者ARF蛋白与生长素应答基因的异源聚集,决定ARF的聚集状态[13];中间的Auxin-resp结构域若含有大量的谷氨酰胺、丝氨酸、亮氨酸则为转录激活结构域(activation domain, AD),若被大量脯氨酸、甘氨酸等代替则为转录抑制结构域(restrain domain, RD)[14]。拟南芥中*AtARF5*参与维管组织发育,间接调控植物子叶发育[15-16],*AtARF7*与植物向光性和向重力性有关[17],*AtARF6*和*AtARF8*参与花成熟调控[18],*AtARF19*控制叶扩展和侧根生长,并与*AtARF7*表现出功能冗余性[19-20];*OsARF1*被生长素所诱导,调控着水稻胚芽鞘的向性运动,参与水稻的营养生长和生殖生长[21-22];*GmARF17*主要在侧根中表达,对大豆(*Glycine max*)下胚轴发育起重要作用[23]。Sun等[24]将藜麦(*Chenopodium quinoa*)ARF蛋白分成3类,其中A类*ARFs*在幼苗根系中具有局部异质性表达*CqARF2*、

CqARF5、*CqARF9*～*CqARF10*在分化区显著高表达，可能是植物－环境相互作用的关键因子。*CqARF05*、*CqARF07*、*CqARF15*和*CqARF24*在叶片盐胁迫和干旱胁迫下高表达，*CqARF05*调控转基因植株的抗旱性[25]。

藜麦是一种苋科藜属的假谷物植物，在南美洲安第斯地区具有悠久的栽培历史，近些年来被广泛引进种植。藜麦是异源四倍体作物，基因组大小为1.45～1.50 Gb，测序工作及遗传图谱的构建已于2017年得到完善[26]。藜麦具有发达的根系，根长、体积及根毛数量较多数作物大，赋予其较强的耐瘠薄土壤、抗旱性和耐盐碱性。目前*ARF*基因已在很多作物中进行了研究报道。本研究利用生物信息学与分子生物学相关技术，从藜麦基因组中鉴定出30个*ARF*基因家族成员并对该家族基因结构进行分析，通过对其序列和蛋白的比较、系统进化树等分析以期为深入了解藜麦*ARF*家族成员的遗传进化及在藜麦发育与逆境胁迫中的功能提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 基因检索

从TAIR v10(http://www.arabidopsis.org/)获得23个AtARF序列，以AtARF序列为搜索依据对藜麦蛋白质数据库进行BLAST搜索；通过结构域B3、Auxin_resp的隐马尔科夫模型(PF02362、PF06507)进行HMMER搜索；取交集并除去冗余，初步获得*CqARF*基因序列。利用CDD(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi)和InterPro(https://www.ebi.ac.uk/interpro/)数据库对其蛋白结构域进行核对并去除结构域不全序列。水稻、甜菜(*Beta vulgaris*)、菠菜(*Spinacia oleracea*)、大豆、高粱、小麦与玉米的ARF蛋白质序列来自Ensembl Plants数据库(http://plants.Ensembl.org/index.html)。

1.2 生物信息学分析

1.2.1 藜麦*ARF*基因的基本信息和蛋白的理化性质分析 使用数据库phytozome.v13[Phytozome (doe.gov)]对藜麦*ARF*基因的基本信息进行分析。并将获取到的藜麦ARF蛋白序列使用在线软件aExPasyProtParm(ProtParam-SIB Swiss Institute of Bioinformatics|Expasy)对其的等电点、相对分子质量、脂肪系数等理化性质进行分析。

1.2.2 藜麦*ARF*基因的结构分析及染色体定位可视化 使用GSDS 2.0在线软件(http://gsds.cbi.pku.edu.cn/)上传编码序列(coding sequence, CDS)结构、基因结构文件，对*CqARFs*基因结构进行可视化分析[27]。从藜麦参考基因组注释信息中获取*CqARFs*的染色体位置信息，并使用TBtools绘制*CqARFs*的染色体定位图。

1.2.3 藜麦ARF蛋白的二级结构分析及亚细胞定位预测 采用SOPMA(https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html)对CqARFs进行二级结构分析，通过PSORT Prediction(http://psort1.hgc.jp/form.html)工具对藜麦ARFs进行亚细胞定位预测。

1.2.4 藜麦ARF蛋白序列的保守基序和结构域分析 利用在线工具MEME[MEME-MEME Suite (meme-suite.org)]对CqARFs进行序列保守特征分析，然后使用TBtools进行可视化。使用NCBI数据库中的在线工具Batch CD-Search[Home-Conserved Domains-NCBI(nih.gov)]对CqARFs的序列进行domain分析，然后使用软件TBtools进行可视化。

1.2.5 藜麦ARF蛋白系统进化树的构建 使用MEGA 7.0对藜麦、甜菜、菠菜、拟南芥、水稻、小麦、玉米、大豆和高粱的ARF蛋白序列进行多序列比对，并选择邻接法(neighbor-joining, NJ)构建系统进化树，Bootstrap值为1000，其他参数默认，将进化树另存为nwk格式，并通过iTOL(http://itol.embl.de)进行美化。使用同样的方法对同为单子叶植物的拟南芥、藜麦、甜菜和菠菜的ARF蛋白序列进行比较并构建系统发育树。

1.2.6 藜麦*ARF*的启动子顺式作用元件分析及GO功能分析 利用在线工具Plant care对藜麦*ARFs*启动子的顺式作用元件进行分析，并使用软件TBtools进行结果可视化。在Ensemble plant下载*CqARF*基因参与的GO功能(细胞组分、分子功能和生物学过程)，并用软件Cytoscape绘图。

1.2.7 藜麦*ARF*的共线性及进化选择参数分析 对菠菜、甜菜和藜麦进行共线性分析，进一步分析菠菜、甜菜和藜麦间的进化关系。对藜麦*ARF*基因家族成员进行共线性分析，筛选共线性基因对，并计算各基因对的进化选择参数。

1.2.8　藜麦 *ARF* 基因在不同组织中的表达分析　　从 NCBI 的 GEO 网站(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/)下载已处理过的普通白甜藜麦和黄色苦藜麦的花、籽粒两种组织的转录组数据(GSE139174),提取 *CqARFs* 的表达数据。

1.2.9　藜麦籽粒发育时期 *ARF* 基因的表达分析　　将黑藜麦、红藜麦、白藜麦材料于 2022 年 5 月 20 日播种于山西农业大学农学院实践教学基地,于授粉后 8、16、24 和 32 d 取籽粒提取 RNA,送百迈客生物科技公司进行 RNA-Seq,测定 *CqARFs* 的表达水平,3 次重复。黑藜麦、红藜麦、白藜麦种子由本课题组收集、保存。

1.2.10　藜麦 ARF 蛋白互作预测　　利用在线网站 STRING(https://cn.string-db.org/),以甜菜、菠菜和拟南芥为参照,对藜麦 ARF 蛋白进行互作分析。

1.2.11　藜麦 *ARFs* 的 SNP 和 INDEL 变异分析　　对 CQ_3、CQ_6、CQ_8、CQ_9 品种的 DNA 重测序进行分析,检测 *CqARFs* 的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)和插入缺失(insertions and deletions, INDEL)变异,CQ_3、CQ_6、CQ_8、CQ_9 籽粒食用品系均为特色种质资源,由本课题组收集、保存。

1.3　数据处理与统计分析

运用 Excel 2016 进行数据统计,通过 TBtools 绘制 *CqARFs* 的表达热图,软件 SPSS 26 进行单因素方差分析(ANOVA),GraphPad Prism 9 用于数据可视化。

2　结果与分析

2.1　藜麦 *ARF* 基因家族成员的基本信息

通过 Pfam、interPro 等进行筛选,最终确定 30 个 *CqARF* 基因,根据其在染色体上的位置,暂将其命名为 *CqARF1*～*CqARF30*。藜麦的 30 个 *ARF* 基因的差异较大(表 1):基因序列长度为 2482 (*CqARF14*)～11730 bp (*CqARF15*),CDS 序列长度为 1338 (*CqARF21*)～4042 bp(*CqARF29*),外显子数为 2(*CqARF4*、*CqARF7*、*CqARF12*、*CqARF17*)到 16(*CqARF11*)。

2.2　藜麦 ARF 蛋白的理化性质分析

CqARF 蛋白由 445～1092 个氨基酸组成,相对分子质量达 48881.43～120031.21 Da,脂肪系数为 63.45～76.56,等电点为 5.15～8.21,大部分小于 7,总平均亲水性为－0.652～－0.193,均小于 0,不稳定系数为 44.96～64.38,均大于 40,表明 CqARF 蛋白均为亲水性蛋白,且稳定性良好,大部分 CqARF 蛋白呈弱酸性(表 2)。

2.3　藜麦 *ARF* 的基因结构分析及染色体定位可视化

对藜麦的 30 个 *ARF* 基因所编码的氨基酸序列构建系统进化树(图 1),结果表明:藜麦 ARF 蛋白在系统进化树中绝大多数都是成对出现的,30 个 CqARF 蛋白共被划分为 3 个亚族,在同一亚族中亲缘关系比较近,推测其在进化过程中可能发生了一些适应性变异。

被聚类为同一亚族的 *ARF* 基因结构相似程度较高(图 1),除了 *CqARF4*、*CqARF12*、*CqARF16*、*CqARF29*、*CqARF7*、*CqARF17*、*CqARF14*、*CqARF19* 和 *CqARF21* 外,其他 21 个 *CqARF* 基因都含有 10 个以上外显子;大部分都含有上下游非编码区。*CqARF* 基因的染色体分布结果(图 2)表明,*CqARF* 家族成员在 16 条染色体上呈不均等分布,大部分分布在染色体的近末端,其中第 01、10 号染色体上分别含有 6、5 个 *CqARF* 基因,其他 14 个染色体上有 1～3 个 *CqARF* 基因。

2.4　藜麦 ARF 蛋白的二级结构分析及亚细胞定位预测

CqARF 蛋白的二级结构主要由 α-螺旋和无规则卷曲构成(二者之和所占二级结构总量的比例大于 75%),而延伸链、β-转角的比例较低,尤其是 β-转角(表 3)。由此推测,α-螺旋和无规则卷曲是 CqARF 蛋白的主要结构元件,而延伸链、β-转角则散乱地分布在蛋白质各处。对 CqARF 进行亚细胞定位预测发现,除了 CqARF7、CqARF17、CqARF19 定位于细胞质外,其他 27 个 CqARF 蛋白均定位于细胞核,表明大部分 CqARF 的功能主要于细胞核中展现,少数 CqARF 在细胞质中发挥功能。

2.5　藜麦 ARF 蛋白的保守基序和结构域分析

对藜麦 ARF 家族蛋白序列进行保守基序和结构域分析,共找到了 10 个保守基序和 3 个结构域(图 3)。10 个

表1 藜麦*ARF*基因家族成员基本信息

Table 1 Basic information of *ARF* gene family members in *C. quinoa*

基因 Gene	基因ID Gene ID	染色体位置 Chromosomal location	基因长度 Gene length (bp)	编码序列长度 Coding sequence length (bp)	外显子数 Number of extron
CqARF1	AUR62017628	Chr00: 137069135-137078739+	9605	3036	15
CqARF2	AUR62014884	Chr01: 32379801-32385387−	5587	2201	10
CqARF3	AUR62025282	Chr01: 35173388-35181140+	7753	3675	15
CqARF4	AUR62037757	Chr01: 67284467-67287685−	3219	2559	2
CqARF5	AUR62027988	Chr01: 104096345-104105070+	8726	3409	15
CqARF6	AUR62004506	Chr01: 119597615-119602513+	4899	3121	14
CqARF7	AUR62004685	Chr01: 122071511-122075850−	4340	2002	2
CqARF8	AUR62031093	Chr02: 5801568-5807597−	6030	2372	10
CqARF9	AUR62028286	Chr02: 48949398-48957949+	8552	3471	15
CqARF10	AUR62035726	Chr03: 22879783-22887666−	7884	3547	14
CqARF11	AUR62020722	Chr04: 17913500-17922453−	8954	3559	16
CqARF12	AUR62018248	Chr04: 30750720-30753978+	3259	2594	2
CqARF13	AUR62004743	Chr05: 61522016-61532186+	10171	3521	14
CqARF14	AUR62039546	Chr06: 25055496-25057977−	2482	1491	3
CqARF15	AUR62041135	Chr06: 50679370-50691099−	11730	1491	14
CqARF16	AUR62040500	Chr07: 44176612-44181910−	5299	2858	14
CqARF17	AUR62023601	Chr10: 594565-598120+	3556	3898	2
CqARF18	AUR62023447	Chr10: 2468755-2472754+	4000	1662	13
CqARF19	AUR62035452	Chr10: 41839308-41845033−	5726	2041	5
CqARF20	AUR62035439	Chr10: 42663267-42671953+	8687	3687	14
CqARF21	AUR62033846	Chr10: 50898892-50902089−	3198	1338	4
CqARF22	AUR62037509	Chr12: 26065525-26076208−	10684	3577	14
CqARF23	AUR62010868	Chr13: 6562877-6569697−	6821	2462	15
CqARF24	AUR62032471	Chr14: 40104253-40114926+	10674	2670	14
CqARF25	AUR62015175	Chr15: 59034635-59043804+	9170	3089	15
CqARF26	AUR62034763	Chr16: 9888885-9894953+	6069	3615	13
CqARF27	AUR62041688	Chr16: 12729160-12735228−	6069	3619	13
CqARF28	AUR62019870	Chr16: 72216529-72222848+	6320	2454	14
CqARF29	AUR62039870	Chr17: 25502874-25508338−	5465	4042	3
CqARF30	AUR62009525	Chr18: 29548577-29554484+	5908	3479	13

保守基序中，Motif3、Motif4、Motif7、Motif1、Motif2相对来讲在大多数序列中分布较分散且位置靠前；相比之下，Motif6、Motif8、Motif5位置靠中，Motif10、Motif9位置靠后且集中；同时被聚在同一亚族的蛋白保守基序类别与位置分布极其相似。亲缘关系越近的CqARF蛋白，Motif的类别、分布的相对位置越一致，推测其结构域和功能单位都基本相似。藜麦的30个ARF蛋白均含有B3-DNA和Auxin_resp这两个ARF家族蛋白所共有的结构域，并且1/2的CqARFs蛋白还含有生长素/吲哚-3-乙酸(auxin/indole-3-acetic acid, AUX_IAA)结构域，且都聚类在同一亚族下。

表 2　藜麦 ARF 家族蛋白理化性质

Table 2　Physicochemical properties of ARF family proteins in *C. quinoa*

蛋白 Protein	PL（aa）	MW（Da）	pI	II	AI	GRAVY	蛋白 Protein	PL（aa）	MW（Da）	pI	II	AI	GRAVY
CqARF1	855	94764.69	5.78	62.40	75.81	−0.402	CqARF16	695	76510.27	6.16	51.02	69.70	−0.436
CqARF2	588	65092.62	8.21	53.58	67.13	−0.463	CqARF17	553	60662.63	5.94	49.91	69.73	−0.319
CqARF3	956	105347.20	5.96	59.07	68.56	−0.511	CqARF18	627	70319.34	6.46	58.51	72.07	−0.534
CqARF4	612	67991.93	7.62	45.51	72.35	−0.420	CqARF19	561	62325.29	5.20	52.68	67.02	−0.352
CqARF5	1016	111714.07	6.11	59.88	73.34	−0.486	CqARF20	881	97360.64	5.29	57.63	72.81	−0.425
CqARF6	657	73477.61	6.03	56.70	71.45	−0.545	CqARF21	445	48881.43	5.83	56.24	71.57	−0.193
CqARF7	549	60918.14	6.57	49.76	67.07	−0.371	CqARF22	812	90221.44	5.95	52.42	72.03	−0.441
CqARF8	633	69710.49	6.56	52.50	67.44	−0.464	CqARF23	622	69312.17	5.59	54.69	72.38	−0.520
CqARF9	946	104225.10	5.96	58.16	68.77	−0.494	CqARF24	617	68380.82	6.20	60.64	70.29	−0.488
CqARF10	883	97302.49	5.15	56.78	73.10	−0.402	CqARF25	876	97167.45	5.87	63.27	76.56	−0.404
CqARF11	1092	120031.21	6.18	64.38	73.40	−0.520	CqARF26	828	92222.53	6.63	56.98	63.45	−0.652
CqARF12	612	67993.93	7.25	46.36	71.23	−0.419	CqARF27	828	92168.41	6.47	57.48	63.80	−0.641
CqARF13	829	92163.75	6.03	53.82	73.38	−0.413	CqARF28	619	69164.13	6.13	56.20	71.44	−0.528
CqARF14	488	54094.17	6.19	44.96	73.01	−0.274	CqARF29	695	76558.29	6.25	51.90	70.27	−0.444
CqARF15	620	68911.67	6.28	60.41	74.82	−0.427	CqARF30	826	92170.61	6.27	57.84	65.27	−0.623

PL：蛋白质长度 Protein length；MW：分子量 Molecular weight；pI：等电点 Isoelectric point；II：不稳定系数 Instability index；AI：脂肪系数 Aliphatic index；GRAVY：总平均亲水性 Grand average of hydropathicity.

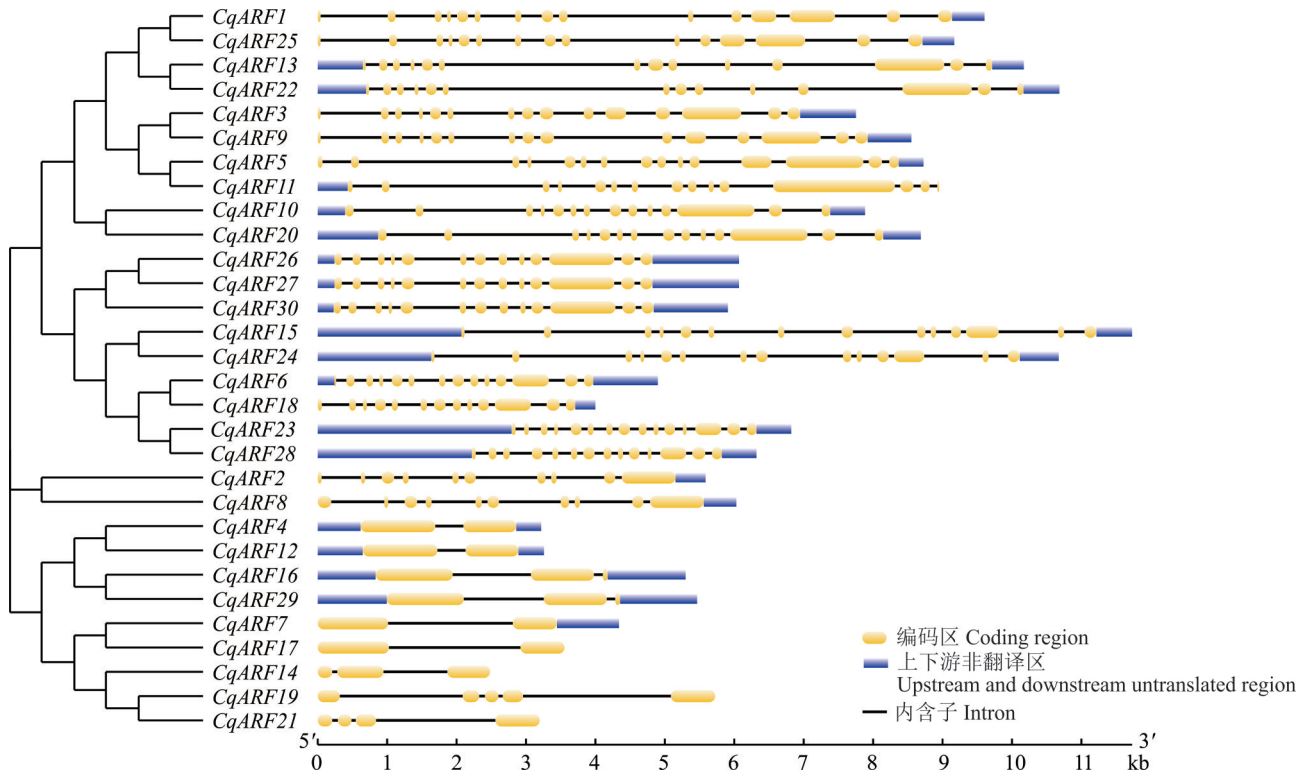


图 1　藜麦 *ARF* 基因结构分析

Fig. 1　Gene structure analysis of *ARF* in *C. quinoa*

2.6　藜麦 ARF 基因家族的启动子顺式作用元件分析

为了解 *CqARF* 基因的潜在功能，对 *CqARFs* 的启动子顺式作用元件进行分析。除了启动子区域的核心启动子元件（TATA-box）、常见的顺式作用元件（CAAT-box）和大量与光响应有关的元件（如：TATC-box、GARE-

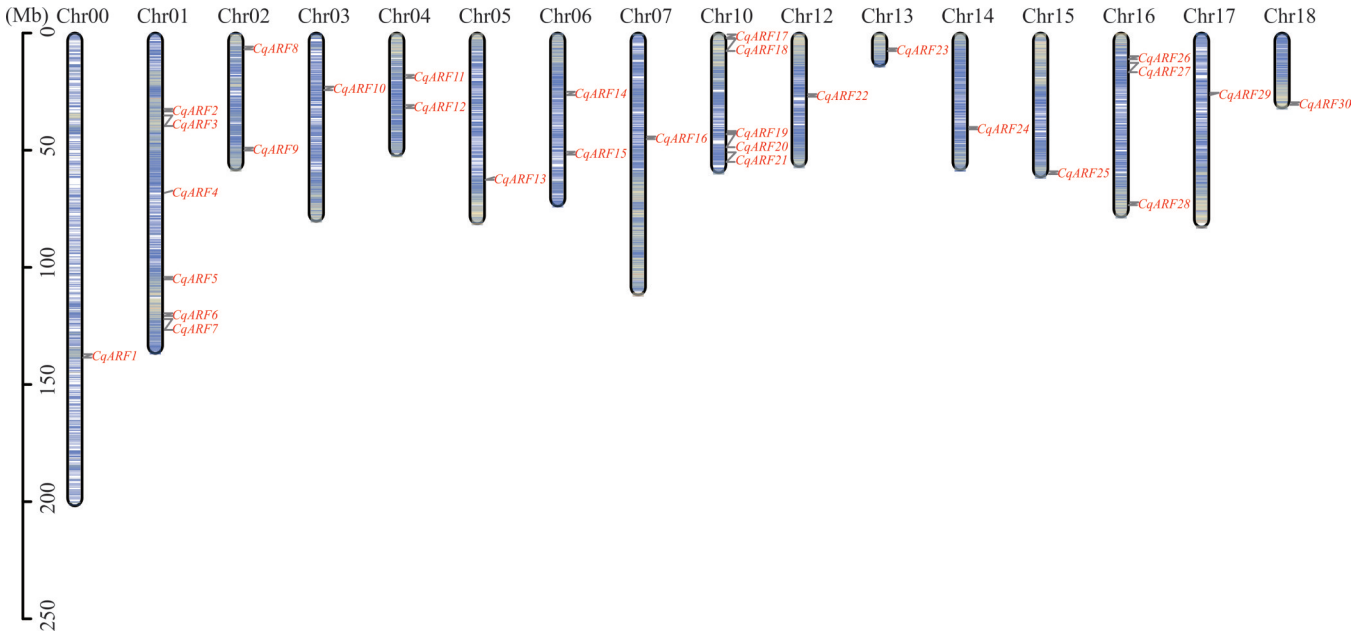


图2 藜麦*ARF*的染色体定位

Fig. 2 Chromosomal mapping of *ARF* in *C. quinoa*

Chr: 染色体 Chromosome.

表3 藜麦ARF的二级结构分析和亚细胞定位预测

Table 3 Secondary structure analysis and subcellular localization prediction of ARF in *C. quinoa*

蛋白 Protein	百分比 Percentage (%)				亚细胞定位 Subcellular localization	蛋白 Protein	百分比 Percentage (%)				亚细胞定位 Subcellular localization
	α-螺旋 α-helix	延伸链 ES	β-转角 β-turn	无规则卷曲 Random coil			α-螺旋 α-helix	延伸链 ES	β-转角 β-turn	无规则卷曲 Random coil	
CqARF1	23.39	15.20	3.86	57.54	N	CqARF16	17.84	16.12	4.75	61.29	N
CqARF2	16.67	14.29	4.76	64.29	N	CqARF17	14.10	17.54	3.80	64.56	C
CqARF3	25.00	13.70	5.44	55.86	N	CqARF18	18.50	16.59	4.15	60.77	N
CqARF4	19.61	16.99	4.41	58.99	N	CqARF19	22.28	18.00	3.74	55.97	C
CqARF5	28.54	15.94	6.30	49.21	N	CqARF20	25.20	15.66	3.75	55.39	N
CqARF6	19.48	17.81	4.72	57.99	N	CqARF21	14.16	19.55	3.82	62.47	N
CqARF7	13.30	17.67	4.37	64.66	C	CqARF22	27.46	14.53	3.20	54.80	N
CqARF8	15.96	14.53	4.42	65.09	N	CqARF23	19.29	17.52	4.82	58.36	N
CqARF9	25.05	14.06	5.50	55.39	N	CqARF24	18.96	17.50	4.05	59.48	N
CqARF10	27.52	14.50	3.74	54.25	N	CqARF25	23.29	15.18	3.31	58.22	N
CqARF11	33.88	14.65	7.88	43.59	N	CqARF26	19.93	14.86	3.50	61.71	N
CqARF12	20.10	15.85	5.07	58.99	N	CqARF27	20.29	15.22	3.50	60.99	N
CqARF13	26.90	14.72	3.38	55.01	N	CqARF28	20.68	17.12	4.68	57.51	N
CqARF14	12.70	19.88	4.10	63.32	N	CqARF29	18.42	14.68	4.46	62.45	N
CqARF15	19.19	17.26	4.35	59.19	N	CqARF30	19.73	14.65	3.87	61.74	N

ES: Extended strand; N: 细胞核 Nuclear; C: 细胞质 Cytoplasmic.

motif、P-box、G-box、GT1-motif、Sp1、ACE、3-AF1 binding site、MRE、Box 4、chs-CMA1a 和 Gap-box 等)外，*CqARF*启动子区域主要分布着激素调控和逆境胁迫等相关元件(图4)。参与赤霉素响应、生长素响应的元件(如:P-box、GARE-motif和TATC-box等)存在于每个*CqARF*基因的启动子区域，大部分基因的启动子区均含有低温响应的元件，而参与脱落酸、水杨酸、茉莉酸甲酯等激素响应、昼夜节律控制、防御和压力响应及创伤响应

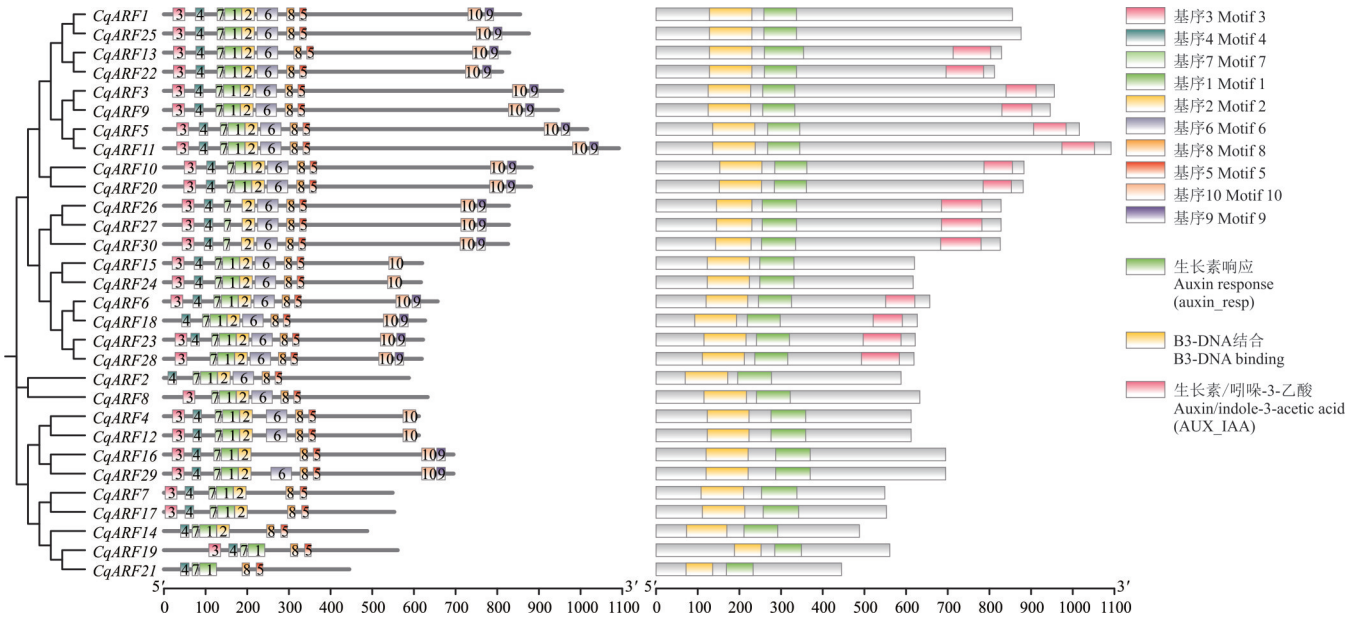


图 3　藜麦 ARF 蛋白的保守基序和结构域分析

Fig. 3　Motif and domain analysis of ARF proteins in *C. quinoa*

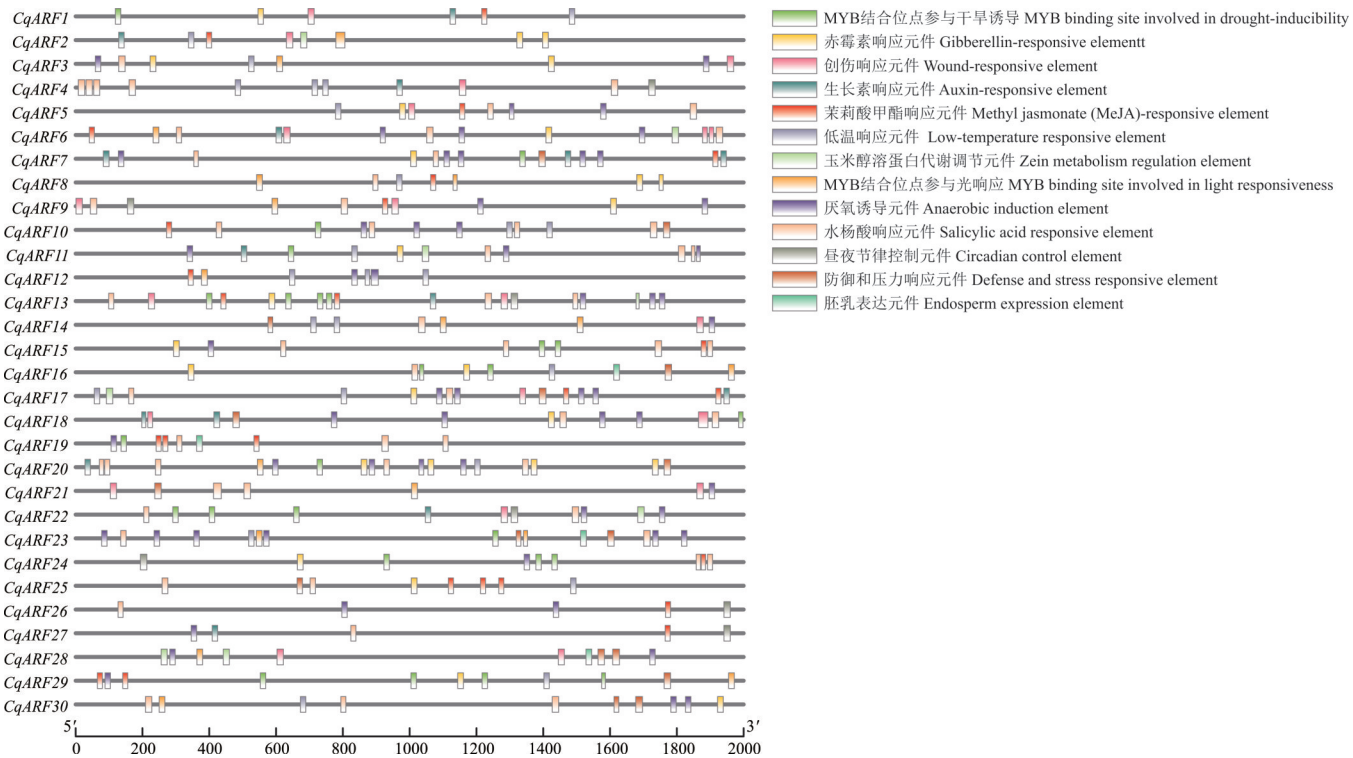


图 4　藜麦 *ARFs* 的启动子顺式作用元件分析

Fig. 4　Analysis of the promoter *cis*-acting element of *ARFs* in *C. quinoa*

的元件则不均匀地分布于部分基因的启动子区域。说明 *CqARF* 基因普遍可被光、生长素和赤霉素以及低温所调控。

2.7　藜麦 *ARF* 基因的 GO 功能富集分析

通过 Ensemble plant 对 *CqARF1*～*7*、*CqARF9*～*12*、*CqARF14*、*CqARF15*、*CqARF18*、*CqARF21*、*CqARF24*、*CqARF27*～*30* 共 20 个基因进行 GO 注释分析（图 5）发现，这些基因多富集在生物学过程（GO:0006355-DNA 转录调控、GO:0009725-对激素反应）、分子功能（GO:0003677-DNA 结合、GO:0005515-蛋白结合）、细胞组分（GO:

0005634-细胞核)等路径上,说明藜麦*ARF*家族多个成员主要参与转录调控和激素信号传导路径。此外,*CqARF10*还参与对生长素反应(GO:0009733)、胚胎发育结束于种子休眠(GO:0009793)、花卉发育(GO:0009908)、纵轴(植物从枝条到根部的轴)规格(GO:0009942)、木质部和韧皮部模式的形成(GO:0010051)、叶片维管组织模式的形成(GO:0010305)、根系发育(GO:0048364)、分生组织发育(GO:0048507)等过程。

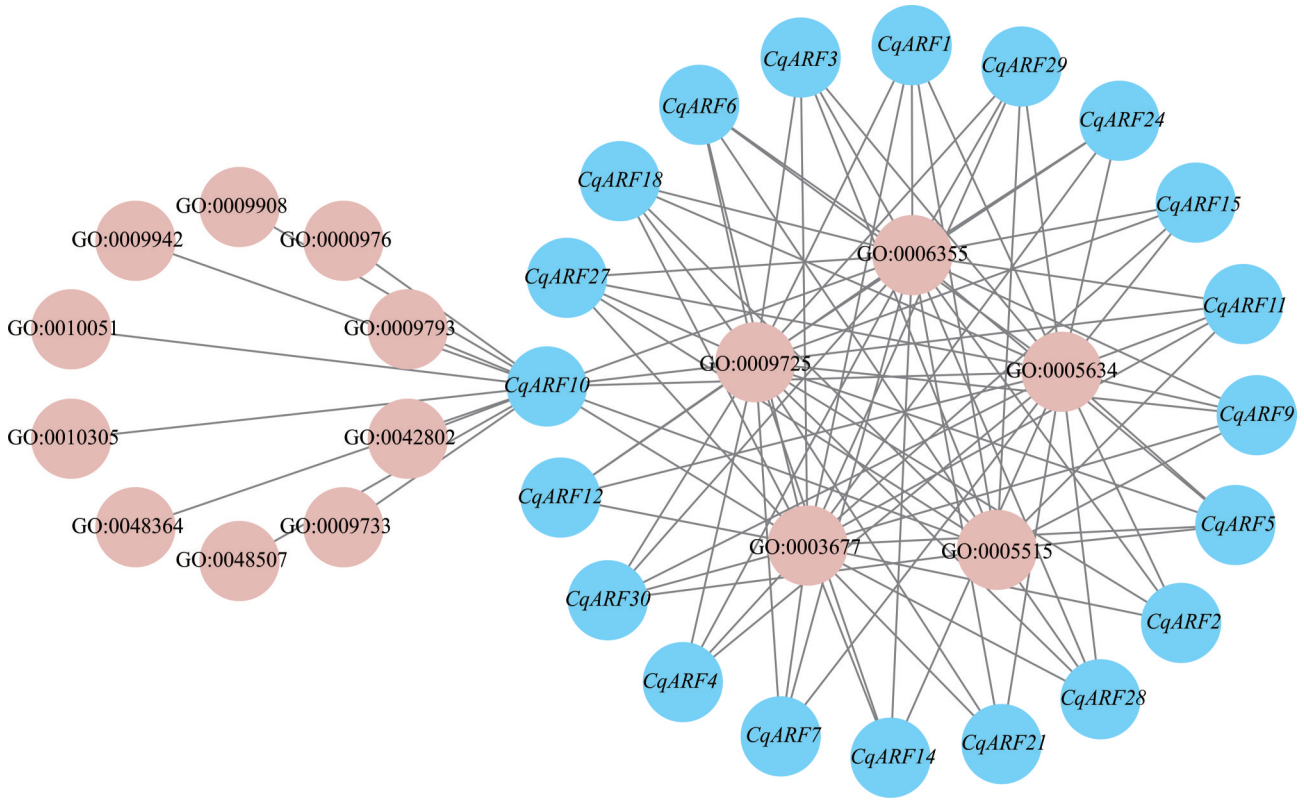


图5 藜麦*ARF*s的GO富集分析

Fig. 5 GO enrichment analysis of *ARF*s in *C. quinoa*

GO:0003677, DNA结合 DNA binding; GO:0005515, 蛋白结合 Protein binding; GO:0005634, 细胞核 Nucleus; GO:0006355, DNA转录调控 Regulation of DNA-templated transcription; GO:0009725, 对激素反应 Response to hormone; GO:0009733, 对生长素反应 Response to auxin; GO:0009793, 胚胎发育结束于种子休眠 Embryo development ending in seed dormancy; GO:0000976, 转录顺式调节区结合 Transcription *cis*-regulatory region binding; GO:0009908, 花卉发育 Flower development; GO:0009942, 纵轴规格 Longitudinal axis specification; GO:0010051, 木质部和韧皮部模式的形成 Xylem and phloem pattern formation; GO:0010305, 叶片维管组织模式形成 Leaf vascular tissue pattern formation; GO:0042802, 相同的蛋白质结合 Identical protein binding; GO:0048364, 根系发育 Root development; GO:0048507, 分生组织发育 Meristem development.

2.8 藜麦ARF蛋白的系统进化树分析

利用MEGA的邻接法对获得的拟南芥(23个)、甜菜(16个)、藜麦(30个)、大豆(55个)、水稻(25个)、高粱(25个)、菠菜(14个)、小麦(67个)和玉米(36个)ARF蛋白(共291个)构建系统进化树(图6)。整个进化树分为七大类(Ⅰ~Ⅶ),其中Ⅲ、Ⅴ、Ⅶ类根据蛋白序列的相似程度又进一步细分为a、b两类或a、b、c三类。藜麦的30个ARF蛋白分散在系统进化树的各个分支上,主要聚在分支Ⅱ-a(5个)、Ⅱ-b(4个)、Ⅴ-b(4个)、Ⅴ-c(5个)、Ⅶ-a(4个)上,剩下的8个则以两个为一对分别聚在分支Ⅰ、Ⅵ、Ⅶ-b、Ⅶ-c上。总体来看,各个分支上的ARF蛋白存在单双子叶植物的分化,单、双子叶植物的ARF蛋白多聚类在不同的小分支上。

对同为单子叶植物的拟南芥、甜菜、藜麦和菠菜的ARF蛋白(共83个)构建系统进化树(图7)。整个进化树分为5个类别(Ⅰ~Ⅴ),除了第Ⅳ组上仅含有拟南芥的8个ARF蛋白外,其他4个组别上均聚集着不同物种的ARF蛋白。除去CqARF14、CqARF30外,其他的藜麦ARF蛋白均两两聚类在一起。总体来看,藜麦的ARF蛋白与菠菜的ARF蛋白亲缘关系较近,与甜菜的亲缘关系次之,与拟南芥的关系又更远一些。

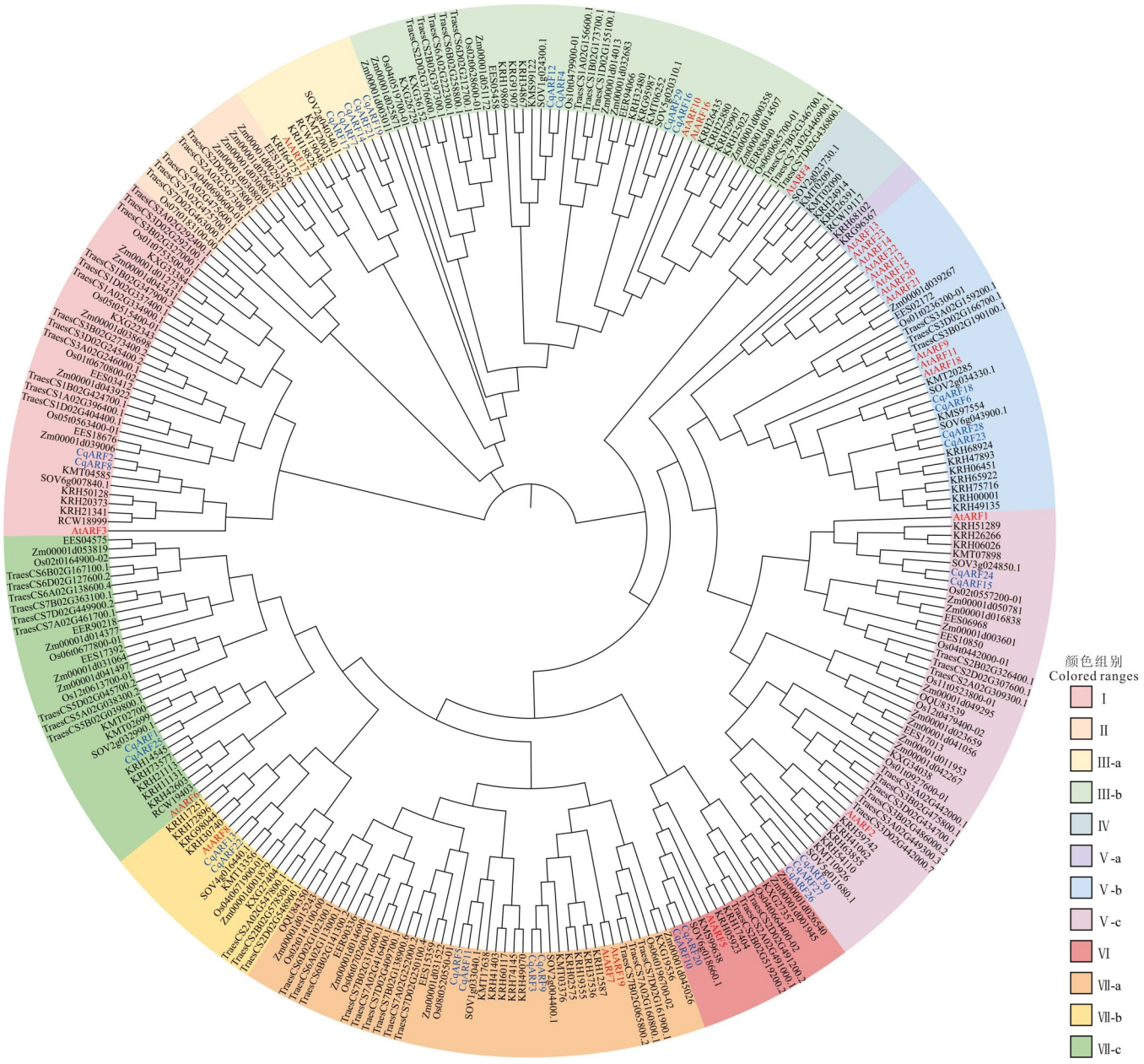


图 6　拟南芥、甜菜、菠菜、藜麦、大豆、水稻、高粱、小麦和玉米 ARF 家族的系统进化树

Fig. 6　Phylogenetic tree of the ARF family of *A. thaliana*, sugar beet, spinach, quinoa, soybean, rice, sorghum, wheat and maize

At：拟南芥 *A. thaliana*；KM：甜菜 *B. vulgaris*；SOV：菠菜 *S. oleracea*；Cq：藜麦 *C. quinoa*；KRG、KRH、RCW：大豆 *G. max*；Os：水稻 *O. sativa*；TraesCS：小麦 *T. aestivum*；Zm：玉米 *Z. mays*；EES、EER、OQU、KXG：高粱 *S. bicolor*；下同 The same below.

2.9　藜麦 *ARFs* 的共线性及进化选择参数分析

为了进一步分析菠菜、甜菜和藜麦间的进化关系，对 3 个物种进行共线性分析。如图 8 共线性片段分析可知，分别有 27、21 个 *CqARF* 基因和菠菜、甜菜的 *ARF* 基因具有共线性关系。推测藜麦与菠菜的基因组同源性程度更高，即菠菜和藜麦的亲缘关系比甜菜的更近。

在藜麦的 14 条染色体上共发现 23 个 *CqARF* 基因形成的 16 对片段重复基因对。在遗传学中用非同义突变率（nonsynonymous mutation rate，Ka）与同义突变率（synonymous mutation rate，Ks）的比值作为判断基因对是否有选择压力作用的标准；*Ka*/*Ks*＞1，基因受正向选择；*Ka*/*Ks*＝1，基因中性进化；*Ka*/*Ks*＜1，基因受纯化选择[28]。通过分析 *CqARF* 基因对的进化选择参数，发现各 *CqARF* 基因对的 *Ka*/*Ks* 比 1 小很多，有害突变被消除，CqARF 蛋白保持不变（表 4）。

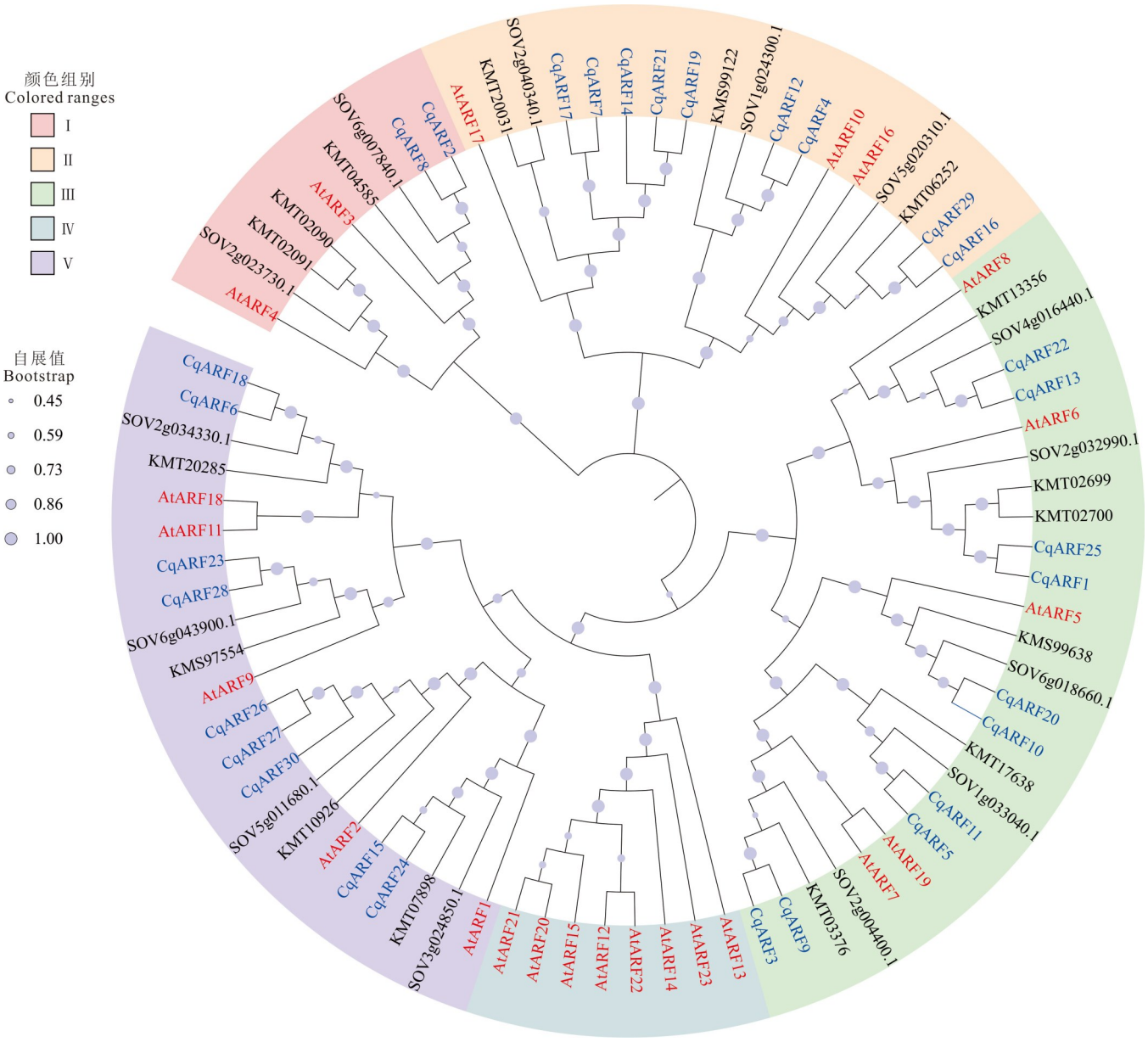


图7 拟南芥、甜菜、菠菜和藜麦ARF家族的系统进化树

Fig. 7 Phylogenetic tree of the ARF family of *A. thaliana*, sugar beet, spinach, and quinoa

2.10 藜麦*ARF*基因在不同组织中的表达分析

CqARF1、*CqARF2*、*CqARF6*、*CqARF15*、*CqARF16*、*CqARF24*、*CqARF30*的表达水平较高(图9),而*CqARF14*、*CqARF21*、*CqARF28*的表达水平很低。*CqARF2*与*CqARF24*在藜麦籽粒中的表达水平明显高于花;*CqARF18*、*CqARF27*与*CqARF30*在藜麦花中的表达水平明显高于籽粒。*CqARF*基因的表达具有组织特异性,但在不同品种间的差异较小。

2.11 藜麦*ARF*基因在籽粒发育不同阶段的表达分析

通过检测*CqARFs*在黑、红、白藜麦籽粒发育不同阶段上的表达水平(图10),发现在30个*CqARF*基因中,*CqARF30*在所有样本中的表达水平均最高,*CqARF1*、*CqARF13*、*CqARF15*、*CqARF24*~*26*的表达水平较高,而*CqARF5*、*CqARF14*、*CqARF19*~*21*的表达水平很低。而某些基因在特定阶段表现为显著表达,如*CqARF2*、*CqARF8*仅在红藜麦授粉后的24和32 d高水平表达。随着籽粒的发育,*CqARFs*基因在不同颜色藜麦中呈现出不同的表达趋势(图11),*CqARFs*基因的表达水平在黑藜麦中多呈先减少后增加再减少的趋势,在红藜麦中多表

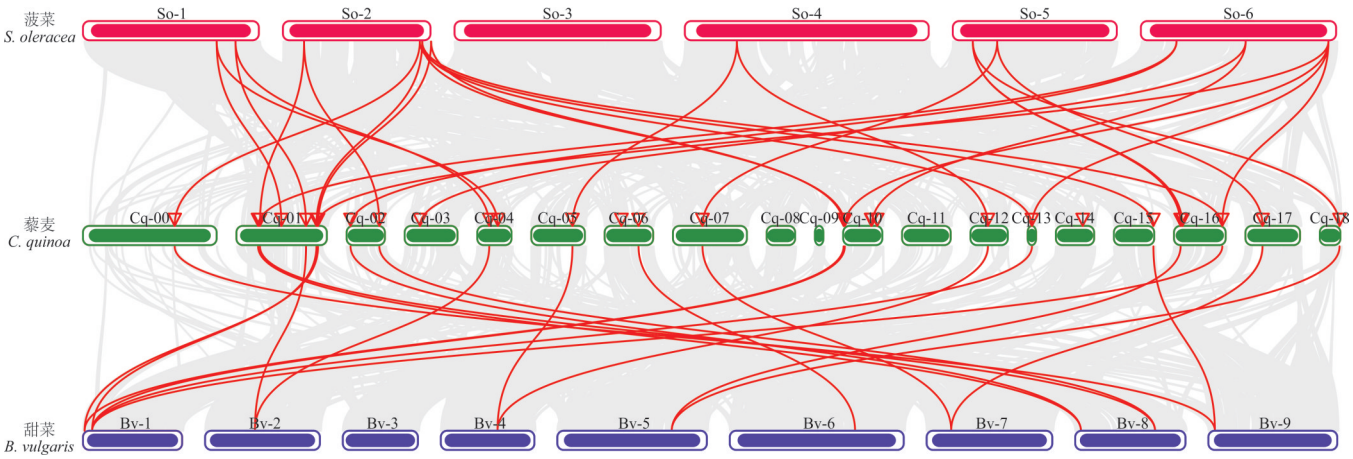


图 8　藜麦 *ARFs* 与菠菜、甜菜的共线性分析

Fig. 8　Collineearity analysis of *ARFs* in *C. quinoa* with *S. oleracea* and *B. vulgaris*

So：菠菜 *S. oleracea*；Cq：藜麦 *C. quinoa*；Bv：甜菜 *B. vulgaris*；-1，-2，…，-N：第 1，2，…，N 号染色体 Chromosomes 1，2，…，N.

表 4　藜麦 *ARFs* 的进化选择参数分析

Table 4　Analysis of evolutionary selection parameters of *ARFs* in *C. quinoa*

基因 1 Gene 1	基因 2 Gene 2	非同义突变率 Nonsynonymous mutation rate（*Ka*）	同义突变率 Synonymous mutation rate（*Ks*）	*Ka*/*Ks*	复制方式 Reproduction method
CqARF6	*CqARF23*	0.303711934	1.799526020	0.168773294	片段重复 Segmental
CqARF6	*CqARF28*	0.315466921	2.426265491	0.130021600	片段重复 Segmental
CqARF6	*CqARF18*	0.026772832	0.087442224	0.306177390	片段重复 Segmental
CqARF7	*CqARF17*	0.044005625	0.114549220	0.384163460	片段重复 Segmental
CqARF13	*CqARF22*	0.003744324	0.065036080	0.057573034	片段重复 Segmental
CqARF23	*CqARF28*	0.021890044	0.124503376	0.175818881	片段重复 Segmental
CqARF2	*CqARF8*	0.015303726	0.096195701	0.159089495	片段重复 Segmental
CqARF1	*CqARF25*	0.006629596	0.050358851	0.131647080	片段重复 Segmental
CqARF18	*CqARF28*	0.319129591	2.155157368	0.148077164	片段重复 Segmental
CqARF18	*CqARF23*	0.316229623	1.753180105	0.180374864	片段重复 Segmental
CqARF3	*CqARF9*	0.009643482	0.095576199	0.100898363	片段重复 Segmental
CqARF5	*CqARF11*	0.013328907	0.079634402	0.167376241	片段重复 Segmental
CqARF26	*CqARF30*	0.012628000	0.067031715	0.188388442	片段重复 Segmental
CqARF10	*CqARF20*	0.014057937	0.080890289	0.173790171	片段重复 Segmental
CqARF4	*CqARF12*	0.010622153	0.078919709	0.134594430	片段重复 Segmental
CqARF27	*CqARF30*	0.011572071	0.070838085	0.163359461	片段重复 Segmental

现为持续降低的趋势，而在白藜麦中则普遍表现为先升高后逐渐降低。推测 *CqARF30*、*CqARF1*、*CqARF2*、*CqARF8*、*CqARF13*、*CqARF15*、*CqARF24*～*26* 基因调控着藜麦的籽粒发育，但 *CqARF* 基因调控异色藜麦籽粒发育的途径不尽相同，或许 *CqARF* 转录因子与藜麦籽粒颜色相关通路有所关联。

2.12　藜麦 ARF 蛋白的互作分析

利用 STRING 对 CqARFs 蛋白进行互作网络构建（图 12），发现 CqARFs 与生长素反应蛋白 IAA12、IAA17，光敏色素作用因子核转录因子 PIF4，bHLH 型转录因子（BIG PETAL P，BPEp）及抗油菜素固醇（BRASSINAZOLE-RESISTANT 1，BZR1）蛋白存在互作关系；CqARF25 和 CqARF28 处于比较核心的位置（互作蛋白多），并且 CqARFs 蛋白与 IAAs 间的互作关系更强，部分与其他 CqARFs 蛋白也存在互作关系。

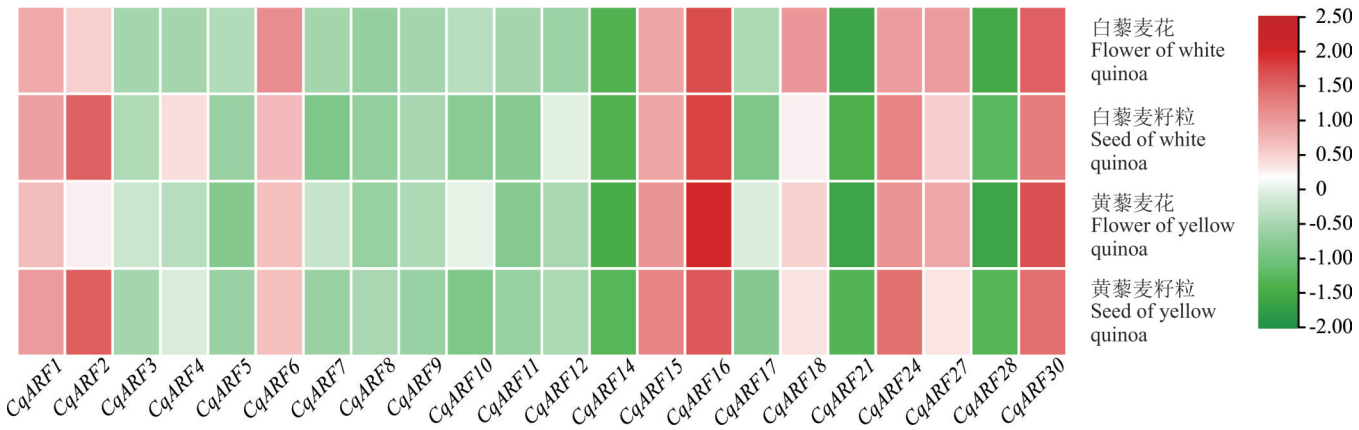


图 9　*ARF* 基因在藜麦花、籽粒中的表达分析

Fig. 9　Expression analysis of *ARF* genes in *C. quinoa* including flower and seed

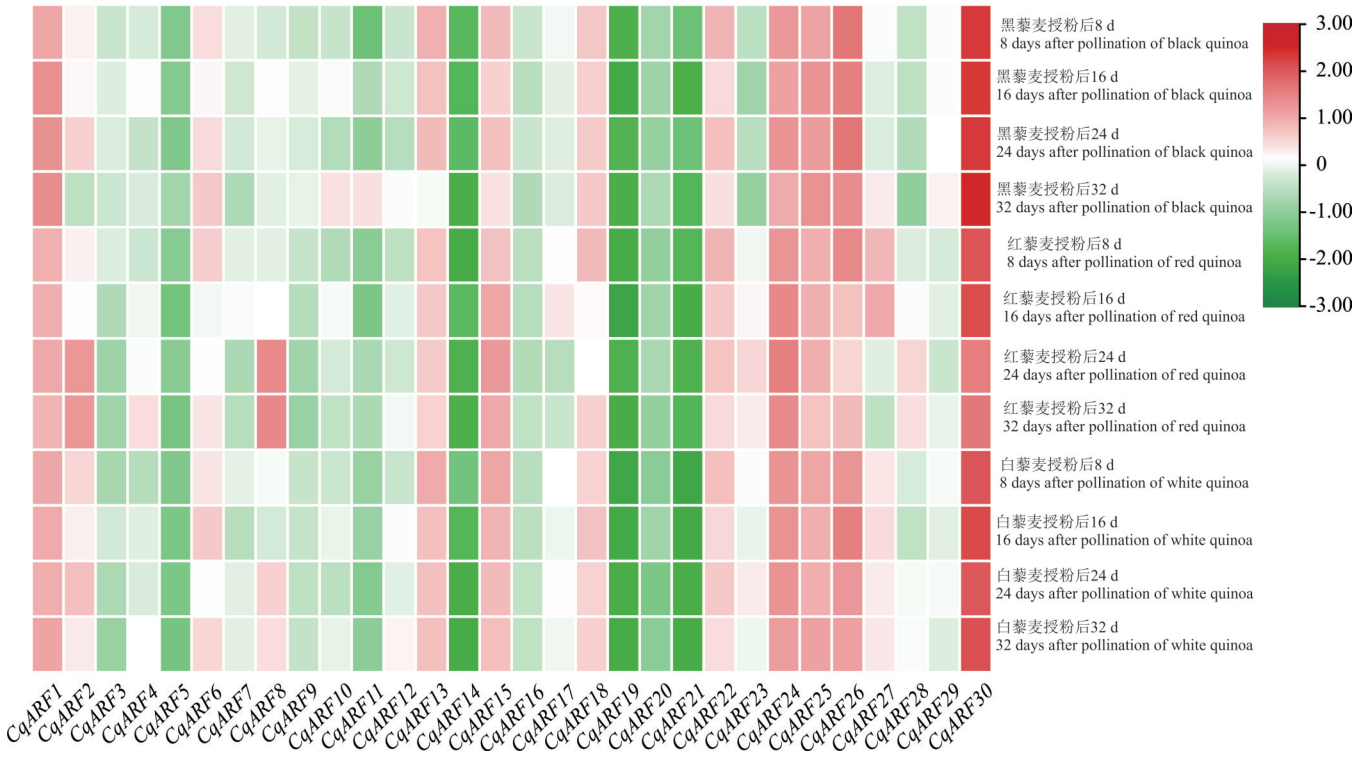


图 10　藜麦籽粒发育时期 *CqARF* 基因的表达

Fig. 10　Expression of *CqARF* genes during grain development in *C. quinoa*

2.13　4个藜麦品种 *CqARFs* 的DNA变异分析

对 CQ_3、CQ_6、CQ_8、CQ_9 共4个藜麦品种 *CqARFs* 的DNA变异进行分析(表5)，暂时只在 *CqARF1* 和 *CqARF24* 中发现了SNP变异，各SNP变异的质量值为48.60～1109.46，且注释为上游效应、下游效应和内含子，未检测到移码突变，蛋白结构和功能没有发生改变。

3　讨论

本研究对藜麦全基因组数据进行了分析并鉴定出30个藜麦 *ARF* 家族成员。CqARF蛋白的氨基酸长度、分子量、等电点及α-螺旋、β-转角、无规则卷曲、延伸链存在很大的差异，可能与家族成员在藜麦生长发育过程中的功能机制不同有关。并且30个 *CqARF* 基因广泛但不均匀地分布在藜麦的16条染色体上，不以基因簇出现，这和拟南芥 *ARF* 家族的研究结果相同[4]。

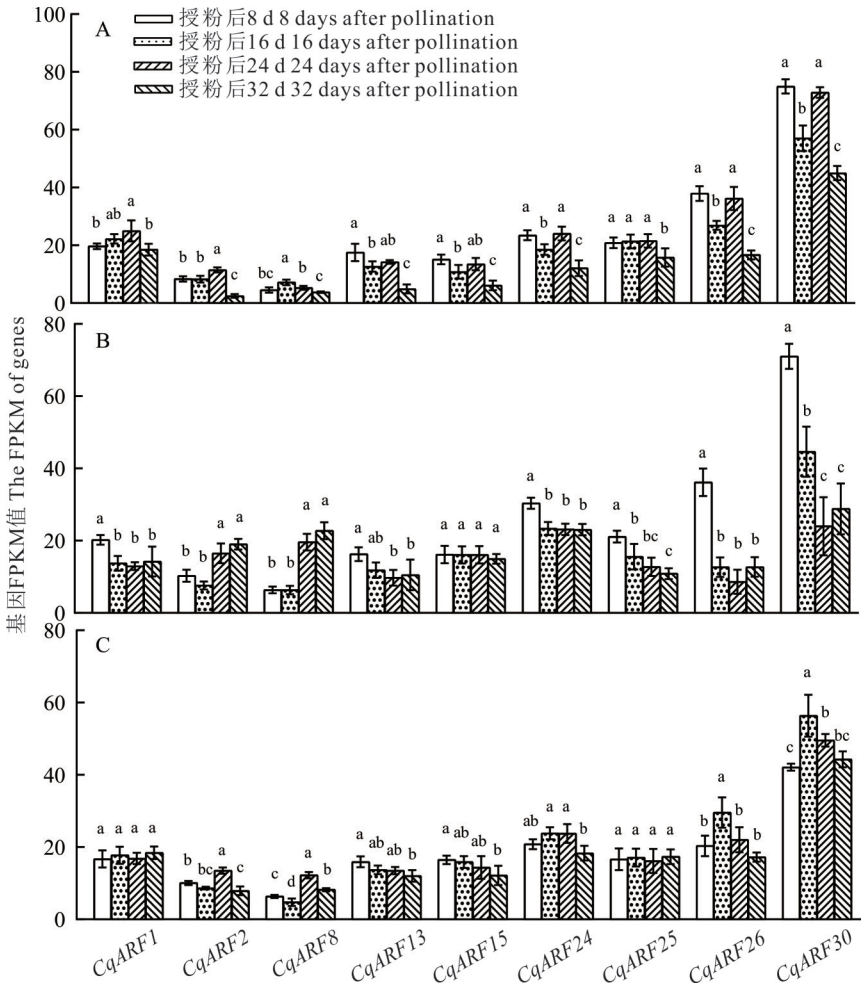


图 11　藜麦籽粒发育时期部分 *CqARF* 基因的表达

Fig. 11　Expression of some *CqARF* genes during grain development in *C. quinoa*

A：黑藜麦 Black quinoa；B：红藜麦 Red quinoa；C：白藜麦 White quinoa；不同字母表示同基因不同时间差异显著（$P<0.05$）Different letters indicate significant differences among different time after pollination of the same gene ($P<0.05$).

藜麦的 30 个 ARF 蛋白均具有该家族蛋白普遍含有的 B3-DNA 和 Auxin_resp 结合域，这两个结构域是 *ARF* 基因所编码的蛋白能否与 AuxREs 结合进而激活或抑制生长素信号转导过程中早期响应基因（*AUX/IAA*、*GH3* 和 *SAUR* 基因家族等）转录的关键[3]。ARF 蛋白中与 AUX_IAA 结构域极为相似的 CTD 区域可以促进与 Aux/IAA 蛋白的相互作用，并通过促进 ARF 二聚化来增强 DNA 结合[29]。Aux/IAA 蛋白是 ARF 抑制因子[11]，含有 CTD 结构域的 CqARF 蛋白与 CqAux/IAA 蛋白相互作用，进而激活和抑制藜麦的生长素反应基因。

CqARF 基因的启动子序列中普遍含有多个与光响应有关的元件，且大部分含有参与赤霉素响应、生长素响应及低温胁迫的元件；说明 *CqARF* 基因普遍可被光、生长素和赤霉素等调控，且基因功能存在严重冗余。ARF 在植物生长的诸多生物学过程中均有参与。拟南芥中的 *arf2* 突变体花粉粒形态异常、叶衰亡和花脱落时间推迟[30]，推测与之同源的 *CqARF26*、*CqARF27* 和 *CqARF30* 也参与花发育和叶片发育，而 *CqARF27*、*CqARF30* 基因在藜麦花中均优势表达，尤其是 *CqARF30*；*AtARF5* 参与胚模式建成和维管组织形成[16]，而作为同源基因的 *CqARF10* 在 GO 预测中参与了对生长素反应、花卉发育、木质部和韧皮部模式的形成、叶片维管组织模式的形成、根系发育、分生组织发育等过程，推测 *CqARF10* 基因可能参与了藜麦胚的发育和维管的形成。*CsARF* 基因在大麻（*Cannabis sativa*）雄花中高表达，可能参与大麻雄花发育[31]。而藜麦 *ARF* 基因的表达结果表明，其具有组织的特异性，但在不同品种间的差异较小。*CqARF18*、*CqARF27* 与 *CqARF30* 在藜麦花中高表达，或调节着藜麦花的生长。*CqARF30*、*CqARF1*、*CqARF2*、*CqARF8*、*CqARF13*、*CqARF15*、*CqARF24*～*26* 基因调控着藜麦的籽粒发育，但 *CqARF* 基因调控籽粒发育的具体功能可能因籽粒颜色不同而有所差异。

进化分析方面，30个CqARF蛋白多成对地分散在各个分支上，且与其他双子叶植物的ARF蛋白多聚类在不同的小分支上，推测可能是*ARF*基因在单、双子叶植物分化前已经形成了多个功能有差异的拷贝，而在分化后藜麦的基因组又发生了一次全基因组复制事件。多倍体是藜麦驯化后ARF家族扩大的主要原因[24]，许多与*AtARFs*同源的*CqARFs*在藜麦中缺失，可能是藜麦谱系中丢失了相应基因，亦或者是拟南芥在其和藜麦共享的最后一个共同祖先分化后获得新基因。并且CqARF蛋白先与菠菜、甜菜聚在一起，说明藜麦与菠菜、甜菜的亲缘关系较近，跟拟南芥的关系又更远一些，这与藜麦跟菠菜、甜菜同属苋科相一致。共线性分析发现，藜麦分别有27、21个*CqARF*基因与菠菜、甜菜具有共线性关系，且23个*CqARF*基因形成的16对片段重复基因对的*Ka*/*Ks*值远远小于1，说明*CqARF*基因受到纯化选择作用，其蛋白功能未发生变化。

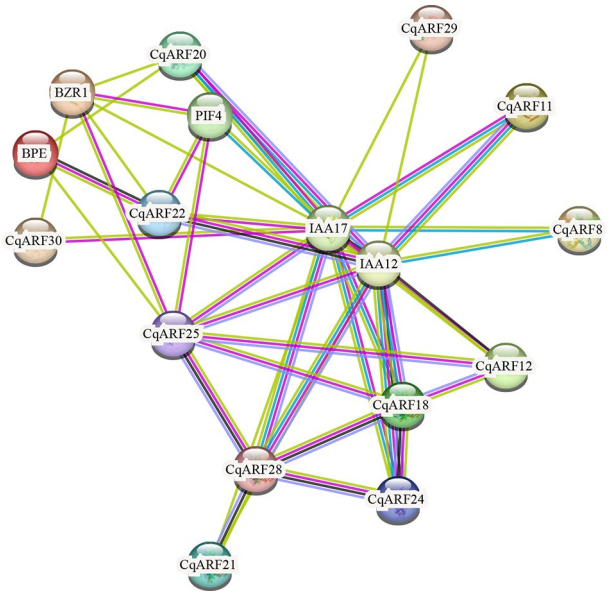


图12 藜麦ARF的蛋白互作网络分析

Fig. 12 Protein-protein interaction network analysis of ARF in *C. quinoa*

BPEp：大花瓣P Big petal P；BZR1：抗油菜素固醇1 Brassinazole-resistant 1；PIF4：植物色素相互作用因子4 Phytochrome-interacting factor 4；IAA：生长素/吲哚-3-乙酸蛋白 Auxin/indole-3-acetic acid protein.

表5 4个藜麦品种*CqARFs*的单核苷酸多态性DNA变异分析

Table 5 Analysis of single nucleotide polymorphism (SNP) DNA variation of *CqARFs* in four quinoa cultivars

基因ID Gene ID	变异位点 Position of variation (POS)	参考碱基 Reference allele (REF)	突变碱基 Alternative allele (ALT)	质量值 Quality	CQ_3	CQ_6	CQ_8	CQ_9	单核苷酸多态性效应 Single nucleotide polymorphism_effect
CqARF1	137066642	A	C	80.20	A,A	A,A	N	A,C	上游效应 Upstream
CqARF1	137068065	A	G	48.60	A,A	A,G	N	N	上游效应 Upstream
CqARF1	137067017	A	G	323.12	A,A	A,G	A,G	A,G	上游效应 Upstream
CqARF1	137070583	A	G	408.19	A,A	A,G	A,G	G,G	内含子 Intron
CqARF1	137070760	T	C	372.22	T,T	T,C	T,C	C,C	内含子 Intron
CqARF1	137074788	T	C	158.20	N	T,T	T,T	T,C	内含子 Intron
CqARF1	137069513	C	T	1109.46	T,T	T,T	T,T	T,T	内含子 Intron
CqARF24	40101003	A	G	119.14	G,G	A,A	A,A	A,A	上游效应 Upstream
CqARF24	40101130	G	A	172.59	A,A	G,G	G,G	G,G	上游效应 Upstream
CqARF24	40103100	T	A	172.26	A,A	T,T	N	T,T	上游效应 Upstream
CqARF24	40102779	C	T	79.74	C,T	C,C	C,C	C,C	上游效应 Upstream
CqARF24	40103316	T	A	79.84	T,T	T,T	T,T	A,A	上游效应 Upstream
CqARF24	40103661	A	G	49.35	G,G	A,A	A,A	A,A	上游效应 Upstream
CqARF24	40102722	C	T	178.98	T,T	C,C	C,C	C,C	上游效应 Upstream
CqARF24	40103742	T	C	51.02	N	T,T	C,C	T,T	上游效应 Upstream
CqARF24	40116631	G	A	89.39	A,A	G,G	G,G	G,G	下游效应 Downstream
CqARF24	40119474	T	C	53.44	C,C	T,T	T,T	N	下游效应 Downstream

CqARF 蛋白被预测与干扰有丝分裂后细胞扩增的转录因子 BPE、BRASSINAZOLE-RESISTANT 1 蛋白（BZR1）、bHLH 蛋白家族在光敏色素 B 信号通路中起负作用的转录因子 PIF4、生长素/吲哚-3-乙酸家族蛋白 IAA12、IAA17 等蛋白存在着互作，主要与生长素的反应相关，与启动子元件分析呼应，推测 ARF 蛋白可能存在改变生长素反应蛋白 IAA 调节早期生长素反应基因表达的能力。

藜麦具有发达的根系，根长、体积及根毛数量较多数作物大，赋予其较强的耐瘠薄土壤、抗旱和耐盐碱能力。过表达西葫芦（*Cucurbita pepo*）*CpARF22* 的转基因拟南芥品系增强了耐盐、耐旱性[32]，大多数青钱柳（*Cyclocarya paliurus*）*ARF* 基因对干旱、盐胁迫有显著响应[33]，鉴定出对干旱、盐胁迫显著响应的藜麦 *ARF* 基因，便于解析藜麦抗旱、耐盐机制。结合之前对藜麦生长素结合蛋白（ABP1）的研究[34]，有助于更深入地研究藜麦根系发育过程。

4　结论

本研究从藜麦参考基因组中鉴定到 30 个 *CqARF* 基因，30 个藜麦 ARF 家族成员广泛但不均匀地分布在藜麦的 16 条染色体上，且不以基因簇的形式出现。CqARF 蛋白的氨基酸长度、分子量等存在很大的差异，序列长度为 445～1092 个氨基酸，蛋白质分子量为 48.88～120.03 kDa。根据系统发育关系，可将 CqARF 蛋白分为 4 组，所有成员均含有 ARF 蛋白特有的 B3-DNA 结合域和 Auxin_resp 结构域，并且 1/2 的 CqARF 蛋白还含有 AUX_IAA 结构域。*CqARF* 基因普遍含有光响应元件、赤霉素响应、生长素响应及低温胁迫响应的顺式作用元件。共线性分析表明，片段重复为该家族的主要扩增方式，且 *CqARF* 基因受到纯化选择作用。转录组数据表明 *CqARF* 基因的表达具有组织特异性，但在不同品种间的差异较小；*CqARF30*、*CqARF1*、*CqARF2*、*CqARF8*、*CqARF13*、*CqARF15*、*CqARF24～26* 调控着藜麦的籽粒发育，但 *CqARFs* 调控籽粒发育的具体功能可能因籽粒颜色不同而有所不同。本研究结果可为进一步研究 *CqARF* 的基因功能提供理论依据，为解析藜麦根系发育提供了一定的参考。

参考文献 References：

[1] Casanova-Sáez R, Mateo-Bonmatí E, Ljung K. Auxin metabolism in plants. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2021, 13(3): a039867.

[2] Abel S, Theologis A. Early genes and auxin action. Plant Physiology, 1996, 111(1): 9－17.

[3] Ulmasov T, Hagen G, Guilfoyle T J. Dimerization and DNA binding of auxin response factors. The Plant Journal, 1999, 19(3): 309－319.

[4] Okushima Y, Overvoorde P J, Arima K, *et al*. Functional genomic analysis of the *AUXIN RESPONSE FACTOR* gene family members in *Arabidopsis thaliana*: Unique and overlapping functions of *ARF7* and *ARF19*. The Plant Cell, 2005, 17(2): 444－463.

[5] Wang D K, Pei K M, Fu Y P, *et al*. Genome-wide analysis of the *auxin response factors* (*ARF*) gene family in rice (*Oryza sativa*). Gene, 2007, 394(1/2): 13－24.

[6] Chen D, Wang W A, Wu Y Q, *et al*. Expression and distribution of the auxin response factors in *Sorghum bicolor* during development and temperature stress. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(19): 4816.

[7] Xu L, Wang D, Liu S, *et al*. Comprehensive atlas of wheat (*Triticum aestivum* L.) *AUXIN RESPONSE FACTOR* expression during male reproductive development and abiotic stress. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 586144.

[8] Wang Y, Deng D, Shi Y, *et al*. Diversification, phylogeny and evolution of *auxin response factor* (*ARF*) family: Insights gained from analyzing maize *ARF* genes. Molecular Biology Reports, 2012, 39(3): 2401－2415.

[9] Zhao Y, Weng Q Y, Ma H L, *et al*. Genome-wide identification and bioinformatics analysis of *ARF* gene family in *Setaria italic*. Journal of Plant Genetic Resources, 2016, 17(3): 547－554.
赵艳, 瓮巧云, 马海莲, 等. 谷子 *ARF* 基因家族的鉴定与生物信息学分析. 植物遗传资源学报, 2016, 17(3): 547－554.

[10] Tang Y, Du G, Xiang J, *et al*. Genome-wide identification of *auxin response factor* (*ARF*) gene family and the miR160-ARF18-mediated response to salt stress in peanut (*Arachis hypogaea* L.). Genomics, 2022, 114(1): 171－184.

[11] Tiwari S B, Hagen G, Guilfoyle T. The roles of auxin response factor domains in auxin-responsive transcription. The Plant Cell, 2003, 15(2): 533－543.

[12] Rienstra J, Hernández-García J, Weijers D. To bind or not to bind: How AUXIN RESPONSE FACTORs select their target

genes. Journal of Experimental Botany, 2023, 74(22): 6922－6932.
[13] Chaudhary C, Sharma N, Khurana P. Genome-wide identification of *Aux/IAA* and *ARF* gene families in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Protoplasma, 2023, 260(1): 257－270.
[14] Sima X J, Zheng B S. Advances in primary auxin-responsive *Aux/IAA* gene family: A review. Journal of Zhejiang A&F University, 2015, 32(2): 313－318.
司马晓娇, 郑炳松. 植物生长素原初响应基因*Aux/IAA*研究进展. 浙江农林大学学报, 2015, 32(2): 313－318.
[15] Zhao Z, Andersen S U, Ljung K, *et al*. Hormonal control of the shoot stem-cell niche. Nature, 2010, 465(7301): 1089－1092.
[16] Hardtke C S, Berleth T. The *Arabidopsis* gene *MONOPTEROS* encodes a transcription factor mediating embryo axis formation and vascular development. The EMBO Journal, 1998, 17(5): 1405－1411.
[17] 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. The Plant Cell, 2000, 12(5): 757－770.
[18] Nagpal P, Ellis C M, Weber H, *et al*. Auxin response factors ARF6 and ARF8 promote jasmonic acid production and flower maturation. Development, 2005, 132(18): 4107－4118.
[19] Okushima Y, Fukaki H, Onoda M, *et al*. ARF7 and ARF19 regulate lateral root formation via direct activation of *LBD/ASL* genes in *Arabidopsis*. The Plant Cell, 2007, 19(1): 118－130.
[20] Wilmoth J C, Wang S, Tiwari S B, *et al*. NPH4/ARF7 and ARF19 promote leaf expansion and auxin-induced lateral root formation. The Plant Journal, 2005, 43(1): 118－130.
[21] Waller F, Furuya M, Nick P. *OsARF1*, an auxin response factor from rice, is auxin-regulated and classifies as a primary auxin responsive gene. Plant Molecular Biology, 2002, 50(3): 415－425.
[22] Attia K A, Abdelkhalik A F, Ammar M H, *et al*. Antisense phenotypes reveal a functional expression of *OsARF1*, an auxin response factor, in transgenic rice. Current Issues in Molecular Biology, 2009, 11(1): 29－34.
[23] Li X P, Zeng Q F, Zhang G S, *et al*. The regulation effect of the soybean auxin response factor gene *GmARF17* on the growth and development of hypocotyls. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2015, 29(9): 1668－1676.
李小平, 曾庆发, 张根生, 等. 大豆生长素响应因子基因*GmARF17*对胚轴生长发育的调控作用. 核农学报, 2015, 29(9): 1668－1676.
[24] Sun W, Yu H, Ma Z, *et al*. Molecular evolution and local root heterogeneous expression of the *Chenopodium quinoa ARF* genes provide insights into the adaptive domestication of crops in complex environments. Journal of Molecular Evolution, 2021, 89(4/5): 287－301.
[25] Wang B, Zhu X, Song X, *et al*. Identification of ARF gene family and functional analysis of *CqARF05* under drought and salt stress in quinoa. Scientific Reports, 2025, 15(1): 5072.
[26] Jarvis D E, Ho Y S, Lightfoot D J, *et al*. The genome of *Chenopodium quinoa*. Nature, 2017, 542(7641): 307－312.
[27] Hu B, Jin J, Guo A Y, *et al*. GSDS 2.0: An upgraded gene feature visualization server. Bioinformatics, 2015, 31(8): 1296－1297.
[28] Fan J L, Zhu L X, Guo Z Q, *et al*. Identification of *JAZ* gene family and analysis on their differential expression under freezing stress and DNA variation in common wheat. Plant Physiology Journal, 2022, 58(10): 1873－1889.
范佳利, 朱立勋, 郭志强, 等. 普通小麦*JAZ*基因家族鉴定及其响应冻害时基因差异表达和DNA变异分析. 植物生理学报, 2022, 58(10): 1873－1889.
[29] Korasick D A, Jez J M, Strader L C. Refining the nuclear auxin response pathway through structural biology. Current Opinion in Plant Biology, 2015, 27: 22－28.
[30] Liu Z, Miao L, Huo R, *et al*. *ARF2-ARF4* and *ARF5* are essential for female and male gametophyte development in *Arabidopsis*. Plant & Cell Physiology, 2018, 59(1): 179－189.
[31] Pan G, Yang X, He J, *et al*. Comprehensive analyses of the *ARF* gene family in cannabis reveals their potential roles in regulating cannabidiol biosynthesis and male flower development. Frontiers in Plant Science, 2024, 15: 1394337.
[32] Zhang M J, Xue Y Y, Xu S, *et al*. Identification of *ARF* genes in *Cucurbita pepo* L. and analysis of expression patterns, and functional analysis of *CpARF22* under drought, salt stress. BMC Genomics, 2024, 25(1): 112.
[33] Gao Z, Wu Y, Li M, *et al*. The *auxin response factor* (*ARF*) gene family in *Cyclocarya paliurus*: Genome-wide identification and their expression profiling under heat and drought stresses. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2024, 30(6): 921－944.
[34] Xu H S, Jiang X D, Wang X L, *et al*. Identification and characterisation of auxin-binding protein gene *ABP1* in *Chenopodium quinoa*. Plant Physiology Journal, 2024, 60(7): 1157－1167.
徐宏申, 姜晓东, 王锡亮, 等. 藜麦生长素结合蛋白基因*ABP1*的鉴定与表达分析. 植物生理学报, 2024, 60(7): 1157－1167.