植物生理学报 *Plant Physiology Journal* 2026, 62 (7): 781–793
doi: 10.13592/j.cnki.ppj.101469

谷子光周期响应的转录组动态解析与关键基因鉴定

张潞娜[1], 蔡杨[1], 申慧敏[2], 杨致荣[3,*], 王兴春[1,*]

[1]山西省后稷实验室, 山西农业大学生命科学学院, 山西晋中030801
[2]山西农业大学农学院, 山西晋中030801
[3]山西农业大学基础部, 山西晋中030801
[*]共同通信作者: 王兴春(wxingchun@sxau.edu.cn)、杨致荣(zryangsx@163.com)

摘要: 谷子(*Setaria italica*)是典型的短日照植物, 光周期敏感性严重制约其区域适应性。为解析其光周期响应机制, 本研究以‘晋谷21号’为材料, 在长日照(LD)和短日照(SD)条件下分别于幼苗期(21 d)和孕穗期(45 d)进行叶片转录组分析。SD21/LD21与SD45/LD45分别鉴定到3 771和4 514个差异表达基因(DEGs), 其中1 291个为共同差异基因。KEGG与GO分析显示差异基因显著富集于光周期、卟啉代谢、次级代谢物合成等通路。SD条件下成花素基因*SiFTa*、*SiFTL9*及开花促进因子*SiEhd1*等表达上调; LD条件下开花抑制因子*SiGhd7*、生物钟基因*SiPRR37*以及多个*SiCOL*基因表达量显著升高。其中, *SiMADS14*、*SiFTa*、*SiGhd7*、*SiPCL1*、*SiFTL9*、*SiCOL9*、*SiHd1*和*SiFPFL4*等8个抽穗期关键调控基因在两个时期均差异表达, 可能是光周期响应的核心调控组分。本研究为阐明谷子光周期分子机制及培育广适性品种提供了理论依据。

关键词: 谷子; 光周期; 抽穗期; 转录组; 差异表达基因

Time-course transcriptome analysis and key gene identification in response to photoperiod in foxtail millet

ZHANG Luna[1], CAI Yang[1], SHEN Huimin[2], YANG Zhirong[3,*], WANG Xingchun[1,*]

[1]Houji Laboratory in Shanxi Province, College of Life Sciences, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801, China
[2]College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Taiyuan, Shanxi 030801, China
[3]Department of Basic Sciences, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801, China
[*]Co-corresponding authors: Wang XC (wxingchun@sxau.edu.cn), Yang ZR (zryangsx@163.com)

ABSTRACT

Aims: Foxtail millet (*Setaria italica*) is a typical short-day plant, and its photoperiod sensitivity severely restricts regional adaptation. This study aims to identify core genes involved in the photoperiod response, elucidate the underlying molecular mechanism and provide a theoretical basis for breeding widely adaptable varieties.

Methods: Foxtail millet cultivar ‘Jingu 21’ was grown under long-day (LD, 16 h light/8 h dark) or short-day (SD, 10 h light/14 h dark) conditions. The second leaf from the top was sampled at 21 and 45 days after emergence. Total RNA was extracted using a plant RNA kit. RNA-seq libraries were prepared and se-

收稿 2025-12-22 修定 2026-06-07
资助 国家重点研发计划(2023YFD1200704)、国家自然科学基金(U24A20382)、山西省科技重大专项计划“揭榜挂帅”项目(2021-01140601027)和山西省研究生教育创新项目(2024KY316)。

quenced on an Illumina NovaSeq™ X Plus platform. Differentially expressed genes (DEGs) were identified with $|\log_2(\text{Fold Change})| \geq 1$ and adjusted $P \leq 0.05$. RT-qPCR was performed to validate the RNA-seq data using the reference gene *SiH3.3*. Gene expression was calculated using the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. Functional annotation of DEGs was performed using the '*Xiaomi*' reference genome, followed by gene ontology (GO) enrichment and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analyses.

Results: A total of 3 771 and 4 514 DEGs were identified in the SD21/LD21 and SD45/LD45 comparisons, respectively, with 1 291 common DEGs shared between the two stages. KEGG and GO analyses revealed that the DEGs were significantly enriched in pathways such as photoperiod response, porphyrin metabolism, and secondary metabolite biosynthesis. Under SD conditions, florigen genes *SiFTa* and *SiFTL9* and flowering-promoting factor *SiEhd1* were up-regulated, while under LD conditions, flowering repressor *SiGhd7*, circadian clock gene *SiPRR37*, and multiple *SiCOL* genes were significantly up-regulated.

Conclusion: Notably, eight key heading-date regulatory genes—*SiMADS14*, *SiFTa*, *SiGhd7*, *SiPCL1*, *SiFTL9*, *SiCOL9*, *SiHd1*, and *SiFPFL4*—were differentially expressed at both stages, suggesting that they may constitute core regulatory components of the photoperiod response. This study provides a theoretical basis for clarifying the molecular mechanism of photoperiod regulation in foxtail millet and for breeding widely adaptable varieties.

KEY WORDS: foxtail millet (*Setaria italica*); photoperiod; heading date; transcriptome; differentially expressed genes

谷子是起源于中国的一种古老作物, 广泛种植于我国干旱半干旱地区, 在旱作可持续生态农业中具有重要作用。近年来, 谷子已成为我国种植业结构调整和耕作制度改革的核心作物, 其种植规模不断扩大。然而, 谷子对光周期响应极其敏感, 区域适应性狭窄, 优异品种难以大范围跨区域推广, 这严重制约了谷子种业和产业的发展。因此, 深入解析谷子光周期响应机制, 培育广适型新品种, 拓宽名优谷子的区域适应性, 是推动谷子产业高质量发展的必然要求。

在光周期途径中, 植物通过光受体接受光信号并传到生物钟, 生物钟产生生物节律并调控下游节律基因, 进而调控下游的开花时间决定基因, 最终控制抽穗开花。植物光信号的感知主要依赖三类光受体: 感知红光和远红光的光敏色素(phytochrome, Phy), 感知蓝光的隐花色素(cryptochrome, Cry)、向光素(phototropins, Pho)和zeitlupe (ZTL)/Flavin binding, Kelch repeat, F-box protein1 (FKF1)/LOV Kelch Protein 2 (LKP2)以及感知UV-B的UVR8等(Zhang等2025)。拟南芥中至少存在*PhyA*~*PhyE* 5种光敏色素基因, 它们在功能上既具有独特性又存在冗余(Mathews和Sharrock 1997)。其中, *PhyA*、*PhyB*和*PhyC*在植物抽穗开花过程起主要作用: *PhyA*可促进拟南芥开花, *PhyB*抑制开花, *PhyC*在短日照下抑制开花, 而在长日照下与*PhyA*共同促进开花(Li等2022a)。与拟南芥不同, 单子叶植物水稻中仅有*PhyA*、*PhyB*和*PhyC* 3个光敏色素成员(Takano等2005), 其中*PhyB*在光周期调控开花过程起着重要作用。谷子中也存在*PhyA*、*PhyB*和*PhyC* 3个光敏色素基因(贾小平等2022)。在长日照下, 谷子*phyc*突变体抽穗期大大提前, 表现出超早熟迷你表型; 而在短日照条件下, 该突变体抽穗期延迟, 表明该基因是调控谷子抽穗期并决定短日照属性的关键基因(Yang等2020; Wang等2022)。

生物钟是连接光信号与内源基因表达的核心调控系统, 其核心组分中央振荡器由中心反馈环和早、晚反馈环3个紧密关联的转录-翻译反馈环组成。其中, 中心反馈环是由2个MYB转录因子LATE ELONGATED HYPOCOTYL (LHY)和CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1 (CCA1)以及伪响应调节因子(PSEUDO RESPONSE REGULATOR, PRR)家族的转录抑制因子TIMING OF CAB EX-

PRESSION 1 (TOC1)组成(Alabadi等2001; Park等2016; Li等2022a)。水稻中的OsPRR37作为PRR家族成员, 在调控抽穗期方面发挥关键作用, 其自然变异是水稻适应广泛纬度分布的重要遗传基础(Koo等2013)。*SiPRR37*是*OsPRR37*在谷子中的同源基因, 其第一个内含子中转座子的插入与谷子在东北生态区域的适应性有关(Li等2021)。近期研究表明, *SiPRR37*在光周期调控开花过程具有双重功能: 在长日照条件下抑制开花, 而在短日照条件下促进开花, 使其成为谷子适应多样化光周期环境的关键因子(Wang等2025b)。

在拟南芥中, 节律基因*GIGANTEA* (*GI*)作为连接中央振荡器和开花枢纽基因*CONSTANS* (*CO*)的桥梁, 通过正向调控*CO*的表达, 激活成花素基因*FLOWERING LOCUS T* (*FT*)及其下游整合因子*SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CO1* (*SOC1*)等的表达(Kou等2022)。最终, 诱导花分生组织命运决定基因如*APETALA1* (*AP1*)、*FRUITFULL* (*FUL*)和*LEAFY* (*LFY*)的表达, 从而精确调控开花时间(Maple等2024)。水稻中也存在一条类似于拟南芥中*GI-CO-FT*的光周期途径, 即*OsGI-Hd1-Hd3a*途径。但与拟南芥中*CO*的功能不同, 水稻中的*Heading date 1* (*Hd1*)基因功能具有光周期依赖性: 在短日照条件下, *Hd1*增强成花素基因*Hd3a* (*Heading date 3a*)的表达, 促进开花; 而在长日照条件下, 则抑制*Hd3a*表达, 延迟开花(Zong等2024)。此外, 水稻中还存在多条辅助通路(Yim等2025)。B型响应调节因子*Early heading date 1* (*Ehd1*)独立于*OsGI-Hd1-Hd3a*途径, 在长日照和短日照条件下均可以促进下游成花素基因*Hd3a*和*RFT1*的表达。在谷子中, 姚琦等(2024)利用全基因组关联分析的方法定位到一个抽穗期相关基因*SiGI*, 该基因在不同谷子品种中存在丰富的多态性, 为谷子生态适应性遗传改良提供了靶标。*CO*同源基因*SiCOL5*是光周期响应的另一个关键基因, 其编码的转录因子通过与SiNF-YA1在细胞核内互作, 正向调控谷子抽穗开花进程(Li等2022b)。

总之, 目前有关光周期调控植物抽穗开花的研究多集中于拟南芥、水稻等模式植物, 对C_4禾谷类作物谷子的研究相对较少。由于不同作物对光周期响应不尽相同, 甚至同源基因在不同作物中的功能也不完全相同, 因此, 系统开展谷子光周期响应分子机制的研究具有重要意义。本研究以名优谷子‘晋谷21号’为材料, 在长、短日照条件下, 分别于幼苗期(出苗21 d)和孕穗期(出苗45 d) 进行转录组分析, 旨在解析不同光周期处理下谷子关键发育阶段的基因表达变化, 挖掘参与光周期响应的核心调控基因。该研究不仅有助于完善以拟南芥和水稻为基础的光周期调控网络, 深化对植物抽穗开花转录调控机制的理解, 也将为广适型谷子品种的选育及名优品种区域适应性改良提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究选用山西农业大学选育的优质谷子(*Setaria italica* L.)品种‘晋谷21号’为实验材料。在山西农业大学崇慧楼人工气候室内进行种植, 设置2种光周期处理: 长日照(Long Day, LD, 16 h光照/8 h黑暗)和短日照(Short Day, SD, 10 h光照/14 h黑暗)。分别于出苗后第21和45天, 在光照2 h后, 采集倒二叶作为样品。每份样品随机选取5株叶片, 每个处理设置5次生物学重复。采集的样品立即放入液氮速冻, 保存于−80°C超低温冰箱中备用。

1.2 谷子总RNA的提取、文库构建、转录组测序和差异表达基因分析

利用RNAprep Pure植物总RNA提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司, 货号DP432]提取谷子叶片总RNA, 具体操作严格遵循试剂盒说明书。提取的总RNA经Agilent 2100生物分析仪(安捷伦, 美国)和琼脂糖凝胶电泳检测合格后, 用于后续文库的构建。文库构建和转录组测序委托北京百迈克生物科技有限公司完成。文库构建方法参考申慧敏等(2021)方法进行, 测序利用Illumina NovaSeq™ X Plus进行。转录组原始测序数据过滤、序列比对等按照申慧敏等(2021)的方法进行, 参考基因组采用C_4禾谷类模式植物‘小米’的参考基因组(Yang等2020)。基因表达量以每百万读段的转录本数(transcripts per million reads, TPM)进行标准化, 并设定$|\log_2(\text{Fold Change})| \geq 1$且校验后的$P$值$\leq 0.05$

作为差异表达基因的筛选阈值。然后, 利用Excel表VL- OOKUP函数, 结合‘小米’参考基因组的功能注释信息对筛选得到的差异表达基因进行功能注释, 并进行基因本体(gene ontology, GO)功能富集分析和KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)通路富集分析。

1.3 实时荧光定量PCR

采用上述1.2节中提取的总RNA, 通过实时荧光定量PCR (RT-qPCR), 验证RNA-Seq的结果。首先, 使用RT-qPCR专用反转录试剂盒PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (大连宝生物, 货号RR047A)将RNA反转录成cDNA。随后, 将所得cDNA稀释20倍作为模板, 利用TB Green Premix Ex Taq II试剂盒(大连宝生物, 货号RR820A)进行RT-qPCR, 3次生物学重复。反转录反应和RT-qPCR实验步骤均严格按照试剂盒说明书进行。以在谷子11个组织中表达稳定的内参基因*SiH3.3/Si9G37480* (Yang等2020)为对照, 通过$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算目的基因的相对表达量。本实验所用引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成, 其序列信息见表1。

2 实验结果

2.1 光周期对谷子表型和抽穗期的影响

光周期显著影响谷子的生长发育。与长日照相比, 短日照条件下培养的‘晋谷21号’幼苗植株矮小、茎秆和叶片纤细(图1-A和B)。但是, 短日照处理明显促进了幼穗分化, 在培养45 d时即可观察到幼穗形成(图1-C)。在抽穗时间上, 长日照条件下约需110 d, 而短日照条件下抽穗期大幅提前至55 d左右(图1-A)。这表明谷子是一个典型的短日照植物, 对光周期极其敏感。

2.2 转录组测序数据质量评估

利用长日照与短日照条件下分别培养21和45 d的幼苗倒二叶提取总RNA, 进行转录组测序。测序数据的质量控制分析显示, 所有样本均获得高质量的测序数据(表2)。具体而言, 20个样本的原始测序读段数介于19 766 061~24 833 018之间, 对应的碱基数范围为5.89~7.42 Gb。在数据质量方面, 所有样本Q_{20} (质量值≥20的碱基比例)均高于98.26%, 最高可达99.64%; Q_{30} (质量值≥30的碱基比例)均在93.52%以上, 最高达到96.25%, 表明测序错误率低, 数据可靠性高。此外, 各样本的GC含量分布在52.40%~56.61%之间, 反映了样本特异的碱基组成特征。以上高质量数据为后续的转录本组装与基因功能注释奠定了可靠基础。

2.3 长短日照条件下谷子差异表达基因鉴定与分析

SD21与LD21相比, 共检测到3 771个差异表达基因, 其中上调基因1 836个, 下调基因1 935个; SD45与LD45相比, 差异表达基因数量增至4 514个, 包括2 020个上调和2 494个下调基因。差异表

表1 RT-qPCR用到的引物

Table 1 Primers for RT-qPCR

‘小米’基因编号	‘豫谷1号’基因编号	正向引物序列(5′→3′)	反向引物序列(5′→3′)
Si9G37480	*Seita.9G378800*	ATGGCCCGTACCAAGCAAACT	GGATCTCACGGAGGGCAACAGT
Si4g07330	*Seita.4G067600*	AGCTCTCAGCTAATCAAGACAC	GCTAGCCGTTTATTACACACACC
Si9g09160	*Seita.9G088900*	GCTCGTGGAGAAGCAGAAAGG	GACAGGGTAGCTGCTGATATTTG
Si5g32220	*Seita.5G317600*	CATGGTGTTTGTGCTGTTCCGAC	CCTTTGGCAGTTGAAATATGTGG
Si9g22570	*Seita.9G231000*	GCAAGTCACCTTCAGAAATACAG	TTCGAAGAAGTGTTGAGTTGGG
Si9g02890	*Seita.9G020100*	GCCAACCTTATTAACGACTTTAGAA	TAATGCTGGCCACAGGGAACTA
Si2g38170	*Seita.2G383000*	CTTGAGCGTTATCAGCGTTACTC	AACAGTTGCCTTTGACTCTTCTG
Si2g01630	*Seita.2G002300*	GGAAGCTCTACGAGTACGCC	TTTGGCCTTCAGCTTCCTGT
Si1g30530	*Seita.1G301300*	ATCGTTGTGGTTCACAGCCT	TATGCCCAGTAGCCCCTGAT
Si7g03550	*Seita.7G025600*	GAACAAGGTGCTGGTGCAC	GCGGACCTCGAAGTT
Si5g09890	*Seita.5G093000*	AACATGTTCCGCTCCATCGT	TCGACCTTGACCTCCTCCTT
Si1g28080	*Seita.1G275400*	GACGGTTTTACGAGCGGAGG	GACGAGGGCTCATCCGAAC
Si2g33790	*Seita.2G335600*	CCCTCTCCCTCTCTGTCTCC	GCGAAGTAGACCCCGATCTT

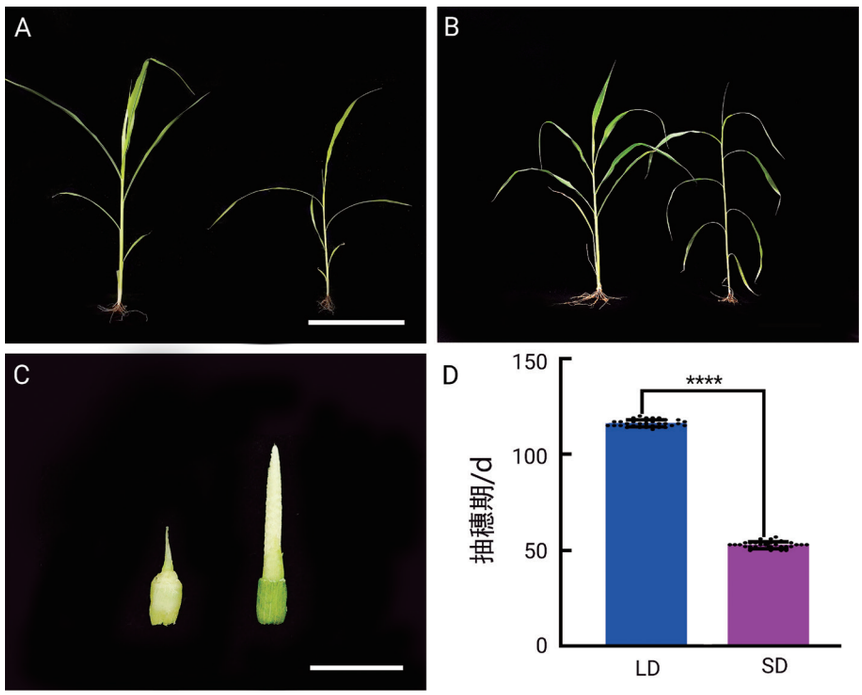


图1 长日照和短日照条件下谷子表型及抽穗期比较

Fig. 1 Comparison of phenotypes and heading date in foxtail millet under long-day and short-day conditions

A: 长日照(左)和短日照(右)条件下培养21 d的谷子幼苗, 标尺20 cm; B: 长日照(左)和短日照(右)条件下培养45 d的谷子幼苗, 标尺20 cm; C: 长日照(左)和短日照(右)条件下培养45 d的谷子幼苗的茎尖, 标尺0.5 cm; D: 长日照与短日照条件下植株抽穗期的比较, 柱状图表示不同光周期条件下的平均抽穗期, 散点为各单株抽穗期实测值。误差线为标准差(standard deviation, SD, n=32) Students' t检验, ****表示P<0.0001。

达基因上下调幅度主要集中在2~10倍之间, 其中21和45 d的分别为3 260和3 739个。表达量差异超过10倍的基因较少, 且随着差异倍数的增加, 基因数量逐渐减少。2个时期共有差异表达基因有1 291个, 特有差异基因分别有2 480和3 223个。

2.4 长短日照条件下差异表达基因的KEGG通路富集及昼夜节律通路分析

对长、短日照条件下2个时期的差异表达基因进行KEGG富集分析, 结果表明SD21/LD21和SD45/LD45两组的6 994个差异基因被注释到136条代谢通路。在SD21/LD21组中, 差异表达基因显著富集于卟啉代谢(ko00860)、嘌呤代谢(ko00230)和内质网蛋白质加工(ko04141)等通路; 而SD45/LD45组, 主要富集于碳代谢(ko01200)、氨基酸生物合成(ko01230)和卡尔文循环碳固定(ko00710)等途径。2个组共有差异基因富集通路中, 次级代谢物生物合成(ko01110)、代谢通路(ko01100)和类胡萝卜素生物合成(ko00906)等途径富集程度较高(图2)。光周期处理显著调控了谷子叶片中多个代谢途径的基因表达, 其中卟啉代谢与叶绿素合成与光信号捕获密切相关, 而卡尔文循环则是光合碳固定的关键环节, 两者共同参与光合能量积累与光周期响应。此外, 次级代谢物的生物合成通常参与植物对包括光周期在内的环境信号的适应性调控, 可能涉及开花时间的调整。综上, 这些代谢通路中基因的表达变化可能反映谷子通过协调光合效能与代谢稳态来适应不同光周期环境, 进而调控其抽穗期。

通过对2个发育时期“昼夜节律” (ko04712)代谢通路相关基因的分析发现, SD21/LD21共鉴定到5个差异表达基因: *Si0g16140/Seita.4G102400* (*Si*开头的为‘小米’基因编号, *Seita.*开头的为对应的‘豫

表2 测序数据质量分析

Table 2 Quality analysis of sequencing data

样品	测序读段数	碱基数/Gb	Q20/%	Q30/%	GC/%
SD21-1	23 010 358	6.87	98.28	93.53	53.63
SD21-2	23 884 514	7.14	98.26	93.52	53.71
SD21-3	24 833 018	7.42	98.29	93.57	53.09
SD21-4	20 824 996	6.22	98.29	93.51	52.49
SD21-5	23 859 600	7.13	98.38	93.93	52.40
LD21-1	19 975 298	5.97	99.59	96.25	53.63
LD21-2	22 421 222	6.71	99.46	96.13	53.40
LD21-3	19 782 071	5.92	99.58	96.19	53.48
LD21-4	19 687 428	5.89	99.64	96.18	53.62
LD21-5	21 740 576	6.50	99.47	96.04	53.54
SD45-1	22 465 185	6.69	99.14	96.14	52.50
SD45-2	21 565 322	6.43	99.10	96.04	52.98
SD45-3	22 380 485	6.68	99.03	95.61	52.91
SD45-4	19 766 061	5.91	99.06	95.75	56.61
SD45-5	20 423 633	6.08	99.07	95.89	52.95
LD45-1	20 031 565	5.98	98.95	95.47	54.67
LD45-2	20 692 074	6.19	99.02	95.69	54.71
LD45-3	21 306 352	6.36	99.04	95.75	53.21
LD45-4	20 975 325	6.25	99.07	95.86	53.23
LD45-5	20 975 247	6.26	99.03	95.67	53.85

SD21为短日照21 d, LD21为长日照21 d, SD45为短日照45 d, LD45为长日照45 d。1~5为5次生物学重复。下同。

谷1号’基因编号, 下同)、*SiPRR37* (*Si2g43940/Seita.2G444300*)、*Si3g06260/Seita.3G055700*、*SiFTa* (*Si4g07330/Seita.4G067600*)和*SiHY5* (*Si5g12620/Seita.5G122900*)。其中成花素基因*SiFTa*与生物钟组分*SiPRR37*等在短日照条件下表达上调, 而光信号正调控因子*SiHY5*在长日照条件下表达较高。这表明生物钟组分与光信号通路协同响应日长变化, 并共同调控下游开花基因的表达。SD45/LD45中富集通路的基因数量增至12个: *SiWD40* (*Si1g-12060/Seita.1G117200*)、*Si2g28940/Seita.2G-286100*、*Si3g09660/Seita.3G091600*、*Si3g17540/Seita.3G177300*、*Si4g07330/Seita.4G067600*、*SiHY5*同源基因(*Si4g21470/Seita.4G224000*)、*SiGI* (*Si5g13330/Seita.5G129500*)、*Si5g15810/Seita.5G152500*、*Si8g14530/Seita.8G140200*、*Si8g15190/Seita.8G146900*、*SiPhyA* (*Si9g11420/Seita.9G-113600*)和*Si9g31360/Seita.9G318000* (图3)。光受体*SiPhyA*、生物钟关键调节基因*SiGI*以及成花素基因*Si3g17540/Seita.3G177300*和*Si4g07330/Seita.4G067600*等在短日照条件下上调, 共同促进开花程序的启动。相反, *Si4g21470/Seita.4G224000*与*SiWD40*在长日照条件下持续高表达, 暗示它们可能作为抑制因子参与阻遏成花转变过程。以上结果表明, 昼夜节律通路在谷子的光周期应答中处于核心地位, 其通过协调短日照条件下促进开花与长日照条件下抑制开花这两类拮抗程序之间的平衡, 从而实现对不同光周期下抽穗时间的精准调控。

2.5 长短日照条件下差异表达基因的GO功能富集分析

对长、短日照条件下2个时期的差异表达基因进行GO富集分析, 结果表明SD21/LD21差异表达基因参与生物过程、分子功能和细胞组分分别有2 209、2 222和2 355个, 这些差异基因被富集到4 207个GO条目中, 富集到生物过程、分子功能和细胞组分分别占61.92%、28.57%、9.5% (表4)。

表3 长、短日照条件下21和45 d谷子叶片中差异表达基因

Table 3 Differentially expressed genes in foxtail millet leaves at 21 d and 45 d under long-day and short-day conditions

差异表达时期	‘小米’基因编号	‘豫谷1号’编号	Log_2(FC)	基因功能
SD21/LD21	*Si8g07090*	*Seita.8G066600*	−20.95	未知功能基因
	Si9g22790	*Seita.9G232600*	−17.28	未知功能基因
	Si1g34000	*Seita.1G336200*	−8.30	腺嘌呤核苷酸α水解酶
	Si5g25270	*Seita.5G238400*	−8.15	RADIALIS蛋白
	Si7g01770	*Seita.7G009200*	−8.07	热激蛋白
	Si3g20670	*Seita.3G211300*	18.50	未知功能基因
	Si5g32220	*Seita.5G317600*	9.94	FTL9
	Si0g17300	*Seita.4G090400*	8.26	未知功能基因
	Si9g22570	*Seita.9G231000*	7.59	EHD1
	Si9g32770	*Seita.9G329300*	7.57	皮层细胞边界界定蛋白
SD45/LD45	*Si6g05450*	*Seita.6G048900*	−8.40	β-倍半水芹烯合酶
	Si5g17400	*Seita.5G169400*	−8.30	12-氧植物二烯酸还原酶
	Si3g01460	*Seita.3G004800*	−8.19	阳离子过氧化物酶
	Si7g07520	*Seita.7G056100*	−7.69	G型凝集素S类受体丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶
	Si5g03160	*Seita.5G021400*	−7.67	晚期胚胎发生丰富蛋白
	Si2g01630	*Seita.2G002300*	11.74	MADS-box 15
	Si5g32220	*Seita.5G317600*	11.07	FTL9
	Si9g28370	*Seita.9G287300*	10.46	富含脯氨酸蛋白4
	Si2g10820	*Seita.9G386100*	10.35	细胞色素P450
	Si9g36680	*Seita.9G370400*	9.49	3 β-羟基类固醇脱氢酶

由于篇幅限制, 本表仅列出上调/下调倍数前5的基因。如需要全部结果请联系通信作者。

SD45/LD45差异表达基因参与生物过程、分子功能和细胞组分分别有2 665、2 779和2 821个, 富集条目总数为4 368个, 三类占比分别为61.86%、29.14%、9.00% (表5)。此外, 生物过程中有2 225个GO条目是2个组间共同富集到的通路, 富集程度较高的GO条目主要涉及萜类代谢、应激反应等; 分子功能中有919个GO条目是2个比较组间共同富集到的通路, 其中富集程度较高的GO条目主要涉及NADH脱氢酶活性、ATP酶活性等; 细胞组分中有315个GO条目是2个比较组间共同富集到的通路, 其中富集程度较高的GO条目主要涉及叶绿体被膜、类囊体腔等。这些富集结果与光周期调控开花过程密切相关: 萜类化合物参与植物激素如赤霉素的合成, 而激素信号在光周期开花途径中起关键作用; 氧化应激反应及相关代谢物的变化则表明光周期可能通过调控氧化信号变化进而影响开花相关基因的表达; 叶绿体结构相关组分(如被膜、基质和类囊体)的富集, 反映了光合场所对光周期的适应与调整, 为光周期开花提供能量和代谢基础; 此外, NADH脱氢酶和ATP酶活性等功能富集也表明能量代谢与电子传递过程可能响应光周期变化。

2.6 光周期核心响应基因的筛选与qRT-PCR验证

为深入解析谷子光周期应答的分子机制, 基于已知的光周期调控分子网络, 对SD21/LD21和SD45/LD45两组的差异表达基因中的光周期响应及抽穗期密切相关的基因进行筛选分析, 结果表明光周期开花途径中多个关键基因在LD和SD条件下呈现截然不同的表达趋势(图4)。在短日照条件下, 多个成花素基因*FT* 、节律基因*GI*、上游开花促进因子*Ehd1*以及开花促进因子*FPFL4*表达均上调。此外, 蓝光受体响应基因*FKF1*、光敏色素

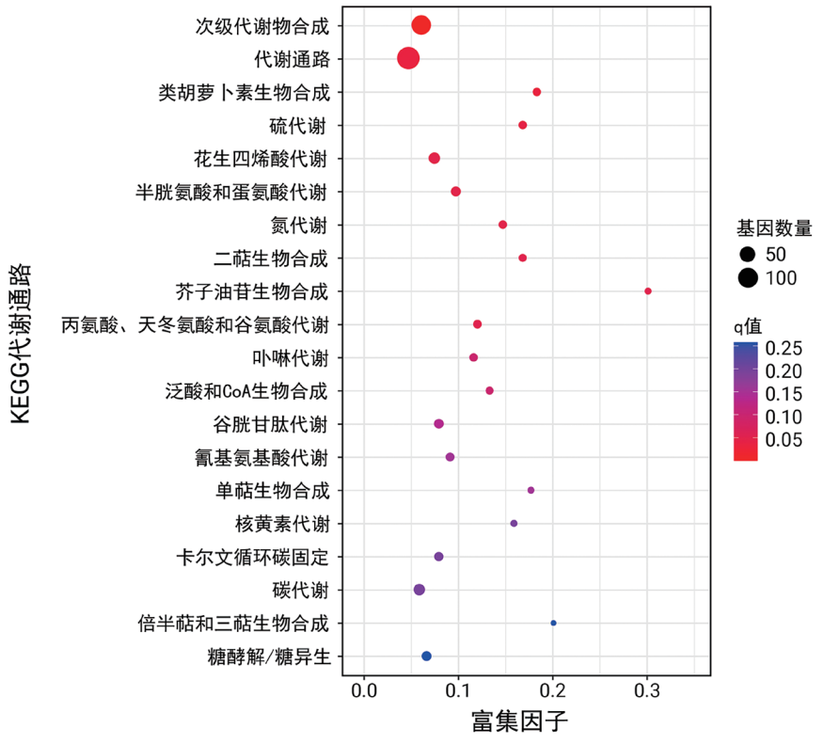


图2 谷子2个时期共有差异表达基因的KEGG代谢通路富集图

Fig. 2 KEGG metabolic pathway enrichment map of common DEGs in foxtail millet at two stages

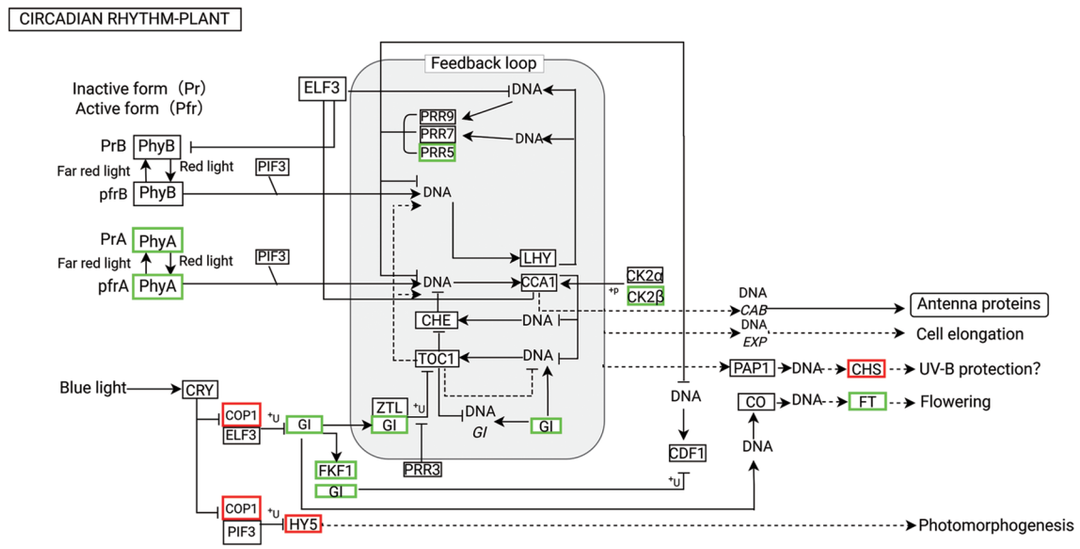


图3 SD45/LD45组昼夜节律代谢通路中的差异表达基因

Fig. 3 DEGs in the circadian rhythm metabolic pathway under the combined SD45/LD45 photoperiod condition

转录组注释到的基因以彩色矩形框表示。绿色矩形框为在短日照下表达上调的基因，红色矩形框则为在长日照下表达上调的基因。

表4 SD21/LD21组差异表达基因的GO富集分析(前5条目)

Table 4 GO enrichment analysis of DEGs in SD21/LD21 group (top 5 terms)

功能分类	GO条目	基因数(基因总数)	Padj值
生物过程	GO:0009657, 质体组织	113 (352)	1.21×10^{-29}
	GO:0019682, 甘油醛-3-磷酸代谢过程	117 (308)	2.51×10^{-26}
	GO:0008299, 类异戊二烯生物合成过程	132 (385)	3.22×10^{-25}
	GO:0009240, 异戊烯二磷酸生物合成过程	91 (211)	3.22×10^{-25}
	GO:0046490, 异戊烯二磷酸代谢过程	91 (211)	3.22×10^{-25}
分子功能	GO:0004674, 蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶活性	187 (1 109)	0.000915
	GO:0016859, 顺反异构酶活性	22 (63)	0.000915
	GO:0005527, 大环内酯结合	13 (26)	0.000915
	GO:0005528, FK506结合	20 (58)	0.000915
	GO:0003755, 肽酰脯氨酰顺反异构酶活性	296 (1 939)	0.002353
细胞组分	GO:0009532, 质体基质	235 (775)	9.97×10^{-39}
	GO:0009570, 叶绿体基质	223 (758)	1.21×10^{-34}
	GO:0044435, 质体部件	357 (1 794)	5.07×10^{-19}
	GO:0044434, 叶绿体部件	348 (1 771)	1.14×10^{-17}
	GO:0009526, 质体被膜	175 (728)	1.29×10^{-16}

注: 由于篇幅限制, 本表仅列出富集度前5的条目, 如需要全部结果请联系通信作者。表5同此。

表5 SD45/LD45组差异表达基因的GO富集分析

Table 5 GO enrichment analysis of differentially expressed genes in the SD45/LD45 group

功能分类	GO条目	基因数(基因总数)	P_{adj}值
生物过程	GO:0006720, 类异戊二烯代谢过程	113 (416)	7.40×10^{-7}
	GO:0019682, 甘油醛-3-磷酸代谢过程	90 (308)	7.40×10^{-7}
	GO:0008299, 类异戊二烯生物合成过程	106 (385)	7.40×10^{-7}
	GO:0006081, 细胞醛代谢过程	107 (404)	4.78×10^{-6}
	GO:0006468, 蛋白质磷酸化	297 (1 435)	1.53×10^{-5}
分子功能	GO:0003824, 催化活性	1 887 (11 255)	6.02×10^{-9}
	GO:0016705, 氧化还原酶活性, 作用于配对供体, 伴随分子氧的掺入或还原	132 (522)	7.57×10^{-7}
	GO:0004672, 蛋白激酶活性	312 (1 496)	7.57×10^{-7}
	GO:0016301, 激酶活性	381 (1 496)	1.18×10^{-5}
	GO:0016773, 磷酸转移酶活性, 以醇基作为受体	94 (381)	1.18×10^{-5}
细胞组分	GO:0031982, 囊泡	833 (4 437)	1.50×10^{-13}
	GO:0031988, 膜结合囊泡	832 (4 432)	1.50×10^{-13}
	GO:0031410, 细胞质囊泡	830 (4 425)	1.50×10^{-13}
	GO:0016023, 细胞质膜包被囊泡	829 (4 424)	1.53×10^{-13}
	GO:0048046, 质外体	121 (398)	1.67×10^{-13}

基因*PhyA*以及MADS-box家族*MADS14*和*MADS18*基因在短日照条件下也表现出光周期依赖性表达的特征, 暗示这些基因参与光周期响应过程。在长日照条件下, 开花抑制因子*Ghd7*以及多个CO-like家族基因如*COL9*、*COL10*、*COL2*和*COL16*表达量较高。同时, 生物钟相关基因*PRR37*、*PCL1*以及开花调控因子*FD*在LD条件下也呈现上调表达(图4)。尤其值得注意的是, *SiMADS14*、*SiFTa*、

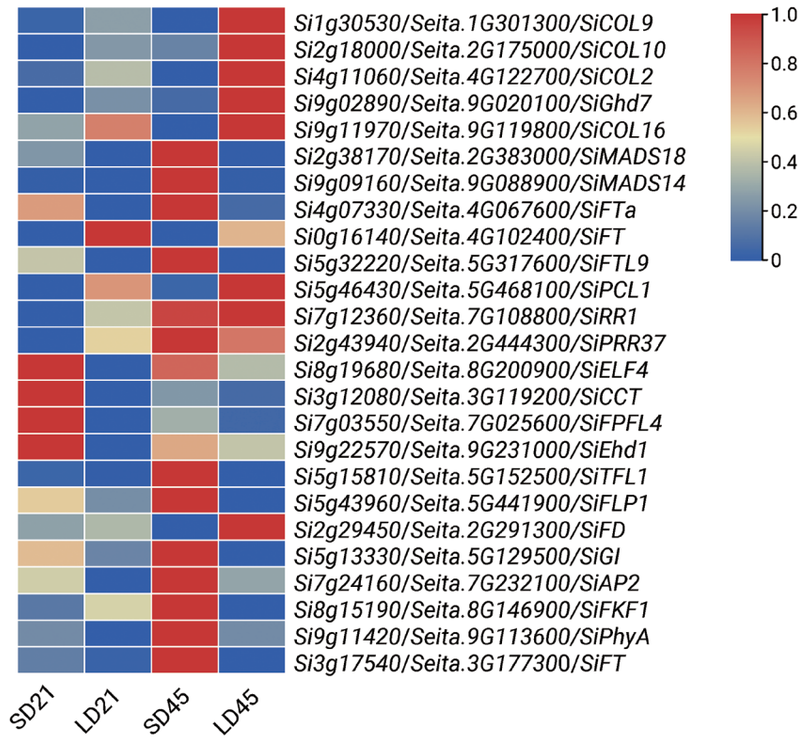


图4 光周期响应途径核心差异表达基因的表达热图

Fig. 4 Heatmap of core DEGs in photoperiod-responsive pathways

SiGhd7、*SiPCL1*、*SiFTL9*、*SiCOL9*、*SiHd1*和*SiFPFL4*等8个基因在2个时期均差异表达, 暗示它们可能在光周期信号感知、传导或整合中持续发挥功能, 是维持光周期响应稳态的核心组分。

为了验证RNA-Seq结果的可靠性, 我们从中随机挑选了12个差异表达的基因进行qRT-PCR验证。qRT-PCR结果表明, 虽然基因的表达倍数与测序结果存在一定差异, 但所有基因在长、短日照条件下的表达变化趋势与RNA-Seq结果完全一致, 充分证明了转录组数据的可靠性, 也进一步证实了这些基因在光周期响应通路中的重要作用(图5)。

3 讨论

光周期是调控植物开花时间的关键环境因子之一, 对作物适应地域分布和季节变化具有重要作用。尤其在禾本科作物中, 光周期敏感性直接影响其种植区域与产量形成。尽管光周期调控植物开花的研究在拟南芥和水稻中已较为深入, 但在C_4禾谷类作物谷子中的研究仍相对滞后, 且已有报道多集中于单一基因的功能解析或特定突变体的表型鉴定。本研究以光周期敏感品种‘晋谷21号’研究对象, 研究了长、短日照条件下光周期响应基因在谷子从营养生长向生殖生长过渡过程中的动态表达差异。

在水稻和拟南芥中, FT介导的成花素信号模块作为开花调控网络的“中央处理器”, 整合光周期、春化、自主途径和赤霉素信号等多种内外部信号, 最终触发开花转变, 该功能在进化上较为保守(Wang等2025a)。本研究在谷子中也鉴定到多个*FT*同源基因*SiFTa* (*Si4g07330*)、*SiFTL9* (*Si5g32220*)在短日照条件下表达上调, 推测与水稻中*Hd3a*和*RFT1*的功能冗余与分化情况类似, 通过激活下游MADS-box家族转录因子SiMADS14, 启动花序分化和花器官发育程序。此外, 在拟南芥中, 开花促进因子*FLP1*可独立于*FT*参与光周期途径, 在茎尖分生组织中激活并诱导E类基因*SEPALLATA3* (*SEP3*)

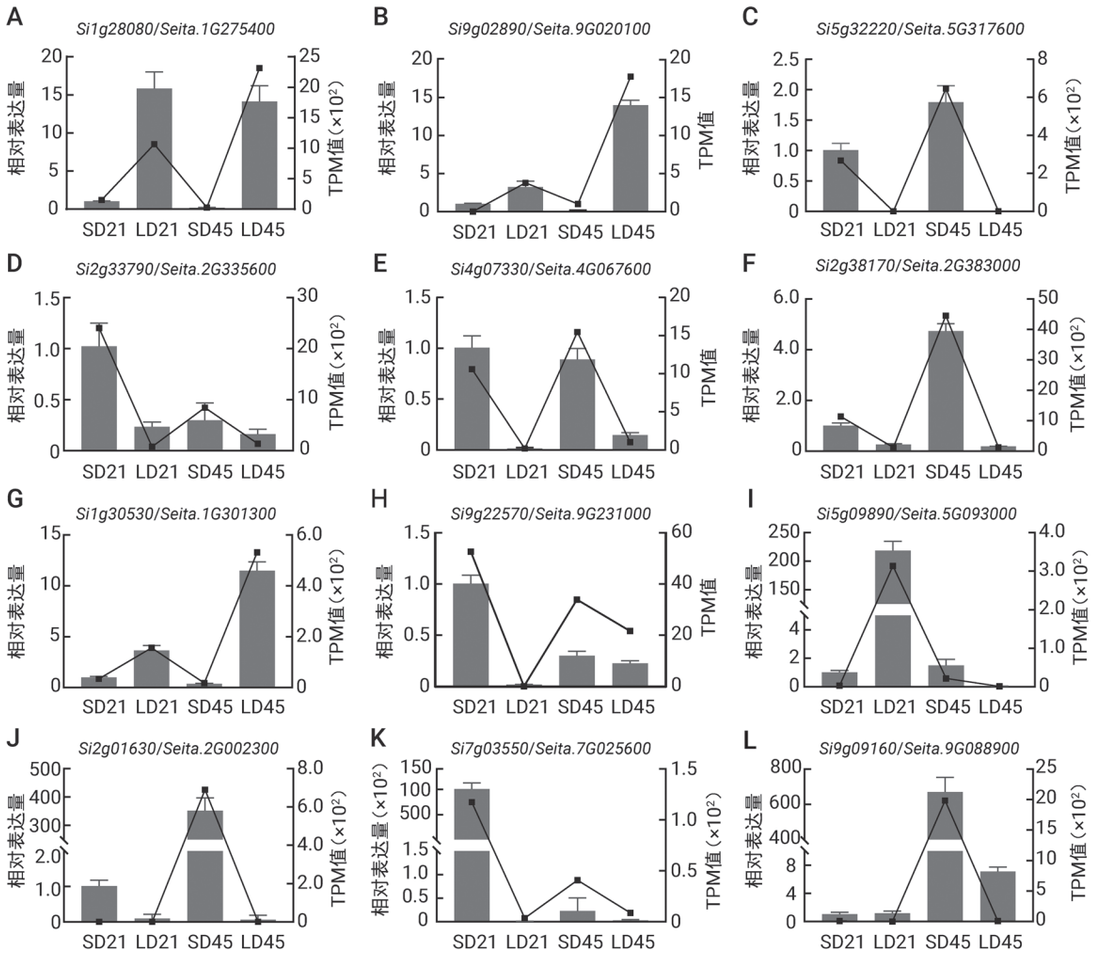


图5 谷子光周期响应基因RT-qPCR分析

Fig. 5 RT-qPCR analysis of photoperiod-responsive genes in foxtail millet

柱形为RT-qPCR测定的基因相对表达量, 折线为5次RNA-Seq的基因表达量TPM值的平均值。

的表达, 同时促进花序茎的伸长(Takagi等2025)。水稻中的同源基因*OsFPFL4*则通过调节生长素和活性氧稳态, 影响根系和花的发育(Guo等2020)。本研究中, 开花促进因子*OsFPFL4*的同源基因*Si5g43960*和*Si7g03550*在SD条件下表达升高, 暗示其可能以类似机制促进谷子开花。在谷子中, *SiPRR37*在长日照条件下抑制开花, 其与*PHYTOCLOCK 1* (*PCL1*)是生物钟核心振荡器的重要组成部分, 在维持生物钟稳定性中起关键作用(Li等2021; Wang等2025b)。*PCL1*与*ELF3*、*ELF4*形成晚间复合物(EC), 作为连接光信号与生物钟的核心模块, 参与日长测量及开花关键基因(如*CO*和*FT*)的节律性调控(Muroya等2021)。本研究发现*SiPRR37* (*Si2g43940*)在长日照下表达量显著上调, 同时也挖掘出*SiPCL1* (*Si5g46430*)等新候选基因, 为完善谷子生物钟输出机制提供了新的切入点。此外, 水稻中的*Ghd7*在长日照下作为开花抑制因子延迟开花(Liu等2025)。本研究也发现包括*SiGhd7*、*SiPCL1*和*SiPRR37*在内的多个开花抑制因子在长日照条件下表达量显著高于短日照条件, 推测其可能通过抑制*FT*转录, 进而间接抑制下游花分生组织特性基因如*SiMADS14*的表达, 最终延迟开花。

综上所述, 本研究以短日照禾谷类作物谷子为对象, 利用长、短日照条件下21 d (幼苗期)和45 d (孕穗期) 2个关键发育阶段的转录组动态分析, 首次揭示了C_4禾谷类作物光周期响应基因表达的阶段特异性, 筛选到多个持续响应的核心基因(如*SiFTa*、*SiGhd7*、*SiPRR37*、*SiFPFL4*等), 并基于单子叶作物水稻已有研究成果初步构建了谷子抽穗期的转录调控网络(图6)。谷子光周期调控开花网络也可能以双路径拮抗调控模式, 通过生物钟组件精准整合不同光周期信号。在短日照条件下光受体*SiPhys*和*SiFKF1*激活生物钟组分*SiGI*, 关键整合因子*SiEhd1*的表达量升高, 并伴随着成花素基因*SiFTs*及其下游靶基因*SiMADS14/18*的转录上调; 此外, 开花促进因子*SiFPFL4*也协同上调, 共同启动开花程序。而在长日照条件下, 生物钟核心组分*SiPRR37*表达显著上调, 与此同时开花抑制因子*SiGhd7*以及多个*SiCOLs*家族基因的表达也升高, 形成多重抑制网络进而阻遏*SiFTs*基因的转录, 延迟开花进程。本研究结果对理解短日照作物光周期应答的分子机制具有理论意义, 并为培育广适性谷子品种提供了候选基因资源。本研究仍存在一定局限性, 例如尚未进行关键基因的遗传转化和功能验证, 部分调控关系仍属推测, 需通过实验进一步明确。后续工作可结合CRISPR-Cas9基因编辑、过表达及蛋白互作实验, 对这些候选基因的功能及调控机制进行深入解析。此外, 基于本研究的转录组数据后续可利用蛋白互作预测等方法, 进一步筛选与核心基因互作上下游调控因子及互作蛋白, 从而更系统地解析谷子光周期开花的调控网络。

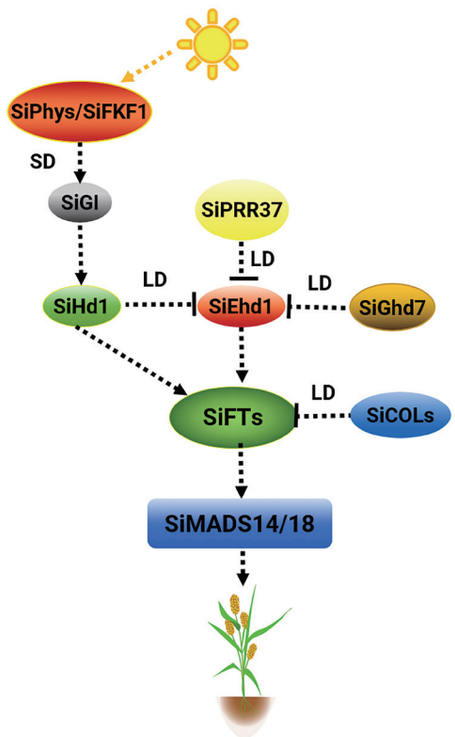


图6 谷子抽穗期调控网络模式图

Fig. 6 Schematic diagram of the regulatory network for heading time in foxtail millet

箭头表示正调控, T型表示负调控, 虚线表示推测的可能调控作用。

参考文献(References)

Alabadi D, Oyama T, Yanovsky MJ, et al (2001). Reciprocal regulation between *TOC1* and *LHY/CCA1* within the *Arabidopsis* circadian clock. Science, 293: 880–883

Guo Y, Wu Q, Xie Z, et al (2020). *OsFPFL4* is involved in the root and flower development by affecting auxin levels and ros accumulation in rice (*Oryza sativa*). Rice (N Y), 13: 2

Jia XP, Zhang B, He ZX, et al (2022). The responsive characteristics of phytochrome genes to photoperiod, abiotic stresses and identification of their key natural variation sites in foxtail millet (*Setaria italica* L.). Chin J Biotechnol, 38: 1929–1945 (in Chinese with English abstract) [贾小平, 张博, 何占祥等(2022). 谷子光敏色素基因光周期、非生物胁迫响应特性及关键自然变异位点鉴定. 生物工程学报, 38: 1929–1945]

Koo BH, Yoo SC, Park JW, et al (2013). Natural variation in *OsPRR37* regulates heading date and contributes to rice cultivation at a wide range of latitudes. Mol Plant, 6: 1877–1888

Kou K, Yang H, Li H, et al (2022). A functionally divergent *SOC1* homolog improves soybean yield and latitudinal adaptation. Curr Biol, 32: 1728–1742

Li C, Liu XJ, Yan Y, et al (2022a). *OsLHY* is involved in regulating flowering through the *Hd1*- and *Ehd1*- mediated pathways in rice (*Oryza sativa* L.). Plant Sci, 315: 111145

Li C, Wang G, Li H, et al (2021). High-depth resequencing of 312 accessions reveals the local adaptation of foxtail millet. Theor Appl Genet, 134: 1303–1317

Li FF, Niu JH, Yu X, et al (2022b). Isolation and identification

of *SiCOL5*, which is involved in photoperiod response, based on the quantitative trait locus mapping of *Setaria italica*. Front Plant Sci, 13: 969604

Maple R, Zhu P, Hepworth J, et al (2024). Flowering time: from physiology, through genetics to mechanism. Plant Physiol, 195: 190–212

Mathews S, Sharrock RA (1997). Phytochrome gene diversity. Plant Cell Environ, 20: 666–671

Park MJ, Kwon YJ, Gil KE, et al (2016). LATE ELONGATED HYPOCOTYL regulates photoperiodic flowering via the circadian clock in *Arabidopsis*. BMC Plant Biol, 16: 114

Shen HM, Cheng JJ, Wang YM, et al (2021). Dynamic gene expression analysis during panicle development in foxtail millet. Plant Physiol J, 57: 803–814 (in Chinese with English abstract) [申慧敏, 程金金, 王亚敏等(2021). 谷子穗发育过程的基因表达动态分析. 植物生理学报, 57: 803–814]

Takagi H, Lee N, Hempton AK, et al (2025). Florigen-producing cells express *FPF1-LIKE PROTEIN 1* to accelerate flowering and stem growth in *Arabidopsis*. Dev Cell, 60: 1822–1837

Takano M, Inagaki N, Xie X, et al (2005). Distinct and cooperative functions of phytochromes A, B, and C in the control of deetiolation and flowering in rice. Plant Cell, 17: 3311–3325

Wang H, Jia G, Zhang N, et al (2022). Domestication-associated PHYTOCHROME C is a flowering time repressor and a key factor determining Setaria as a short-day plant. New Phytol, 236: 1809–1823

Wang J, Zhou HR, Tanzler P, et al (2025a). Characterization of *FLOWERING LOCUS T*-related genes and their putative gene regulatory network in semi-winter *Brassica napus* cultivar Zhongshaung11. Plant J, 123: e70443

Wang L, Tian B, He Q, et al (2025b). *SiPRR37* exerts dual functions in the regulation of photoperiodic flowering and contributes to the ecological adaption of foxtail millet. Crop J, 13: 339–349

Yang Z, Zhang H, Li X, et al (2020). A mini foxtail millet with an *Arabidops*is-like life cycle as a C_4 model system. Nat Plants, 6: 1167–1178

Yao Q, Zhi H, Meng Q, et al (2024). Characterizations of transcriptional and haplotypic variations of *SiGI* in foxtail millet. J Plant Genet Resour, 25: 1552–1564 (in Chinese with English abstract) [姚琦, 智慧, 孟强等(2024). 谷子抽穗期基因*SiGI*的表达与单倍型变异分析. 植物遗传资源学报, 25: 1552–1564]

Yim Y, Yoon H, Cho SH, et al (2025). Rice *Zinc-Finger Homeodomain 1* (*OsZHD1*) finetunes flowering time by modulating the photoperiodic response. Plant Cell Environ, 48: 7392–7407

Zhang H, Liang H, Zhi H, et al (2025). An efficient target-mutant screening platform of model variety Ci846 facilitates genetic studies of Setaria. Plant Biotechnol J, 23: 1413–1415

Zong W, Guo X, Zhang K, et al (2024). Photoperiod and temperature synergistically regulate heading date and regional adaptation in rice. J Exp Bot, 75: 3762–3777