

RNA-Seq 在 AM 真菌研究中的应用

邓杰 李芳 张伟珍 段廷玉*

(兰州大学草地农业生态系统国家重点实验室, 农业农村部草牧业创新重点实验室, 草地农业教育部工程研究中心, 兰州大学草地农业科技学院, 兰州 730020)

摘要 丛枝菌根(arbuscular mycorrhizas, AM)真菌是农业生态系统中重要的微生物成员之一,可与约80%的维管束植物建立共生关系,这种共生关系一直伴随植物的进化过程,是影响植物生长及多样性的关键因素。转录组测序技术已广泛用于植物-AM真菌共生互作中信号传导、代谢、蛋白合成等生物过程的分子机理的研究。本文归纳了AM真菌与植物共生过程中参与植物胁迫防御、蛋白合成、蛋白折叠和降解、能量代谢、信号转导、转录等相关功能基因研究进展,如磷酸盐转运蛋白、凝集素前体、谷胱甘肽硫-转移酶、Mth1质膜ATP酶、核糖体蛋白等相关基因,总结了相关研究中基因功能特征。为进一步深入研究AM真菌与植物共生机制提供理论依据。

关键词 AM真菌; 农业生态系统; 植物; 共生; 功能基因

RNA-Seq application in study of arbuscular mycorrhizal fungi. DENG Jie, LI Fang, ZHANG Wei-zhen, DUAN Ting-yu* (State Key Laboratory of Grassland Agro-ecosystems; Key Laboratory of Grassland Livestock Industry Innovation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Engineering Research Center of Grassland Industry, Ministry of Education; College of Pastoral Agriculture Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou 730020, China).

Abstract: Arbuscular mycorrhizal (AM) fungi are important microbial components in agroecosystems. These fungi establish symbiotic associations with nearly 80% of vascular plants. The symbiotic relationship accompanied by plant evolution is a key factor affecting plant growth and diversity. In recent years, RNA-Seq has been widely used to study the molecular mechanism of stress defense, metabolism, protein synthesis and other biological processes in AM fungi and plant symbionts. We summarized the research progress of functional genes involved in plant stress defense, protein synthesis, protein folding/degradation, energy metabolism, signal transduction, and transcription during symbiosis, including those differentially expressed genes related to symbiosis such as phosphate transporter, lectin precursor, glutathione S-transferases, Mth1 plasma membrane ATPase, and ribosomal protein, and reveals their functional characteristics. These findings provide theoretical basis for further research on the mechanism of AM fungi-plant symbiosis.

Key words: AM fungi; agroecological system; plant; symbiosis; functional gene.

丛枝菌根(arbuscular mycorrhiza, AM)真菌属球囊菌门(Glomeromycota),是土壤中重要的微生物,遍布各生态系统,也存在于多种逆境环境中(Smith *et al.*, 2008)。自然界中,约80%的维管束植物都可与AM真菌形成共生体(Harrison, 2012),伴随植物进化,并在其中起到了重要的作用(Bona *et al.*, 2017)。AM真菌能促进植物对氮、磷等矿质养分的

吸收(Dearnaley *et al.*, 2017; Sawers *et al.*, 2017),亦可提高寄主植物对干旱(Mariotte *et al.*, 2017)、重金属(Liu *et al.*, 2018)等逆境的抗性。反之,植物能为AM真菌提供维持其生长的所有碳源。二者在漫长的历史进化过程中,形成了一套成熟的互惠共生机制。

AM共生体的形成是植物与AM真菌之间一系列复杂而又精细的分子、化学信号识别的过程。一方面,植物分泌的独角金内酯(strigolactones)以及氮-乙酰氨基葡萄糖衍生物(N-acetylglucosamine-

derivatives)可激活 AM 真菌的生长和代谢 (Besserer *et al.*, 2006; Luisa *et al.*, 2018),另一方面,AM 真菌产生脂壳寡糖(LCOs)菌根因子可激发共生信号转导途径(Maillet *et al.*, 2011)。AM 真菌不仅可以诱导自身相关基因高量表达,如几丁质合酶(chitin synthase)、钙离子结合蛋白(calcium-binding protein)基因(Tisserant *et al.*, 2012)等,也可诱导植物相关基因特异表达,如 AM 真菌可介导紫花苜蓿(*Medicago sativa*)中编码金属硫蛋白(Metallothionein)的基因上调表达(Song *et al.*, 2016),亦可诱导蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)体内编码磷酸盐转运蛋白(phosphate transporter MtPT4)的基因特异表达(Harrison *et al.*, 2002)。研究发现,这些 AM 诱导基因参与植物胁迫防御(Bao *et al.*, 2017)、蛋白合成(Li *et al.*, 2017)、蛋白折叠和降解(Gomez *et al.*, 2017)、能量(Krajinski *et al.*, 2010)、代谢(Ezawa *et al.*, 2017)、信号转导(Xi *et al.*, 2010)、转录(Vangelisti *et al.*, 2018)等植物生命活动的各个过程。这些机制的揭示,与转录组测序技术为代表的分子生物学技术的迅猛发展密不可分。

转录组测序技术(RNA-Seq)是指利用高通量测序技术描述特定的细胞类型、组织在特定时间的 RNA 分子表达信息,包括 mRNA 以及一系列的非编码 RNAs(核糖体 RNA、转运 RNA、小核 RNA、小核仁 RNA、微 RNA 以及非编码 RNA 等)(Kim *et al.*, 2009)。转录后的 RNA 不仅能控制与细胞结构骨架有关的蛋白质的合成,而且能调控生物特异性基因的表达。利用转录组测序技术研究 AM 真菌与植物共生相关功能基因是当前的热点,亦是一种重要的

研究手段。本文对利用转录组测序技术研究 AM 真菌与植物共生相关的功能基因进行总结归纳,旨在为进一步探究 AM 真菌与植物的共生机制提供理论依据。

1 转录组测序平台

转录组学的研究内容包括转录本表达谱分析;确定基因的转录结构;对每种转录本在不同发育阶段和不同条件下转录表达水平的变化定量(Wang *et al.*, 2009)。目前研究转录组测序平台主要有以下几种(表 1)。正是这些不断产生的更优的测序平台,将转录组测序技术推向了新的高度,利用转录组测序得出的数据可以用来研究基因表达、生物学途径和分子机制,让人们不断从生物体的基因、蛋白等微观领域来更深层次解析植物与微生物互作机制。目前可用的测序平台较多,但 Sanger 法仍然是当今测序的主流,虽然其原理可靠,优点突出,但是改进的空间还是很大,面临模板制备、荧光标记、信号读取和酶反应体系等多方面技术的挑战,另外,基于本身原理的限制,Sanger 法需要多次洗脱,费时费试剂。因此,需要进一步优化和发展,开发出准确率高、读长较长、成本低、速度快的新一代测序平台。

2 AM 真菌调控植物抗逆性的作用机制

2.1 参与胁迫防御的共生相关差异基因

在 AM 真菌与植物共生的相关差异表达基因中,以参与胁迫防御的基因为主。对蒺藜苜蓿、四季豆(*Phaseolus vulgaris*)、紫花苜蓿、杨树(*Populus alba*)、紫穗槐(*Amorpha fruticosa*)、向日葵(*Helianthus*

表 1 RNA-Seq 平台及其特征

Table 1 RNA-Seq platform and their characteristics

测序平台	测序原理	主要优点	主要缺点
454 GS20	基于 Sanger 法原理	读长较长,能够装配无参考基因组重叠群	测序覆盖度浅,有较高的错误率
Ion Torrent/Proton	基于 Sanger 法原理	体积小、操作方便、性价比好	读长短,准确率低
Illumina	循环 SBS 法即 SBRT(可逆终止法)	能够大范围深度覆盖序列信息,准确率较高	信号读取时间较长,准确率有待提高
BGISEQ-500	基于 Sanger 法原理	精确度高,操作方便,读长较长,区别父源或母源的单体型序列	体积较大,成本较高
Max-Seq	基于 Sanger 法原理	通量高,精确度较高,成本低	信号读取时间较长,需要理想的参考基因组信息
Lasereen	基于 Sanger 法原理	读长较长,准确率较高	需要理想的参考基因组信息
ABI SOLID	基于 SBL(Sequencing by Ligation)连接测序法	高通量,精确度高,覆盖度高	读长较短
HeliScope	基于 Sanger 法原理	单分子测序不需要不需要扩增步骤,减少了扩增中导入的人为误差	成本较高
PacBio	基于 Sanger 法原理	读取信息时间较短,读长较长	准确率有待提高

annuus) 等的研究表明, AM 真菌诱导了 UDP 糖基转移酶、谷胱甘肽过氧化物酶、谷氧还原蛋白等相关基因的特异表达, 它们通过促进电子转运, 消除植物体内氧化自由基, 还原被氧化的物质, 提高了植物抗氧化胁迫能力; AM 真菌亦可诱导查耳酮合酶、创伤诱导蛋白、几丁质酶、 β -1,3 葡聚糖酶等基因的上调表达, 在病原入侵时, 通过磷酸化级联信号传递, 刺激植物产生创伤蛋白堵塞伤口, 重塑植物细胞壁, 或者分泌破坏病原菌细胞壁的酶, 从而抑制了病原菌的侵染和繁殖, 提高了植物对病原微生物的抗性; 另外, AM 真菌还通过诱导 LEA 发育晚期高丰度蛋白和 SOD 超氧化物歧化酶的特异表达, 提高植物对盐、干旱等胁迫的抗性。这些诱导基因的特异表达, 共同维持了植物的正常生长发育, 提高植物对生物逆境和非生物逆境的抗性(表 2)。

还有一些研究表明, 大多数重金属胁迫能够诱导植物迅速合成植物螯合肽以缓解逆境损伤, 一般情况下, AM 真菌的侵染会通过提高植物螯合肽(PC)的表达量(Garg *et al.*, 2012), 从而络合重金属, 降低重金属胁迫对植物造成的伤害。此外, Song 等(2016)在菌根化紫花苜蓿体内检测到金属硫蛋白基因上调表达, 金属硫蛋白是一类能清除植物体内自由基, 富含半胱氨酸的金属结合蛋白, 它可以与植物体内的金属离子相结合解除或者降低金属离子浓度, 从而快速修复因重金属胁迫造成的植物损伤(Hu *et al.*, 2013)。Turchi 等(2012)利用转基因技术把金属硫蛋白基因转入到白杨后, 发现提高了白杨对重金属胁迫的抗性。上述研究表明, 人们利用转录组测序技术明确 AM 真菌诱导植物胁迫防御相关基因的种类、了解植物参与胁迫防御的分子机制

表 2 参与胁迫防御的共生相关差异基因

Table 2 Symbiotically related genes involved in stress defense

寄主植物	AM 真菌	相关差异表达基因	功能	参考文献
蒺藜苜蓿 <i>Medicago truncatula</i>	根内根孢囊霉 <i>Rhizophagus intraradices</i>	凝集素前体	参与识别过程	Wulf <i>et al.</i> , 2003
蒺藜苜蓿 <i>M. truncatula</i>	根内根孢囊霉 <i>R. intraradices</i>	菌素生物合成类蛋白	参与磷酸化级联控制植物毒素的产生	Wulf <i>et al.</i> , 2003
蒺藜苜蓿 <i>M. truncatula</i>	根内根孢囊霉 <i>R. intraradices</i>	谷胱甘肽硫-转移酶	参与植物正常的生长发育, 并且在环境胁迫和病害胁迫下保护植物	Wulf <i>et al.</i> , 2003; An <i>et al.</i> , 2018
蒺藜苜蓿 <i>M. truncatula</i>	地表皮孢囊霉 <i>G. versiforme</i>	查耳酮合酶	提高植物的抗病性	Dao <i>et al.</i> , 2011; Ortiz <i>et al.</i> , 2017
蒺藜苜蓿 <i>M. truncatula</i>	摩西斗管囊霉 <i>Funneliformis mosseae</i>	创伤诱导蛋白	通过磷酸化级联作用将 N 基因信号传递给下游基因, 从而抵抗病原菌的入侵	Yap <i>et al.</i> , 2005; Nair <i>et al.</i> , 2015
四季豆 <i>Phaseolus vulgaris</i>	根内根孢囊霉 <i>R. intraradices</i>	几丁质酶	控制根内真菌的生长, 抑制植物病原菌的生长, 重塑真菌的细胞壁	Lambais <i>et al.</i> , 2010; Tisserant <i>et al.</i> , 2012; An <i>et al.</i> , 2018
四季豆 <i>P. vulgaris</i>	根内根孢囊霉 <i>R. intraradices</i>	β -1,3 葡聚糖酶	控制根内真菌的生长, 抑制植物病原菌的生长	Lambais <i>et al.</i> , 2010
紫花苜蓿 <i>M. sativa</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	锌指蛋白	提高了对农药阿特拉津胁迫的抗性, 参与阿特拉津的降解	李季泽, 2015; Song <i>et al.</i> , 2016; An <i>et al.</i> , 2018
紫花苜蓿 <i>M. sativa</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	NAC 转录因子 乙烯应答转录因子 硫氧还原蛋白 谷胱甘肽过氧化物酶 谷氧还原蛋白	缓解阿特拉津对电子运输系统的不利影响	李季泽, 2015; Song <i>et al.</i> , 2016
杨树 <i>Populus alba</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	金属硫蛋白	修复重金属 Pd, Cu, Zn, As 胁迫损伤	Cicatelli <i>et al.</i> , 2010
杨树 <i>P. alba</i>	根内根孢囊霉 <i>R. intraradices</i>	植物螯合肽合成酶	络合重金属, 缓解逆境损伤	Maitani <i>et al.</i> , 1996; Cicatelli <i>et al.</i> , 2012
紫穗槐 <i>A. fruticosa</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	LEA 发育晚期高丰度蛋白	参与植物盐、干旱等多种胁迫的应答反应	Bao <i>et al.</i> , 2017
紫穗槐 <i>A. fruticosa</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	抗坏血酸过氧化物酶	参与植物正常的生长发育, 并且诱导逆境胁迫相关基因表达	Saurabh <i>et al.</i> , 2017
紫穗槐 <i>A. fruticosa</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	SOD 超氧化物歧化酶	提高植物对盐胁迫的耐受性	Farhangiabriz <i>et al.</i> , 2017
紫穗槐 <i>A. fruticosa</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	类膨胀素基因	与菌丝在寄主植物细胞内的定殖和细胞壁的生长有关	Li <i>et al.</i> , 2014
紫穗槐 <i>A. fruticosa</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	咖啡酸-O-甲基转移酶	参与木质素的调控	刘璇, 2016; Debruyne <i>et al.</i> , 2017
向日葵 <i>Helianthus annuus</i>	异形根孢囊霉 <i>R. irregularis</i>	UDP 糖基转移酶	对抗氧化胁迫和病原感染	An <i>et al.</i> , 2018; Vangelisti <i>et al.</i> , 2018

方面已日趋成熟。但所研究的 AM 真菌 (*R. intraradices*、*G. versiforme*、*F. mosseae* 等) 和植物 (蕹菜、四季豆、紫花苜蓿、紫穗槐等) 材料种类较少, 多半是模式物种, 这些诱导基因的抗逆模式是否适合其他植物还有待研究, 另外, 理清这些抗性基因的内在联系, 找到协同效应基因, 与转基因等分子生物学技术相结合, 应用到实际生产中, 这也是今后的研究应进一步加强的工作。

2.2 参与蛋白合成、折叠和降解的共生相关差异基因

在植物的生命活动中, 有蛋白的合成就必然存在着蛋白的折叠修饰和降解过程, 它们维持着植物的正常生长发育, 是植物生命活动的重要组成部分。因此, 对 AM 真菌与植物共生体中这些相关基因的研究意义重大。对蕹菜、紫穗槐、番茄 (*Solanum lycopersicum*) 等植物的研究发现, AM 真菌能够诱导植物核糖体蛋白 (ribosomal protein, RP)、肽基脯氨酰顺反异构酶 (peptidyl-prolyl cis-trans isomerase, PPI)、泛素结合酶 (ubiquitin-conjugating enzyme) 等基因上调表达。越来越多的研究发现, 核糖体蛋白不仅参与了 rRNA 的加工、折叠、核糖体亚基组装和转运过程, 还在亚基结构的稳定性、核糖体与各种翻译因子的相互作用和新生肽的折叠与定位等过程中发挥作用, 甚至还可能承担着核糖体外的生物学功能 (Barakat *et al.*, 2001; Komili *et al.*, 2007)。它与肽基脯氨酰顺反异构酶、泛素结合酶一起共同参与蛋白的组装、折叠和修饰过程 (表 3)。

研究发现, 肽基脯氨酰顺反异构酶, 能够加速自身折叠、体内新生肽链折叠和变性蛋白质的体外折叠, 它能专一性催化已磷酸化的丝/苏-脯氨酰顺/反异构, 导致其功能改变 (Zhou *et al.*, 2000)。另外, 泛素蛋白酶体途径是目前已知的真核生物体内最为重要的高度选择性蛋白质降解途径。真核细胞中泛素化修饰后的靶蛋白变化主要取决于靶蛋白所加的泛素链的结构, 以及泛素链的长短。此外, 泛素连接酶 E3 通过调控调节蛋白的泛素化过程决定靶蛋白的特异性识别, 在泛素途径中具有重要的作用 (Skowrya *et al.*, 1999)。一般来说, 蛋白合成是植物的正常生理过程, 蛋白的折叠修饰是对外界刺激的一种专性应答, 蛋白质的降解是植物的自我修复或是由基因调控的植物衰老过程, 利用转录组测序技术能很好地阐述 AM 真菌影响植物蛋白合成的分子机制, 明确 AM 真菌参与调节蛋白折叠和降解来维持植物的正常生长和由基因调控的植物衰老过程。

2.3 参与能量和代谢的共生相关差异基因

能量是一切生命活动的基础。植物的直接能量是由代谢产生, 反过来能量又为植物的代谢提供动力, 因此, 能量与代谢密不可分。对蕹菜、紫穗槐、杨树、番茄的研究发现, AM 真菌能够诱导 *Mth1* 质膜 ATP 酶、线粒体 ATP 合成酶 α 亚基、叶绿素 A-B-结合蛋白等基因特异表达, 它们主要通过直接或者间接地参与能量的合成和供给, 维持植物体内生物过程所需的能量; 另外, AM 真菌也能够诱导膜内固醇结合蛋白、羧基转移酶 β 亚基、过氧化物烯

表 3 参与蛋白合成、折叠和降解的共生相关差异基因

Table 3 Symbiotically related genes involved in protein synthesis, folding and degradation

寄主植物	AM 真菌	相关差异表达基因	功能	参考文献
蕹菜 <i>M. truncatula</i>	根内根孢囊霉 <i>R. intraradices</i>	MtN8	参与细胞壁的形成	Manthey <i>et al.</i> , 2004
紫穗槐 <i>A. fruticosa</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	核糖体蛋白	参与蛋白质的合成、DNA 修复、细胞凋亡等细胞内的重要活动。在胁迫处理条件下核糖体蛋白的表达量可达对照组的 6 倍之多	曹广英等, 2016; Li <i>et al.</i> , 2017
紫穗槐 <i>A. fruticosa</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	肽基脯氨酰顺反异构酶	催化磷酸化的丝/苏-脯氨酸肽键发生顺反异构, 从而调控磷酸化蛋白	Zhou <i>et al.</i> , 2000; 刘璇, 2016
紫穗槐 <i>A. fruticosa</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	热激蛋白	帮助变性蛋白和未正确折叠蛋白复性	Gomez <i>et al.</i> , 2017
紫穗槐 <i>A. fruticosa</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	小热休克蛋白	促进变性蛋白质的复性和不可逆转的受伤蛋白质的降解, 保护细胞免受各种应激因素的损伤	Mehlen <i>et al.</i> , 1996; Marklund <i>et al.</i> , 2018
紫穗槐 <i>A. fruticosa</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	泛素结合酶	对泛素化修饰起到关键作用, 提高植物的耐旱性	Vernié <i>et al.</i> , 2016; Zheng <i>et al.</i> , 2017
紫穗槐 <i>A. fruticosa</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	泛素连接酶 E3	通过翻译后修饰与靶蛋白共价结合来降解蛋白质	Skowrya <i>et al.</i> , 1999; Vernié <i>et al.</i> , 2016
番茄 <i>Solanum lycopersicum</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	醇酰基转移酶	催化酯类化合物的最后一步合成	Defilippi <i>et al.</i> , 2005; Salvioli <i>et al.</i> , 2012

酰辅酶 A 水合酶等基因的上调表达,它们是参与植物体内固醇、脂肪酸代谢的重要物质,脂肪酸代谢是植物体内最普遍和最重要的代谢之一,对维持植物的正常生长至关重要(表 4)。

植物的能量直接来源于细胞内的线粒体,线粒体 ATP 合酶(ATP synthase subunit alpha, mitochondrial)是合成能量的关键酶。Besserer 等(2009)发现,用抑制物抑制线粒体的生物学功能时,AM 真菌的菌丝就会停止生长,可见线粒体 ATP 合酶为 AM 真菌与植物共生体的生长提供能量。反之,AM 真菌的存在也会提高植物线粒体 ATP 合酶基因的表达量(Di *et al.*, 2009)。除了线粒体之外,光合作用也是植物能量和物质的重要来源,Cicatelli 等(2012)在试验中发现菌根化的白杨树体内叶绿素 A-B-结合蛋白(Chlorophyll A-B-binding protein)基因上调表达,叶绿素 A-B-结合蛋白是一类能够把捕获的光能转化为电能的蛋白,也是光获得复合体(light-harvesting complex)的重要组成部分(Leutwiler *et al.*, 1986),能通过参与植物光合作用让植物获得能量。除此之外,代谢过程中产生的一些能量也能够维持植物正常的生理活动。刘璇(2016)在实验中发现,羧基转移酶 β 亚基(carboxytransferase beta subunit)和过氧化物烯酰辅酶 A 水合酶(Peroxisomal enoyl-CoA hydratase)等与脂肪酸代谢相关的基因。羧基转移酶 β 亚基是参与脂肪酸代谢的重要物质。烯酰辅酶 A 水合酶参与脂肪酸的 β 氧化、 β -丙氨酸和色氨酸等的代谢过程(Esfahani *et al.*, 2015),这些基因的特异表达能维持植物的正常代

谢活动,从而为植物正常的生理活动提供能量。植物体内的代谢过程相当复杂,转录组技术目前主要是从基因的角度去解析和验证已知的植物代谢途径(如丙酮酸、磷酸甘油醛、水杨酸、茉莉酸等代谢途径等),目前,有很多代谢机制尚不清楚,例如,花青素代谢途径,在不同植物中花青素的分解代谢的分子机制还尚未有统一定论,因此,需要充分利用转录组学和代谢组学联合分析,揭示一些未知代谢途径,并挖掘相关代谢基因,这也是今后研究的一个重要的方向。

2.4 参与信号转导和转录的共生相关差异基因

植物在接收外来信号或刺激时,会产生一系列的化学物质或电流来支撑信号的接收和转导,植物细胞内部接收到信号后会产生一系列的生理生化反应,包括基因的转录和翻译表达,因此,转录是承接信号和基因表达产物的桥梁。紫穗槐、水稻(*Oryza sativa*)、向日葵等植物的研究表明,AM 真菌能够诱导 Rac GTP 酶、网格蛋白轻链、TFL1 亚家族等基因的上调表达,它们主要参与植物细胞生长、凋亡、植物根的发育等信号的传递以及植物由营养生长到生殖生长的转变过程;RNA 结合蛋白基因的特异表达,促进了植物体内一些重要蛋白的转录合成过程,从而维持了植物正常的生长发育和生理过程(表 5)。

AM 真菌与植物共生体的形成是通过双方的信号识别来实现的,同时也包含着相应转录产物的形成,Rac GTPase 属于 Rho 家族,它是调节细胞骨架组织、基因表达、细胞周期、细胞运动和其他细胞过

表 4 参与能量和代谢的共生相关差异基因

Table 4 Symbiotically related genes involved in energy and metabolism

寄主植物	AM 真菌	相关差异表达基因	功能	参考文献
蒺藜苜蓿 <i>M. truncatula</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	Mth1 质膜 ATP 酶	是物质穿过从枝周膜转运过程的驱动力或参与细胞信号传递过程	Krajinski <i>et al.</i> , 2010
蒺藜苜蓿 <i>M. truncatula</i>	根内根孢囊霉 <i>R. intraradices</i>	膜内固醇结合蛋白	参与固醇代谢和真菌共生体细胞的内调节	Kuhn <i>et al.</i> , 2010; Tisserant <i>et al.</i> , 2012
紫穗槐 <i>A. fruticosa</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	线粒体 ATP 合成酶 α 亚基	是线粒体 ATP 合成酶的重要组成部分,主要参与能量合成	Di <i>et al.</i> , 2009; Kikuchi <i>et al.</i> , 2014
紫穗槐 <i>A. fruticosa</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	羧基转移酶 β 亚基	参与脂质代谢中的脂肪酸合成途径	Zhao <i>et al.</i> , 2003
紫穗槐 <i>A. fruticosa</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	过氧化物烯酰辅酶 A 水合酶	参与脂肪酸的 β 氧化、 β -丙氨酸和色氨酸的代谢等	Esfahani <i>et al.</i> , 2015; 刘璇, 2016
紫穗槐 <i>A. fruticosa</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	亚甲基四氢叶酸脱氢酶	参与一碳代谢的中枢环节,维持植物正常代谢	Ben <i>et al.</i> , 2016
杨树 <i>P. alba</i>	根内根孢囊霉 <i>R. intraradices</i>	叶绿素 A-B-结合蛋白	是光获得复合体的重要组成部分,参与植物的光合作用	Leutwiler <i>et al.</i> , 1986; Cicatelli <i>et al.</i> , 2012
番茄 <i>S. lycopersicum</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	组氨酸脱氨酶	参与羧酸的代谢过程,能催化组氨酸产生组胺	Salvioli <i>et al.</i> , 2012
番茄 <i>S. lycopersicum</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	甘油磷脂二酯磷酸二酯酶	参与甘油磷脂代谢	Van der Rest <i>et al.</i> , 2004; Salvioli <i>et al.</i> , 2012

表 5 参与信号转导和转录的共生相关差异基因

Table 5 Symbiotically related genes involved in signal transduction and transcription

寄主植物	AM 真菌	相关差异表达基因	功能	参考文献
紫穗槐 <i>A. fruticosa</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	Rac GTP 酶	参与植物细胞凋亡、细胞极性生长、抗病反应以及激素信号转导等过程	Li <i>et al.</i> , 2001; Ono <i>et al.</i> , 2001
紫穗槐 <i>A. fruticosa</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	网格蛋白轻链	在植物主根发育、根毛向地性等信号传导方面扮演重要角色	王超, 2012; Vangelisti <i>et al.</i> , 2018
紫穗槐 <i>A. fruticosa</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	TFL1 亚家族基因	在植物由营养生长到生殖生长的转变过程中起到重要的调节作用	Xi <i>et al.</i> , 2010; 刘璇, 2016
紫穗槐 <i>A. fruticosa</i>	摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	RNA 结合蛋白	RNA 结合蛋白能够与 RNA 相互作用来调节细胞的功能, 蛋白与蛋白之间的关系, 并且参与花期调控	Schomburg <i>et al.</i> , 2001; M' Berek <i>et al.</i> , 2007
水稻 <i>Oryza sativa</i>	根内根孢囊霉 <i>R. intraradices</i>	水稻 MYB 转录因子	与水稻的次生细胞壁合成有关	Hirano <i>et al.</i> , 2013; Gutjahr <i>et al.</i> , 2015
向日葵 <i>H. annuus</i>	异形根孢囊霉 <i>R. irregularis</i>	生长素类-18 应答因子	参与不定根形成和调控生长素应答基因	Berta <i>et al.</i> , 1995; Vangelisti <i>et al.</i> , 2018

程信号转导途径的分子开关 (Etienne *et al.*, 2002), 它可以通过与 Dbl 家族鸟嘌呤核苷酸交换因子 (GEF) 相互作用而被激活, GEF 能够催化 GTP 和 GDP 进行互换并将 Rac GTPase 与 G 蛋白偶联受体、生长因子受体、细胞因子受体等来自上游细胞表面受体的多种刺激物连接 (Zheng, 2001), 最终通过转录产生与细胞结构和功能有关的蛋白。网格蛋白轻链是网格蛋白晶格形成的构象开关 (Wilbur *et al.*, 2010), 它能够通过调节受体转运来影响细胞信号传导。王超 (2012) 对网格蛋白轻链双突变体 *clc1-clc2-1* 进行显微激光共聚焦分析, 结果表明, CLC 参与植物根系的发育以及根的向地性反应等信号调控, 这可能与转录形成的网格蛋白通过调节生长素受体的转运有关。与信号识别有关的 TFL1 α 蛋白主要分布在植物的地上新生分身组织中, 影响植物地上部分的产量, 并且 TFL1 α 蛋白作为一种可移动的信号蛋白控制整个植物生命周期分身组织的信号识别、维持植物分身组织的同步发展和正常的花序结构 (Conti *et al.*, 2007)。参与植物转录有关的 RNA 结合蛋白通常具有多个功能, 不仅调节蛋白质与 RNA 的相互作用, 也调节蛋白质与蛋白质之间的作用 (Maris, 2010)。利用转录组测序技术对信号转导和转录相关基因的研究, 厘清了微生物如何驱动植物对外界刺激物的信号的传递并为植物的应答反应做好准备工作。

3 展 望

转录组测序技术已广泛应用于植物-微生物互作, 利用转录组测序技术对 AM 真菌与植物共生相关基因以及调控植物抗逆的分子机制的研究亦已趋于成熟。目前, 大多研究材料为蒺藜苜蓿等模式植

物以及球囊霉属 (*Glomus*)、巨孢囊霉属 (*Gigaspora*) 等少数几个属的 AM 真菌, 缺少在更多植物, 尤其是草类植物方面的研究。另外, 植物的所有生理活动和生物过程都与植物体内的各种代谢息息相关, 植物体内的代谢过程相当复杂, 转录组技术目前主要是从基因的角度去解析和验证已知的植物代谢途径 (如丙酮酸、磷酸甘油醛、水杨酸、茉莉酸等代谢途径等)。目前, 还有很多代谢机制尚不清楚, 例如, 在不同植物中花青素的分解代谢的分子机制还尚未有统一论, 因此, 需要充分利用转录组学和代谢组学联合分析, 揭示一些未知代谢途径, 并挖掘相关代谢基因, 这也是今后研究的一个重要的方向。此外, 转录组测序技术仅仅是对基因表达信息和相关功能的分析, 还需要与转基因技术相结合, 取长补短, 解析植物-微生物互作机制, 挑选特异基因并进行基因功能验证, 将验证的相关功能基因通过转基因技术应用与实际生产中, 推动理论与实践的结合, 提高农业生产效率和质量, 为绿色、健康和可持续农业发展服务, 为打造美好的生态环境做贡献。

参考文献

- 曹广英, 吴 琪, 唐月异, 等. 2016. 花生核糖体蛋白 L29-1 (RPL29-1) 基因克隆表达分析及载体构建. 分子植物育种, **14**(7): 1730-1736.
- 李季泽. 2015. 阿特拉津胁迫下苜蓿根转录组分析 (硕士学位论文). 哈尔滨: 黑龙江大学.
- 刘 璇. 2016. 基于转录组测序技术分析紫穗槐菌根差异表达基因 (硕士学位论文). 哈尔滨: 黑龙江大学.
- 王 超. 2012. 拟南芥网格蛋白轻链的功能分析 (硕士学位论文). 金华: 浙江师范大学.
- An JY, Sun MQ, Van Velzen R, *et al.* 2018. Comparative transcriptome analysis of *Poncirus trifoliata* identifies a core set of genes involved in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Jour-*

- nal of Experimental Botany*, **69**: 5255–5264.
- Bao F, Du D, An Y, *et al.* 2017. Overexpression of *Prunus mume* dehydrin genes in tobacco enhances tolerance to cold and drought. *Frontiers in Plant Science*, **8**: 151.
- Barakat A, Szick-Miranda K, Chang IF, *et al.* 2001. The organization of cytoplasmic ribosomal protein genes in the *Arabidopsis* genome. *Plant Physiology*, **127**: 398–415.
- Ben-Sahra I, Hoxhaj G, Ricoult SJH, *et al.* 2016. mTORC1 induces purine synthesis through control of the mitochondrial tetrahydrofolate cycle. *Science*, **351**: 728–733.
- Berta G, Trotta A, Fusconi A, *et al.* 1995. Arbuscular mycorrhizal induced changes to plant growth and root system morphology in *Prunus cerasifera*. *Tree Physiology*, **15**: 281–293.
- Besserer A, Becard G, Roux C, *et al.* 2009. Role of mitochondria in the response of arbuscular mycorrhizal fungi to strigolactones. *Plant Signaling and Behavior*, **4**: 75–77.
- Besserer A, Puech-Pagès V, Kiefer P, *et al.* 2006. Strigolactones stimulate arbuscular mycorrhizal fungi by activating mitochondria. *PLoS Biology*, **4**: 1239–1247.
- Bona E, Cantamessa S, Massa N, *et al.* 2017. Arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting pseudomonads improve yield, quality and nutritional value of tomato: A field study. *Mycorrhiza*, **27**: 1–11.
- Cicatelli A, Lingua G, Todeschini V, *et al.* 2010. Arbuscular mycorrhizal fungi restore normal growth in a white poplar clone grown on heavy metal-contaminated soil, and this is associated with upregulation of foliar metallothionein and polyamine biosynthetic gene expression. *Annals of Botany*, **106**: 791–802.
- Cicatelli A, Lingua G, Todeschini V, *et al.* 2012. Arbuscular mycorrhizal fungi modulate the leaf transcriptome of a *Populus alba* L. clone grown on a zinc and copper-contaminated soil. *Environmental and Experimental Botany*, **75**: 25–35.
- Conti L, Bradley D. 2007. TERMINAL FLOWER1 is a mobile signal controlling *Arabidopsis* architecture. *Plant Cell*, **19**: 767–778.
- Dao TT, Linthorst HJ, Verpoorte R. 2011. Chalcone synthase and its functions in plant resistance. *Phytochem Reviews*, **10**: 397–412.
- Dearnaley JDW, Cameron DD. 2017. Nitrogen transport in the orchid mycorrhizal symbiosis: Further evidence for a mutualistic association. *New Phytologist*, **213**: 10–12.
- Debruyjn JM, Bevard DA, Essington ME, *et al.* 2017. Field-grown transgenic switchgrass (*Panicum virgatum* L.) with altered lignin does not affect soil chemistry, microbiology, and carbon storage potential. *Global Change Biology Bioenergy*, **9**: 1100–1109.
- Defilippi BG, Kader AA, Dandekar AM. 2005. Apple aroma: Alcohol acyltransferase, a rate limiting step for ester biosynthesis, is regulated by ethylene. *Plant Science*, **168**: 1199–1210.
- Di C, Li M, Long F, *et al.* 2009. Molecular cloning, functional analysis and localization of a novel gene encoding polygalacturonase-inhibiting protein in *chorispora bungeana*. *Planta*, **231**: 169–178.
- Esfahani M, Movahedian A, Baranchi M, *et al.* 2015. Adiponectin: An adipokine with protective features against metabolic syndrome. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, **18**: 430–442.
- Etienne-Manneville S, Hall A. 2002. Rho gtpases in cell biology. *Nature*, **420**: 629–635.
- Ezawa T, Saito K. 2017. How do arbuscular mycorrhizal fungi handle phosphate? New insight into fine-tuning of phosphate metabolism. *New Phytologist*, **220**: 1116–1121.
- Farhangiazbriz S, Torabian S. 2017. Antioxidant enzyme and osmotic adjustment changes in bean seedlings as affected by biochar under salt stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **137**: 64–70.
- Garg N, Chandel S. 2012. Role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi on growth, cadmium uptake, osmolyte, and phytochelatin synthesis in *Cajanus cajan* (L.) Mill sp. under NaCl and Cd stresses. *Journal of Plant Growth Regulation*, **31**: 292–308.
- Gomez-Pastor R, Burchfiel ET, Thiele DJ. 2017. Regulation of heat shock transcription factors and their roles in physiology and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **19**: 4–19.
- Gutjahr C, Sawers RJH, Marti G, *et al.* 2015. Transcriptome diversity among rice root types during symbiosis and interaction with arbuscular mycorrhizal fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **112**: 6754–6759.
- Harrison MJ, Dewbre GR, Liu J. 2002. A phosphate transporter from *Medicago truncatula* involved in the acquisition of phosphate released by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Cell*, **14**: 2413–2429.
- Harrison MJ. 2012. Cellular programs for arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Current Opinion in Plant Biology*, **15**: 69–698.
- Hirano K, Kondo M, Aya K, *et al.* 2013. Identification of transcription factors involved in rice secondary cell wall formation. *Plant and Cell Physiology*, **54**: 1791–1802.
- Hu N, Han X, Lane EK, *et al.* 2013. Cardiac-specific overexpression of metallothionein rescues against cigarette smoking exposure-induced myocardial contractile and mitochondrial damage. *PLoS ONE*, **8**: e57151.
- Kikuchi Y, Hijikata N, Yokoyama K, *et al.* 2014. Polyphosphate accumulation is driven by transcriptome alterations that lead to near-synchronous and near-equivalent uptake of inorganic cations in an arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytologist*, **204**: 638–649.
- Kim YC, Wang SM. 2009. Decoding neuron transcriptome by SAGE//Encyclopedia of Neuroscience. Elsevier: 357–363.
- Komili S, Farny NG, Roth FP, *et al.* 2007. Functional specificity among ribosomal proteins regulates gene expression. *Cell*, **131**: 557–571.
- Krajinski F, Hause B, Gianinazzi-Pearson V, *et al.* 2010. *Mtha1*, a plasma membrane H⁺-ATPase gene from *Medicago*

- go truncatula*, shows arbuscule-specific induced expression in mycorrhizal tissue. *Plant Biology*, **4**: 754–761.
- Kuhn H, Küster H, Requena N. 2010. Membrane steroid-binding protein 1 induced by a diffusible fungal signal is critical for mycorrhization in *Medicago truncatula*. *New Phytologist*, **185**: 716–733.
- Lambais MR, Mehdy MC. 2010. Spatial distribution of chitinases and β -1, 3-glucanase transcripts in bean arbuscular mycorrhizal roots under low and high soil phosphate conditions. *New Phytologist*, **140**: 33–42.
- Leutwiler LS, Meyerowitz EM, Tobin EM. 1986. Structure and expression of three light-harvesting chlorophyll a/b-binding protein genes in *Arabidopsis thaliana*. *Nucleic Acids Research*, **14**: 4051–4076.
- Li H, Shen JJ, Zheng ZL, et al. 2001. The Rop GTPase switch controls multiple developmental processes in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, **126**: 670–684.
- Li Q, Ding G, Li B, et al. 2017. Transcriptome analysis of genes involved in dendrobine biosynthesis in *Dendrobium nobile* Lindl. infected with mycorrhizal fungus MF23 (*Mycena* sp.). *Scientific Reports*, **7**: 316.
- Li X, Zhao J, Walk TC, et al. 2014. Characterization of soybean β -expansin genes and their expression responses to symbiosis, nutrient deficiency, and hormone treatment. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **98**: 2805–2817.
- Liu L, Li JW, Yue FX, et al. 2018. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation and biochar amendment on maize growth, cadmium uptake and soil cadmium speciation in Cd-contaminated soil. *Chemosphere*, **194**: 495–503.
- Luisa L, Valentina F, Caroline G. 2018. Partner communication and role of nutrients in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*, **220**: 1031–1046.
- Maillet F, Poinot V, André O, et al. 2011. Fungal lipochitooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza. *Nature*, **469**: 58–63.
- Maitani T, Kubota H, Sato K, et al. 1996. The composition of metals bound to class III metallothionein (phytochelatin and its desglycyl peptide) induced by various metals in root cultures of *Rubia tinctorum*. *Plant Physiology*, **110**: 1145–1150.
- Manthey K, Krajinski F, Hohnjec N, et al. 2004. Transcriptome profiling in root nodules and arbuscular mycorrhiza identifies a collection of novel genes induced during *Medicago truncatula* root endosymbioses. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **17**: 1063–1077.
- Mariotte P, Canarini A, Dijkstra FA, et al. 2017. Stoichiometric N : P flexibility and mycorrhizal symbiosis favour plant resistance against drought. *Journal of Ecology*, **105**: 958–967.
- Maris C, Dominguez C, Allain FH. 2010. The RNA recognition motif, a plastic RNA-binding platform to regulate post-transcriptional gene expression. *FEBS Journal*, **272**: 2118–2131.
- Marklund EG, Zhang Y, Basha E, et al. 2018. Structural and functional aspects of the interaction partners of the small heat-shock protein in *Synechocystis*. *Cell Stress and Chaperones*, **23**: 723–732.
- Mehlen P, Schulze-Osthoff K, Arrigo AP. 1996. Small stress proteins as novel regulators of apoptosis. Heat shock protein 27 blocks Fas/APO-1- and staurosporine-induced cell death. *Journal of Biological Chemistry*, **271**: 16510–16514.
- Nair A, Kolet SP, Thulasiram HV, et al. 2015. Systemic jasmonic acid modulation in mycorrhizal tomato plants and its role in induced resistance against *Alternaria alternata*. *Plant Biology*, **17**: 625–631.
- Ono E, Wong HL, Kawasaki T, et al. 2001. Essential role of the small GTPase Rac in disease resistance of rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98**: 759–764.
- Ortiz-Berrocal M, Lozano L, Sanchez-Flores A, et al. 2017. Expression in rice of an autoactive variant of *Medicago truncatula* DMI3, the Ca^{+2} /calmodulin-dependent protein kinase from the common symbiotic pathway modifies root transcriptome and improves mycorrhizal colonization. *Plant Biotechnology Reports*, **11**: 271–287.
- Salvioli A, Zouari I, Chalot M, et al. 2012. The arbuscular mycorrhizal status has an impact on the transcriptome profile and amino acid composition of tomato fruit. *BMC Plant Biology*, **12**: 44.
- Saurabh P, Dharendra F, Aakrati A, et al. 2017. Abiotic stress tolerance in plants: Myriad roles of ascorbate peroxidase. *Frontiers in Plant Science*, **8**: 581.
- Sawers RJH, Svane SF, Quan C, et al. 2017. Phosphorus acquisition efficiency in arbuscular mycorrhizal maize is correlated with the abundance of root-external hyphae and the accumulation of transcripts encoding PHT1 phosphate transporters. *New Phytologist*, **214**: 632–643.
- Schomburg FM, Patton DA, Meinke DW, et al. 2001. FPA, a gene involved in floral induction in *Arabidopsis*, encodes a protein containing RNA-recognition motifs. *Plant Cell*, **13**: 1427–1436.
- Skowrya D, Koeppe DM, Kamura T, et al. 1999. Reconstitution of G1 cyclin ubiquitination with complexes containing SCF-Grr1 and Rbx1. *Science*, **284**: 662–665.
- Smith SE, Read D. 2008. The symbionts forming arbuscular mycorrhizas. *Mycorrhizal Symbiosis*, **2008**: 13–41.
- Song F, Li J, Fan X, et al. 2016. Transcriptome analysis of *Glomus mosseae*/*Medicago sativa* mycorrhiza on atrazine stress. *Scientific Reports*, **6**: 20245.
- Tamasloukht M, Waschke A, Franken P. 2007. Root exudate-stimulated RNA accumulation in the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora rosea*. *Soil Biology and Biochemistry*, **39**: 1824–1827.
- Tisserant E, Kohler A, Dozolmeseddas P, et al. 2012. The transcriptome of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* (DAOM 197198) reveals functional tradeoffs in an obligate symbiont. *New Phytologist*, **193**: 755–769.

- Turchi A, Tamantini I, Alessandro M. 2012. Expression of a metallothionein A1 gene of *Pisum sativum* in white poplar enhances tolerance and accumulation of zinc and copper. *Plant Science*, **183**: 50–56.
- van der Rest B, Rolland N, Boisson AM, *et al.* 2004. Identification and characterization of plant glycerophosphodiester phosphodiesterase. *Biochemical Journal*, **379**: 601–607.
- Vangelisti A, Natali L, Bernardi R, *et al.* 2018. Transcriptome changes induced by arbuscular mycorrhizal fungi in sunflower (*Helianthus annuus* L.) roots. *Scientific Reports*, **8**: 4.
- Vernié T, Camut S, Camps C, *et al.* 2016. PUB1 interacts with the receptor kinase DMI2 and negatively regulates rhizobial and arbuscular mycorrhizal symbioses through its ubiquitination activity in *Medicago truncatula*. *Plant Physiology*, **170**: 2312–2324.
- Wang Z, Gerstein M, Snyder M, *et al.* 2009. RNA-Seq: A revolutionary tool for transcriptomics. *Nature Reviews Genetics*, **10**: 57–63.
- Wilbur JD, Hwang PK, Ybe JA, *et al.* 2010. Conformation switching of clathrin light chain regulates clathrin lattice assembly. *Developmental Cell*, **18**: 854–861.
- Wulf A, Manthey K, Doll J, *et al.* 2003. Transcriptional changes in response to arbuscular mycorrhiza development in the model plant *Medicago truncatula*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **16**: 306–314.
- Xi W, Liu C, Hou X, *et al.* 2010. MOTHER OF FT AND TFL1 regulates seed germination through a negative feedback loop modulating ABA signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **22**: 1733–1748.
- Yap YK, Kodama Y, Waller F, *et al.* 2005. Activation of a novel transcription factor through phosphorylation by wipk, a wound-induced mitogen-activated protein kinase in tobacco plants. *Plant Physiology*, **139**: 127–137.
- Zhao H, Wang G. 2003. Molecular biology and gene engineering of plant acetyl-CoA carboxylase. *Progress in Biotechnology*, **23**: 12–16.
- Zheng N, Shabek N. 2017. Ubiquitin ligases: Structure, function, and regulation. *Annual Review of Biochemistry*, **86**: 129–157.
- Zheng Y. 2001. Dbl family guanine nucleotide exchange factors. *Trends in Biochemical Sciences*, **26**: 724–732.
- Zhou XZ, Kops O, Werner A, *et al.* 2000. Pin1-dependent prolyl isomerization regulates dephosphorylation of Cdc25C and tau proteins. *Molecular Cell*, **6**: 873–883.
-
- 作者简介 邓杰,男,1989年生,硕士研究生,主要从事菌根生态学方面的研究。E-mail: dengj18@lzu.edu.cn
- 责任编辑 魏中青
-