

蓝莓根系嗜根无柄盘菌小G蛋白基因家族的生物信息学分析*

宋晓贺^{1**}, 吴银银¹, 李彦凯¹, 李萍², 刘冬^{2**}

1. 安庆师范大学生命科学学院, 皖西南生物多样性和生态保护安徽省重点实验室, 水生生物保护与水生态修复安徽省高等学校工程技术研究中心, 安庆246133; 2. 安庆职业技术学院, 安庆246003

摘要: 嗜根无柄盘菌(*Pezicula rhizophila*)是从健康蓝莓根系中分离获得的深色有隔内生真菌,对蓝莓具有促生、防病作用。Ras超家族小G蛋白在真核生物的生长发育和细胞信号转导中发挥重要作用。利用嗜根无柄盘菌全基因组测序数据,对其基因组中的小G蛋白基因家族成员进行生物信息学分析。结果表明:共鉴定到9个小G蛋白,分别属于Rab、Arf、Ras、Ran和Rho家族。9个小G蛋白氨基酸数介于183~256,均为亲水性蛋白,无信号肽,不存在跨膜结构域。除Arf1为碱性蛋白质外,其他家族成员均为酸性蛋白质。所有小G蛋白均具有5个保守的小GTP酶结构域(G1-G5),其中含有控制活性/非活性状态的开关Switch I和Switch III结构域。荧光定量PCR分析结果表明,小G蛋白基因的表达量呈先急剧降低,之后趋于稳定的趋势。该研究结果为探索嗜根无柄盘菌小G蛋白的生物学功能,以及为后期通过干预小G蛋白信号通路进行菌种遗传改良提供参考。

关键词: 蓝莓; 嗜根无柄盘菌; 小G蛋白; 生物信息学特征

中图分类号: S663 文献标志码: A 文章编号: 1000-5684(2026)01-0056-08

DOI: 10.13327/j.jlau.2022.1597

引用格式: 宋晓贺, 吴银银, 李彦凯, 等. 蓝莓根系嗜根无柄盘菌小G蛋白基因家族的生物信息学分析[J]. 吉林农业大学学报, 2026, 48(1): 56-63.

Bioinformatics Analysis of Small G Protein Gene Family of *Pezicula rhizophila* in Blueberry Roots *

SONG Xiaohu^{1**}, WU Yinyin¹, LI Yankai¹, LI Ping², LIU Dong^{2**}

1. Research Center of Aquatic Organism Conservation and Water Ecosystem Restoration in Anhui Province, Provincial Key Laboratory of Biodiversity Research and Ecological Protection in Southwest Anhui Province, College of Life Sciences, Anqing Normal University, Anqing 246133, China; 2. Anqing Vocational & Technical College, Anqing 246003, China

Abstract: *Pezicula rhizophila* is a dark septate endophyte (DSE) isolated from healthy blueberry roots, which has the effects of promoting growth and preventing diseases in blueberry. Ras superfamily small G proteins play an important role in eukaryotic growth, development and cell signal transduction. Using the whole genome sequencing data of *P. rhizophila*, bioinformatics analysis of the small G protein gene family members was carried out. A total of nine small G proteins were identi-

* 基金项目: 安徽省自然科学基金面上项目(2008085MC102), 安徽省高校科学研究重点项目(KJ2020A0517), 安庆市农业产业化集成技术协同创新项目(2021Z0004)

作者简介: 宋晓贺, 女, 博士, 副教授, 研究方向: 植物病理学与微生物资源利用。

收稿日期: 2022-01-19 修回日期: 2025-08-19

** 通信作者: 宋晓贺, E-mail: sxhapril@163.com

fied, belonging to the Rab, Arf, Ras, Ran and Rho families, respectively. The number of amino acids ranged from 188 to 256, all of which were hydrophilic proteins, without signal peptides and without transmembrane domains. Apart from Arf1, which is a basic protein, all other eight members were acidic proteins. The nine small G proteins all possessed five conserved small GTPase domains (G1-G5), which contained Switch I and Switch III domains that control the active/inactive state. Fluorescence quantitative PCR analysis showed that the expression of small G protein genes decreased sharply at first and then stabilized in different culture periods. The results provide reference information for exploring the biological function of small G proteins and for the later transformation of *P. rhizophila* by intervening in the small G protein signaling pathway.

Key words: blueberry; *Pezicula rhizophila*; small G protein; bioinformatics characteristic

蓝莓又名越橘(*Vaccinium* spp.),属杜鹃花科越橘属多年生灌木,因其果实具有较高的营养价值和保健作用,而被全世界广泛关注。近年来其栽培生产技术在我国发展迅速,栽培面积和产量跃居全球第一^[1-2]。随着我国蓝莓产业的发展,发现蓝莓溃疡病是蓝莓种植主要病害之一^[3]。传统的解决方法是使用农药,然而农药会长期滞留在水、土壤及农产品中,造成环境污染,并通过食物链进入人体内,影响人类健康^[4]。深色有隔内生真菌(Dark septate endophytes, DSE)是定殖于植物根内的小型土壤真菌,是内生真菌中的一大种群,由于黑化菌丝的发展和微菌核的产生,能与寄主形成互惠共生体,对植物生存至关重要^[5]。DSE作为根系共生真菌的代表,已被证实对多种宿主植物生长有促进作用且具有抵抗生物和非生物胁迫的功能,又因其寄主范围广、生态学功能多样以及可以纯培养等优势备受关注,是控制植物病虫害的潜在新型生物源菌剂^[5-7]。目前,对DSE的多样性、生态分布、生物学功能研究较多,而缺乏对调控DSE与寄主共生互作机制的研究^[6,8]。

Ras超家族小G蛋白是一类真核生物中普遍存在的,且具有GTP酶活性的蛋白家族,分子量21~30 kDa。根据结构和功能可分为Ras, Rh, Arf, Ran, Rab和Miro 6个家族^[9]。小G蛋白在结合GTP时处于活化状态,可以激活下游分子;当其将GTP水解为GDP后则转变为非活化状态,从而通过这一循环过程调控相关代谢活动^[10]。小G蛋白作为调控信号传导途径的分子开关,参与丝状真菌菌丝生长发育,毒力结构形成以及活性氧的产生等过程,在真菌侵染定殖植物中发挥关键的生物学功能^[9,11]。在病原真菌中,辣椒炭疽菌(*Colletotrichum scovillei*)中CsRac1^[12]、苹果树腐烂

病菌(*Valsa mali*)中VmRab7^[13]、禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)中FgRab1^[14]、玉米黑粉菌(*Ustilago maydis*)中Rac1和Cdc42^[15]、稻瘟病真菌(*Magnaporthe grisea*)中的Rac1^[16]的缺失,均导致植物病原真菌的生长发育缺陷和致病力下降。在互惠共生关系中,生防菌里氏木霉(*Trichoderma reesei*)中Rac1的缺失会导致菌落生长速率下降,菌丝超分支表型和强烈的无极性生长^[17]。植物内生真菌*Epichloë festucae*与多年生黑麦草形成共生关系时,Cdc42突变菌株虽能够在宿主黑麦草组织中定殖,但菌丝在宿主植物内延长分叉时易发生断裂,而RacA通过调节细胞-细胞融合、菌丝极性生长和宿主根部定殖,激活NoxA以维持与多年生黑麦草的共生相互作用^[11,18]。嗜根无柄盘菌(*Pezicula rhizophila*)是本实验室从蓝莓根系中分离获得的1种DSE,与蓝莓共生在根细胞内形成典型的DSE微菌核结构,对蓝莓具有促生和防病作用,且菌丝体外有极性生长和融合的表型^[19]。细胞极性生长与小G蛋白的极性分布及动态平衡密切相关。为了进一步探索嗜根无柄盘菌生物学功能,基于该菌株全基因组测序数据,挖掘基因组中的小G蛋白,以期研究小G蛋白的功能提供理论依据,进而通过干预小G蛋白信号通路对其性状进行定向改良,有助于提升其生防功能。

1 材料与方法

1.1 小G蛋白家族的挖掘及蛋白理化性质

嗜根无柄盘菌(*P. rhizophila*)由安庆师范大学植物病原微生物实验室分离获得,是具有独立知识产权的专利菌株,保藏编号为GDMCC No. 60777,该菌株属于子囊菌纲Ascomycetes、柔膜菌

目 Helicales、皮盘菌科 Dermateaceae、无柄盘菌属 *Pezicula* 真菌。基于该菌株全基因组测序数据 (GenBank No. JAJONI000000000), 从 UniProt 数据库下载小 G 蛋白序列, 采用 NCBI BLAST 工具进行比对分析; 使用 Pfam (<https://web.expasy.org/protparam/>) 和 CDD (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 数据库对候选蛋白的功能域进行预测, 剔除不具有小 G 蛋白典型功能域的候选蛋白基因; 使用 pI/Mw (<http://web.expasy.org/protparam/>) 对所获得的蛋白序列理化性质进行分析。

1.2 小 G 蛋白家族保守功能域预测及系统发育

利用 BLAST 保持结构域工具对小 G 蛋白的氨基酸保守域进行预测; 利用 ClustalX 软件对小 G 蛋白的氨基酸序列进行多重比较分析; 参考 Kayano 等^[11]方法, 下载 *Epichloë festucae* (Ef), 粗糙脉胞霉 (*Neurospora crassa*, Nc), 禾谷镰刀菌 (*Fusarium graminearum*, Fg) 和稻瘟病菌 (*Magnaporthe oryzae*, Mo) 基因组中的 Rho, Ras, Rab, Ran 和 Arf 家族 32 个小 G 蛋白氨基酸序列, 与本研究 9 个小 G 蛋白氨基酸序列进行比对, 利用 MEGA7.0 软件构建 Neighbor-Joining 系统发育树 (1 000 次自展重复次数)。

1.3 小 G 蛋白的二、三级结构预测

利用 SOPAM (<https://npsa-prabi.ibcp.fr/>) 对

蛋白质的二级结构进行预测, 利用 SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org>) 构建小 G 蛋白的三级结构。

1.4 小 G 蛋白的信号肽分析、磷酸化位点、跨膜结构及亚细胞定位

通过 SignalP (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetGlycate/>) 对小 G 蛋白进行信号肽分析; 利用 NetPhosK (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>) 分析小 G 蛋白磷酸化位点; 利用 TMHMM (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) 对小 G 蛋白进行跨膜结构分析; 最后采用 Euk-mPLoc (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/euk-multi-2/>) 分析小 G 蛋白亚细胞定位。

1.5 小 G 蛋白基因荧光定量 PCR

提取不同时间点样品的 RNA, 以反转录的 cDNA 为模板, 进行荧光定量 PCR 扩增。小 G 蛋白基因荧光定量 PCR 引物, 见表 1。20 μL PCR 反应体系: SYBRGreen Mix 10 μL, 上、下游引物 (10 μmol/L) 各 0.5 μL, cDNA 模板 1.5 μL, ddH₂O 7.5 μL。PCR 反应条件: 95 °C 10 min; 95 °C 15 s, 60 °C 45 s, 40 个循环; 循环结束后溶解曲线分析程序: 95 °C 15 s, 60 °C 1 min, 95 °C 15 s, 60 °C 15 s。根据扩增曲线和溶解曲线检测引物的扩增情况, 以 *β-tubulin* 为内参基因, 用 2^{-ΔΔC_t} 法分析基因表达量。

表 1 小 G 蛋白基因 RT-PCR 引物

Table 1 RT-PCR primers of small G protein genes

基因名称	引物序列 (5'-3')	基因名称	引物序列 (5'-3')
<i>PrRas2-F</i>	TCCTACCGCAAGCAATGTGT	<i>PrRac1-F</i>	TCGAGACCTCCGCAAAGAAC
<i>PrRas2-R</i>	CATGTACTGTTCCGCGCATGG	<i>PrRac1-R</i>	CACTGTGGGCTTGTGTTCC
<i>PrCdc42-F</i>	ACCCTACACCCTTGGCCTAT	<i>PrRab2-F</i>	CAAACAGCTATTACCGCGGC
<i>PrCdc42-R</i>	CCGGAACCATTTCTCCCGA	<i>PrRab2-R</i>	CATAGCGTTCGACTCTGCCT
<i>PrRan-F</i>	GTGACTTGGTCCGTGTTTGC	<i>β-tubulin-F</i>	TAACCAAATCGGTGCTGCTTTTC
<i>PrRan-R</i>	ACCAGAGGAAGGGCTTTTTC	<i>β-tubulin-R</i>	CCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC
<i>PrArf2-F</i>	AAGCAGGATATCGCTGGAGC		
<i>PrArf2-R</i>	ACTTCTTGACAGGTCCTGCG		

2 结果与分析

2.1 小 G 蛋白的氨基酸序列及理化性质

从嗜根无柄盘菌全基因组测序数据中定位小 G 蛋白序列, 使用 Pfam 和 CDD 数据库对候选蛋白的功能域进行预测, 并在 Pfam 和 CDD 数据库中进行筛选, 鉴定出 9 条小 G 蛋白序列 (表 2), 包括

2 个 Rab 家族成员 (PrRab1 和 PrRab2)、2 个 Arf 家族成员 (PrArf1 和 PrArf2)、1 个 Ran 家族成员 (PrRan)、2 个 Ras 家族成员 (PrRas1 和 PrRas2)、2 个 Rho 家族成员 (PrCdc42 和 PrRac1)。利用 ExPASy-ProtParam 分析软件对其进行氨基酸组成和理化性质分析, 结果表明, 9 个小 G 蛋白的氨基酸数为 183~256, 相对分子质量约为 23 080.76。

除 PrArf1 理论等电点为 9.28,属于碱性蛋白质外, 6.91,为酸性蛋白质。9 个小 G 蛋白均具有较强的其他 8 个小 G 蛋白理论等电点均分布在 4.97~ 亲水性,稳定性好。

表 2 小 G 蛋白氨基酸理化性质
Table 2 Physicochemical properties of amino acids of small G proteins

名称	氨基酸数	相对分子量	理论等电点	负电荷氨基酸数 (Asp+Glu)	正电荷氨基酸数 (Arg+Lys)	不稳定系数	总平均疏水性
PrCdc42 (OL865299)	194	21 563.95	5.83	26	23	41.49	-0.153
PrRac1 (OL865300)	203	22 469.56	5.57	27	23	40.47	-0.254
PrRas1 (OL865301)	256	28 778.19	6.86	37	37	60.59	-0.671
PrRas2 (OL865302)	216	24 019.22	4.97	33	26	49.09	-0.358
PrRab1 (OL865303)	202	22 030.94	6.84	25	25	41.07	-0.254
PrRab2 (OL865304)	204	22 634.60	5.53	25	23	27.86	-0.317
PrArf1 (OL865305)	188	20 998.42	9.28	21	26	32.03	-0.221
PrArf2 (OL865306)	183	20 922.04	6.31	24	23	32.87	-0.261
PrRan (OL865307)	216	24 309.88	6.91	26	26	27.47	-0.330

2.2 小 G 蛋白氨基酸结构序列比对与保守结构域

利用 BLAST 保守结构域工具对 9 个小 G 蛋白的氨基酸保守域进行预测,见图 1。9 个小 G 蛋白均具有 5 个保守小 GTP 酶结构域(G1-G5)结构,

其中包含控制活性/非活性状态的开关 Switch I 和 Switch III 结构域,5 个 G box 分别是 G1[P-loop; GxxxG K (S/T)], G2 [Switch I; x (T/S) x] , G3 (Switch II ; DxxG) , G4 [(N/T) KxD] 和 G5 (CAK/L/T)。



图 1 9 个小 G 蛋白氨基酸序列比对
Fig. 1 Alignment results of amino acid sequences of 9 small G proteins

2.3 小 G 蛋白系统发育树

系统发育树见图 2。PrCdc42 和 PrRac1 属于 2 个不同的系统发育分支; PrRas1 和 PrRas2 分属不同的系统发育分支; PrRab1 和 PrRab2 聚在 1 个

分支上,但形成明显的独立亚群; PrArf1 和 PrArf2 与 Rho、Ras、Rab 和 Ran 家族成员遗传距离较远,且聚在 2 个不同的系统发育分支上,表明 9 个小 G 蛋白可能行使不同的生物学功能。

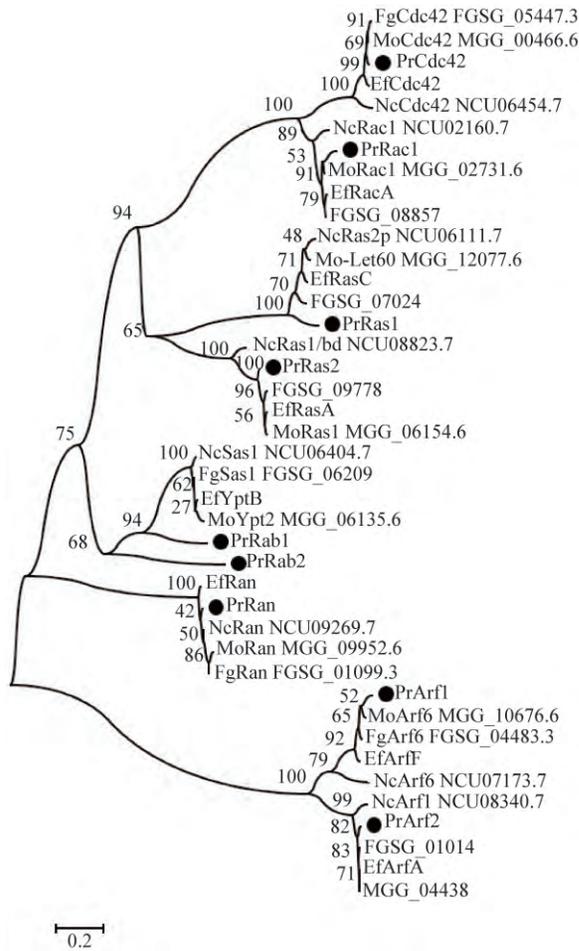


图2 小G蛋白系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic analysis of small G proteins

2.4 小G蛋白的二级结构和三级结构预测

嗜根无柄盘菌的二级结构见表3。在9个小G蛋白中,PrRas2的 α -螺旋占比最大,为42.13%;PrRas1 β -转角最少(3.91%),但无规则卷曲最多(43.75%);PrRab1的延伸链最多,为26.24%,PrRab1和PrArf2 β -转角最多,分别为10.40%和10.93%。

表3 小G蛋白二级结构分析

Table 3 Secondary structure analysis of small G proteins

蛋白名称	α -螺旋	延伸链	β -转角	无规则卷曲
PrCdc42	35.57	21.65	5.15	37.63
PrRac1	37.93	17.24	6.90	37.93
PrRas1	35.93	16.41	3.91	43.75
PrRab1	21.00	26.24	10.40	34.16
PrArf1	36.17	22.87	7.45	33.51
PrRas2	42.13	19.91	9.72	28.24
PrRab2	34.80	25.00	7.84	32.35
PrArf2	36.61	23.50	10.93	28.96
PrRan	30.09	21.76	5.09	43.06

利用SWISS-MODEL对9个小G蛋白进行同源建模,模型结构评估(Structure Assessment)见图3。9个小G蛋白的拉氏图评估(Ramachandran Favoured)得分分别为 PrArf2 96.48%, PrRab2 97.62%, PrCdc42 96.32%, PrRan 97.09%, PrRac1 96%, PrRas1 94.48%, PrRas2 96.43%, PrRab1 91.33% 和 PrArf1 97.13%,表明9个蛋白预测结构的可信度均较高。

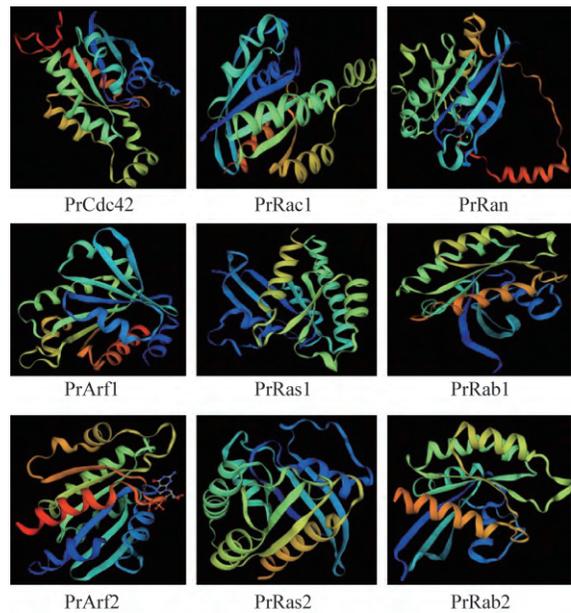


图3 9个小G蛋白三级结构模型

Fig. 3 Tertiary structure models of 9 small G proteins

2.5 小G蛋白磷酸化位点及其激酶分析

9个小G蛋白的磷酸化位点差别较大(表4),PrRas1的磷酸化位点最多,为29个,PrArf2磷酸化位点最少,仅有12个。在丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)和酪氨酸(Tyr)磷酸化位点中,丝氨酸磷酸化位点最多。对于激酶的分析表明,9个蛋白均可能受到Unsp、PKC等激酶的调控。

2.6 信号肽分析、跨膜结构及亚细胞定位分析

SignalP信号肽分析发现,9个小G蛋白均无信号肽。TMHMM跨膜结构分析,9个小G蛋白不存在跨膜结构域,不属于跨膜蛋白。Euk-mPLoc分析小G蛋白亚细胞定位,PrCdc42主要定位在细胞膜、细胞质和细胞核上;PrRac1主要定位在细胞膜和细胞质上;PrRas2主要定位在细胞膜;PrRas1主要定位在细胞膜、细胞质和细胞核上;PrRab1主要定位在细胞膜;PrRab2主要定位在内质网、高尔基体、线粒体和细胞核上;PrArf1主要定位在内质网和高尔基体上;PrArf2主要定位在高尔基体上;PrRan主要定位在细胞质和细胞核上。

表4 小G蛋白磷酸化位点及其激酶分析
Table 4 Phosphorylation sites and kinases analysis of 9 small G proteins

蛋白名称	磷酸化位点			激酶	
	总数	丝氨酸	苏氨酸		酪氨酸
PrCdc42	16	6	7	3	PKC, Unsp, CKII, PKB, PKA, p38MAPK, DNAPK
PrRac1	20	12	6	2	DNAPK, PKC, PKA, CKI, Unsp, PKB, cdk5, p38MAPK, GSK3, INSR, cdc2
PrRas1	29	17	9	3	PKC, cdc2, PKA, CKII, DNAPK, EGFR, SRC, CKI, PKG, p38MAPK, cdk5, GSK3, Unsp
PrRas2	17	6	5	6	p38MAPK, CKII, Unsp, SRC, PKC, CKI, PKA, cdc2, EGFR, INSR
PrRab1	26	18	6	2	cdc2, Unsp, CKII, CKI, PKA, PKC, PKG, PKB, RSK, DNAPK, INSR, p38MAPK
PrRab2	27	11	12	4	cdc2, Unsp, CKII, PKG, SRC, INSR, EGFR, PKC, CKI, PKA, PKB
PrArf1	15	9	5	1	PKA, PKC, Unsp, DNAPK, cdc2, CKII, CKI, cdk5
PrArf2	12	7	4	1	PKC, Unsp, EGFR, SRC, DNAPK, cdc2
PrRan	17	2	10	5	PKC, Unsp, INSR, PKA, CKI

2.7 小G蛋白基因 RT-PCR 表达分析

嗜根无柄盘菌在 PDA 培养基上的生长情况,见图 4-A,该菌在 5~11 d 为快速生长阶段,11 d 后生长速度趋于平稳。根据 RT-PCR 检测

结果显示,随着培养时间的延长,小G蛋白基因 *PrRas2*, *PrRan*, *PrRac1*, *PrRab2*, *PrCdc42* 和 *PrArf2* 表达量均呈先急剧降低,然后趋于稳定的趋势(图 4-B)。

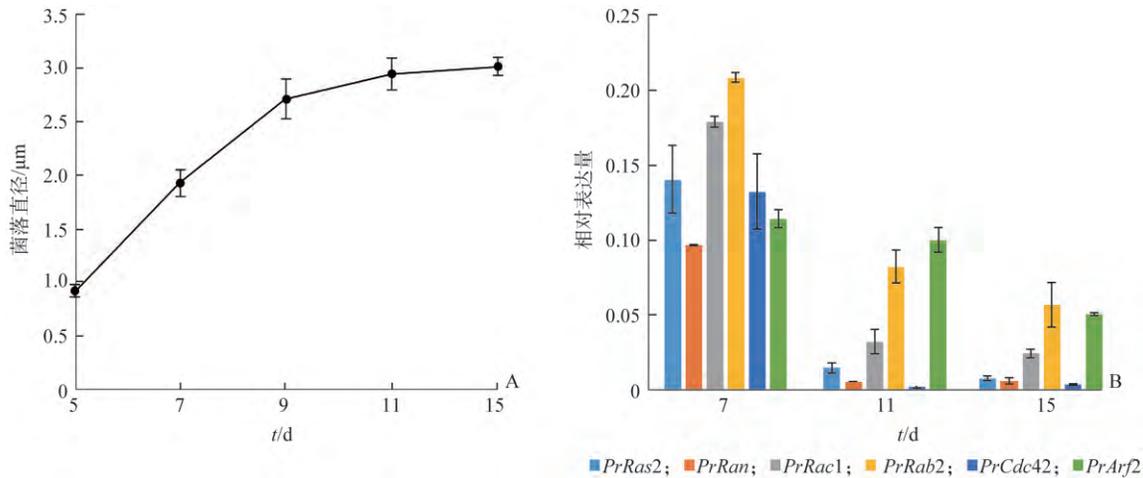


图4 嗜根无柄盘菌在PDA培养基上生长曲线和小G蛋白基因差异表达分析

Fig. 4 Growth curve of *P. rhizophila* on PDA medium and differential expression analysis of small G proteins

3 讨论

本研究以实验室前期获得的嗜根无柄盘菌全基因组测序信息为研究对象,通过基因组注释、数据库比对等多种基因挖掘方法,成功获得9个与小G蛋白编码基因相关序列,分别属于 Rab, Arf, Ras, Ran 和 Pho 家族。除 PrArf1 属于碱性蛋白质外,其他8个小G蛋白均为酸性蛋白质,且9个小G蛋白均具有较强的亲水性,稳定性好。SignalP 和 TMHMM 分析结果表明,9个小G蛋白均无信号肽,不存在跨膜结构域,不属于跨膜蛋白。蛋白质磷酸化位点及其激酶分析结果表明,PrRas1 的磷

酸化位点最多,有17个丝氨酸、9个苏氨酸和3个酪氨酸磷酸化位点,9个小G蛋白均可能受到 Unsp、PKC 等激酶的调控。二级结构预测和三级结构同源建模结果显示,9个小G蛋白均具有无规则卷曲、β-转角和延伸链。系统发育分析结果表明,9小G蛋白家族成员结构较为保守,分别属于8个不同的进化分支和一个独立亚群,表明它们可能有不同的功能分化。

Ras 超家族小G蛋白在真核生物中参与多种生物学过程,如信号传导、细胞极性、细胞增殖、囊泡运输、次生代谢、致病性等,其受鸟苷酸交换因子 GEFs 和 GAPs 的精细调节。Ras 蛋白在丝状真

菌生长、发育和致病过程中,以及在人类肿瘤生长和发展中发挥重要功能^[9,20-21]。Rho家族对真菌形态发生和发育有重要作用,其成员参与调节肌动蛋白细胞骨架的信号网络、细胞极性、细胞周期进程、微管动力学及膜转运等^[22-25]过程。Rab家族成员参与囊泡的出芽、转运和融合等^[26];Ran家族成员主要参与核质运输、有丝分裂纺锤体组装和核膜形成^[27];Arf家族在细胞的不同部位调控囊泡出芽及其运输^[28]。本研究利用BLAST保守域预测分析发现,Ras,Rho,Rab,Ran和Arf家族每个小G蛋白成员均具有5个保守的G(G1-G5)基序,但在结构上各不相同,使其功能不同。除PrRas1外,PrCdc42,PrRac1和PrRas2的C末端都以负责脂质化修饰的保守氨基酸基序CAAX结尾,因此Ras和Rho家族成员优先定位在细胞质和质膜上;Rab家族成员PrRab1和PrRab2 C末端含有XXCC或XCXC基序,参与运输和囊泡融合,主要定位于内质网、囊泡和高尔基体上;Arf家族成员PrArf1和PrArf2 N端含有亲水脂性螺旋和肉豆蔻酰化位点(MG),同时含有Ras超家族G-motifs特征,在囊泡的形成和运输过程中的作用而定位在内质网和高尔基体中。PrRan在C端缺少C残基,不发生脂质修饰,在核质转运中起作用,主要定位于细胞核和细胞质中。

RT-PCR结果显示,小G蛋白编码基因的表达量在不同的时间点均呈先急剧降低,而后趋于稳定,表明Ras,Rho,Rab,Ran和Arf 5个家族小G蛋白均可能参与了嗜根无柄盘菌菌丝生长过程。Song等^[19]研究发现,嗜根无柄盘菌及其发酵滤液对灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*),拟茎点霉属(*Phomopsis* sp.),葡萄座腔菌(*Botryosphaeria dothidea*)和拟盘多毛孢属(*Pestalotiopsis* sp.)均具有拮抗作用,表明该菌可能产生一些次生代谢产物,抑制病原菌的生长。Dautt-Castro等^[29]研究发现,生防菌绿色木霉(*Trichoderma virens*)中Ras超家族成员*tbrg-1*的缺失,导致分生孢子发育迟缓,产量下降。然而*tbrg-1*突变菌株提高了绿色木霉对茄丝核菌(*Rhizoctonia solani*),齐整小菌核(*Sclerotium rolfisii*)和尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)的拮抗作用,并且其次生代谢产物木霉素的产量显著高于原生菌株,表明*tbrg-1*参与了绿色木霉分生孢子发育、次生代谢和对病原菌拮抗作用。嗜根无柄盘菌小G蛋白信号通路是否参与了菌丝生长、

次生代谢和生物防治等过程,需要进一步深入研究。

综上,基于嗜根无柄盘菌全基因组序列数据,本研究对其Ras超家族小G蛋白进行挖掘、鉴定及生物信息学分析,共获得Rab,Arf,Ran,Ras和Pho家族9个小G蛋白,为后续小G蛋白信号通路介导的嗜根无柄盘菌菌丝极性生长、次生代谢和生物防治作用机制研究提供理论依据。

参考文献:

- [1] Rodriguez-Saona C, Vincent C, Isaacs R. Blueberry IPM: Past successes and future challenges[J]. Annual Review of Entomology, 2019, 64: 95-114.
- [2] 李亚东, 裴嘉博, 陈丽, 等. 2020中国蓝莓产业年度报告[J]. 吉林农业大学学报, 2021, 43(1): 1-8.
- [3] Li H, Zhao Y, Zhang X, Bian D, Yu B. Damage and Control of Blueberry Canker[J]. Agricultural Biotechnology, 2020, 9(6): 57-61.
- [4] Balcı N, Türkan F, Şakiroğlu H, et al. Purification and characterization of glutathione S-transferase from blueberry fruits (*Vaccinium arctostaphylos* L.) and investigated of some pesticide inhibition effects on enzyme activity[J]. Heliyon, 2019, 5(4): e01422.
- [5] Santos M, Cesanelli I, Diñez F, et al. Advances in the role of dark septate endophytes in the plant resistance to abiotic and biotic stresses[J]. Journal of Fungi, 2021, 7(11): 939.
- [6] Ban Y H, Tang M, Chen H, et al. The response of dark septate endophytes (DSE) to heavy metals in pure culture[J]. PLoS One, 2012, 7(10): e47968.
- [7] Lugo M A, Menoyo E, Allione L R, et al. Arbuscular mycorrhizas and dark septate endophytes associated with grasses from the Argentine Puna [J]. Mycologia, 2018, 110(4): 654-665.
- [8] Su Z Z, Dai M D, Zhu J N, et al. Dark septate endophyte *Falciophora oryzae*-assisted alleviation of cadmium in rice[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 419: 126435.
- [9] Dautt-Castro M, Rosendo-Vargas M, Casas-Flores S. The small GTPases in fungal signaling conservation and function [J]. Cells, 2021, 10(5): 1039.
- [10] Yan J J, Xie B, Zhang L, et al. Small GTPases and stress responses of *vvran1* in the straw mushroom *Volvariella volvacea*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(9): 1527.
- [11] Kayano Y, Tanaka A, Takemoto D. Two closely related Rho GTPases, Cdc42 and RacA, of the endophytic fungus *Epichloë festucae* have contrasting roles for ROS production and symbiotic infection synchronized with the host plant[J]. PLoS Pathogens, 2018, 14(1): e1006840.
- [12] Lee N H, Fu T, Shin J H, et al. The small GTPase CsRAC1 is important for fungal development and pepper anthracnose in *Colletotrichum scovillei* [J]. The Plant Pathology Journal, 2021, 37(6): 607-618.

- [13] 张小龙, 吴淇, 田润泽, 等. 苹果树腐烂病菌小G蛋白 VmRab7 基因的功能分析[J]. 西北林学院学报, 2021, 36(2): 158-163.
- [14] Yuan Y P, Zhang M R, Li J J, et al. The small GTPase FgRab1 plays indispensable roles in the vegetative growth, vesicle fusion, autophagy and pathogenicity of *Fusarium graminearum* [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(2): 895.
- [15] Mahler M, Leveleki L, Hlubek A, et al. Rac1 and Cdc42 regulate hyphal growth and cytokinesis in the dimorphic fungus *Ustilago maydis* [J]. Molecular Microbiology, 2006, 59(2): 567-578.
- [16] Chen X F, Ebbole D J, Wang Z H. The exocyst complex: Delivery hub for morphogenesis and pathogenesis in filamentous fungi [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2015, 28: 48-54.
- [17] Fitz E, Gamauf C, Seiboth B, et al. Deletion of the small GTPase rac1 in *Trichoderma reesei* provokes hyperbranching and impacts growth and cellulase production [J]. Fungal Biology and Biotechnology, 2019, 6: 16.
- [18] Tanaka A, Takemoto D, Hyon G S, et al. NoxA activation by the small GTPase RacA is required to maintain a mutualistic symbiotic association between *Epichloë festucae* and perennial ryegrass [J]. Molecular Microbiology, 2008, 68(5): 1165-1178.
- [19] Song X H, Li Y K, Hu Y, et al. Endophytes from blueberry roots and their antifungal activity and plant growth enhancement effects[J]. Rhizosphere, 2021, 20: 100454.
- [20] Fortwendel J R. Orchestration of morphogenesis in filamentous fungi: Conserved roles for Ras signaling networks [J]. Fungal Biology Reviews, 2015, 29(2): 54-62.
- [21] Gysin S, Salt M, Young A, et al. Therapeutic strategies for targeting ras proteins [J]. Genes & Cancer, 2011, 2(3): 359-372.
- [22] Etienne-Manneville S, Hall A. Rho GTPases in cell biology[J]. Nature, 2002, 420(6916): 629-635.
- [23] Heasman S J, Ridley A J. Mammalian Rho GTPases: New insights into their functions from *in vivo* studies[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2008, 9(9): 690-701.
- [24] Moran K D, Kang H, Araujo A V, et al. Cell-cycle control of cell polarity in yeast [J]. The Journal of Cell Biology, 2019, 218(1): 171-189.
- [25] Park H O, Bi E F. Central roles of small GTPases in the development of cell polarity in yeast and beyond [J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2007, 71(1): 48-96.
- [26] Zerial M, McBride H. Rab proteins as membrane organizers [J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2001, 2(2): 107-117.
- [27] Quimby B B, Dasso M. The small GTPase Ran: Interpreting the signs [J]. Current Opinion in Cell Biology, 2003, 15(3): 338-344.
- [28] Bui Q T, Golinelli-Cohen M P, Jackson C L. Large Arf1 guanine nucleotide exchange factors: Evolution, domain structure, and roles in membrane trafficking and human disease [J]. Molecular Genetics and Genomics, 2009, 282(4): 329-350.
- [29] Dautt-Castro M, Estrada-Rivera M, Olguin-Martínez I, et al. TBRG-1 a Ras-like protein in *Trichoderma virens* involved in conidiation, development, secondary metabolism, mycoparasitism, and biocontrol unveils a new family of Ras-GTPases [J]. Fungal Genetics and Biology, 2020, 136: 103292.

(责任编辑:林海涛)