第 37 卷 第 2 期　　华 中 农 业 大 学 学 报　　Vol.37 No.2
2018 年 3 月　　Journal of Huazhong Agricultural University　　Mar. 2018,50～55

细胞自噬相关基因在水稻纹枯病菌菌核发育过程中的定量分析

舒灿伟　王陈骄子　江绍锋　张　衡　周而勋

华南农业大学农学院/广东省微生物信号与作物病害防控重点实验室,广州 510642

摘要　在前期研究中,采用 RNA-seq 技术获得了在水稻纹枯病菌菌核发育过程中差异表达的 6 个自噬相关基因,为阐明这些基因在水稻纹枯病菌菌核发育过程中的表达模式,提取了菌核发育过程中 3 个阶段的 RNA,根据特异基因的序列设计引物,采用实时荧光定量 PCR 技术分析这些基因的表达谱。结果表明,丝氨酸/苏氨酸激酶和 *ssp*1、*ATG*13 和 *Vam*6 基因的表达量在白色菌核形成阶段的表达量显著升高,而在菌核发育成熟阶段的表达量明显下降。而丝氨酸/苏氨酸-蛋白磷酸酶基因和丝氨酸/苏氨酸激酶受体相关蛋白基因的表达量在菌核发育阶段呈现出连续下降的趋势。研究发现这 6 个与细胞自噬有关的基因的表达谱与转录组测序的结果一致,表明转录组测序的结果可靠;同时也表明了这些基因高度响应了菌核的发育过程。

关键词　水稻纹枯病菌;自噬相关基因;实时荧光定量 PCR;基因差异表达

中图分类号　S 436.67　　**文献标识码**　A　　**文章编号**　1000-2421(2018)02-0050-06

水稻纹枯病(rice sheath blight)是水稻生产上的重要真菌病害之一,在全世界的水稻产区均有发生[1]。近年以来,随着氮肥施用量的增加,矮秆、多蘖和密植等栽培技术的推广[2],水稻纹枯病的发展蔓延加快,严重影响了我国水稻的稳产和高产。据报道,2016 年水稻纹枯病病情为偏重至大发生,发生面积约 1 800 万 hm^2,是稻瘟病发病面积的 3.4 倍,华南、江南、长江中下游稻区大发生,西南北部和江淮稻区偏重发生,西南南部和东北稻区中等发生(http://www.natesc.agri.cn)。水稻纹枯病已然成为我国稻区发病面积最广的病害[3-4],因此,开展对水稻纹枯病菌的研究,对减少水稻病害发生、减少农业损失和提高产量有重要意义。

引起水稻纹枯病的病原菌为立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*),隶属于 AG1-IA 融合亚群[5]。该菌是一种腐生能力强的土传植物病原真菌,除了引起严重的水稻纹枯病之外,还可以引起立枯病等多种病害,侵染作物多达 260 多种[6]。在自然条件下,该菌不产生有性孢子和任何无性孢子,而是以菌丝或菌核的形式残留在病株或土壤中越夏或越冬。菌核是由菌丝纠结而成的坚硬结构,能在土壤中存活数年之久[7],也是初侵染的重要来源[3]。因此,开展菌核发育机理的研究,对于制定有效的防控措施、开发抑制菌核发育的药剂具有潜在的应用价值。

菌核发育是真菌发育的一种重要方式。在真菌发育过程中,大量的蛋白质合成和降解参与细胞的死亡更替过程。在真核细胞里蛋白质有两种降解途径:细胞自噬(autophagy)和泛素蛋白酶体系统(ubiquitin-proteasome system,UPS)[8]。细胞自噬现象最早在 1963 年被发现,指的是真核细胞内的一种普遍的代谢过程,即细胞在缺乏营养或胁迫条件下,通过降解细胞内已经衰老和损伤的细胞结构和细胞器,为细胞重建和再生提供原料,实现了胞内物质的循环利用,是生物体中一种重要的防御和保护机制[9]。细胞自噬在生物的很多生理过程中起着重要的作用,尤其是应对各类胁迫反应,如氧化应激胁迫、耐盐、耐干旱和微生物侵染等[10]。细胞自噬还参与细胞重建的过程[11],所以细胞自噬在真核细胞中是一个无处不在的代谢过程,作为一个细胞质量控制开关来消除衰老的细胞器和结构以维持内稳态[12]。

收稿日期:2017-06-01
基金项目:广东省自然科学基金(博士启动)项目(2016A030310454);国家自然科学基金项目(31271994)
舒灿伟,博士,讲师. 研究方向:植物病原真菌及真菌病害. E-mail:shucanwei@scau.edu.cn
通信作者:周而勋,博士,教授. 研究方向:植物病原真菌及真菌病害. E-mail:exzhou@scau.edu.cn

细胞自噬基因 *APG*1(现为 *ATG*1)最初是从酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中被鉴定出来，其蛋白 Apg 1(现为 Atg 1)编码一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶[13]。随后细胞自噬被发现在丝状真菌的产孢、程序性细胞死亡、致病及促进细胞生存过程中都发挥重要作用。在丝状真菌米曲霉(*Aspergillus oryzae*)中，*Atg*8、*Atg*13 及 *Atg*15 基因功能的缺失将影响其产孢过程，说明自噬在该种真菌的有性生殖中发挥作用[14]。在其他丝状真菌中，自噬相关基因同样影响着产孢和致病力过程，如烟曲霉(*A. fumigatus*)的 *Atg*1[15] 以及稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)的 *Moatg*1、*Moatg*4 和 *Moatg*8[16-17]等。

但是目前有关细胞自噬在水稻纹枯病菌菌核发育过程中的作用尚未见到相关的报道。在前期工作中，笔者建立了一种优化的适用于双向电泳的水稻纹枯病菌蛋白质提取方法[18]，并通过 RNA-seq 技术研究了水稻纹枯病菌菌核发育过程的转录组学情况，通过生物信息学分析，发现了多个与细胞自噬有关的 unigenes 的表达量显著差异，表明了这些基因可能响应了菌核发育的过程。因此，本研究以水稻纹枯病菌菌核发育过程中 3 个代表阶段(菌丝体、白色菌核、黑色菌核)的菌体为材料，采用 qRT-PCR 技术分析菌核形成发育过程中自噬基因的表达谱，并探讨自噬相关基因在菌核发育过程的功能，旨在为今后深入研究水稻纹枯病菌菌核发育关键基因的功能奠定基础。

1　材料与方法

1.1　菌株和培养条件

本研究所用的菌株为笔者所在实验室保存的水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani* AG1-IA)强致病力菌株 GD-118。将 GD-118 菌株在 PDA 平板上活化后，用打孔器取菌落边缘的菌块接种在新的 PDA 平板上，接种后的平板在 25 ℃下培养。为了收集菌丝和菌核，PDA 平板上覆盖玻璃纸。在培养后 36 h 收集未分化的营养菌丝(mycelia stage，MS)，在 72 h收集白色菌核(sclerotial initiation，SI)，在第 14 天收集成熟菌核(sclerotial maturation，SM)。每个样品设置 3 个重复，样品收集后存放于－80 ℃备用。

1.2　RNA 的提取和反转录

真菌总 RNA 用 E.Z.N.A.Fungal RNA Kit (Omega bio-tek，Norcross，GA) 试剂盒提取，具体操作步骤参照产品说明书。RNA 的完整性和纯度分别用 1%琼脂糖凝胶电泳和 Nanodrop 2000 微量紫外分光光度计(Thermo Scientific，Wilmington，DE)进行检测。取 1 μg 经 DNase Ⅰ 处理的总 RNA，用 PrimerScript RT reagent Kit (TAKARA，Kyoto，Japan)按照说明书进行反转录。

1.3　引物设计

从 RNA-seq筛选到6个与细胞自噬相关的基

表 1　自噬相关基因功能和引物

Table 1　The function and primers of selected autophagy gene

基因序号 Gene number	基因功能 Gene function	定量 PCR 引物 Primer for qRT-PCR
*TCONS*_00001579	丝氨酸/苏氨酸激酶 Serine/threonine kinase，STK	F：TCTTGCTCTCATCCATTA R：CCACATCTCAATTCTCAA
*TCONS*_00003071	自噬相关蛋白 13 Autophagy-related protein 13	F：TAGCGTTCACGATGGCTTTG R：TGCAAGGCTTCATGGTTTGG
*TCONS*_00002361	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 ssp1 serine/threonine-protein kinase ssp1	F：GTTCTATTCAACCAATCTTC R：GCTTATGTCACTCTTCTT
*TCONS*_00002339	Vam6	F：TCTCTACATATACGACTTGG R：GTTGGTCTATCTGCCTTC
TCONS_00013880	丝氨酸/苏氨酸－蛋白磷酸酶 Proteinserine/threonine phosphatases，PSTP	F：GGCTTATTAGTTCGTATA R：AGAATGATAGAGTGAGTA
*TCONS*_00007608	丝氨酸/苏氨酸激酶受体相关蛋白 Serine-threoninekinase receptor-associated protein，STRAP	F：AAACGACTTTACGAACTC R：TACAGGAATTATACCAAGAC
GAPDH	三磷酸甘油醛脱氢酶 Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH	F：TACTCCGCAATGCTATCG R：TACTCGGTCCCAGTGGT

因，通过 Blast 软件预测基因的功能（表 1），根据目的基因的序列，用 Primer Premier 6 软件（PREMIER Biosoft International，Palo Alto，USA）分析序列并设计特异引物，引物由上海生工生物工程公司合成，引物序列如表 1 所示。

1.4 定量 PCR 分析

荧光定量 PCR 用 CFX Connect 仪器（Bio-Rad，CA，USA）和 SYBR Premix Ex *Taq* Ⅱ（Tli RNaseH Plus）（TaKaRa，Kyoto，Japan）进行。反应体系包括 1.0 μL cDNA 模板，5 μL SYBR Premix Ex *Taq* Ⅱ Master Mix，10 μmol/L 引物各 0.4 μL，3.2 μL RNase-free 水。反应程序如下：第一阶段 95 ℃变性 30 s，第二阶段是 95 ℃变性 5 s，各引物合适的退火温度 30 s，72 ℃延伸 30 s。样品间基因相对定量比较用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行分析[19]，相对表达量的公式是 $R=2^{-[\Delta Ct(目的基因)-\Delta Ct(内参基因)]}$，ΔΔCt＝[Ct（目的基因）－Ct（内参基因）]－[Ct（校正）－Ct（内参基因）]。基因表达水平通过水稻纹枯病菌的三磷酸甘油醛脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GADPH）基因进行校正。所有样品都做 3 个生物学重复和 3 个技术重复。

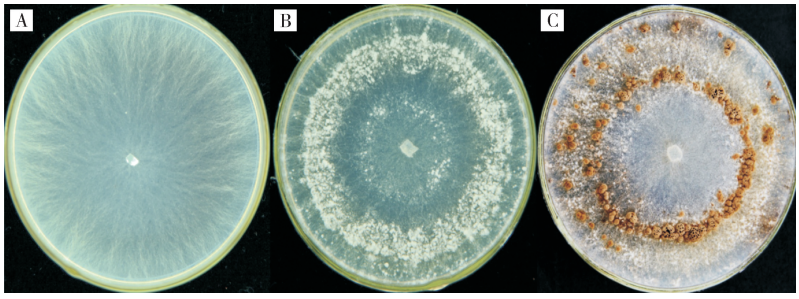
1.5 数据分析

所得的数据用 SPSS 13.0 软件（IBM，NY，USA）的方差分析进行统计，差异显著水平 $\alpha=0.05$。

2 结果与分析

2.1 菌核发育阶段

根据水稻纹枯病菌在培养基上形成菌核的特点，本研究选定了菌核发育过程中 3 个阶段的病菌样品，第 1 个时间点是丝状菌丝呈放射状长满培养皿时，该时间点为接种后 36 h；第 2 个时间点是 72 h，此时水稻纹枯病菌在培养基上逐渐长成白色菌丝球，形成体积较大的白色菌核；在这之后，白色菌核累积色素，发育成黑色菌核，黑色菌核的成熟期一般为 14 d，此时真菌的形态基本不再变化，菌核表面可见分泌液滴（图 1）。



A：菌丝阶段 Mycelia stage；B：菌核起始阶段 Sclerotial initiation；C：菌核成熟阶段 Sclerotial maturation.

图 1 水稻纹枯病菌菌核发育过程的 3 个阶段

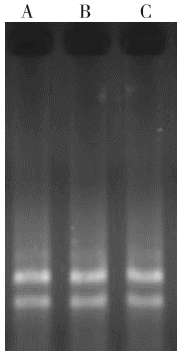
Fig.1 Three stages of sclerotial development of *Rhizoctonia solani* AG1-IA

2.2 RNA 提取和反转录

琼脂糖凝胶电泳表明所提取的 RNA 条带清晰、完整，无弥散条带和 DNA 降解（图 2）。RNA 的纯度和浓度也符合 qRT-PCR 的要求。

2.3 荧光定量 PCR 检测

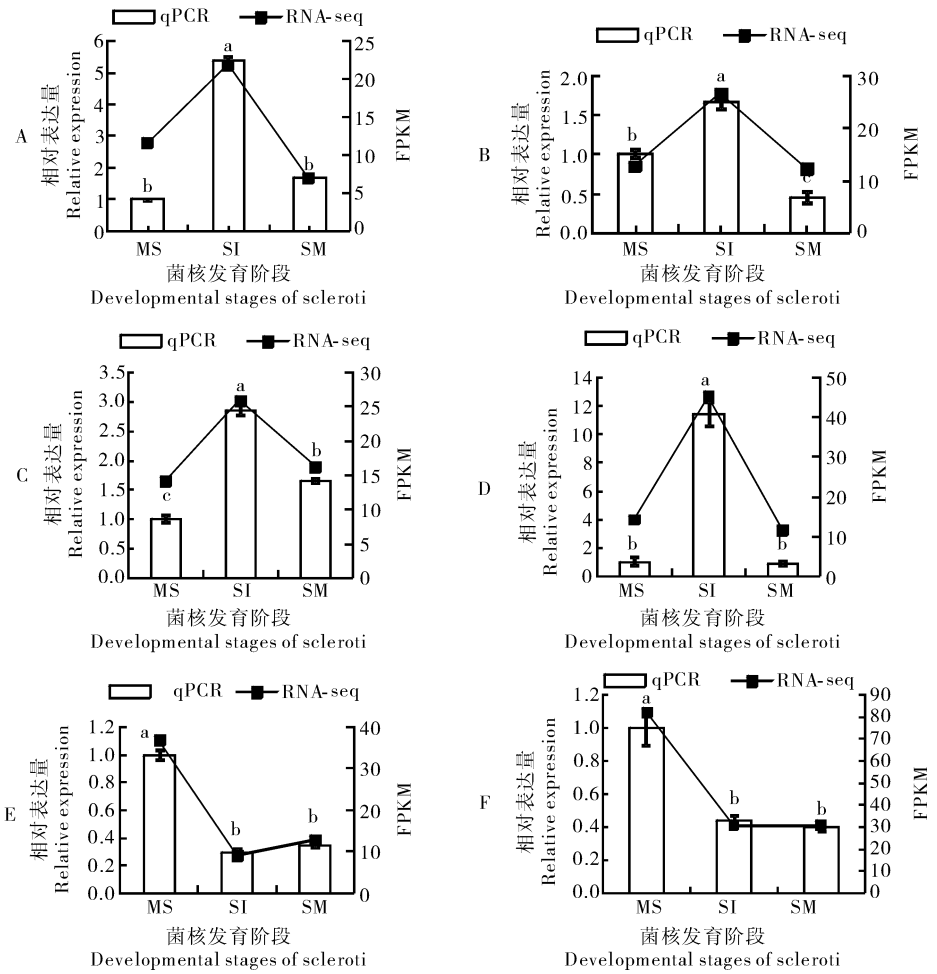
首先评估引物的熔解曲线和扩增曲线，熔解曲线峰为单一和锐利的峰形，未见其他峰值，得到各基因熔解温度均一，扩增产物特异性好，而扩增曲线呈现典型的 S 型曲线，因此可以采用 SYBR Green I 法进行相对定量分析。qRT-PCR 结果显示，6 个与细胞自噬有关的基因在菌核发育的 3 个阶段的表达量差异显著（图 3）。由图 3 中可看出，*TCONS*_0001579、*TCONS*_00003071、*TCONS*_00002361 和 *TCONS*_00002339 这 4 个 unigenes 在菌核发育过



A：菌丝阶段 Mycelia stage；B：菌核起始阶段 Sclerotial initiation；C：菌核成熟阶段 Sclerotial maturation.

图 2 水稻纹枯病菌菌丝和菌核总 RNA 电泳图

Fig.2 Gel electrophoresis of total RNA isolated from mycelia and sclerotia of *Rhizoctonia solani* AG1-IA



A：*TCONS*_00001579；B：*TCONS*_00003071；C：*TCONS*_00002361；D：*TCONS*_00002339；E：*TCONS*_00013880；F：*TCONS*_00007608.

图 3　6 个自噬相关基因荧光定量 PCR 和 RNA-seq 测序结果

Fig.3　The results of quantitative real-time PCR and RNA-seq of six autophagy related genes

程中在 SI 阶段明显高表达，在 SM 阶段降低(图 3A、B、C 和 D)；*TCONS*_00013880 和 *TCONS*_00007608 这 2 个基因在 SI 阶段表达量下调，之后趋于相对稳定的趋势(图 3E 和 F)。图中折线为各基因 RNA-seq 获得的 FPKM 值，图 3 中也显示荧光定量 PCR 的结果和 RNA-seq 测序的结果一致，表明了 RNA-seq 数据的可靠性比较高。

3　讨　论

菌核的形成是一个复杂的生物学过程，涉及了次生代谢、信号传导、碳水化合物代谢、细胞分化和死亡等进程，在菌核的形成过程中也出现大量物质的形成和降解。菌核的形成是由活性氧物质(reactive oxygen species，ROS)诱导产生的[20-21]，在细胞中产生的 ROS 会对蛋白质造成损伤。因此，蛋白质降解在细胞的代谢循环中发挥了重要作用。

在通常条件下，细胞中的自噬都维持在很低的水平，但是在各种应激条件下被诱导产生。在前期研究中，笔者通过 RNA-seq 技术研究了菌核发育的差异表达基因，发现在菌核发育的不同阶段中，与自噬有关的基因差异表达显著，预示这些细胞自噬相关基因可能响应了菌核的发育。在转录组数据中，笔者也发现了与泛素化有关的基因差异表达显著，其中分别编码 ubiquitin 和 ubiquitin-specific protease 蛋白的基因在菌核成熟阶段表达量最高(未发表资料)。这表明自噬和泛素化都参与了菌核的发育过程。在生物细胞中，自噬和泛素化是相互作用的，损伤蛋白通过多聚泛素化修饰后才被泛素结合蛋白运送到自噬体中[8]。因此，本研究中的自噬相关基因和泛素相关蛋白可能协同参与了菌核发育过程的蛋白质降解过程。

本研究发现丝氨酸/苏氨酸激酶 *STK* 和 *ssp*1

基因、*ATG*13 基因和 *Vam*6 基因在菌核发育阶段呈现出先升高后下降的趋势，而丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶(serine/threonine phosphatases，PSTP)基因和丝氨酸/苏氨酸激酶受体相关蛋白(serine/threonine kinase receptor associated protein，STRAP)基因却是呈现出逐渐下降的趋势。值得注意的是，这6个基因的荧光定量 PCR 结果和 RNA-seq 测序结果的趋势基本都是一致的，表明 RNA-seq 数据是真实可靠的。

生物体内蛋白质的磷酸化是由蛋白激酶和蛋白磷酸酶调控的。STK 和 ssp1 可磷酸化丝氨酸或苏氨酸的羟基，还参与酶活性的调控、基因表达和细胞分化，将激素、代谢和发育信号转导路径(包括光、盐、干旱、低温等胁迫)相联系，在细胞信号转导过程中占有极其重要的位置[22]。PSTP 是一种磷酸化蛋白激酶的形式，其作用于磷酸化丝氨酸/苏氨酸羟基，也被丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶磷酸化，磷酸基团的添加可以被称为丝氨酸/苏氨酸磷酸酶的酶逆转[23]。PSTP 在 DNA 损伤后调控蛋白质自身的酶活性、蛋白质间相互作用、蛋白质定位和稳定性都有重要的作用。PSTP 参与调控细胞增殖、细胞结构、基因转录、代谢、RNA 剪接和 DNA 损伤修复完成后的恢复等进程[23]。而 STRAP 包含保守的色氨酸(W)-天门冬氨酸(D)40 序列，主要存在于细胞质中，在细胞增殖中起调节作用，包括细胞程序性死亡(凋亡)、细胞分化和胚胎发育[24]。这些酶影响控制磷酸根离子的添加和去除，调节参与细胞增殖的过程、程序性细胞死亡(细胞凋亡)、胚胎发育和细胞分化的许多细胞途径。在菌核的发育进程中，*STK* 和 *ssp*1 基因表达量显著上调，到了后期黑色菌核阶段，其基因表达趋势是下调的，可能原因是随着生长后期细胞分裂更新速度变慢，蛋白质数量减少，底物也相应减少，因而催化蛋白质磷酸化的蛋白激酶数量也随之减少。*PSTP* 和 *STRAP* 的表达量是下调的，可能原因是蛋白激酶的数量增加，使得蛋白磷酸酶快速减少，该现象的调控机制有待进一步研究。由于菌核是胁迫诱导形成的，它的生长发育和基因表达是一个极其复杂的过程，每一个步骤要受到多个基因的共同调控，涉及多种信号转导途径，可以确定的是丝氨酸/苏氨酸相关基因在水稻纹枯病病菌自噬过程中起了调控作用，并且影响了它的发育进程。

ATG13 是吞噬体形成所需的自噬因子，是 Atg 1激酶复合体中的一个调节亚基，Atg1 激酶复合体控制着自噬的水平[13]。本研究中，*ATG*13 基因在菌核起始时显著上调，而在菌核成熟时显著下调，这可能是菌核开始形成时受氧化胁迫的诱导，此时细胞内的活性氧水平比较高，胞内的自噬水平也升高，因此 *ATG*13 基因调控了自噬水平。这与刘蒙蒙等[25]的研究结果一致，他们在猪苓(*Polyporus umbellatus*)中鉴定了一个自噬基因 *ATG*8，该基因在猪苓菌核中有表达，可能与猪苓的防卫反应有关。

*Vam*6 基因也被称为 *VPS*39 和 *CVT*4，它的功能与细胞内液泡的形态有关，如果该基因缺失，会导致大液泡比正常液泡更小。液泡是真菌生理活动中的关键细胞器之一，通过对自噬的调控直接参与菌丝细胞内的长距离营养运输，调控菌丝的扩展和分支的形成，间接参与真菌某些关键结构的形成，如附着胞的形成和假菌丝的生长等[26]。从定量的结果来看，*Vam*6 基因的表达也是在菌核开始形成的阶段显著上调，在这个阶段，真菌的细胞发生剧烈的变化，菌丝结构和分支与未分化阶段显著不同，细胞中各种细胞质也发生改变，此时液泡在细胞间物质运输中也发挥了重要作用，可能是一个关键因子。

本研究明确了 6 个细胞自噬相关基因的表达谱，发现在水稻纹枯病菌菌核发育的过程，这些基因都发生显著的变化，也表明了细胞自噬响应了菌核的发育过程，为研究丝核菌类菌核发育提供了候选基因，有利于进一步深入研究菌核发育关键基因的功能。

参 考 文 献

[1] ZUO S，YIN Y，ZHANG L，et al.Effect and breeding potential of qSB-11LE，a sheath blight resistance quantitative trait loci from a susceptible rice cultivar [J].Canadian journal of plant science，2017，91(1)：191-198.

[2] 郭明亮.中国水稻氮过量对农药用量的影响[D].北京：中国农业大学，2016.

[3] 王伟，杨惠，王政逸，等.在水稻纹枯病菌菌核形成中 5 个基因的表达差异分析[J].浙江大学学报(农业与生命科学版)，2013，39(1)：18-25.

[4] 王玲，左示敏，张亚芳，等.中国南方八省(自治区)水稻纹枯病菌群体遗传结构的 SSR 分析[J].中国农业科学，2015，48(13)：2538-2548.

[5] 胡春锦，魏源文，黄思良，等.与广西水稻纹枯病相关菌系的鉴定和遗传特性研究(英文)[J].西北农业学报，2010，19(2)：45-51.

[6] 曹琦琦.立枯丝核菌不同融合群 G 蛋白 β 亚基基因克隆与功能分析[D].广州：华南农业大学，2012.

[7] FENG S，SHU C，WANG C，et al.Survival of *Rhizoctonia solani* AG-1 IA，the causal agent of rice sheath blight，under different environmental conditions[J].Journal of phytopathology，

2017,165:44-52.
[8] 陈科,程汉华,周荣家.自噬与泛素化蛋白降解途径的分子机制及其功能[J].遗传,2012,34(1):7-20.
[9] 李文,魏科,冯杜.自噬体膜的来源[J].中国生物化学与分子生物学报,2014,30(10):957-962.
[10] 闫思源,姜学军.细胞自噬及真菌中自噬研究概述[J].菌物学报,2015,34(5):871-879.
[11] 陈永.酿酒酵母中 Rab 蛋白 Vps21 及其上下游蛋白在细胞自噬中的功能研究[D].南京:南京农业大学,2014.
[12] 王凯,郑洋,邢雅玲,等.细胞自噬在病毒感染与免疫调节中的作用机制[J].中国生物化学与分子生物学报,2011,27(11):987-992.
[13] MATSUURA A,TSUKADA M,WADA Y,et al.Apg1p,a novel protein kinase required for the autophagic process in *Saccharomyces cerevisiae*[J].Gene,1997,192(2):245-250.
[14] 李超萍,林春花,翟李刚,等.橡胶树胶孢炭疽病菌致病相关基因 *CgATG8* 的功能分析[J].热带作物学报,2013,34(11):2172-2178.
[15] RICHIE D L,FULLER K K,FORTWENDEL J,et al.Unexpected link between metal ion deficiency and autophagy in *Aspergillus fumigatus*[J].Eukaryotic cell,2007,6(12):2437-2447.
[16] LIU T B,LIU X H,LU J P,et al.The cysteine protease MoAtg4 interacts with MoAtg8 and is required for differentiation and pathogenesis in *Magnaporthe oryzae*[J].Autophag,2010,6(1):74-85.
[17] 曾晓清.稻瘟病菌 SNF1 途径和细胞自噬蛋白 MoAtg14 的功能分析[D].杭州:浙江大学,2014.
[18] 舒灿伟,陈健仪,赵美,等.一种优化的适用于双向电泳的水稻纹枯病菌蛋白质提取方法[J].华中农业大学学报,2017,36(5):15-19.
[19] LIVAK K J,SCHMITTGEN T D.Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method[J].Methods,2001,25(4):402-408.
[20] 马亚男.*Rhizoctonia* spp.菌核分化不同阶段活性氧代谢及相关酶变化[D].泰安:山东农业大学,2011.
[21] GEORGIOU C D,PATSOUKIS N,PAPAPOSTOLOU I,et al.Sclerotial metamorphosis in filamentous fungi is induced by oxidative stress [J].Integrative & comparative biology,2006,46(6):691-712.
[22] 王玉林.禾谷镰刀菌丝/苏氨酸蛋白激酶 *SCH9* 基因的功能研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2011.
[23] 彭斌,王静,胡源,等.丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶与 DNA 损伤应答[J].生命科学,2014(11):1120-1135.
[24] 王林纤,戴勇,彭武建,等.丝氨酸-苏氨酸激酶受体相关蛋白在健康人和系统性红斑狼疮患者外周血单个核细胞中的差异表达[J].第三军医大学学报,2011,33(2):148-151.
[25] 刘蒙蒙,邢咏梅,郭顺星.猪苓菌核自噬相关基因 *ATG8* 的克隆及表达分析[J].中国医药生物技术,2016,11(5):415-419.
[26] 高惠敏.稻瘟病菌液泡运输途径相关基因 *MoYpt7* 和 *MoMon1* 的克隆和功能分析[D].杭州:浙江大学,2012.

Expression of autophagy related genes during sclerotial development of *Rhizoctonia solani* AG1-IA by qRT-PCR

SHU Canwei　WANG Chenjiaozi　JIANG Shaofeng　ZHANG Heng　ZHOU Erxun

College of Agriculture, South China Agricultural University/Guangdong Province Key Laboratory of Microbial Signals and Disease Control, Guangzhou 510642, *China*

Abstract　In a previous study, six autophagy-related genes were identified during sclerotial development of *Rhizoctonia solani* AG1-IA using RNA-seq technology. In order to reveal the expression patterns of these genes during sclerotial development of *R. solani* AG1-IA, quantitative real-time PCR (qRT-PCR) was performed. The results showed that expression of the serine/threonine kinase, *ssp1*, *ATG13* and *Vam6* genes was significantly up-regulated at the sclerotial initiation stage, but down-regulated at the sclerotial maturation stage. However, the serine/threonine-protein phosphatase gene and serine/threonine kinase receptor-related protein gene showed a significant decrease during sclerotial development of *R. solani* AGI-IA. The expression patterns of these genes obtained by qRT-PCR were in accordance with the results obtained by RNA-seq, which indicated that the results of RNA-seq were reliable. This study also showed that autophagy-related genes were highly regulated during sclerotial development, and may play an important role in sclerotial development.

Keywords　*Rhizoctonia solani*; autophagy-related gene; quantitative real-time PCR; differential gene expression

（责任编辑：边书京）