



# 铁皮石斛组培苗和栽培苗的 lncRNA 检测及其差异表达

钱央央, 黄路瑶, 范浩宇, 徐 涛

(浙江理工大学生命科学与医药学院, 杭州 310018)

**摘 要:** 为了研究铁皮石斛菌根共生系统的 Long noncoding RNA(lncRNA)调控机制,采用高通量测序方法对铁皮石斛栽培苗和组培苗 lncRNA 进行检测,并分析显著差异转录本。结果显示:2 组 4 个样品共测出 26543 个 lncRNA 转录本,在实验组中显著上调的有 186 组,显著下调的有 183 组。GO 富集分析共获得 1275 组数据,具有显著性差异的基因数最多的是细胞核;KEGG 富集分析共获得 20 条通路,其中富集程度最显著的是苯丙素生物合成途径。选取参考基因已知的转录本,得到 10 组显著上调的 lncRNA,10 组显著下调的 lncRNA,共涉及 5 条富集通路,分别在淀粉和蔗糖代谢途径和苯丙素生物合成途径中上调,在植物激素信号转导和内质网中的蛋白质加工途径中下调,剪接体途径中则同时存在表达上调和下调。以上结果可为进一步研究铁皮石斛菌根共生机制提供参考,对相关功能进行预测。

**关键词:** 铁皮石斛;菌根;高通量测序;lncRNA;差异性表达

**中图分类号:** Q94-3

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1673-3851 (2022) 07-0615-08

## Detection and differential expression of lncRNA in tissue cultured seedlings and cultivated seedlings of *Dendrobium officinale*

QIAN Yangyang, HUANG Luyao, FAN Haoyu, XU Tao

(College of Life Sciences and Medicine, Zhejiang Sci-Tec University, Hangzhou 310018, China)

**Abstract:** In order to investigate the regulatory mechanism of long noncoding RNA (lncRNA) in *Dendrobium officinale* mycorrhizal symbiotic system, high-throughput sequencing method was adopted to detect the lncRNA of *Dendrobium officinale* tissue cultured seedlings and cultivated seedlings, and the transcripts with significant differences were analyzed. The results showed that 26543 lncRNA transcripts were detected in 4 samples of two groups. In the experimental group, 186 were significantly up-regulated and 183 were significantly down-regulated. 1275 sets of data were obtained from GO enrichment analysis, of which the cell nucleus had the most genes with significant difference. 20 pathways were obtained from KEGG enrichment analysis, of which the phenylpropanoid biosynthesis pathway was the most significantly enriched. 10 sets of significantly up-regulated lncRNAs and 10 sets of significantly down-regulated lncRNAs were obtained from the transcripts with known reference genes, involving 5 enriched pathways, which were up-regulated in the starch and sucrose metabolic pathway and phenylpropanoid biosynthesis pathway, down-regulated in the plant hormone signal transduction pathway and protein processing pathway in endoplasmic reticulum. In the spliceosome pathway, there exist both up-regulated and down-

收稿日期:2021-10-20 网络出版日期:2022-01-05

基金项目:浙江省重点研发计划项目(2015C02030)

作者简介:钱央央(1995—),女,杭州人,硕士研究生,主要从事天然药用植物资源开发方面的研究。

通信作者:徐 涛,E-mail:xutao1998cn@163.com

regulated expression simultaneously. The above results can provide a reference for further study on the mycorrhizal symbiotic mechanism of *Dendrobium officinale* and be used to make predictions on the related functions.

**Key words:** *Dendrobium officinale*; mycorrhiza; high-throughput sequencing; lncRNA; differential expression

0 引言

长链非编码 RNA (Long noncoding RNA, lncRNA)是指包含 1 个少于 100 个氨基酸的开放阅读框(Open reading frame, ORF),且序列长度大于 200 个核苷酸的 RNA<sup>[1]</sup>。lncRNA 本身无蛋白编码功能,但其转录本具有调控 mRNA 表达的特定空间结构<sup>[2-3]</sup>,处于调控生命活动的核心地位<sup>[4]</sup>。前人经过大量研究和数据分析发现,在蛋白质分泌和细胞的基因调节过程中,从转录调控、剂量补偿、基因印迹到前体 mRNA 的剪接和翻译<sup>[5]</sup>,lncRNA 无一不发挥着重要的作用。lncRNA 与大分子互作,在转录、转录后和表观遗传等多个层面调节蛋白质修饰、染色质重塑、蛋白质功能活性和 RNA 代谢,现阶段具有突破性的研究主要集中在发育、胁迫和代谢等方面<sup>[6]</sup>。

Heo 等<sup>[5]</sup>对拟南芥开花阻抑蛋白 Flowering locus C (FLC) 进行研究,发现其表观遗传开关 Polycomb repressive complex 2 (PRC2) 受 Cold assisted intronic noncoding RNA(Coldair)调控,在春化作用中,Coldair 将 PRC2 招募到 FLC,从而使 FLC 呈低水平表达。Franco-Zorrilla 等<sup>[7]</sup>发现,植物通过 lncRNA-miRNA-mRNA 网络调控 Pi 吸收,lncRNA induced by phosphate starvation 1 (IPS1) 通过靶标模仿(Target mimicry)机制与 miR399 结合,从而阻断后者与 phosphate2 (PHO2)的结合。Qin 等<sup>[8]</sup>发现,在面对干旱和盐胁迫的拟南芥中,干旱诱导的 lncRNA (Drought induced lncRNA, DRIR)表达水平明显升高。

铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)是兰科石斛属下一个具有重要商业和药理价值的物种<sup>[9-10]</sup>。现代医学研究显示,铁皮石斛含有丰富的多糖及其他代谢物,包括黄酮、生物碱和联苯化合物等<sup>[11]</sup>,具有免疫调节的生物活性,具有护肝、护胃、护心、降血糖、抗衰老、抗肿瘤等药用价值<sup>[12-13]</sup>。铁皮石斛是典型的菌根共生植物,共生真菌寄生于其种子或根系上,在铁皮石斛的生长发育和代谢活动中发挥重要作用<sup>[14]</sup>。黄路瑶等<sup>[15]</sup>对铁

皮石斛栽培苗和组培苗的 circRNA 进行测序发现,与铁皮石斛 circRNA 的研究相比,植物 lncRNA 数据库尚不完善,部分基因缺乏注释和参考,后续的验证实验难度较大。目前植物 lncRNA 的研究还处于初级探索阶段,未见铁皮石斛 lncRNA 的研究报道,本文在铁皮石斛的人工繁育领域有一定的创新性和参考价值。本文通过高通量测序与生物信息学分析手段,对铁皮石斛栽培苗和组培苗的 lncRNA 进行检测,以期完善共生真菌影响铁皮石斛生长代谢过程的基因调控网络,从而推进对疾病和异常更早地防控。

1 实验部分

1.1 实验材料

将牧歌一号铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)苗在种植基地进行组织培养,同时将同期组培苗附生在树皮上进行炼苗栽培,后者形成菌根并可稳定存活后;取组培苗和栽培苗茎部,在杭州联川生物科技股份有限公司对转录组进行高通量测序,其中栽培苗(有菌苗)为实验组,组培苗(无菌苗)为对照组。

1.2 实验方法

1.2.1 铁皮石斛组织培养

在德清牧歌生态农业有限公司种植基地,将长势良好、大小相同的牧歌一号铁皮石斛苗栽至 MS +0.2 mg/L NAA 的培养基中,置于培养架上培养(光照强度为 4000 lx,光照时间 12 h/d,温度为 27 ℃)。

1.2.2 组培苗移栽

将同批种子培养得到的部分组培苗迁移至炼苗室,待其叶色浓绿,将其从瓶中取出,用清水冲洗根部,在 1000 倍高锰酸钾溶液中浸泡 5 min,取出后晾干,置于基地温室内树干上进行培养,环境温度控制在 27 ℃,湿度 70%。

1.2.3 样本选取

培养 3 个月,待栽培苗形成菌根并稳定存活后,取出培养瓶中组培苗和附树栽培的栽培苗,剪取茎部,用液氮处理后,-80 ℃保存。

1.2.4 去 rRNA 建库法

使用 Trizol 试剂(Invitrogen,CA,美国)提取铁皮石斛有菌苗及无菌苗的总 RNA。由 RIN >7.0 的 Bioanalyzer 2100 和 RNA 6000 Nano LabChip 试剂盒(安捷伦,CA,美国)完成总 RNA 的数量和纯度分析。用约 10 μg 代表特定脂肪类型的总 RNA 消耗 rRNA,纯化后,用 RNA 酶进行 1 h 消化,然后在 95 ℃下用二价阳离子将 lncRNA 切割为小片段,最后,将裂解的 RNA 片段进行反转录,以创建最终的 cRNA 文库。cDNA 文库的创建按照 mRNA-Seq 样品制备试剂盒(Illumina, San Diego, 美国)上的操作步骤,插入平均长度为 300 bp (±50 bp) 的片段以配对末端文库,在 Illumina Hiseq 4000 上进行配对端测序。

1.2.5 生物信息学分析

用 Cutadapt 去除含有污染、低质量碱基和未确定碱基的读数,通过 FastQC 对序列质量进行验证。用 Bowtie2 和 Tophat2 将读数匹配到铁皮石斛的基

因组上并用 StringTie 对其进行组装。用 perl 脚本重建一个综合转录组,筛选并除去与已知 mRNA 重叠的转录本和短于 200 bp 的转录本,利用 CPC、CNCI 和 Pfam 来预测具有编码潜力的转录本。通过 StringTie 计算 FPKM 值对 mRNA 和 lncRNA 进行表达水平分析,用 R package Ballgown 选取 log2(倍数变化)>1 或 log2(倍数变化)<-1 且具有统计学意义( $p<0.05$ )的差异表达的 lncRNA,通过 perl 脚本预测上下游的顺式靶基因,并进行功能分析。

2 结果与讨论

2.1 FastQC 质量检测

将测序的原始数据使用 Cutadapt 去除含有污染、低质量碱基和未确定碱基的读数,然后用 FastQC 质检,结果见表 1。结果表明:在本次测序中,样品有效读数率均在 98.00%以上;样品的 GC 含量正常,在 41.0%~42.0%,测序结果质量良好,可用于后续分析。

表 1 FastQC 质量检测结果

样品	总读数/万	有效读数/万	有效读数率/%	Q20/%	Q30/%	GC 含量/%
对照组 1	9981	9824	98.43	99.84	96.92	41.0
对照组 2	9753	9558	98.01	99.85	97.22	41.5
实验组 1	9941	9773	98.31	99.85	96.84	42.0
实验组 2	9447	9281	98.25	99.88	96.83	42.0

2.2 基因组比对区域

表 2 为铁皮石斛组培苗和栽培苗基因组来源区域比率表。由表 2 可知:匹配到铁皮石斛基因组的读数中,对照组基因约 63%来源于外显子,27%来源于内含子,9%来源于基因间区;实验组约 58%来源于外显子,30%来源于内含子,11%来源于基因间区。这表明有菌苗的基因组来源减少了在外显子中的分布,增加了在内含子和基因间区的分布比例。

表 2 基因组来源区域比率

读数来源	样品			
比率	对照组 1	对照组 2	实验组 1	实验组 2
外显子/%	63.68	63.31	58.35	58.08
内含子/%	27.93	27.21	31.20	29.00
基因间区/%	8.40	9.48	10.45	12.91

2.3 lncRNA 总表达水平分析

筛选并排除与已知 mRNA 重复的和短于 200 bp 的转录本,剔除所有 CPC 评分<-1、CNCI 评分<0 的转录本,其余具有类编码(i、j、o、u、x)的转录本均被视为 lncRNA。共得到 26543 个转录本,总核苷酸数为 24101435,平均长度 908.01 bp,中位数长度 560 bp,最长 19650 bp,最短 203 bp,

N50 为 1333 bp。

2.4 差异 lncRNA 火山图

通过 StringTie 计算 FPKM 值对 mRNA 和 lncRNA 进行表达水平分析,以 $-\log_{10}(p \text{ 值})$ 为指标,绘制火山图。在实验组中, $\log_2(FC)>1$  部分代表上调, $\log_2(FC)<1$  代表下调, $-\log_{10}(p \text{ 值})>1.0$  可认为具有显著差异性。图 1 为铁皮石斛组培苗和栽培苗差异 lncRNA 火山图,如图所示,大部分变动的 lncRNA 都是不显著的,因此将在显著变动 lncRNA 中展开。

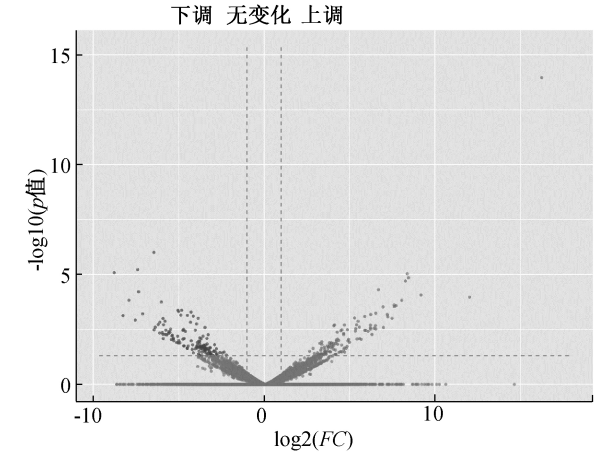


图 1 差异 lncRNA 火山图

2.5 显著性差异 lncRNA 统计和筛选

经过统计,获得的 26543 组 lncRNA 中,实验组与对照组相比上调的 lncRNA 有 13804 组,下调的 lncRNA 有 12739 组。用 R package ballgown 选取具有统计学意义( $p$  值 $<0.05$ )的显著差异表达的 lncRNA,选出显著上调的 lncRNA186 组,显著下调的 lncRNA183 组。选取参考基因已知的 lncRNA,列在显著变化 lncRNA 表达量统计表(见表 3)中。

表 3 显著变化 lncRNA 表达量统计表

t_name	FPKM				p 值
	实验组 1	实验组 2	对照组 1	对照组 2	
MSTRG.50406.2	0.76	1.40	0	0.03	0.00
MSTRG.27524.1	6.00	6.61	0.43	0.31	0.00
MSTRG.34836.2	11.23	3.68	0.20	0.44	0.00
MSTRG.54884.2	4.87	4.78	0.04	0.44	0.01
MSTRG.2394.1	2.02	1.96	0.10	0.11	0.01
MSTRG.26756.1	2.59	10.81	0.20	0.45	0.01
MSTRG.708.1	1.54	1.26	0.06	0.06	0.02
MSTRG.41901.1	2.32	4.28	0.14	0.32	0.02
MSTRG.34199.2	3.05	1.56	0.17	0.18	0.02
MSTRG.18958.1	1.39	1.00	0.07	0.09	0.02
MSTRG.4069.1	0	0.01	1.33	0.69	0.00
MSTRG.37674.1	0.79	0.85	6.56	17.25	0.00
MSTRG.44591.1	0.83	0.07	8.89	45.38	0.00
MSTRG.22097.2	0.05	0.14	1.75	1.00	0.01
MSTRG.57983.1	0.32	0.08	0.77	4.11	0.02
MSTRG.34364.7	0.42	0.30	4.49	1.98	0.02
MSTRG.26734.1	0.33	0.18	1.88	2.04	0.03
MSTRG.20545.1	0.09	0.13	0.63	1.63	0.04
MSTRG.44195.1	1.10	0.25	6.95	2.42	0.04
MSTRG.34835.2	14.36	6.18	20.31	74.57	0.05

其中 10 组 lncRNA 显著上调(见表 4),10 组 lncRNA 显著下调(见表 5)。从表 4 和表 5 可知:选取的 lncRNA 大多属于分类 i,即为完全落在参考内含子内的转录本,其中外显子个数最多的是 MSTRG.34199.2,有 5 个外显子;外显子个数最少的为 MSTRG.2394.1, MSTRG.41901.1, MSTRG.18958.1, MSTRG.37674.1,只有 1 个外显子。

2.6 lncRNA 靶向差异基因 GO 富集分析

本次测序共获得 1275 组数据,由于反式调控预测样本较大,后期验证较为困难,本文只对上下游 100 k 的 mRNA 和 lncRNA 进行顺式调控预测。靶向差异基因的 GO 富集如图 2 所示:其中生物过程 685 组,细胞组分 172 组,分子功能 418 组。具有显著性差异的基因数最多的是细胞核(Nucleus),属于细胞组分;生物过程中,具有显著性差异的基因数最多的是转录调控(Regulation of transcription);分子功能中,具有显著性差异的基因数最多的是蛋白质结合(Protein binding)(见图 2)。

2.7 lncRNA 靶向差异基因 KEGG 富集分析

用 Pathway 进一步分析铁皮石斛基因的生物学功能,以 KEGG Pathway 为单位,应用超几何检验,找出呈现显著性富集的 Pathway,其中  $p$  值越小,则富集程度越显著。通过图 3 的 KEGG 富集分析发现,所有 lncRNA 靶向差异基因共有 20 条富集的 KEGG 通路,其中富集程度最显著的是苯丙素生物合成途径(Phenylproanoid biosynthesis),其次是淀粉和蔗糖代谢途径(Starch and sucrose metabolism)及剪接体途径(Spliceosome)。

表 4 显著上调的 lncRNA

t_name	分类	染色体编号	起始位点	终止位点	DNA 链	外显子个数	基因名称	log2(FC)	上调/下调
MSTRG.50406.2	o	NW_018310695.1	317842	349355	—	2	LOC110113912	6.23	up
MSTRG.27524.1	x	NW_018285078.1	14081	16426	—	2	LOC110103702	4.09	up
MSTRG.34836.2	i	NW_018292839.1	683663	686309	+	2	LOC110107092	4.56	up
MSTRG.54884.2	i	NW_018314697.1	411035	412488	+	2	LOC110116045	4.31	up
MSTRG.2394.1	i	NW_018256719.1	1186107	1187351		1	LOC110101477	4.23	up
MSTRG.26756.1	j	NW_018283594.1	245372	256977	+	2	LOC110103389	4.37	up
MSTRG.708.1	i	NW_018254161.1	648327	662561	—	2	LOC110095219	4.54	up
MSTRG.41901.1	i	NW_018300813.1	223957	225011		1	LOC110110107	3.83	up
MSTRG.34199.2	j	NW_018292738.1	9245	32538	—	5	LOC110106731	3.70	up
MSTRG.18958.1	i	NW_018275057.1	530883	532383		1	LOC110100069	3.97	up

本文筛选的显著差异 lncRNA 顺式调控的 mRNA 中,共涉及 5 条 lncRNA 靶向差异基因 KEGG 通路(见表

6),分别在淀粉和蔗糖代谢途径和苯丙素生物合成途径(Phenylpropanoid biosynthesis)中上调,在植物激素信号

转导(Plant hormone signal transduction)和内质网中的蛋白质加工途径(Protein processing in endoplasmic reticulum)中下调,在剪接体途径(Spliceosome)中则同时存在表达上调和下调的靶向 mRNA。

表 5 显著下调的 lncRNA

t_name	分类	染色体编号	起始位点	终止位点	DNA 链	外显子个数	基因名称	log2 (FC)	上调/下调
MSTRG.4069.1	i	NW_018259390.1	39203	41429	+	2	LOC110107356	-8.25	down
MSTRG.37674.1	i	NW_018296293.1	51613	55128		1	LOC110108244	-3.86	down
MSTRG.44591.1	x	NW_018303494.1	12410	14255	+	2	LOC110111510	-5.91	down
MSTRG.22097.2	i	NW_018279500.1	218248	221411	-	2	LOC110101238	-3.90	down
MSTRG.57983.1	i	NW_018318906.1	564883	572551	-	2	LOC110092313	-3.59	down
MSTRG.34364.7	j	NW_018292762.1	94596	103606	+	2	LOC110106821	-3.16	down
MSTRG.26734.1	i	NW_018283594.1	27360	34041	-	2	LOC110103377	-2.94	down
MSTRG.20545.1	i	NW_018277226.1	801697	803580	-	2	LOC110100765	-3.39	down
MSTRG.44195.1	j	NW_018303454.1	148970	209867	+	4	LOC110111263	-2.79	down
MSTRG.34835.2	i	NW_018292839.1	683663	686319	-	2	LOC110107092	-2.21	down

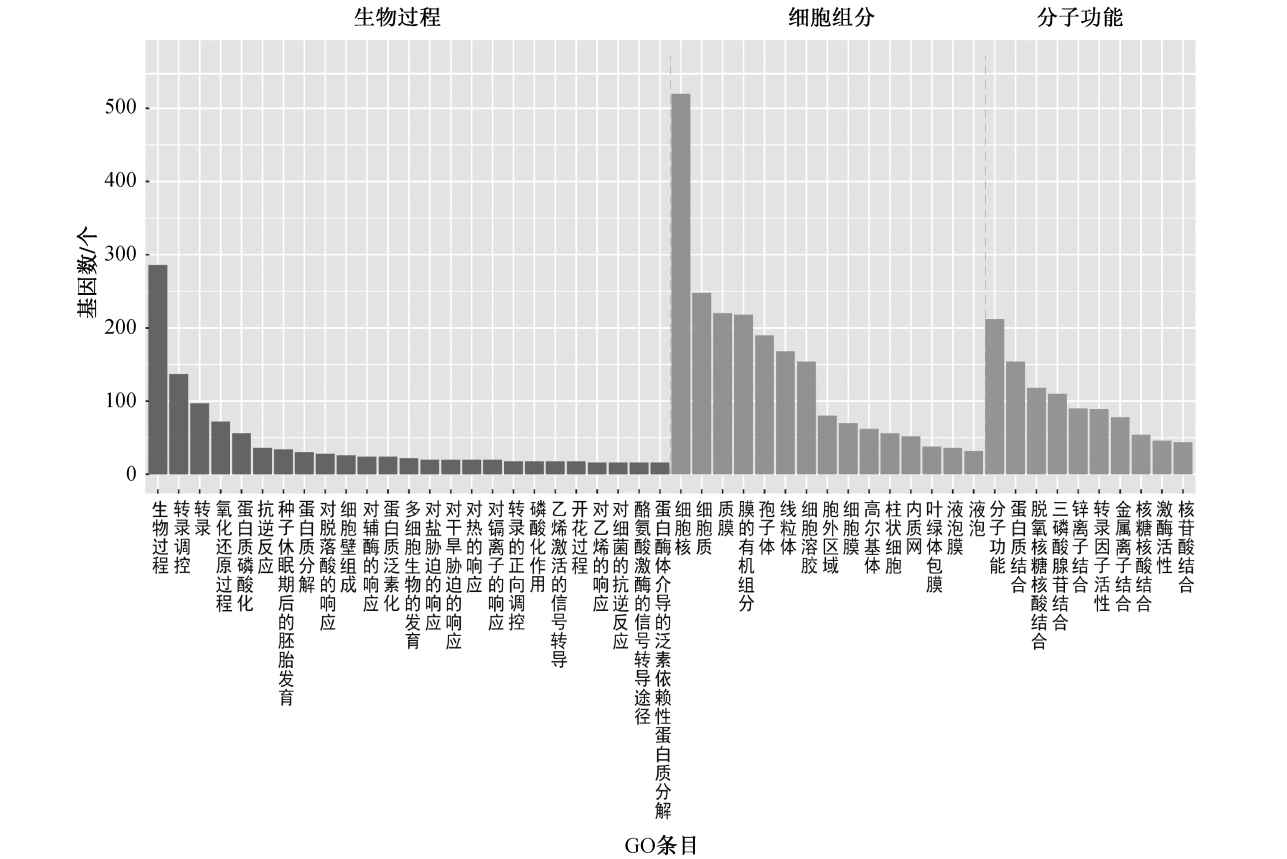


图 2 lncRNA 靶向差异基因的 GO 富集图

2.8 讨论

lncRNA 的测序结果和靶基因功能预测显示,内生菌从代谢产物、生长发育和抗逆性三个方面调控铁皮石斛的生命活动。

2.8.1 内生菌对铁皮石斛代谢水平的影响

多糖存在于铁皮石斛细胞壁中,是其主要活性物质,具有降血糖、抗氧化、免疫调节等功效,在干燥综合征、肝损伤、糖尿病性心脏病等疾病中发挥良好

的药理作用<sup>[16-18]</sup>。在有菌苗中,本文发现无论是上调还是下调的 lncRNA,均使淀粉和蔗糖代谢通路中蔗糖合成酶 2 相关基因表达水平提升,从两个方面说明内生菌从多个途径促进了铁皮石斛内蔗糖的合成。陈梓云<sup>[19]</sup>研究发现,随着培养基中蔗糖浓度的升高,铁皮石斛叶片与茎中的多糖含量及酸性转化酶(AI)活性逐渐升高。内生菌与铁皮石斛共生时,通过促进蔗糖代谢来促进铁皮石斛的多糖积累。

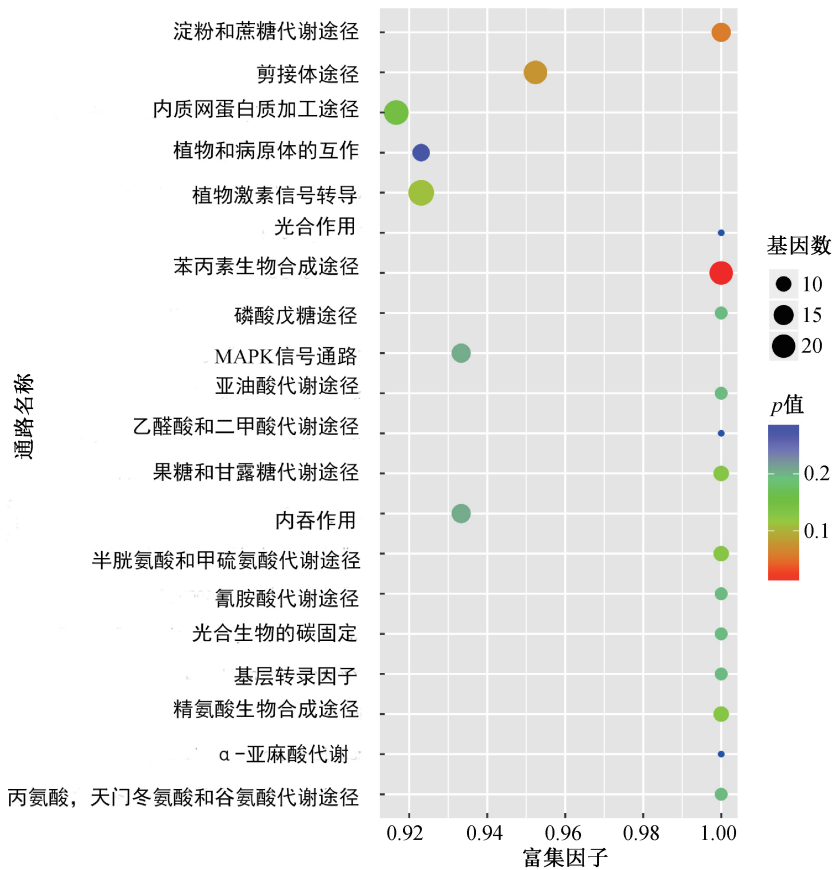


图 3 lncRNA 靶向差异基因 KEGG 富集图

表 6 lncRNA 靶向差异基因 KEGG 通路表

通路 ID	通路名称	功能注释	上调/下调	lncRNA	p 值
ko00500	淀粉和蔗糖代谢途径	蔗糖合成酶 2	上调	MSTRG.50406.2, MSTRG.27524.1, MSTRG.54884.2, MSTRG.26734.1	0.06
ko03040	剪接体途径	UBP1 相关蛋白 2B(like)	上调	MSTRG.2394.1	0.07
ko00940	苯丙素生物合成途径	苯丙烯醇脱氢酶 4(putative)	上调	MSTRG.26756.1	0.01
ko03040	剪接体途径	蛋白 RDM16	下调	MSTRG.708.1	0.07
ko04075	植物激素信号转导	F-box 蛋白 GID2	下调	MSTRG.22097.2, MSTRG.34364.7	0.11
ko04141	内质网中的蛋白质加工途径	16.9kDa 第一类热休克蛋白 1(like)	下调	MSTRG.57983.1, MSTRG.34835.2	0.15

2.8.2 内生菌对铁皮石斛生长发育的影响

在苯丙素生物合成通路中,苯丙烯醇脱氢酶 4 相关基因上调,卢雯瑩等<sup>[20]</sup>在对小麦的抗倒伏研究中发现,苯丙烯醇脱氢酶是木质素合成途径下游的一个关键酶。内生菌与铁皮石斛共生时,可能通过对苯丙烯醇脱氢酶 4 的上调来促进细胞壁的合成,对其植株的支撑和抗倒伏起到益生作用。剪接体通路中,有菌苗的 UB P1 相关蛋白基因显著上调,在前体 mRNA 的加工过程中,过量 UB P1 的表达会加强对内含子的剪切,并增强 mRNA 的稳态水平<sup>[21]</sup>,内

生菌加强了基因的转录过程,促进了蛋白质表达;与蛋白 RDM16 相关基因下调,Lv 等<sup>[22]</sup>发现,前体 mRNA 剪接因子 RDM16 对拟南芥根干细胞的维持有调节作用,且其介导表达的成分对细胞分裂素有替代作用,有助于根的生长。无菌苗中 RDM16 表达水平更高是可能是由于某种补偿作用,与内生菌共生的铁皮石斛细胞分裂素的表达水平更高,从而使 RDM16 相关基因下调,该发现为铁皮石斛菌根的形成和调控机制提供了一个新的分子层面的思路。

### 2.8.3 内生菌对铁皮石斛抗逆性的影响

在植物激素信号转导途径中,F-box 蛋白 GID2 和内质网中加工的热休克蛋白相关基因下调。F-box 蛋白通过参与植物激素的信号转导过程,调控相关转录因子的活性来改变下游基因的表达,在干旱、盐碱、低温和生物胁迫等抗逆反应中起到重要作用<sup>[23]</sup>。张云璇等<sup>[24]</sup>发现,部分 F-box 基因在衰老叶片中呈现高表达,在脱落酸处理、胁迫和种子吸胀过程中显著改变。当铁皮石斛失去与内生菌的共生作用后,可能陷入了某种胁迫,或是根因渗透压异常造成水分和营养物质吸收不足,同时植株体内产生脱落酸增多。由于原材料珍稀,本文样本较少,仅选取了具有统计学意义的结果,更多调控机制有待研究者们进一步探索。

## 3 结 论

本文通过高通量测序,对铁皮石斛有菌栽培苗和无菌组培苗的测序结果进行分析,主要得出以下结论:

a) 与无菌苗相比,有菌苗的基因组来源减少了在外显子中的分布,增加了在内含子和基因间区的分布。

b) 铁皮石斛有菌苗和无菌苗具有显著性差异 lncRNA 最多的是细胞核,其次是蛋白质结合和 DNA 转录;差异 lncRNA 富集程度最显著的通路是苯丙素生物合成途径,其次是淀粉和蔗糖代谢途径、剪接体途径。

c) 内生菌通过上调蔗糖合成酶相关基因的表达促进铁皮石斛多糖积累,通过上调苯丙烯醇脱氢酶 4 和 UBP1 相关基因的表达促进铁皮石斛生长发育。内生菌促进菌根的形成,下调了 RDM16 相关基因表达水平。内生菌增强了铁皮石斛的抗逆性,下调了 F-box 蛋白 GID2 和内质网中加工的热休克蛋白相关基因表达水平。

### 参考文献:

[1] Vickers K C, Roteta L A, Hucheson-Dilks H, et al. Mining diverse small RNA species in the deep transcriptome[J]. Trends in Biochemical Sciences, 2015, 40(1): 4-7.

[2] 谭玉荣,王丹,高璇,等. 植物长链非编码 RNA 研究进展[J]. 生物技术通报, 2018, 34(10): 1-10.

[3] Ugarkovic D. Long non-coding RNAs[M]. Berlin: Springer Verlag, 2011: 161-178.

[4] Chuck G, Candela H, Hake S. Big impacts by small

RNAs in plant development[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2009, 12(1): 81-86.

[5] Heo J B, Sung S. Vernalization-mediated epigenetic silencing by a long intronic noncoding RNA[J]. Science, 2011, 331(6013): 76-79.

[6] Jabnourne M, Secco D, Lecampion C, et al. A rice cis-natural antisense RNA acts as a translational enhancer for its cognate mRNA and contributes to phosphate homeostasis and plant fitness[J]. The Plant Cell, 2013, 25(10): 4166-4182.

[7] Franco-Zorrilla J M, Valli A, Todesco M, et al. Target mimicry provides a new mechanism for regulation of microRNA activity[J]. Nature Genetics, 2007, 39(8): 1033-1037.

[8] Qin T, Zhao H Y, Cui P, et al. A nucleus-localized long non-coding RNA enhances drought and salt stress tolerance[J]. Plant Physiology, 2017, 175(3): 1321-1336.

[9] 高正华,杨兵勋,陈立钻. 铁皮石斛的研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2008, 25(8): 692-695.

[10] Feng S G, He R F, Yang S, et al. Start codon targeted (SCoT) and target region amplification polymorphism (TRAP) for evaluating the genetic relationship of *Dendrobium* species[J]. Gene, 2015, 567(2): 182-188.

[11] Tang H X, Zhao T W, Sheng Y J, et al. *Dendrobium officinale* Kimura et Migo: A review on its ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacology, and industrialization[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2017, 74(3): 59-63.

[12] 吕圭源,颜美秋,陈素红. 铁皮石斛功效相关药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(4): 28-32.

[13] Luo Q L, Tang Z H, Zhang X F, et al. Chemical properties and antioxidant activity of a water-soluble polysaccharide from *Dendrobium officinale* [J]. International Journal Of Biological Macromolecules, 2016, 89(4): 219-227.

[14] 陈连庆,裴致达,韩宁林,等. 石斛菌根真菌液培生长特性的研究[J]. 林业科学研究, 2002, 15(2): 207-211.

[15] 黄路瑶,郁吉锋,钱央央,等. 铁皮石斛组培苗和栽培苗的 circRNA 检测及分析[J]. 浙江理工大学学报(自然科学版), 2020, 43(6): 840-845.

[16] Yu W X, Ren Z Y, Zhang X F, et al. Structural characterization of polysaccharides from *Dendrobium officinale* and their Effects on apoptosis of HeLa cell line[J]. Molecules, 2018, 23(10): 147-158.

[17] 姚尧,赵路,李军珂. 铁皮石斛水提取物对糖尿病小鼠肠道微生物及脂类代谢的影响[J]. 中医药信息, 2019,

36(2): 48-53.

[18] Wang K P, Wang H X, Liu Y G, et al. Dendrobium officinale polysaccharide attenuates type 2 diabetes mellitus via the regulation of PI3K/Akt-mediated glycogen synthesis and glucose metabolism[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 40(2): 261-271.

[19] 陈梓云. 铁皮石斛多糖积累与蔗糖代谢的相关性[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2015: 16-21.

[20] 卢雯莹, 崔贺云, 高杉, 等. 肉桂醇脱氢酶基因研究进展及其在小麦抗倒伏中的应用[J]. 天津农业科学, 2020, 26(10): 11-14.

[21] Lambermon M H L, Fu Y, Wiczorek Kirk D A, et al. UBA1 and UBA2, two proteins that interact with UBP1, a multifunctional effector of pre-mRNA maturation in plants[J]. Molecular & Cellular Biology, 2002, 22(12): 4346-4357.

[22] Lv B S, Hu K Q, Tian T, et al. The pre-mRNA splicing factor RDM16 regulates root stem cell maintenance in Arabidopsis[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2021, 63(4): 662-675.

[23] 贾琪, 孙松, 孙天昊, 等. F-box 蛋白家族在植物逆境响应中的作用机制[J]. 中国生态农业学报, 2018, 26(8): 1125-1136.

[24] 张云璇, 屈丽娜, 李新梅, 等. 受脱落酸调节的拟南芥 F-box 基因的差异表达分析[J]. 生物信息学, 2018, 16(4): 222-230.

(责任编辑:张会巍)