

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2026.55069

夜间复合体关键基因 *AhLUX1* 正向调控花生结瘤的功能研究

陆一楚** 李振影** 买春海 赵晓蕊 王利祥*

山西农业大学农学院 / 山西省后稷实验室, 山西太谷 030801

摘 要: 豆科植物结瘤固氮是一个高度耗能的生物学过程。对豆科植物而言, 光信号不仅调控光合作用、形态建成和生长发育等过程, 还对其与根瘤菌互作中的结瘤和固氮过程起关键调控作用。LUX 是夜间复合体的核心组分, 该蛋白能够在恒定光照和黑暗条件下保障多种信号的有序输出。与大豆等豆科植物不同, 花生主要通过裂缝入侵完成侵染, 关于 *AhLUX1* 在花生结瘤中的调控作用目前尚不清楚。本研究表明, *AhLUX1* 能显著响应根瘤菌的侵染, 并主要在根尖、侧根原基、发育中的根瘤和成熟根瘤中表达。亚细胞定位结果表明, *AhLUX1* 定位于细胞核中。功能研究表明, *AhLUX1* 过表达(OE-*AhLUX1*)显著增加根瘤数, 沉默(RNAi-*AhLUX1*)或敲除(CR-*AhLUX1*)则显著抑制花生的根瘤数, 证明该基因是花生结瘤的正调控因子。为了初步解析 *AhLUX1* 调控花生结瘤的机理, 本研究进一步对 *AhLUX1* 过表达和沉默株系根中的结瘤标记基因进行检测。结果表明, *AhLUX1* 可能通过调控结瘤关键基因的表达影响花生结瘤。本研究通过解析 *AhLUX1* 对花生结瘤的影响, 将光信号调控因子与地下结瘤固氮这 2 个生物学过程联系起来, 为通过调控光信号通路培育高效结瘤固氮的花生新品种提供了关键的基因资源。

关键词: 花生; *AhLUX1* 基因; 夜间复合体; 结瘤; 共生固氮

Positively regulating role of the key evening complex gene *AhLUX1* in peanut nodulation

Lu Yi-Chu**, Li Zhen-Ying**, Mai Chun-Hai, Zhao Xiao-Rui, and Wang Li-Xiang*

College of Agriculture, Shanxi Agricultural University / Shanxi Houji Laboratory, Taigu 030801, Shanxi, China

Abstract: Biological nitrogen fixation via nodulation in legumes is highly energy intensive. In legumes, light signals not only regulate photosynthesis, morphogenesis, and growth, but also play key roles in controlling nodulation and nitrogen fixation during interactions with rhizobia. LUX (lux arrhythmo) is a core component of the evening complex (EC), which ensures accurate temporal output of multiple signals under light-dark cycles. Unlike soybean and many other legumes, peanut primarily uses a crack-entry mode of rhizobial invasion, and the role of *AhLUX1* in peanut nodulation has remained unclear. Here, this study shows that *AhLUX1* is strongly induced by rhizobial infection and is predominantly expressed in root tips, lateral root primordia, developing nodules, and mature nodules. Subcellular localization analysis indicates that *AhLUX1* is localized in the nucleus. Functional analyses show that overexpression of *AhLUX1* (OE-*AhLUX1*) significantly increases nodule number, whereas silencing (RNAi-*AhLUX1*) or knockout (CR-*AhLUX1*) markedly reduces nodulation, demonstrating that *AhLUX1* is a positive regulator of nodulation in peanut. To clarify the underlying mechanism, the expression of nodulation marker genes in *AhLUX1*-overexpressing and *AhLUX1*-silenced roots. The results suggest that *AhLUX1* modulates peanut nodulation by regulating the expression of key nodulation genes. Together, these findings link a light-signaling component to belowground nodulation and nitrogen fixation and provide a genetic resource for breeding high-efficiency peanut varieties through manipulation of the light-signaling pathway.

Keywords: peanut; *AhLUX1*; evening complex; nodulation; symbiotic nitrogen fixation

本研究由山西省科技重大专项揭榜挂帅项目(202101140601027)和山西农业大学高层次人才启动经费(2021xG003, 2022xG0014)资助。This study was supported by the Major Special Science and Technology Projects in Shanxi Province (202101140601027) and the Startup Funds for High-Level Talents of Shanxi Agricultural University (2021xG003, 2022xG0014).

* 通信作者(Corresponding author): 王利祥, E-mail: lxwang@sxau.edu.cn

** 同等贡献(Contributed equally to this work)

第一作者联系方式: 陆一楚, E-mail: luyichu1@sxau.edu.cn; 李振影, E-mail: lizhenying@sxau.edu.cn

Received (收稿日期): 2025-11-18; Accepted (接受日期): 2026-03-16; Published online (网络出版日期): 2026-03-31.

URL: <https://link.cnki.net/urlid/11.1809.S.20260330.0957.003>

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

豆科植物与根瘤菌之间的共生固氮关系是地球生态系统最典型和高效的共生模式。在这种关系中,根瘤菌的侵染会刺激豆科植物根部生成根瘤,并通过固氮作用为宿主的生长和发育提供氮元素,同时结瘤和固氮过程也需要消耗豆科植物地上部光合作用的产物^[1-4]。根瘤菌通常通过裂缝侵染和根毛侵染线侵染 2 种不同的途径侵入植物细胞^[5-6]。大多数豆科植物所采用的侵染方式为根毛侵染线侵染^[7],而以花生(*Arachis hypogaea* L.)为代表的 Dalbergioids 亚组主要通过裂缝侵染,使根瘤菌通过侧根基部的细胞间隙进入植物根部。据报道,大约 25% 的豆科植物存在这种机制^[8]。

光既能通过影响光合作用为植物生长提供能量,又可以作为环境信号因子调控植物的生长和发育^[9-13]。LUX (lux arrhythm) 是植物夜间复合体(evening complex, EC)的核心组分,而 EC 在促进植物开花和光温适应等过程中发挥关键作用^[14-15]。LUX 还能作为环境感受器,将光信号整合到植物的生长发育过程中^[16],在恒定光照和黑暗环境下, *LUX* 基因能保障光温信号正常传导,其在调控植物开花方面的功能已经阐明^[17-19]。近年来,随着对其功能研究的逐渐深入,该基因通过整合多种环境信号与发育过程的核心调控枢纽作用已被报道。

先前研究表明,大豆(*Glycine max* (L.) Merr.) 结瘤依赖于光照,表明光信号是驱动共生固氮的关键因素^[20]。有研究发现,大豆中 *LUX1/LUX2* 能够与 *ELF3a* 互作形成蛋白复合物,特异性结合早期结瘤关键基因 *ENOD40* 的启动子并抑制其表达,进而负调控大豆结瘤^[21]。然而,与大豆采用根毛侵染线侵染不同,花生采用裂缝侵染机制。那么,在花生中 *LUX* 基因是否参与调控结瘤以及如何参与,其功能是否与大豆中的一致? 目前尚不明确。

本研究系统分析了 *AhLUX1* 的表达模式和亚细胞定位,通过过表达、沉默和基因编辑等手段分析 *AhLUX1* 在花生结瘤过程中的功能,并初步解析了 *AhLUX1* 对结瘤标记基因表达的影响。初步阐明 *AhLUX1* 调控花生结瘤的功能和机制,旨在将植物感知光信号与地下部微生物互作系统有机整合,为培育高效固氮的花生新品种提供宝贵的基因资源和理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要植物材料和生长条件

本研究选用的花生(*Arachis hypogaea* L.)品种为

四粒红,使用的根瘤菌为 CCBAU.051107 (GenBank: GCA_900116675.1),均由山西省后稷实验室提供。本研究所使用的烟草为野生型本氏烟草(*Nicotiana benthamiana* Domin),由本实验室自行留种繁殖。花生材料在人工气候室中用蛭石土培种植,待幼苗 2 片真叶展开后进行花生根瘤菌接种($OD_{600} = 0.08 \sim 0.10$),接种根瘤菌后交替施用低氮营养液和水^[22]。人工气候室环境设定条件为 14 h 光照/10 h 黑暗,温度为 25℃。

1.2 花生 *AhLUX1* 的鉴定及生物信息学分析

以大豆 *GmLUX1/GmLUX2* 蛋白序列为索引,利用 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 和 Phytozome (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>) 数据库,通过 BLASTP 同源比对获取花生及其他豆科作物 *LUX* 基因序列和蛋白序列,包括菜豆(*Phaseolus vulgaris* L.)、豇豆(*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)、豌豆(*Pisum sativum* L.)和蚕豆(*Vicia faba* L.)。借助 Interpro (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/>) 在线网站分析 *LUX* 蛋白的保守基序(motif),鉴定找到的 *LUX* 蛋白序列是否正确,确保无误后,使用 MEGA 软件构建系统发育树,并通过 ESPript 3.0 (<https://esprict.ibcp.fr/ESPrict/ESPrict/>) 网站对 *LUX* 蛋白进行多序列比对分析。

1.3 *AhLUX1* 表达模式分析

挑选籽粒饱满、大小一致、种皮完好且无病斑的花生种子于蛭石中萌发,待花生 2 片真叶完全展开时,接种花生根瘤菌。接种后分别以短时间点 0、1、3、6、12 和 24 h,长时间点 1、3、6、14 和 21 d 取根部组织,28 d 后取根、叶和根瘤组织。使用 Vazyme RNA 提取试剂盒提取样本总 RNA 后反转录 cDNA (TOLOBIO, ToloScript All-in-two RT Easy Mix for qPCR)。以 *AhELF* 为内参基因,对 *AhLUX1* 基因进行 RT-qPCR 检测,分析该基因在接菌后不同时期及不同组织中的表达水平。引物序列见附表 1。

1.4 *AhLUX1* 的 CDS 及启动子克隆和载体构建

基于 Phytozome 数据库获取 *AhLUX1* 基因信息,根据基因编码区序列及启动子区序列分别设计引物,使用高保真聚合酶 PCR 扩增获取目的片段。测序结果序列比对正确后,构建载体 pUBI-GFP-4×myc (OE-*AhLUX1*)、pK7WG2D (RNAi-*AhLUX1*) 和 pKSE401G (CR-*AhLUX1*) 并获得相应载体质粒,用于后续试验。

1.5 AhLUX1 亚细胞定位

将 *AhLUX1* 的 CDS 序列构入 35S:GFP 载体中, 构建 35S:AhLUX1-GFP 融合表达蛋白, 随后把重组载体质粒转入 GV3101 中。以 35S:GFP 作为空白对照, 与细胞核 Marker 表达载体 pHBT-mCherry-Nu 进行共转化, 开展共定位分析。将 35S:GFP 与 35S:AhLUX1-GFP 菌液分别与细胞核 Marker 菌液混合, 注射到烟草叶片中, 48 h 后用激光共聚焦显微镜观察结果^[23-24]。

1.6 AhLUX1 组织化学染色

将 *AhLUX1* 的启动子序列插入 pCAMBIA11391-GUS 载体中, 构建好的 *pAhLUX:GUS* 质粒通过电转 K599 进行转化, 并通过毛状根转化方法转入花生根系。在接种根瘤菌后 1、3、6、9、14 和 28 d 分别取根系样本浸入 GUS 染液 37℃ 过夜, 进行组织化学染色。随后浸入 75% 酒精, 放置在脱色摇床上进行脱色处理, 脱色液每天更换 1 次, 直至无明显浑浊后用光学显微镜进行观察拍照。

1.7 花生毛状根转化及结瘤试验

本研究采用发根农杆菌 K599 对花生进行毛状根侵染转化, 挑选粒大、饱满、种皮完好且无病斑的花生种子放入拌好的蛭石中萌发 2~3 d 后, 用解剖刀在距子叶下端 0.1~0.2 cm 处的下胚轴部位切开, 随后在下胚轴基部切下“十字形”伤口, 方便菌液侵染。将构建好的重组载体 OE-*AhLUX1*、RNAi-*AhLUX1* 和 CR-*AhLUX1* 通过侵染转入花生。将准备好的菌液离心收集, 用 CCM (以 1:1000 的比例加入 DTT 和 AS, 以 1:1500 的比例加入 L-cys) 重悬至 OD₆₀₀ = 0.08~0.10, 把切好的花生外植体放入侵染液中, 置于摇床中 150 r min⁻¹ 震荡培养 60 min。在 28℃ 培养箱中, 黑暗条件下培养 3~4 d 后移栽至蛭石中, 待花生幼苗 2 片真叶展开后, 接种 OD₆₀₀ = 0.08~0.10 的花生根瘤菌, 每株 30 mL。在接菌后的 21 d 取样拍照并统计根瘤的数量, 将有荧光信号的

毛状根鉴定为阳性根, 可用荧光蛋白激发光源 (LUYOR-3415RG fluorescent protein lamp) 检测。

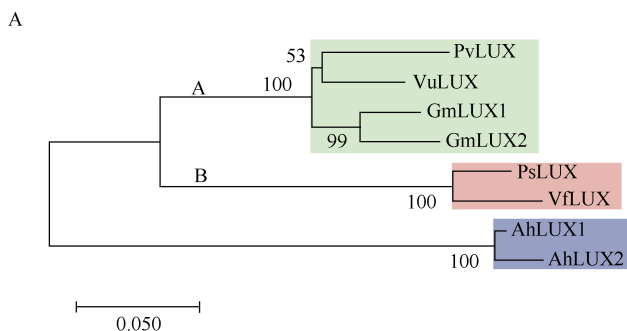
2 结果与分析

2.1 AhLUX1 基因鉴定及生物信息学分析

用大豆 GmLUX1/GmLUX2 蛋白序列在 NCBI 和 Phytozome 数据库对花生进行 BLASTP 分析, 共鉴定到 *AhLUX1* (PAC: 42614372) 和 *AhLUX2* (PAC: 42655180) 2 个同源基因。为了确定不同豆科作物间 LUX 的进化关系, 本研究使用大豆、花生、菜豆、豇豆、豌豆和蚕豆的 LUX 蛋白构建系统发育树。结果显示, 该进化树主要分为 2 支, 花生 LUX1/LUX2 形成独立的分支; 其他豆科作物的 LUX 聚为一支, 该分支又分为 A 和 B 2 个亚支, 亚支 A 包括大豆、菜豆和豇豆, 亚支 B 包括蚕豆和豌豆 (图 1-A)。本研究推测, 在不同豆科作物的遗传进化中, 花生 LUX 可能发生了独特的分化。为了进一步探究不同豆科作物 LUX 蛋白的结构特征和功能保守性, 对 LUX 蛋白进行多序列比对, 结果显示, MYB 结构域在物种间高度保守, 但在花生 LUX 蛋白的 N 端与 C 端存在显著的分化 (图 1-B)。

2.2 AhLUX1 基因的时空表达模式分析

RT-qPCR 检测发现, *AhLUX2* 在根瘤中的表达水平显著低于 *AhLUX1* (图 2-A), 因此, 推测 *AhLUX1* 更有可能参与调控花生的结瘤。为了检测 *AhLUX1* 基因是否响应根瘤菌的侵染, 使用 RT-qPCR 检测在不同时间点该基因的表达水平。在接菌后 24 h 以内, *AhLUX1* 的表达量在 1 h 达到最高, 随后逐渐下降 (图 2-B); 随着侵染时间的延长, *AhLUX1* 的表达量持续被诱导, 在 28 d 表达量最高 (图 2-C)。在接菌后 28 d 收集花生根、叶和根瘤组织, 使用 RT-qPCR 技术分析 *AhLUX1* 在不同组织中的相对表达水平。结果表明, *AhLUX1* 在根、叶和根瘤组织中均有表达, 在叶中的表达量最高, 在根瘤组织中次之, 均极显著高于根 (图 2-D)。



(图 1)

B

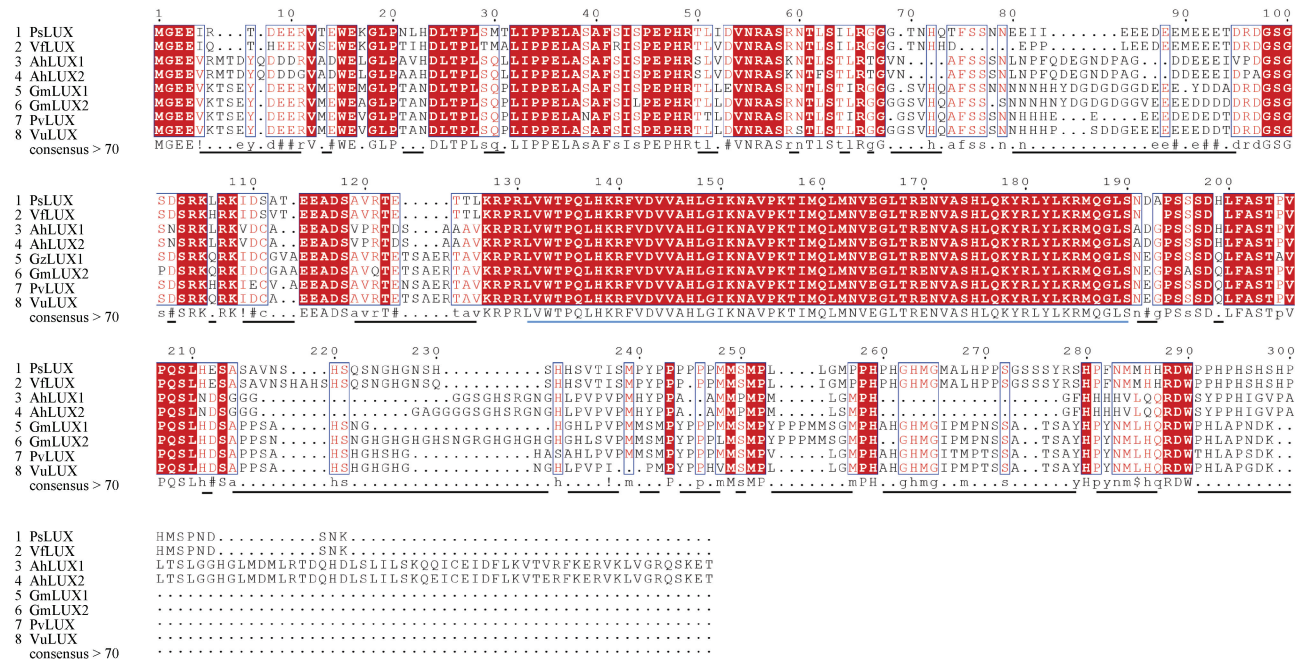


图 1 LUXs 系统发育树与序列比对

Fig. 1 Phylogenetic analysis and sequence alignment of LUXs

图 A 为 LUXs 系统发育树。各分支节点上的数字代表自展值。图 B 为不同物种 LUX 蛋白的序列比对。序列上方的数字表示氨基酸残基的位置。下方的黑色横线标记了花生与其他物种间存在差异的重要残基, 下方的蓝色横线标记了 LUXs 的 MYB 保守结构域。Ps: 豌豆; Vf: 蚕豆; Ah: 花生; Gm: 大豆; Pv: 菜豆; Vu: 豇豆。

A: phylogenetic tree of LUXs. Numbers at internal nodes indicate bootstrap support values. B: amino acid sequence alignment of LUXs from different species. Numbers above the sequences indicate amino acid positions. Black bars indicate key residues that differ between peanut and other species, and the blue bar indicates the conserved MYB domain of LUXs. Ps: *Pisum sativum*; Vf: *Vicia faba*; Ah: *Arachis hypogaea*; Gm: *Glycine max*; Pv: *Phaseolus vulgaris*; Vu: *Vigna unguiculata*.

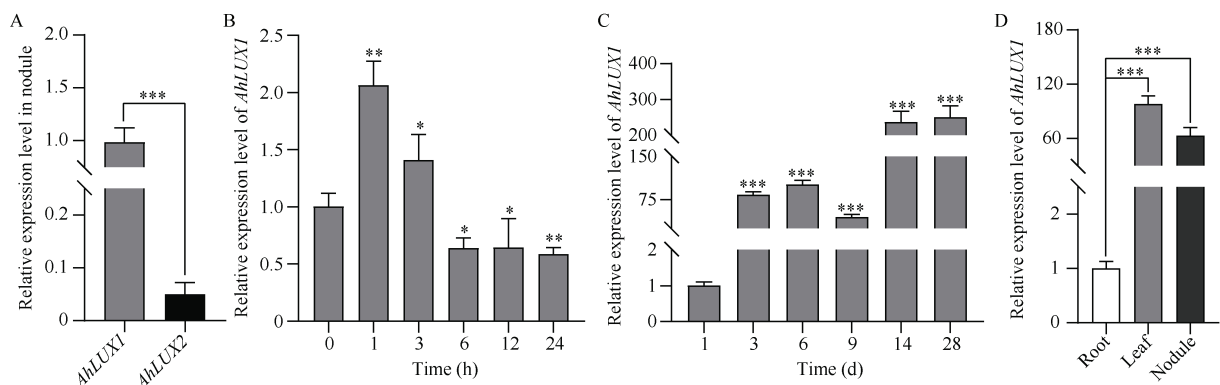
图 2 *AhLUX1* 基因的表达模式分析Fig. 2 Expression pattern analysis of *AhLUX1*

图 A 为 *AhLUX1* 在根瘤中的相对表达量。图 B 为接种后 0–24 h *AhLUX1* 的表达量(以接种后 0 h 的表达水平为对照)。图 C 为接种后 1–28 d *AhLUX1* 的表达量(以接种后 1 d 的表达水平为对照)。图 D 为 *AhLUX1* 在花生不同组织中的表达量。所示数据为平均值 $\pm$ 标准误。显著性使用 *t* 检验分析。***表示 $P < 0.001$; **表示 $P < 0.01$; *表示 $P < 0.05$ 。

A: relative expression level of *AhLUX1* in nodules. B: relative expression level of *AhLUX1* from 0 to 24 h after rhizobial inoculation (normalized to 0 h). C: relative expression level of *AhLUX1* from 1 to 28 d after rhizobial inoculation (normalized to 1 d). D: *AhLUX1* expression in different peanut tissues. Data are means $\pm$ SE. Significance is analyzed by *t*-tests. ***, $P < 0.001$; **, $P < 0.01$; *, $P < 0.05$.

2.3 组织化学染色分析表明 *AhLUX1* 主要在根瘤中表达

为进一步探究 *AhLUX1* 在花生结瘤过程中的作

用, 本研究将 *pAhLUX1::GUS* 转入发根农杆菌 K599, 并进行花生毛状根转化, 随后对转化根系进行组织化学染色。结果表明, 在接菌后 1 d 的根系中,

AhLUX1 主要在根系中柱鞘和根尖中特异性表达(图 3-A); 在接菌后 3、6 和 9 d 的根系中, *AhLUX1* 主要在根系中柱鞘、侧根原基、侧根和根瘤原基中特异性表达(图 3-B~D); 接菌 14 d 后, *AhLUX1* 主要在幼瘤中特异性表达(图 3-E); 接菌 28 d 后, *AhLUX1* 在根瘤中特异性表达(图 3-F)。上述结果表明, *AhLUX1* 可能参与花生根系的生长及根瘤的整个形成过程。

2.4 AhLUX1 定位于细胞核

为了确定 AhLUX1 在细胞内的具体位置, 使用 AhLUX1 蛋白序列在 Cell-PLoc (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Cell-PLoc-2/>)亚细胞定位预测网站上进行预测, 结果显示 AhLUX1 可能定位在细胞核中(附图 1)。分别将 35S:GFP 和 35S:AhLUX1-GFP

载体与细胞核 Marker (作为细胞核定位标记)以 1 : 1 比例混合瞬时转化烟草叶片表皮细胞中, 48 h 后使用激光共聚焦显微镜观察亚细胞定位情况。细胞核 Marker 只在细胞核中表达, 35S:GFP 定位在细胞核、细胞质和细胞膜中, 35S:AhLUX1-GFP 融合蛋白发光信号与细胞核 Marker 一致, 说明 AhLUX1 定位于细胞核中(图 4)。

2.5 结瘤表型分析表明 AhLUX1 正向调控花生结瘤

为了进一步验证 AhLUX1 调控花生结瘤的功能, 本研究构建了过表达载体、基因沉默载体和基因编辑载体, 并通过毛状根转化技术获取花生 *AhLUX1* 过表达株系(OE-*AhLUX1*)、沉默株系(RNAi-*AhLUX1*)

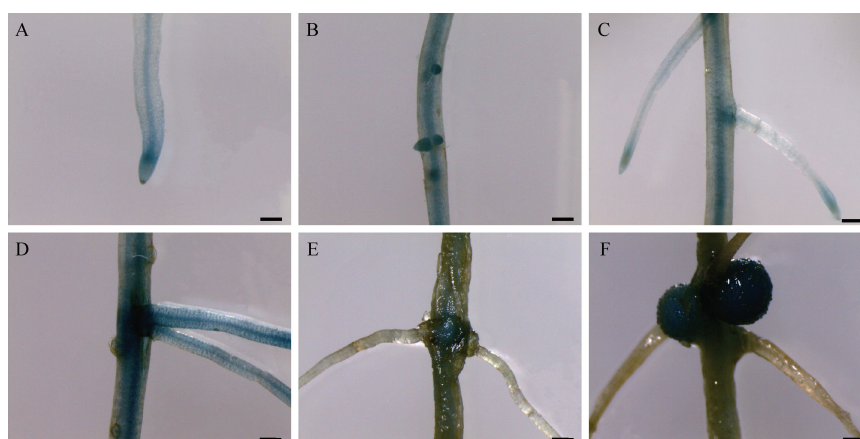


图 3 *pAhLUX1:GUS* 组织化学染色分析

Fig. 3 *pAhLUX1:GUS* histochemical staining analysis

图 A 为接种根瘤菌 1 d 后的根系。图 B~D 为接种根瘤菌 3、6 和 9 d 后的根系。图 E 为接种根瘤菌 14 d 后的根系。图 F 为接种根瘤菌 28 d 后的根系。比例尺=1 mm。

A: roots of 1 d after inoculation with rhizobacteria. B~D: roots of 3, 6, and 9 d after inoculation. E: roots of 14 d after inoculation. F: roots of 28 d after inoculation. Scale bars = 1 mm.

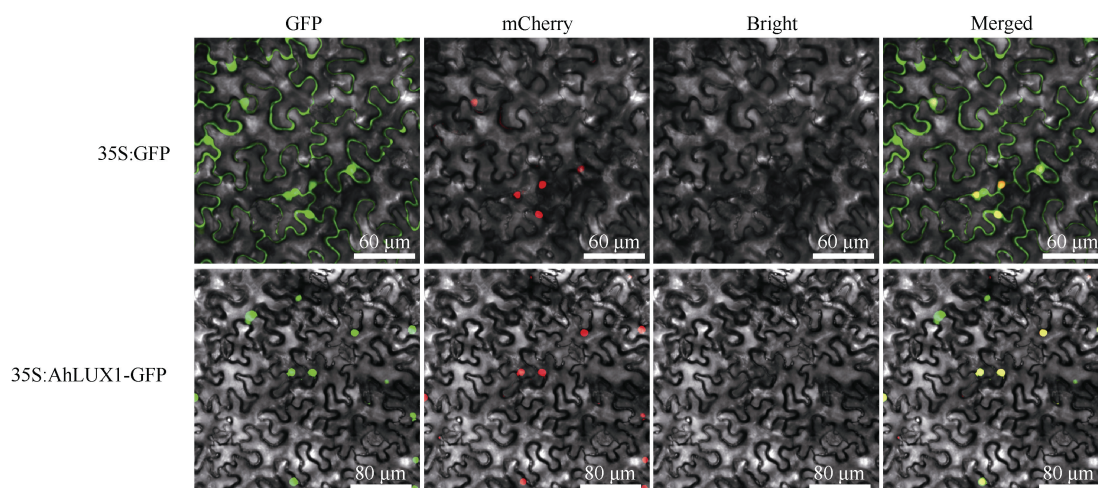


图 4 AhLUX1 的亚细胞定位

Fig. 4 Subcellular localization of AhLUX1

和敲除株系(CR-*AhLUX1*)的阳性根, 观察 *AhLUX1* 阳性根中 *OE-AhLUX1* 表达量显著提高对花生结瘤的影响。结果表明, 与对照相比, 在 (图 5-A), 在 RNAi-*AhLUX1* 阳性根中表达量显著下

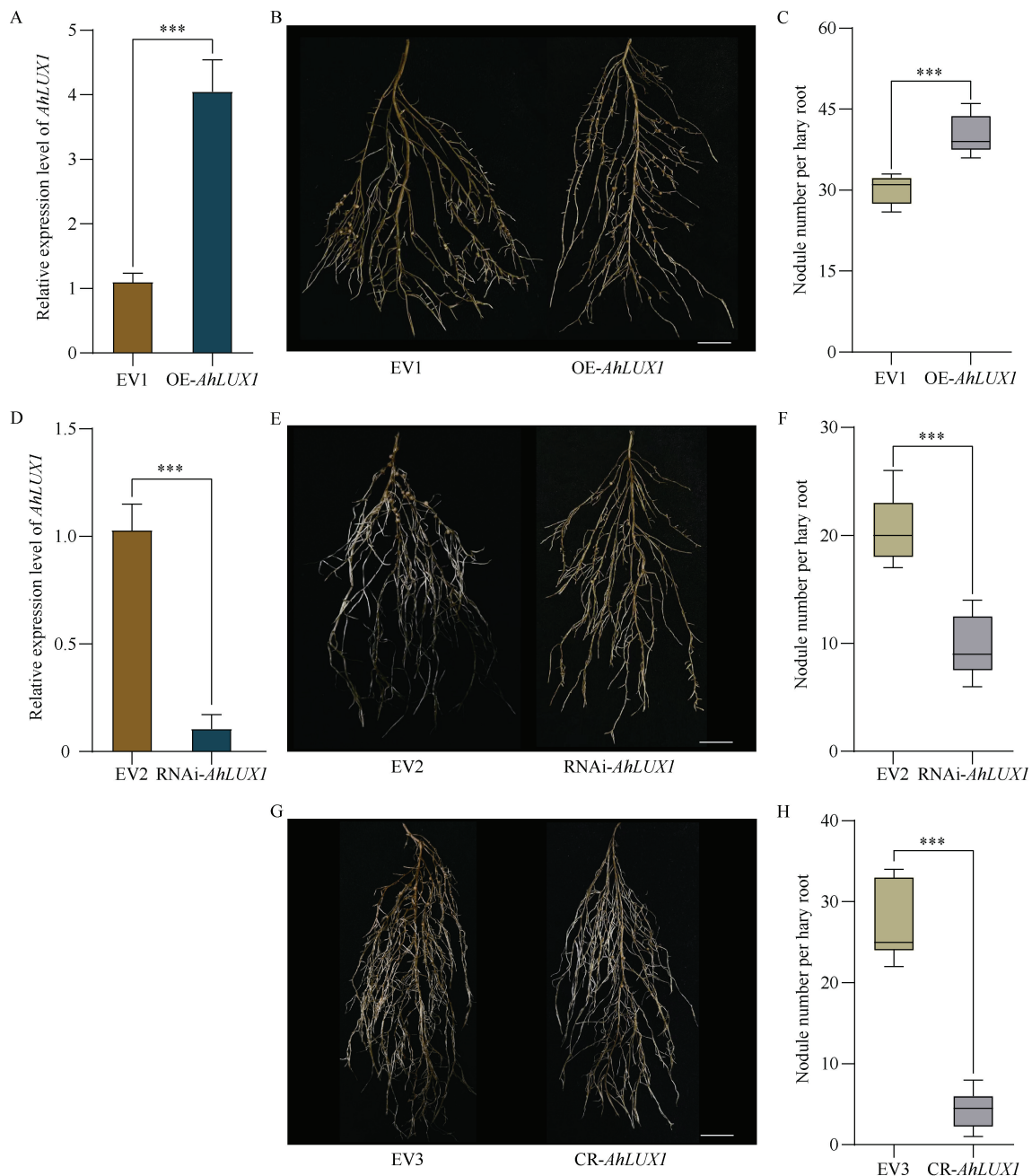


图 5 *AhLUX1* 调控花生结瘤表型分析

Fig. 5 Phenotypic analysis of *AhLUX1* function in peanut nodulation

图 A 为过表达空载体对照(EV1)和 OE-*AhLUX1* 的阳性根中 *AhLUX1* 的 RT-qPCR 分析。图 B 为 EV1 和 OE-*AhLUX1* 株系的毛状根对比图。图 C 为 EV1 和 OE-*AhLUX1* 株系的毛状根根瘤数目比较。图 D 为基因沉默空载体对照(EV2)和 RNAi-*AhLUX1* 的阳性根中 *AhLUX1* 的 RT-qPCR 分析。图 E 为 EV2 和 RNAi-*AhLUX1* 株系的毛状根对比图。图 F 为 EV2 和 RNAi-*AhLUX1* 株系的毛状根根瘤数目比较。图 G 为基因编辑空载体对照(EV3)和 CR-*AhLUX1* 株系的毛状根对比图。图 H 为 EV3 和 CR-*AhLUX1* 株系的毛状根根瘤数目比较。比例尺=5 mm。所示数据为平均值±标准误。显著性使用 *t* 检验分析。***表示 $P < 0.001$ 。

A: RT-qPCR analysis of *AhLUX1* expression in empty vector control for overexpression (EV1) and OE-*AhLUX1*. B: representative images of hairy roots from EV1 and OE-*AhLUX1*. C: nodule numbers in EV1 and OE-*AhLUX1* hairy roots. D: RT-qPCR analysis of *AhLUX1* expression in empty vector control for gene silencing (EV2) and RNAi-*AhLUX1*. E: representative images of hairy roots from EV2 and RNAi-*AhLUX1*. F: nodule numbers in EV2 and RNAi-*AhLUX1* hairy roots. G: representative images of hairy roots from empty vector control for gene editing (EV3) and CR-*AhLUX1*. H: nodule numbers in EV3 and CR-*AhLUX1* hairy roots. Scale bar = 5 mm. Data are means ± SE. Significance is analyzed by *t*-tests. ***, $P < 0.001$.

降(图 5-D)。此外, OE-*AhLUX1* 阳性根中花生结瘤数量增加(图 5-B, C), 在接种 21 d 后, OE-*AhLUX1* 根的平均结瘤数约为 40.16 个, 过表达空载体对照(EV1)的根中平均结瘤数约为 30.16 个, 与 EV1 相比 OE-*AhLUX1* 根瘤数增加了 33.15%。相反, RNAi-*AhLUX1* (图 5-E, F)和 CR-*AhLUX1* (图 5-G, H)则抑制花生根瘤的形成, RNAi-*AhLUX1* 阳性根中每条根的平均结瘤数约为 9.67 个, 基因沉默空载体对照(EV2)中每条根的平均结瘤数约为 20.71 个, 与 EV2 相比 RNAi-*AhLUX1* 阳性根中根瘤数减少了 53.30%; CR-*AhLUX1* 阳性根中每条根的平均结瘤数约为 4.37 个, 基因编辑空载体对照(EV3)中每条根的平均结瘤数约为 27.14 个, 与 EV3 相比 CR-*AhLUX1* 阳性根中根瘤数减少了 83.89%。对 CR-*AhLUX1* 阳性毛状根中 *AhLUX1* 进行测序, 测序结果如下(图 6), 其中 85%为碱基大片段缺失的突变, 15%为复杂突变。结果表明, *AhLUX1* 基因正向调控花生结瘤。

2.6 *AhLUX1* 基因影响花生结瘤共生信号

为了初步解析其调控花生结瘤的分子机理, 基于 *AhLUX1* 显著响应花生根瘤菌的侵染, 及其正调

控花生结瘤的表型, 本研究在 OE-*AhLUX1* 和 RNAi-*AhLUX1* 株系阳性根中检测了 *AhLUX1* 对花生结瘤标记基因 *AhEFD*、*AhCCAMK*、*AhNOD40*、*AhNIN*、*AhHK*、*AhREM* 和 *AhSYMRK* (结瘤标记基因登录号见附表 2)的影响^[25]。如图 7 所示, 与 EV1 相比, 在 OE-*AhLUX1* 阳性根中, *AhEFD*、*AhHK*、*AhSYMRK* 和 *AhREM* 的表达量显著增高, 而 *AhCCAMK*、*AhNOD40*、*AhNIN* 的表达量显著下降(图 7-A); 在 RNAi-*AhLUX1* 根中, 与 EV2 相比, *AhREM* 的表达量和过表达中的趋势一致, *AhSYMRK* 的表达量变化不显著, *AhEFD*、*AhCCAMK*、*AhNOD40*、*AhNIN* 和 *AhHK* 的表达量都表现为显著降低(图 7-B), 这表明 *AhLUX1* 还可能通过影响结瘤过程中标记基因的表达调控花生结瘤。

Base deletion (65-bp deletion)TCCGGCGGGATCGTT (deletion)
(2-bp del)G(63-bp del)CCGGCGGGATCGTT (deletion)
Base mutation CCCACGATCTCACCCCG-----GCGCCTCAAAGAACTT
CCCATGATCTCACCCCG-----GCGCCTCAAAGAACTT
WT TCGACCTTCCGGAGCTTCCTCGAATTGGAGC
CCGAACCGTCCGGAACGAT

图 6 *AhLUX1* 敲除类型分析

Fig. 6 Analysis of *AhLUX1* knockout types

红色字体: 突变碱基; 黑色虚线: 省略部分碱基。

Red font: mutated bases; black dashed lines: omitted bases.

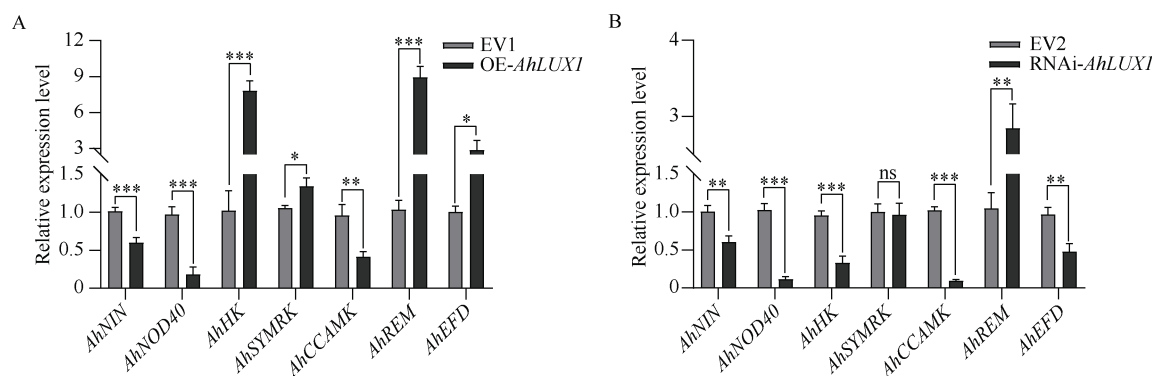


图 7 OE-*AhLUX1* 和 RNAi-*AhLUX1* 根系中结瘤标记基因相对表达量分析

Fig. 7 Expression analysis of nodulation marker genes in OE-*AhLUX1* and RNAi-*AhLUX1* roots

图 A 为 OE-*AhLUX1* 根系中结瘤标记基因的相对表达量。图 B 为 RNAi-*AhLUX1* 根系中结瘤标记基因的相对表达量。所示数据为平均值±标准误差。显著性使用 *t* 检验分析。***表示 $P < 0.001$; **表示 $P < 0.01$; *表示 $P < 0.05$; ns 表示差异不显著。缩写同图 5。

A: relative expression of nodulation marker genes in roots of OE-*AhLUX1*. B: relative expression of nodulation marker genes in roots of RNAi-*AhLUX1*. Data are means ± SE. Significance is analyzed by *t*-tests. ***, $P < 0.001$; **, $P < 0.01$; *, $P < 0.05$; ns, no significant difference. Abbreviations are the same as those given in Fig. 5.

3 讨论

豆科植物通过与根瘤菌互作结瘤将大气中的氮转化为氨, 是植物获得氮源的有效途径。共生结瘤固氮不仅可以为宿主植物提供充足的氮素营养, 还有助于品质改良。花生结瘤固氮尤为重要, 土壤中的花生根瘤菌可与花生建立特异的互作关系。由于

结瘤固氮主要消耗宿主的光合产物, 因此光合活性对花生结瘤同样具有重要的调节作用^[26-29]。通过提高花生的结瘤数量, 不仅有利于提高生物固氮效率和氮素利用率, 也对维持碳氮平衡尤为重要。光作为植物生长过程中最重要的环境信号之一, 它不仅是植物进行光合作用的关键参与者, 更在其调控植

物形态建成和适应性生长过程中担任核心角色^[30-31]。

本研究以夜间复合体中的关键基因 *AhLUX1* 为研究对象, 深入研究了其在花生共生固氮过程中的作用。结果表明, *AhLUX1* 是花生结瘤的一个正向调控因子, 而在前人研究结果中 *LUX1/LUX2* 负向调控大豆根瘤数量^[21], 因此本研究推测 *LUX* 基因在豆科植物结瘤中可能存在功能分化。系统发育树分析显示, 花生 *AhLUX1* 和 *AhLUX2* 形成了独立于大豆、菜豆和其他豆科作物的分支, 表明其在物种分化中积累了独特的遗传变异, 可能与不同豆科作物的共生策略适应性相关。蛋白序列比对发现, 花生中 *LUX* 序列的 N 端与 C 端存在明显的分化。这种独特的遗传变异可能是大豆和花生中 *LUX* 差异调控结瘤的主要原因。后续需要通过异源转化(比如将花生中的 *AhLUX1* 转入大豆)或者将大豆与花生的 *LUX* 蛋白变异区域进行调换, 观察突变体表型是否会随之改变, 明确末端变异的功能; 通过 EMSA、ChIP-seq 等验证 *AhLUX1* 的直接靶基因; 通过 LUC 双荧光素酶试验和启动子活性检测分析花生与大豆的 *LUX* 对下游靶基因的调控方式, 同时鉴定物种特异性互作蛋白, 进一步解析 *LUX* 功能分化的分子机制, 为优化豆科作物共生固氮效率提供理论支撑。

细胞分裂素在根瘤发育中至关重要, 组氨酸激酶(histidine kinases, HK)不仅是细胞分裂素的受体, 而且还影响侵染事件的数量和根瘤分化^[32-34]; 乙烯响应因子(ethylene response factor required for nodule differentiation, EFD)负责细胞分裂素信号的传导^[35]。本研究发现 OE-*AhLUX1* 阳性根中的根瘤数显著增加的同时, *HK* 和 *EFD* 的转录水平也显著升高; 在 RNAi-*AhLUX1* 阳性根中根瘤数显著减少的同时, *HK* 和 *EFD* 的转录水平也显著降低。本研究推测 *AhLUX1* 可能通过影响 *EFD* 和 *HK* 的表达, 介导细胞分裂素信号的感知或传递来调控根瘤的形成^[36]。共生型受体激酶(symbiosis receptor-like kinase, SYMRK)是位于细胞膜上的跨膜蛋白, 与 NFR1 和 NFR5 受体蛋白协同形成复合体, 用于识别根瘤菌信号^[37-41]。本研究发现, *AhLUX1* 过表达后, *SYMRK* 的表达水平也显著升高, 因此推测 *AhLUX1* 可能通过控制 *SYMRK* 基因的表达, 影响花生与根瘤菌信号分子的识别进而影响花生结瘤。Remorin 蛋白(remorin protein, REM)不仅参与根瘤菌侵染线的生长发育, 还能作为信号枢纽调控共生信号通路^[42-43]。本研究结果中, *REM* 的转录水平在 *AhLUX1* 过表达

和沉默后皆显著升高, 推测 *REM* 可能位于精细调控的反馈环路中心, 其功能正常行使高度依赖于剂量效应和上下游的基因网络, 这一特性很可能是 *AhLUX1* 的过表达和沉默都促进 *REM* 表达的原因。综上所述, 本研究初步解析了花生 *LUX1* 调控结瘤的功能, 进一步阐明其介导光温信号影响结瘤信号传导的分子机理, 为在复杂自然环境条件下实现高效固氮提供了关键的分子基础。

这些发现将进一步加深光信号通路的核心组件 *LUX* 和豆科作物共生固氮之间的联系, 与前人研究中“光照驱动共生固氮”的结论高度一致^[20], 深化对 *LUX* 基因功能的认知。*LUX* 基因既是调控植物开花时间的影响因子, 又是平衡植物能量分配及光照条件的关键节点, 也是决定是否启动结瘤固氮的主要开关。进一步解释 EC 核心组分中 *LUX* 调控豆科作物与根瘤菌共生系统的新机制, 是阐明光信号影响豆科作物与根瘤菌共生固氮领域的深化与拓展, 为更深入理解 *AhLUX1* 及其在根瘤形成过程中的作用奠定基础。在花生品质改良、新品种选育、种质新资源开创和农业生产发展中均具有十分重要的理论和实践意义, 对实现农业可持续发展, 保障国家粮油安全具有深远的战略意义。

4 结论

本研究通过鉴定 *AhLUX1* 的表达模式, 发现 *AhLUX1* 在接菌后短时间内表达量降低, 随着侵染时间的延长, *AhLUX1* 的表达量持续被诱导。*AhLUX1* 定位于细胞核中, 通过组织化学染色发现 *AhLUX1* 主要在花生根和根瘤中表达。同时, *AhLUX1* 在花生不同组织中均有表达, 并且在叶片和根瘤中高表达。在基因功能验证中, *AhLUX1* 过表达导致花生根瘤数量增加, 而沉默或敲除 *AhLUX1* 则抑制花生根瘤的形成。结瘤标记基因 *AhHK* 和 *AhEFD* 在 OE-*AhLUX1* 株系中表达量显著提高, 在 RNAi-*AhLUX1* 株系中表达量显著降低。此外, *AhLUX1* 过表达后, *AhSYMRK* 的表达水平也显著提高, 这表明 *AhLUX1* 可能通过介导 *AhHK*、*AhEFD* 和 *AhSYMRK* 的表达进而调控花生结瘤。

References

- [1] 孙棋棋, 郑永美, 于天一, 等. 施氮对不同结瘤特性花生土壤固氮菌多样性和群落组成的影响. 作物学报, 2022, 48: 2575-2587.
Sun Q Q, Zheng Y M, Yu T Y, et al. Responses of soil diazotro-

- phic diversity and community composition of nodulating and non-nodulating peanuts (*Arachis hypogaea* L.) to nitrogen fertilization. *Acta Agron Sin*, 2022, 48: 2575–2587 (in Chinese with English abstract).
- [2] Wang L L, Zhou Y, Li R H, et al. Single cell-type transcriptome profiling reveals genes that promote nitrogen fixation in the infected and uninfected cells of legume nodules. *Plant Biotechnol J*, 2022, 20: 616–618.
- [3] Ke X L, Xiao H, Peng Y Q, et al. Phosphoenolpyruvate reallocation links nitrogen fixation rates to root nodule energy state. *Science*, 2022, 378: 971–977.
- [4] Kouchi H, Imaizumi-Anraku H, Hayashi M, et al. How many peas in a pod? Legume genes responsible for mutualistic symbioses underground. *Plant Cell Physiol*, 2010, 51: 1381–1397.
- [5] Gage D J. Infection and invasion of roots by symbiotic, nitrogen-fixing rhizobia during nodulation of temperate legumes. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2004, 68: 280–300.
- [6] Fournier J, Timmers A C J, Sieberer B J, et al. Mechanism of infection thread elongation in root hairs of *Medicago truncatula* and dynamic interplay with associated rhizobial colonization. *Plant Physiol*, 2008, 148: 1985–1995.
- [7] Bal A K. Vacuolation and infection thread in root nodules of soybean. *Cytobios*, 1985, 42: 41–47.
- [8] Sharma V, Bhattacharyya S, Kumar R, et al. Molecular basis of root nodule symbiosis between *Bradyrhizobium* and ‘crack-entry’ legume groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Plants*, 2020, 9: 276.
- [9] 邢阿宝, 崔海峰, 俞晓平, 等. 光质及光周期对植物生长发育的影响. *北方园艺*, 2018(3): 163–172.
Xing A B, Cui H F, Yu X P, et al. Effects of different lights qualities and photoperiods on plant growth and development. *North Hortic*, 2018(3): 163–172 (in Chinese with English abstract).
- [10] Nozue K, Maloof J N. Diurnal regulation of plant growth. *Plant Cell Environ*, 2006, 29: 396–408.
- [11] Xu X D, Yuan L, Yang X, et al. Circadian clock in plants: linking timing to fitness. *J Integr Plant Biol*, 2022, 64: 792–811.
- [12] Wang P L, Ali Abid M, Qanmber G, et al. Photomorphogenesis in plants: the central role of phytochrome interacting factors (PIFs). *Environ Exp Bot*, 2022, 194: 104704.
- [13] 方宇辉, 齐学礼, 李艳, 等. 强光胁迫对转玉米 C₄ 型 *ZmPEPC+ZmPPDK* 基因小麦光合和生理特性的影响. *作物学报*, 2024, 50: 1647–1657.
Fang Y H, Qi X L, Li Y, et al. Effects of high light stress on photosynthesis and physiological characteristics of wheat with maize C₄-type *ZmPEPC+ZmPPDK* gene. *Acta Agron Sin*, 2024, 50: 1647–1657 (in Chinese with English abstract).
- [14] Silva C S, Nayak A, Lai X L, et al. Molecular mechanisms of evening complex activity in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117: 6901–6909.
- [15] Yang M K, Zhu X J, Chen C M, et al. The plant circadian clock regulates autophagy rhythm through transcription factor LUX ARRHYTHMO. *J Integr Plant Biol*, 2022, 64: 2135–2149.
- [16] Wang J H, Liu H, Li H, et al. The LUX-SWI3C module regulates photoperiod sensitivity in *Arabidopsis thaliana*. *J Integr Plant Biol*, 2025, 67: 1551–1567.
- [17] Song Y H, Kubota A, Kwon M S, et al. Molecular basis of flowering under natural long-day conditions in *Arabidopsis*. *Nat Plants*, 2018, 4: 824–835.
- [18] 孙梦真, 胡志航, 杨凯欣, 等. 茶树生物钟 *CsLUX* 基因的鉴定及其对光合特性的影响. *茶叶科学*, 2025, 45: 559–570.
Sun M Z, Hu Z H, Yang K X, et al. Identification of circadian clock *CsLUX* gene and its effects on photosynthetic characteristics in tea plants. *J Tea Sci*, 2025, 45: 559–570 (in Chinese with English abstract).
- [19] Andrés F, Coupland G. The genetic basis of flowering responses to seasonal cues. *Nat Rev Genet*, 2012, 13: 627–639.
- [20] Wang T, Guo J, Peng Y Q, et al. Light-induced mobile factors from shoots regulate *Rhizobium*-triggered soybean root nodulation. *Science*, 2021, 374: 65–71.
- [21] Su B H, Li H, Zhang K, et al. Evening complex component ELF3 interacts with LUX proteins to repress soybean root nodulation. *Plant Biotechnol J*, 2025, 23: 2194–2206.
- [22] 夏玄. 氮素营养对大豆结瘤固氮及相关调控物质影响的研究. 东北农业大学博士学位论文, 黑龙江哈尔滨, 2018.
Xia X. Study on the Effect of Nitrogen Nutrition on Soybean Nodulation and Nitrogen Fixation and Related Regulation Substances. PhD Dissertation of Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang, China, 2018 (in Chinese with English abstract).
- [23] 张悦婧, 李颖, 王娟娟, 等. 不同转化条件对 3 种农杆菌 *GFP* 基因在本氏烟草中瞬时表达的影响. *植物研究*, 2022, 42(1): 121–129.
Zhang Y J, Li Y, Wang J J, et al. Effects of three kinds of *Agrobacterium* and different transformation conditions on the transient expression of *GFP* in *Nicotiana benthamiana*. *Bull Bot Res*, 2022, 42(1): 121–129 (in Chinese with English abstract).
- [24] Voinnet O, Rivas S, Mestre P, et al. An enhanced transient expression system in plants based on suppression of gene silencing by the p19 protein of tomato bushy stunt virus. *Plant J*, 2003, 33: 949–956.
- [25] Das D R, Horváth B, Kundu A, et al. Functional conservation of CYCLOPS in crack entry legume *Arachis hypogaea*. *Plant Sci*, 2019, 281: 232–241.
- [26] 吴月, 隋新华, 戴良香, 等. 慢生根瘤菌及其与花生共生机制研究进展. *中国农业科学*, 2022, 55: 1518–1528.
Wu Y, Sui X H, Dai L X, et al. Research advances of bradyrhizobia and its symbiotic mechanisms with peanut. *Sci Agric Sin*, 2022, 55: 1518–1528 (in Chinese with English abstract).
- [27] Guha S, Molla F, Sarkar M, et al. Nod factor-independent ‘crack-entry’ symbiosis in dalbergoid legume *Arachis hypogaea*. *Environ Microbiol*, 2022, 24: 2732–2746.
- [28] Karmakar K, Kundu A, Rizvi A Z, et al. Transcriptomic analysis with the progress of symbiosis in ‘crack-entry’ legume *Arachis hypogaea* Highlights its contrast with ‘infection thread’ adapted legumes. *Mol Plant Microbe Interactions*, 2019, 32: 271–285.
- [29] Porter B W, Gallo M. Analysis of a non-nodulating *Arachis hypogaea* L. whole-root proteome identifies changes associated with host-rhizobia interaction. *Trop Plant Biol*, 2017, 10: 110–125.
- [30] 刘玉军, 李坤杰, 李裕华, 等. 光强和光周期对观光木种子萌发及幼苗生理特性的影响. *陕西林业科技*, 2025, 53(1): 37–41.
Liu Y J, Li K J, Li Y H, et al. Effect of light intensity and photoperiod on seed germination and seedling characteristics of *Michelia odora*. *Shaanxi Sci Technol*, 2025, 53(1): 37–41 (in Chinese

with English abstract).

[31] Li J L, Zhang Y Q, Cheng R F, et al. Light spectrum, intensity, and photoperiod are key for production as well as speed breeding of spring wheat in indoor farming. *Plant Environ Interact*, 2025, 6: e70085.

[32] Nongpiur R, Soni P, Karan R, et al. Histidine kinases in plants: cross talk between hormone and stress responses. *Plant Signal Behav*, 2012, 7: 1230–1237.

[33] Zhang Y E. Protein kinases in mediating phage-bacteria interactions. *Kinases Phosphatases*, 2025, 3: 14.

[34] Tezuka T, Sato R, Itoh J I, et al. Adaxial-abaxial bipolar leaf genes encode a putative cytokinin receptor and HD-Zip III, and control the formation of ectopic shoot meristems in rice. *Development*, 2024, 151: dev202607.

[35] Vernié T, Moreau S, de Billy F, et al. EFD is an ERF transcription factor involved in the control of nodule number and differentiation in *Medicago truncatula*. *Plant Cell*, 2008, 20: 2696–2713.

[36] Tirichine L, Sandal N, Madsen L H, et al. A gain-of-function mutation in a cytokinin receptor triggers spontaneous root nodule organogenesis. *Science*, 2007, 315: 104–107.

[37] Zhou J, Lin S, Luo X H, et al. *SYMRK* significantly affected AMF symbiosis and plant growth in maize. *Plant Sci*, 2025, 353: 112427.

[38] Choudhury S R, Pandey S. SymRK regulates G-protein signaling during nodulation in soybean (*Glycine max*) by modifying RGS phosphorylation and activity. *Mol Plant Microbe Interact*, 2024, 37: 765–775.

[39] Alhusayni S, Roswanjaya Y P, Rutten L, et al. A rare non-canonical splice site in *Trema orientalis SYMRK* does not affect its dual symbiotic functioning in endomycorrhiza and Rhizobium nodulation. *BMC Plant Biol*, 2023, 23: 587.

[40] Radutoiu S, Madsen L H, Madsen E B, et al. Plant recognition of symbiotic bacteria requires two LysM receptor-like kinases. *Nature*, 2003, 425: 585–592.

[41] Broghammer A, Krusell L, Blaise M, et al. Legume receptors perceive the rhizobial lipochitin oligosaccharide signal molecules by direct binding. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 13859–13864.

[42] Lefebvre B, Timmers T, Mbengue M, et al. A remorin protein interacts with symbiotic receptors and regulates bacterial infection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 2343–2348.

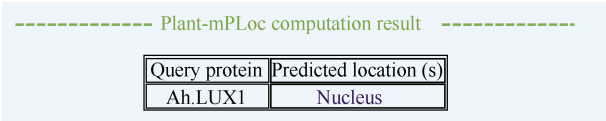
[43] Tóth K, Stratil T F, Madsen E B, et al. Functional domain analysis of the remorin protein LjSYMREM1 in *Lotus japonicus*. *PLoS One*, 2012, 7: e30817.

附表 1 本研究所用引物列表
Table S1 List of primers used in this study

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence (5'–3')
<i>AhLUX1</i> -F	ATGGGTGAGGAAGTTAGGATG
<i>AhLUX1</i> -R	AGTTTCCTTTGATTGTCTTCCAAC
OE- <i>AhLUX1</i> -F	ttgatgtgattacagtctagaATGGGTGAGGAAGTTAGGATGACC
OE- <i>AhLUX1</i> -R	gttaattaaccgctggtaccAGTTTCCTTTGATTGTCTTCCAACC
<i>AhLUX1</i> -207-F	GGGGACAAGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTTCATGGGTGAGGAAGTTAGGATG
<i>AhLUX1</i> -207-R	GGGGACCACTTTGTACAAAGAAAGCTGGGTCAGTTTCCTTTGATTGTCTTCCAAC
<i>AhLUX1</i> -1300-F	CCAAATCGACTCTAGAAAGCTTATGGGTGAGGAAGTTAGGATG
<i>AhLUX1</i> -1300-R	CCACTAGTATTTAAATGTCGACGAGTTTCCTTTGATTGTCTTCCAAC
<i>AhLUX1</i> -BSF0	ATATATGGTCTCGATTGGAGTCGCCGACTGGGAATTGTT
<i>AhLUX1</i> -F0	TGGAGTCGCCGACTGGGAATTGTTTTAGAGCTAGAAATAGC
<i>AhLUX1</i> -R0	AACCGTCTTGGAAGGGGTTGAGCAATCTCTTAGTCGACTCTAC
<i>AhLUX1</i> -BSR0	ATTATTGGTCTCGAAACCGTCTTGGAAGGGGTTGAGCAA
<i>AhLUX1</i> -Test-F	ATGGGTGAGGAAGTTAGGATGAC
<i>AhLUX1</i> -Test-R	AATCCGCTTCCTCCGCACAATC
<i>pAhLUX1</i> -F	GGCTCTACAGAGGTGCAAGG
<i>pAhLUX1</i> -R	CCGACTACCAAGACGACGAC
<i>pAhLUX1</i> -1391-F	TGGGCCCCGCGCGCCAAGCTTGGCTCTACAGAGGTGCAAGGAG
<i>pAhLUX1</i> -1391-R	TCTTAGAATTCCCGGGGATCCGTCGTCGTCTTGGTAGTCGGTC
<i>AhActin</i> -F	GAAGTTCTCTTCCAACCATCC
<i>AhActin</i> -R	TTTCCTTGCTCATTCTGTCCG
qRT- <i>AhLUX1</i> -F	CCACATATTGGTGTGCCTGC
qRT- <i>AhLUX1</i> -R	TCCAACCAACTTTACCCTTTCT
qRT- <i>AhLUX2</i> -F	CCACCACATATTGGAGTGCC
qRT- <i>AhLUX2</i> -R	CCAACCAACTTTACCCTTTCTTTGA

(续附表 1)

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence (5'-3')
qRT- <i>AhLUX1</i> -K7-F	TTGGTGGTCATGGACTCATGG
qRT- <i>AhLUX1</i> -K7-R	TGGCATTAGGTGCTCCTCTTT
qRT- <i>AhNIN</i> -F	GGTACCTATGAGGAGGAGATCAGCC
qRT- <i>AhNIN</i> -R	AGCATTAGAGAGATGATCAAGTTGTGG
qRT- <i>AhENOD40</i> -F	GGCAAAAATCCATCCATGGTTC
qRT- <i>AhENOD40</i> -R	GCCTTTTTGTGACTTGCCGG
qRT- <i>AhEFD</i> -F	CAATCCCAATTGGTGCTGGAACAATTGC
qRT- <i>AhEFD</i> -R	GACCCAATTGAGCAAAGTTCAATTGATCCAC
qRT- <i>AhCCamK</i> -F	GCCAAAGATGTTCAAATGGACCCT
qRT- <i>AhCCamK</i> -R	CCTGAGACTTTCAATTCCTCTTC
qRT- <i>AhHK</i> -F	GAGGTCTTAAAGCCATTGTGGTTGATGG
qRT- <i>AhHK</i> -R	CAACTGCTTGATAGAGATTCTCTTC
qRT- <i>AhSYMRK</i> -F	CAGATCAGCTTCTGCAAGTGAAGG
qRT- <i>AhSYMRK</i> -R	GAAATGTGCCCTTATCAGATACACTTTG
qRT- <i>AhREM</i> -F	GAATAAAATAGACAACAGGGC
qRT- <i>AhREM</i> -R	GCAGTAAAGCATGAAAGAATTTTC
qRT- <i>AhELF</i> -F	AAGCTTCCCTGGCAAAGCTCAA
qRT- <i>AhELF</i> -R	TTCTCTCAGCTGCCTTCTTATCC



附图 1 *AhLUX1* 的亚细胞定位预测
Fig. S1 Prediction of subcellular localization of *AhLUX1*

附表 2 结瘤标记基因登录号
Table S2 Accession numbers of nodulation marker genes

基因名称 Gene name	登录号 Accession number	参考来源 Reference source
<i>AhNIN</i>	KT820787	Das, et al. [25]
<i>AhENOD40</i>	KY401676	
<i>AhSYMREM</i>	KT988038	
<i>AhEFD</i>	KT962993	
<i>AhCCamK</i>	EU395429	
<i>AhHK</i>	KT153625	
<i>AhSYMRK</i>	FJ969396.2	