

# 植物 microRNA 调控及其应用研究进展

赵利旦, 董园园, 李海燕

(吉林农业大学 生物反应器与药物开发教育部工程中心, 吉林 长春 130118)

**摘要:**作为非编码小 RNA, microRNA 主要在转录后水平调控基因表达和蛋白翻译。在植物中 microRNAs 广泛参与植物生长各个过程。该研究综述了 microRNA 在植物中的合成过程及靶基因鉴定, 对 microRNA 的组织发育及逆境调控方面的最新研究进展也作了较为详细的阐述。

**关键词:** microRNA; 靶基因鉴定; 转录后调控; 非生物胁迫

**中图分类号:** Q 945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2015)06-0173-06

microRNA 是一类在生物体内普遍存在的长度约 16~29 nt 的非编码小分子 RNA, 在转录后水平介导靶 mRNA 降解或抑制蛋白翻译, 是真核细胞基因转录的重要调控因子。1993 年, 随着首个 microRNA(lin-4)在秀丽隐杆线虫中被发现<sup>[1]</sup>, 植物 microRNA 的研究也陆续展开, 大量的 microRNA 在真核生物中被陆续鉴定。目前已经通过基因克隆方法在拟南芥中发现超过 100 个 microRNA, 随后在水稻、玉米、烟草中陆续鉴定到同源 microRNA, 并且确定了植物 microRNA 同样具有高度保守性。截至目前, 已鉴定到双子叶植物纲、单子叶植物纲等 43 个植物物种中 3 000 多个 microRNA 基因。作为内源的非编码调控基因, 植物 microRNA 通过维管运输系统在体内移动并发挥调控功能, microRNA 可影响植物生长发育、维持自身营养平衡、响应环境中的非生物及生物胁迫等。microRNA 依据基因功能的多样性, 开辟了基因表达调控领域的新研究方向, 并揭示了真核基因表达调控的复杂性。

## 1 植物 microRNA 的生物合成过程

植物 microRNA 基因的转录过程与动物 microRNA 主要区别在于: 植物 microRNA 基因通常位于编码基因之间, 且多表现为独立的转录单元。植物 microRNA 基因在合成过程中, 由 II 型 RNA 聚合酶转录成具有 5'帽子和 3'-polyA 尾的初级转录 microRNA(pri-microRNA), pri-microRNA 最重要的特性之一是能够形成发夹形状的茎环结构。通常一个 microRNA 可以来自多个

pri-microRNA, 某些情况下, 一个 pri-microRNA 分子可能存在 2 个或多个茎环结构, 可产生多个成熟 microRNA。pri-microRNA 被转录出来后, 被剪切成包含茎环结构的前体 microRNA(pre-microRNA), 有些 pre-microRNA 内部还存在内含子结构。pre-microRNA 再被进一步加工为成熟的 microRNA 双链聚合体(microRNA: microRNA\*)。microRNA: microRNA\* 双链聚合体经 HEN1 甲基化后, 释放出成熟 microRNA 基因, 经体内 Exportin-5 的同源蛋白(HASTY, HST)运输到细胞质后, 最终进入 RISC 沉默复合体中发挥功能。需要提到的是, Argonaute (AGO)蛋白是 RISC 复合体中最重要的结构蛋白, 具有结合 RNA 的 PAZ 和具有 RNaseH 活性的 PIWI 两个结构域。拟南芥中已经发现 10 个不同类别 AGO 蛋白, 多数包含催化反应残基, 其中 AGO1 蛋白主要参与基因沉默途径; AGO4 和 AGO6 主要参与重复序列产生的小 RNA 沉默(repeat-associated siRNA, ra-siRNA)途径; AGO7 在沉默复合体中参与反式作用干扰小 RNA(ta-siRNA)的形成。

## 2 植物 microRNA 及靶基因的鉴定

### 2.1 植物 microRNA 的鉴定

动物中使用传统的直接克隆技术鉴定了大量 microRNA 基因, 最初在植物中的 microRNA 鉴定也延用了该方法, 并陆续获得了大量 microRNA 的保守序列及二级结构信息, 很多研究指出植物 microRNA 的保守性广泛存在, 包括苔藓、裸子植物、单子叶植物、双子叶植物等高等陆地植物。Wall 等<sup>[2]</sup>通过 microRNA 鉴定及序列分析发现 miR535 不仅存在于苔藓类植物中, 还在花菱草中发现。随着对 microRNA 序列特点的逐渐掌握, 扩展了对植物 microRNA 的信息积累及 microRNA 结构规律的认识, 开发了基于序列同源分析及结构预测的生物信息学方法用于鉴定新物种 microRNA。新计算方法的使用提高了 microRNA 的基因鉴定效率, 拓宽了已知 microRNA 的基因种类信息。尤其是深度测序技

**第一作者简介:**赵利旦(1988-), 女, 硕士研究生, 研究方向为植物分子生物学。E-mail: 47487625@qq.com.

**基金项目:**国家“863”高技术研究发展计划资助项目(2011AA100606); 国家自然科学基金资助项目(31101172, 31101091, 31201237); 吉林省科技厅中青年科技领军人才及优秀创新团体资助项目(20111815); 教育部博士点基金资助项目(20122223120002)。

**收稿日期:**2014-11-19

术的出现,使植物大量 microRNA 的平行鉴定成为可能,由于深度测序技术具有成本低廉、耗时少、高效的特点,越来越多的研究提到使用深度测序技术取代传统基因克隆方法,可同时鉴定新物种中的上百个 microRNA。Galli 等<sup>[3]</sup>使用深度测序技术结合计算学方法首次鉴定了麻风树属的 180 个保守 microRNA 及 40 个 microRNA 基因前体。Lakhotia 等<sup>[4]</sup>同时鉴定了来自土豆根、茎、叶、块茎组织中不同发育时期的 89 个保守的 microRNA 及 147 个特异表达的 microRNA。Wang 等在梅树开花过程中鉴定到 47 个保守的 microRNA 并发现了 33 个新 microRNA。除此之外,还有小麦<sup>[5]</sup>、棉花<sup>[6]</sup>、水稻<sup>[7]</sup>、拟南芥<sup>[8]</sup>等物种中的 microRNA 被陆续鉴定。

## 2.2 植物 microRNA 靶基因的鉴定

microRNA 物体内的调控作用通过靶基因发挥,植物 microRNA 通过对靶基因的转录后沉默行使基因功能,具体调控方式包括裂解靶基因和抑制靶基因的翻译。研究发现 microRNA 与靶基因转录本结合的位置、程度、作用方式存在差别。植物 microRNA 与靶标 mRNA 互补程度很高,匹配位点通常在开放阅读框中,

而非 3'端非编码区。在作用方式上同 siRNA 更为相近,造成 mRNA 与 microRNA 的匹配区中间位置裂解。在 microRNA 切割过程中,microRNA 的 5'端 2~8 位基是与靶基因转录本互补的核心元件,切割位点通常位于与 microRNA 的 5'端 10~11 位核苷酸配对的靶基因区域内。因此,为研究 microRNA 的功能,仅鉴定和研究植物 microRNA 是不够的,与 microRNA 作用的靶基因是研究植物 microRNA 作用的一个重要方面。

由于 microRNA 的基因保守性,其调控的靶基因也存在同源性。拟南芥中鉴定到的 miR160 在多个物种中保守存在,miR160 的靶基因在拟南芥中是植物生长素响应因子 ARF,且在多个物种中 miR160 靶基因均具有高度同源特征<sup>[9]</sup>。因此,microRNA 与靶基因间的保守性关系成为靶基因鉴定的一个有效方法。基于保守性建立的同源比对方法是目前广泛使用的预测靶基因的经典方法,并通过 RACE 技术有效验证 microRNA 靶基因的准确性,并判断切割位点的具体位置。目前已经使用 RACE 技术验证了大量植物 microRNA 靶基因信息(详见表 1)。面对数量众多、调控模式复杂的 microRNA

表 1

RACE 方法鉴定的植物 microRNA 靶基因

Table 1

microRNA target genes identified by RACE in the plants

microRNA	靶基因家族	5'-RACE 确定的靶基因	靶基因功能
miR156	SPB-like TFs	<i>SPL2, SPL3, SPL10</i>	离子转运
miR159	MYB TF	<i>MYB33, MYB65</i>	信号转导
miR160	ARF TFs	<i>AFR10, AFR16, AFR17</i>	生长发育
miR161	At1g065800, PPR	—	生长发育
miR162	DICER-like1	<i>DCL1</i>	—
miR163	SAMT	—	—
miR164	NAC-domain TFs	<i>CUC1, CUC2, NAC1</i>	生长发育
miR165/miR166	HD-ZIP TFs	<i>PHB, PHV, REV, ATHB-15</i>	生长发育
miR167	ABF8	—	信号转导
miR168	AGONAUTE	<i>AGO1</i>	生长发育
miR169	CCAAT-binding factors, HAP2-like	—	—
miR170/miR171	SCARECROW TFs	<i>SCL6, SCL6-II, SCL6-III</i>	生长发育
miR172	APETALA2-like TFs	<i>AP2, TOE1, TOE2, TOE3</i>	生长发育
miR173	TAS	<i>TAS1, TAS2</i>	—
miR389	At5g18040, At5g18065, At4g29760	—	逆境胁迫
miR390	TAS3	—	—
miR393	TIR1/F-box/bHLH	<i>At3g26810, At1g12820, At3g62980</i>	逆境胁迫
miR394	F-box protein	<i>At1g27340</i>	—
miR395	ATP sulfurylase	<i>APS4</i>	逆境胁迫
miR396	GRL TFs	<i>GRL1, GRL2, GRL3, GRL7</i>	—
miR397	Laccase Beta-6 tubulin	<i>At2g29130, At2g38080, At5g60020</i>	逆境胁迫
miR398	CSD CytC oxidaser	<i>CSD1, CSD2, At3g15640</i>	逆境胁迫
miR399	UBC	<i>E2-UBC</i>	营养代谢
miR402	At4g34060	—	逆境胁迫
miR403	AGONAUTE	<i>AGO2</i>	—
miR408	Early-responsive to Dehydration-related protein Plastocyanin-like	—	生长发育
miR447	2PGK	—	—
miR472	Putative disease resistance protein	—	逆境胁迫
miR473	UV-B-resistant protein (UVR8) GRAS	—	信号转导
miR474	Protein kinase, Kinesin	—	生长发育
miR475	Leucine-rich repeat, PPR	—	生长发育
miR476	PPR	—	生长发育
miR477	GRAS domain-containing protein, NAC-domain protein, Zincfinger protein	—	信号转导
miR478	Organic anion transporter-like protein	—	营养运输
miR480	Proton-dependent oligopeptide transport family protein	—	营养运输
miR482	Putative disease resistance protein	—	逆境胁迫

靶基因,已开发的基于同源比对算法的 miRU、TAPIR 等计算工具依据植物 microRNA 的功能特点,通过植物 microRNA 与 mRNA 序列的匹配模式大规模预测 microRNA 靶基因。高通量的生物芯片及测序技术的推广更加扩大了靶基因在不同物种中的鉴定范围,但是由于已知基因组序列有限性及生物信息预测的假阳性较高的问题,靶基因的试验验证过程不可或缺。

### 3 植物 microRNA 的调控功能及应用

#### 3.1 组织器官发育调控

植物的生长发育、组织器官分化、组织形态形成伴随着 microRNA 的调控。Carlsbecker 等<sup>[10]</sup>指出 microRNA 可能作为一个信号分子介导植物细胞在根发育过程中分化为组织或器官。如果 microRNA 合成过程受到破坏,植物的发育形态出现异常。Zhang 等<sup>[11]</sup>发现 microRNA 合成酶 DCL1 失活后, microRNA 合成破坏引起植物雌性不育及种子胚胎发育异常等,进一步证实 microRNA 在植物组织发育过程中具有重要作用。研究陆续发现 microRNA 基因在不同组织中,调控基因类别和调控功能类型差异很大。Llave 等<sup>[12]</sup>发现拟南芥根管生长过程中,根冠细胞形成与 miR160 有关,miR160 通过调控生长素响应因子 ARF 的表达控制根分生区末端的干细胞分化,并决定根生长方向。而在拟南芥侧根生长过程中,这一过程由 miR164 调控,Guo 等<sup>[13]</sup>发现 miR164 受生长素诱导表达后,可介导 NAC1 的表达进而影响生长素传递,最终调控侧根生长。miR165/166 与植物木质部的形成及细胞排列有关<sup>[10]</sup>。microRNA 对植物组织发育的调控是一个复杂的分子过程,相同的 microRNA 在不同的组织中可能具有相同的功能,miR165/miR166 在植物的叶片中也与叶的形态及发育有关。

在参与叶片形态调控的 microRNA 中,已有报道指出 miR156、miR159、miR165、miR166 及 miR319<sup>[14]</sup>与拟南芥、玉米等植物的叶片发育有关。Li 等<sup>[15]</sup>发现 miR156 调控靶基因 SPL 表达水平,但这一过程由 HYL1 介导, HYL1 表达缺失后,miR156 急剧上升,引起拟南芥叶片出现叶脉数量减少、叶片呈细长形态、叶片绒毛提前形成。在应用研究中,利用 miR156 的转化增加拟南芥叶片数量及生物产量<sup>[16]</sup>。后来研究新发现 miR164 可调控 CUC1 的表达水平从而维持叶脉及叶片形态, Mallory 等<sup>[17]</sup>发现 miR164 持续表达引起拟南芥叶片发育畸形。而在玉米叶片发育中,还发现 miR172 可通过对 GL15 基因的调控,促进玉米幼叶发育为成熟叶片<sup>[18]</sup>。除保守 microRNA 的调控作用外,非保守 microRNA 在叶片发育中也起到调控作用。Kutter 等<sup>[19]</sup>研究发现 miR824 参与叶片气孔发育。

植物器官发育过程中, microRNA 也参与了调控。miR172 是花发育中研究比较广泛的基因,花中 miR172

的表达水平相比其它组织最高,尤其是在盛花期花瓣中。miR172 的超表达引起靶基因 AP2 表达下降导致花期提前及花器官形态不规则<sup>[20]</sup>,花药的发育则通过 miR159 对靶转录因子 MYB33 及 MYB55 的调控实现<sup>[21]</sup>。

#### 3.2 生物胁迫与非生物胁迫调控

干旱、盐碱、低温、营养均是常见的逆境胁迫类型。已有大量研究显示, microRNA 的表达可受环境信号诱导,表达水平发生上调或下调来操纵靶基因从而参与非生物胁迫过程。

干旱是自然环境中最为常见的一种逆境胁迫类型,可影响生长素信号、抗氧化防御、渗透调节过程。植物为避免干旱引起的损伤往往通过生理变化及分子机制调控响应干旱,具体表现为气孔导度变化、气孔密度降低、蒸腾作用减弱、叶片表面积减少、渗透调节改变、抗氧化等方式。干旱与 ABA 信号通路关联紧密,ABA 合成过程中,如果发生 DCL1、HYL1 等 microRNA 加工相关的酶活改变,会引起植物对干旱敏感,说明 microRNA 在干旱胁迫过程中地位重要。发生 microRNA 在干旱调节过程中作用十分重要。miR169 是首个在水稻中发现与干旱调控有关的 microRNA。Mitchell 等<sup>[22]</sup>首次发现水稻中 miR169 基因可受干旱、盐诱导表达上调。Zhang 等<sup>[23]</sup>发现在番茄干旱胁迫条件下,miR169c 发生表达上调,miR169c 转番茄后可提高番茄耐旱效果。而这一现象与拟南芥和苜蓿干旱胁迫研究中结果相反,拟南芥 miR169a 在干旱诱导下表达下调,引起靶转录因子 NFYA-5 的堆积后,诱导谷胱甘肽转移酶及过氧化物酶等干旱调控相关基因的合成,产生干旱适应性<sup>[24]</sup>。并且高通量测序结果也揭示了,在苜蓿中 miR169 的表达随着干旱诱导发生下降。miR159 是干旱诱导的又一个 microRNA 基因,植物在 ABA 诱导或干旱条件下,miR159 表达产生变化,过表达 miR159 可介导 MYB33、MYB101 的转录抑制,对 ABA 信号不敏感,而 MYB 转录因子转录水平提高后,对 ABA 敏感性增强,并与 RD22 启动子的顺式元件结合后,激活下游渗透调节基因表达,正调节干旱胁迫<sup>[25]</sup>。干旱胁迫处理下, microRNA 的表达模式也可能根据组织特异性产生差异。例如大麦在干旱诱导下,叶片 miR166 呈上调趋势,但在根中表达下降<sup>[26]</sup>。

营养素饥饿胁迫也是非生物胁迫的一种类型。miR395 是植物中发现的第一个逆境胁迫 microRNA,参与硫酸盐匮乏有关的营养胁迫<sup>[27]</sup>,后来陆续发现了与磷酸盐匮乏调节的 miR399<sup>[28]</sup>、铜磷元素匮乏调节相关的 miR156、miR778、miR828、miR169、miR395、miR398、miR399 等。除保守 microRNA 外,非保守 microRNA 也参与磷酸盐匮乏调节,miR827、miR211 均报道与磷酸盐吸收有关。



microRNA 的表达模式还可受多种胁迫类型诱导。目前已经发现 miR398 调控多个靶基因包括 CSD1、CSD2、Cox5b-1、CCS1 等,miR398 是最早在拟南芥中发现的保守 microRNA 基因,可参与类型较为复杂的非生物及生物胁迫类型。miR398 作为保守 microRNA 除参与营养元素胁迫调控外,还通过系列靶基因的调控参与氧化还原反应、紫外诱导、盐、ABA、失水、高糖、臭氧、植物病原体感染等胁迫诱导过程<sup>[29-31]</sup>。Lu 等<sup>[32]</sup>最新研究发现热可诱导 miR398 表达,引起靶基因 CSD2 下调后,引起拟南芥产生热耐受性。但是最近研究指出,单个 microRNA 基因可参与多种类型的胁迫调控,其表达水平也可受多个环境信号诱导而发生变化。Sunkar 等<sup>[33]</sup>发现冷、干旱、高盐、ABA 处理多个信号均可引起拟南芥 miR393 的表达上调。Liu 等<sup>[34]</sup>发现拟南芥 miR396 可以响应盐、干旱、冷胁迫刺激等干旱调节相关的过程。在 microRNA 的加工过程中,microRNA\* 作为 microRNA 的互补序列,伴随成熟 microRNA 释放后即进入快速降解途径,但是已有研究表明 microRNA\* 具有调控功能,microRNA\* 甚至参与了植物的生物胁迫调控。miR393 的靶基因与 miR393\* 的靶基因分别为 MEMB12 及 SNARE<sup>[35-36]</sup>,所行使的基因功能各不相同。miR393\* 可通过对 SNARE 的表达抑制调控植物的微生物感染<sup>[36]</sup>。miR399\* 及 miR395\* 与营养胁迫调控有关,拟南芥磷酸盐匮乏条件可引起 miR399\* 累积<sup>[37]</sup>,相反情况,高粱在营养充足条件下可引起 miR395\* 的表达堆积<sup>[38]</sup>,但是 miR399\* 及 miR395\* 的具体调控方式还有待探讨。

### 3.3 信号转导调控

信号转导这一复杂生物学过程伴随激素、蛋白因子及转录因子等协同调控参与。生长素据研究与植物组织发育、形态发育、维管运输等都有联系。已有报道指出 microRNA 参与生长素及 ABA 的信号转导过程。miR393 的靶基因之一是转录抑制应答因子 TIR1,作为生长素信号通路的正调控因子,控制 Aux/IAA 的蛋白泛素化。miR393 的过表达引起生长素水平降低,并导致植物生长速度减缓现象<sup>[39]</sup>。长素响应因子 ARF10、ARF16、ARF17 为 miR160 的靶基因,ARF6、ARF8 为 miR167 靶基因,ARF6 及 ARF8 通过介导类 GH3 基因的表达调控吡啶乙酸含量变化<sup>[40]</sup>。Liu 等<sup>[34]</sup>通过基因芯片技术发现 miR160 的表达与干旱有关,推测 miR160 也参与了 ABA 信号转导。Liu 等<sup>[41]</sup>通过 Northern Blot 试验发现 ABA 处理引起 miR167 的表达降低,ARF6 与 ARF8 在细胞内积累。暗示 miR160 及 miR167 可能是 ABA 信号及生长素信号转导调控的交叉影响因子<sup>[42]</sup>。

## 4 植物 microRNA 的研究展望

microRNA 的调控广泛存在于植物发育及生长的各个生理过程,是目前分子生物学研究的热点。microRNA 的鉴定及靶基因研究有利于分析 microRNA 的表达模式及调控功能,目前降解组测序是高通量大规模鉴定 microRNA 靶基因的一个新方法,已有多个研究结果揭示了降解组研究可快速、大量预测 microRNA 的调控靶基因,并结合分子生物学试验手段加速 microRNA 功能研究进展。Sha 等<sup>[43]</sup>还提到了一种新的基于病毒诱导的 microRNA 沉默方法,用于 microRNA 在不同植物物种中的功能研究。

在 microRNA 逆境表达模式研究中,发现 microRNA 以时空特异表达模式参与渗透调节、ABA 激素调节、生长素调节、营养调控、病原反应等生物过程反馈逆境信号,Li 等<sup>[44]</sup>最新研究发现水稻的抗真菌免疫调控中发现 miR160a 及 miR398b 参与。但是,microRNA 的表达调控机制仍十分复杂,具体内容有待进一步研究探讨。

### 参考文献

- [1] Lee Y, Kim M, Han J, et al. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II[J]. *Embo journal*, 2004, 23(20):4051-4060.
- [2] Wall K, Leebens-Mack J, Wang Y J, et al. Large-scale identification of microRNAs from a basal eudicot (*Eschscholzia californica*) and conservation in flowering plants[J]. *Plant*, 2007, 51(6):991-1003.
- [3] Galli V, Guzman F, de Oliveira L F, et al. Identifying microRNAs and transcript targets in *Jatropha* seeds[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2):e83727.
- [4] Lakhota N, Joshi G, Bhardwaj A R, et al. Identification and characterization of microRNAome in root, stem, eaf and tuber developmental stages of potato (*Solanum tuberosum* L.) by high-throughput sequencing[J]. *BMC Plant Biology*, 2014, 14:6.
- [5] Li Y F, Zheng Y, Jagadeeswaran G, et al. Characterization of small RNAs and their target genes in wheat seedlings using sequencing-based approaches[J]. *Plant Science*, 2013, 203-204:17-24.
- [6] Wei M, Wei H, Wu M, et al. Comparative expression profiling of microRNA during another development in genetic male sterile and wild type cotton[J]. *BMC Plant Biology*, 2013, 19(13):66.
- [7] Chen Z, Li F, Yang S, et al. Identification and functional analysis of flowering related microRNAs in common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff)[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12):e82844.
- [8] Shao C, Wu Q, Qiu J, et al. Identification of novel microRNA-like-coding sites on the long-stem microRNA precursors in *Arabidopsis*[J]. *Gene*, 2013, 527(2):477-483.
- [9] Liu P P, Montgomery T A, Fahlgren N, et al. Repression of AXUXIN RESPONSE FACTOR 10 by microRNA160 is critical for seed germination and post-germination stages[J]. *Plant*, 2007, 52(1):133-146.
- [10] Carlsbecker A, Lee J Y, Roberts C J, et al. Cell signaling by microRNA165/6 directs gene dose-dependent root cell fate[J]. *Nature*, 2010, 456(72-96):316-321.
- [11] Zhang S, Xie M, Ren G, et al. CDC5, a DNA binding protein, positively regulates posttranscriptional processing and/or transcription of primary microRNA transcripts[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2013, 110(43):17588-17593.

- [12] Llave C, Xie Z, Kasschau K D, et al. Cleavage of Scarecrow-like mRNA targets directed by a class of Arabidopsis microRNA[J]. Science, 2002, 297(5589):2053-2056.
- [13] Guo H S, Xie Q, Fei J F, et al. MicroRNA directs mRNA cleavage of the transcription factor NAC1 to downregulate auxin signals for arabidopsis lateral root development[J]. Plant Cell, 2005, 17(5):1376-1386.
- [14] Pant B D, Buhtz A, Kehr, et al. MicroRNA399 is a long-distance signal for the regulation of plant phosphate homeostasis[J]. Plant, 2008, 53(5):731-738.
- [15] Li S, Yang X, Wu F, et al. HYL1 controls the miR156-mediated juvenile phase of vegetative growth[J]. Journal of Experimental Botany, 2012, 63(7):2787-2798.
- [16] Pei H, Ma N, Chen J, et al. Integrative analysis of microRNA and mRNA profiles in response to ethylene in rose petals during flower opening[J]. PLoS One, 2013, 8(5):e64290.
- [17] Mallory A C, Dugas D V, Bartel D P, et al. MicroRNA regulation of NAC-domain targets is required for proper formation and separation of adjacent embryonic, vegetative, and floral organs[J]. Current Biology, 2004, 14(12):1035-1046.
- [18] Wang J W, Wang L J, Mao Y B, et al. Control of root cap formation by MicroRNA-targeted auxin response factors in Arabidopsis[J]. Plant Cell, 2005, 17(8):2204-2216.
- [19] Kutter C, Schöb H, Stadler M, et al. MicroRNA mediated regulation of stomatal development in Arabidopsis[J]. Plant Cell, 2007, 19(8):2417-2429.
- [20] Chen X. A microRNA as a translational repressor of APETALA2 in Arabidopsis flower development[J]. Science, 2004, 303(5666):2022-2025.
- [21] Achard P, Herr, Baulcombe D C, et al. Modulation of floral development by a gibberellin-regulated microRNA[J]. Development, 2004, 131(14):3357-3365.
- [22] Mitchell P, Ferguson E. A hundred years of psychology in the BJP[J]. British Journal of Psychology, 2009, 100(Pt 1A):165-168.
- [23] Zhang X, Zou Z, Gong P, et al. Over-expression of microRNA169 confers enhanced drought tolerance to tomato[J]. Biotechnology Letters, 2011, 33(2):403-409.
- [24] Li W X, Oono Y, Zhu J, et al. The Arabidopsis NFYA5 transcription factor is regulated transcriptionally and posttranscriptionally to promote drought resistance[J]. Plant Cell, 2008, 20(8):2238-2251.
- [25] Reyes J L, Chua N H. ABA induction of miR159 controls transcript levels of two MYB factors during Arabidopsis seed germination[J]. Plant, 2007, 49(4):592-606.
- [26] Kantar M, Unver T, Budak H. Regulation of barley microRNAs upon dehydration stress correlated with target gene expression[J]. Functional and Integrative Genomics, 2010, 10(4):493-507.
- [27] Jones-Rhoades M W, Bartel D P. Computational identification of plant microRNAs and their targets, including a stress-induced microRNA[J]. Molecular & Cellular Proteomics, 2004, 14(6):787-799.
- [28] Chiou T J, Aung K, Lin S I, et al. Regulation of phosphate homeostasis by MicroRNA in Arabidopsis[J]. Plant Cell, 2006, 18(2):412-421.
- [29] Juszczak I, Baier M. The strength of the miR398-Csd2-CCS1 regulon is subject to natural variation in *Arabidopsis thaliana*[J]. Febs Letters, 2012, 586(19):3385-3390.
- [30] Trindade I, Capitão C, Dalmay T, et al. miR398 and miR408 are up-regulated in response to water deficit in *Medicago truncatula*[J]. Planta, 2010, 231(3):705-716.
- [31] Jia X, Wang W X, Ren L, et al. Differential and dynamic regulation of miR398 in response to ABA and salt stress in *Populus tremula* and *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Molecular Biology, 2009, 71(1-2):51-59.
- [32] Lu X, Guan Q, Zhu J. Downregulation of CSD2 by a heat-inducible miR398 is required for thermotolerance in Arabidopsis[J]. Plant Signal Behavior, 2013, 8(8):e24952.
- [33] Sunkar R, Zhu J K. Novel and stress-regulated microRNAs and other small RNAs from Arabidopsis[J]. Plant Cell, 2004, 16(8):2001-2019.
- [34] Liu H H, Tian X, Li Y J, et al. Microarray-based analysis of stress-regulated microRNAs in *Arabidopsis thaliana*[J]. RNA, 2008, 14(5):836-843.
- [35] Navarro L, Dunoyer P, Jay F, et al. A plant microRNA contributes to antibacterial resistance by repressing auxin signaling[J]. Science, 2006, 312(5772):436-439.
- [36] Çeliktas M, Gölpinar A, Köse Ö, et al. Prediction of the quadruple hamstring autograft thickness in ACL reconstruction using anthropometric measures[J]. Acta Orthopaedica et Traumatologica Turcica, 2013, 47(1):14-18.
- [37] Hsieh L C, Lin S I, Shih A C, et al. Uncovering small RNA-mediated responses to phosphate deficiency in Arabidopsis by deep sequencing[J]. Plant Physiology, 2009, 151(4):2120-2132.
- [38] Calviño M, Bruggmann R, Messing J. Characterization of the small RNA component of the transcriptome from grain and sweet sorghum stems[J]. BMC Genomics, 2011, 12:356.
- [39] Xia K, Wang R, Ou X, et al. OsTIR1 and OsAFB2 downregulation via OsmiR393 overexpression leads to more tillers, early flowering and less tolerance to salt and drought in rice[J]. PLoS One, 2012, 7(1):e30039.
- [40] Teotia P S, Mukherjee S K, Mishra N S. Fine tuning of auxin signaling by microRNAs[J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2008, 14(1-2):81-90.
- [41] Liu Q, Zhang Y C, Wang C Y, et al. Expression analysis of phytohormone-regulated microRNAs in rice, implying their regulation roles in plant hormone signaling[J]. Febs Letters, 2009, 583(4):723-728.
- [42] Muraro D, Mellor N, Pound M P, et al. Integration of hormonal signaling networks and mobile microRNAs is required for vascular patterning in Arabidopsis roots[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2014, 111(2):85762.
- [43] Sha A, Zhao J, Yin K, et al. Virus-based microRNA silencing in plants[J]. Plant Physiology, 2014, 164(1):36-47.
- [44] Li Y, Lu Y G, Shi Y, et al. Multiple rice microRNAs are involved in immunity against the blast fungus *Magnaporthe oryzae*[J]. Plant Physiology, 2014, 164(2):1077-1092.

## Research Advance in Plant microRNA Regulation and Application

ZHAO Li-dan, DONG Yuan-yuan, LI Hai-yan

(Engineering Research Center of Bioractor and Pharmaceutical Development, Ministry of Education, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

# 农田生态系统土壤呼吸作用的研究进展

吴丹娜<sup>1</sup>, 江洪<sup>1,2</sup>, 张金梦<sup>1</sup>

(1. 浙江农林大学 浙江省森林生态系统碳循环与固碳减排重点实验室, 浙江 临安 311300;

2. 南京大学 国际地球系统科学研究所, 江苏 南京 210093)

**摘要:**农田生态系统是陆地生态系统的重要组成部分。我国是农业大国,为农田生态系统土壤呼吸作用的研究创造了很好的条件。文章综述了中国农田土壤呼吸近 10 年来的研究进展,指出了土壤温湿度、作物生理生长状况和田间管理措施是影响农田土壤呼吸作用的主要影响因子。同时指出了农田土壤呼吸作用的时间变化特点和空间变化特点,及当下农田土壤呼吸研究的几个问题,应加强农田土壤呼吸的区域性研究和比较,标准化和规范化土壤呼吸的试验设计和测定方法,扩大作物研究范围为农田生态系统碳循环碳源和碳汇的问题提供依据。

**关键词:**农田生态系统;土壤呼吸作用;碳循环

**中图分类号:**S 155.4<sup>+</sup>3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)06-0178-05

在过去的 100 年里,地球表面平均温度升高了 0.74℃<sup>[1]</sup>,大气中 CO<sub>2</sub> 浓度上升了近 25%,每年还在继续上升。温室气体的不断累积,使全球气候产生了巨大变化。有关研究发现,人类活动导致的碳排放是引起 CO<sub>2</sub> 浓度增长的主要原因。农田生态系统是人类活动最活跃的生态系统,又是陆地生态系统的重要组成部分,研究农田生态系统碳收支规律,为研究全球气候变化提供了依据。

**第一作者简介:**吴丹娜(1989-),女,浙江宁波人,硕士研究生,研究方向为生态系统分析与物联网监测。E-mail:nbwbn103@163.com.

**责任作者:**江洪(1955-),男,博士,教授,现主要从事生态系统碳-氮-水循环及全球变化和植物生理生态等研究工作。E-mail:jianghong\_china@hotmail.com.

**基金项目:**上海市战略性新兴产业重大资助项目(重大 2013-14 号);2012 年上海市科技兴农推广资助项目(沪农科推字 2012 第 1-4 号);2013 年上海市科委生态崇明重点支撑资助项目(13231204400);上海市科委 2013 年度“创新行动计划”上海工程技术研究中心建设资助项目(13DZ2250900)。

**收稿日期:**2014-11-20

## 1 农田土壤呼吸作用的测定方法

### 1.1 微气象法

微气象法包括涡度相关法、松弛涡度累积法、空气动力学方法、能量平衡法,其中使用最多的方法是涡度相关法。涡度相关法是应用微气象原理,直接测量植被层上方的 CO<sub>2</sub> 涡流传递速度,再进一步计算出植被群落的碳收支动态变化<sup>[2]</sup>。涡度相关法是一种非破坏性的微气象学技术,适合较大范围的长期观测<sup>[3]</sup>,在农田生态生态系统碳通量的观测中已有较广泛的应用,如张雪松<sup>[4]</sup>对冬小麦农田生态系统碳-水循环特征的研究。但是,微气象法也有缺点,如要求热力中性大气条件、地面宏观均匀、广阔的逆风向区<sup>[5]</sup>。

### 1.2 气室法

**1.2.1 静态气室法** 静态气室法分为静态碱液吸收法和静态密闭气室法。静态碱液吸收法(AA)是测定土壤呼吸的传统方法<sup>[6-7]</sup>,通过碱液(KOH 和 NaOH)吸收土壤释放的 CO<sub>2</sub> 的量来标定一定时间内土壤呼吸量。该方法经济、使用简单,适用于土壤呼吸空间变化较大的区域<sup>[8]</sup>,但是精度较差,需要重复试验提高测量的准确性。目前,静态碱液吸收法在生态系统土壤呼吸试验中

**Abstract:** As small non-coding RNAs, microRNAs regulate gene expression and protein translation in post-transcriptional level. microRNAs have emerged as master regulators of plant development. In this review, synthetic process of microRNA and target genes identification was introduced. This review also provided a coherent set of research progress in the aspect of plant development and stress regulation.

**Keywords:** microRNA; target identification; post-transcriptional; abiotic stress