

奚琦,许志茹,王琪,等.植物铜稳态相关 miRNAs 的研究进展[J].江苏农业科学,2017,45(9):5-10.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.09.002

植物铜稳态相关 miRNAs 的研究进展

奚琦¹,许志茹^{1,2},王琪¹,曲春浦¹,杨成君³,刘关君¹

(1.东北林业大学林木遗传育种国家重点实验室,黑龙江哈尔滨 150040; 2.东北林业大学生命科学学院,黑龙江哈尔滨 150040;
3.东北林业大学林学院,黑龙江哈尔滨 150040)

摘要:铜(Cu)是植物生长发育所必需的微量元素,参与光合作用、呼吸作用及木质素合成等多个生物学过程。铜离子具有氧化还原特性,低铜或者过量铜都会对植物造成伤害,因此植物在长期进化过程中产生了一套完整的铜稳态调控体系,其中 miRNA 在此体系中扮演着重要的角色。介绍了 miR397、miR398、miR408、miR857、miR1444 等 5 种 Cu-miRNAs,它们的靶基因编码了植物细胞中非常重要的 4 大类含铜蛋白——漆酶、超氧化物歧化酶、质体蓝素和多酚氧化酶。在铜胁迫条件下,miRNA 通过调控靶基因的表达优化铜离子的分配,既保证了铜的正常供应,又避免了铜毒害。

关键词:铜稳态;Cu-miRNAs;铜胁迫;研究进展

中图分类号: Q754 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)09-0005-05

铜(Cu)广泛存在于动物、植物和微生物体内,是正常生命活动所必需的微量矿质元素。铜在植物的生长发育过程中行使重要功能,植物中含有 100 多种不同的含铜蛋白,参与各种新陈代谢过程,如光合作用、呼吸作用电子传递链、活性氧代谢、对乙烯的感受、氮代谢、细胞壁的木质化及花粉的形成等^[1]。在这些过程中,铜作为辅因子与细胞内 Cu/Zn 超氧化物歧化酶(Cu/Zn SOD)、细胞色素氧化酶、多酚氧化酶、抗坏血酸氧化酶、多胺氧化酶等多种酶结合后行使生物学功能。

缺铜条件会导致植物叶片失绿,叶尖卷曲变白,植株矮小,生长缓慢,产量下降。植物细胞中铜浓度过高会使植株生长发育不良,根部畸形,根细胞质膜损伤,质膜过氧化作用增强,氮素吸收及氨基酸合成受阻;铜浓度过高,还可使植物叶片黄化,叶绿素 a/b 比降低,光合系统 I、II 的电子传递能力降低,光合作用速率下降;此外,铜浓度过高还会使细胞核中 DNA 与蛋白质的结构被破坏、DNA 复制和转录受影响,使含铜蛋白的合成、基因表达调控发生紊乱^[2-4]。

植物在光合电子传递链、呼吸链中产生的活性氧(ROS)在生成部位就会被及时分解;而当植物吸收过量铜后,植物细胞会快速积累超氧化物阴离子(O_2^-)、羟自由基($\cdot OH$)、过氧化氢(H_2O_2)和单线态氧(1O_2)等活性氧,并进一步毒害植物细胞^[5]。此外,自然界中的植物在不同土壤环境条件下可能会面临重金属胁迫,但植物铜中毒的情况并不常见,由此认为,植物通过在进化过程中形成完善的铜稳态调控体系应对上述胁迫条件,以维持正常的生长发育过程。一般认为,环境中的铜离子通过 CTR 铜转运家族成员高效转运到植物细

胞内,之后,铜伴侣蛋白将铜离子运送至需铜蛋白。铜伴侣蛋白 ATX1、CCH 向铜转运 P 型 ATP 酶 HMA5、RAN1 或 Ccc2 运送铜离子,之后铜离子进入分泌途径或者运送到细胞外;COX 铜伴侣蛋白将铜离子运送到线粒体中的细胞色素 C 氧化酶,参与呼吸链中的电子传递;P 型 ATP 酶 PAA1、PAA2 将铜离子运送到质体蓝素参与植物光合作用;铜伴侣蛋白 CCS 将铜离子运送给铜锌超氧化物歧化酶,参与细胞对氧自由基的清除^[6]。在这些过程中,miRNA 对铜稳态的调节至关重要。

1 miRNA 简介

1.1 miRNA 的发现

miRNA 是一类目前被广泛研究的内源性单链非编码小分子 RNA,长度约为 16~29 nt,大部分长度为 21~23 nt^[7]。1993 年首次在秀丽新小杆线虫中发现了可时序调控胚胎后期发育的 miRNA *lin-4*^[8]。2000 年,Reinhart 等在线虫中发现了第 2 个异时性开关基因 *let-27*,并在人类细胞中找到了该基因的同源基因^[9]。2001 年,小 RNA 被统一命名为 microRNA(miRNA)。2002 年,4 个科学小组从植物中分别发现了 miRNA,自此拉开了植物 miRNA 研究的序幕^[10-13]。尽管植物 miRNA 的研究起步较晚,但是随着研究方法的不断革新,越来越多的植物 miRNA 逐步被鉴定(数据库网址: <http://microrna.sanger.ac.uk>)。随着高通量测序技术的发展与应用,相信未来几年内该数据库中植物 miRNA 的信息还会被快速丰富。

1.2 miRNA 的生物合成

编码 miRNA 的基因在 RNA 聚合酶 II 的作用下形成初级转录物 pri-miRNA^[14],长度大约为 300~1 000 核苷酸。pri-miRNA 在一类 Dicer 酶——DCL1 的作用下被剪切成包含茎环结构的 60~300 nt 的 miRNA 前体 pre-miRNA^[15]。然后,pre-miRNA 被 DCL1 切割产生约 21~26 nt 的双链 miRNA,构成 miRNA/miRNA* 双链分子^[16]。在 miRNA 甲基转移酶 HEN1 的作用下,miRNA/miRNA* 双链分子 3'端最后

收稿日期:2016-11-07

基金项目:国家自然科学基金面上项目(编号:31470664,31370662)。

作者简介:奚琦(1992—),女,黑龙江哈尔滨人,硕士研究生,主要从事林木抗性遗传育种研究。E-mail:994504861@qq.com。

通信作者:刘关君,博士,教授,主要从事林木遗传育种学研究。

E-mail:liuguanjun2003@126.com。

1 个核苷酸发生甲基化修饰,形成成熟的 miRNA^[17]。之后,成熟的 miRNAs 被 HASTY(homogentisate solanesyl transferase, 简称 HST)转运至细胞核外^[18]。成熟的 miRNAs 序列会自身折叠成不完全配对的发卡结构进入 RNA 介导的沉默复合体 RNA 诱导沉默复合体(RNA-induced silencing complex, 简称 RISC)中行使进一步的功能^[19]。miRNA 本身并不具备核酸酶的功能,在 RISC 中它仅发挥靶向作用,与 miRNA 形成 RISC 的 AGO 蛋白对靶基因具有切割能力^[20-21]。

1.3 植物 miRNA 对靶基因的调控

miRNA 可以通过碱基互补配对的方式实现对靶基因 mRNA 的切割或者抑制 mRNA 翻译,进而参与调控植物的生长发育。miRNA 抑制 mRNA 的翻译亦或是切割 mRNA 取决于 miRNA 与靶序列互补配对的程度。互补配对程度高则可能对 mRNA 进行切割,而配对程度低则只是抑制 mRNA 的翻译^[22]。在植物中,miRNA 和靶基因的互补程度高于动物,大部分植物 miRNA 和靶基因只存在 4 个以下的核苷酸错配。

相比于动物中有 60% 的蛋白质受 miRNA 的调控,植物中只有不到 10% 的蛋白质是受 miRNA 调控的。尽管如此,植物中的 miRNA 在生长发育、激素响应、抗逆抗病等多个方面仍然发挥着至关重要的调控作用。

2 铜稳态中的 miRNAs

在铜胁迫响应过程中,植物体内多个 miRNA 通过调节不同功能的含铜蛋白以维持内部环境的稳定。有研究表明,miR395、miR397、miR398、miR408、miR857 及 miR1444 均参与了植物的低铜响应。Burkhead 等将 miR397、miR408、miR398 和 miR857 这 4 种非常保守的 miRNA 统称为 Cu-miRNAs^[23]。Cu-miRNAs 参与了光合作用、呼吸作用、抗氧化及木质素合成等过程。近期的研究表明,miR1444 在杨树的铜应答过程中也发挥重要功能。

大量研究显示,Cu-miRNAs 在植物营养稳态中扮演重要角色,即 Cu-miRNAs 除了受铜调控之外,还受多种元素的调控。miR397 受碳(C)、氮(N)、硫(S)、磷(P)、镉(Cd)、铁(Fe)元素调控;miR398 受 C、N、S、P、Cd、Fe、锌(Zn)元素调控;miR408 受 P、N、Fe 元素调控;miR857 受 P、N 元素调控;同时,miR857 在拟南芥中也是铜应答 miRNA,植株缺乏 C、N、S、P 元素时,miR857 的表达受抑制^[24-27]。

此外,Cu-miRNAs 在植物发育、新陈代谢和防御过程中均发挥重要功能。各种胁迫处理也可以影响 Cu-miRNAs 表达,如寒冷、NaCl、强光、病原菌、干旱、臭氧及氧化等非生物、生物胁迫会诱导或抑制 Cu-miRNAs 表达,且同一种 Cu-miRNA 在不同植物中具有不同的应答模式。因此,研究 Cu-miRNAs 生物学功能时,不能忽视大量胁迫处理对其表达的影响,甚至有人推测,这些胁迫对 Cu-miRNAs 的调控是影响植物生长受阻的唯一因素^[27]。

2.1 miR397

miR397 的靶基因是以铜为辅基的漆酶(LAC)的编码基因。1985 年,Bertrand 首次在漆树中鉴定了漆酶。漆酶是一种多铜氧化酶,1 分子蛋白结合 4 个铜离子。植物漆酶分泌到细胞壁后,在有氧条件下可以催化木质素单体聚合成木质素。Liang 等测定拟南芥 *lac15* 突变体种子木质素含量时发

现,与野生型相比,突变体木质素总含量约降低了 30%,第 1 次直接证明了漆酶参与植物木质素的合成过程^[28]。Berthet 等研究表明,拟南芥 *lac4-1lac17*、*lac4-2lac17* 双突变体的木质素含量均比野生型降低了 20%~40%;而 *lac4*、*lac17* 单突变体中木质素含量变化不明显,首次证明了 LAC4、LAC17 参与了拟南芥茎的木质化过程^[29]。

拟南芥 miR397 家族有 2 个成员,通过与 LAC2、LAC4、LAC17 的第 5 个外显子结合而降解这些靶基因^[30]。在拟南芥中过表达 miR397b, *LAC2*、*LAC3*、*LAC9*、*LAC10*、*LAC12*、*LAC14*、*LAC15*、*LAC16*、*LAC17* 等基因的表达水平均降低,转基因植株木质素积累量明显降低,次级细胞壁厚度降低,花序数量增加,种子增大,种子数量增加。突变 *LAC4* 基因的 miR397 作用位点(但不改变基因编码的氨基酸序列)后,与野生型拟南芥相比,转基因植株变矮,莲座叶变小,果荚变少变短,种子数量减少^[31]。在水稻中过表达 *OsmiR397*,转基因植株也出现了种子变大、花序增加的现象,且单位面积产量增加了 25%^[32]。

毛果杨 miR397 含有 3 个家族成员 miR397a、miR397b、miR397c,生物信息学预测结果显示,至少有 26 个漆酶基因可以作为 miR397a 的靶基因^[33]。Lu 等研究了毛果杨 miR397 的靶基因——3 种漆酶基因 *PtLAC5*、*PtLAC6*、*PtLAC110a*,发现在铜处理下,*PtLAC5*、*PtLAC6* 在所检测的组织中均表达,*PtLAC5* 在幼茎中表达量最高,*PtLAC6* 在发育中的次生木质部中表达量最高,*PtLAC110a* 是一种根特异性表达的漆酶基因;此外,毛果杨根茎叶中 miR397a 的含量随着铜浓度的增加而降低,其靶基因 *PtLAC5*、*PtLAC6*、*PtLAC110a* 的表达量则随着铜处理浓度的增加而增加^[34]。

2.2 miRNA398

铜稳态过程中,miR398 的靶基因有 3 种,分别编码含铜蛋白 Cu/Zn 超氧化物歧化酶、线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 V(COX5b.1)、超氧化物歧化酶的铜伴侣蛋白(CCS1)^[35]。相关研究表明,miR398 与编码铜/锌超氧化物歧化酶的 2 个基因 *CSD1*、*CSD2* 及编码线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 V 的 *COX5b.1* mRNA 上的核苷酸序列互补性在拟南芥、水稻中是保守的^[36]。miR398 与 *CSD2* mRNA 的编码区互补,与 *CSD1*、*COX5b.1* mRNA 的 5' 非编码区(5'-UTR)互补^[37]。miR398 家族具有 2 个成员(3 个基因座),其中 miR398b 与 miR398c 的核苷酸序列完全相同,miR398a 3' 端的最后 1 个核苷酸与 miR398b、miR398c 存在差异^[38]。

铜离子过量条件下 ROS 会过量积累。Cu/Zn SOD 可以专一性地清除细胞内的 ROS,将其降解为分子氧、过氧化氢。当水稻体内产生大量 ROS 时,miR398 的表达水平降低,导致细胞质 *CSD1*、叶绿体 *CSD2* 的表达量快速上调,使细胞内的铜离子流向 Cu/Zn SOD,Cu/Zn SOD 的活性增强,既降低了细胞内自由铜离子的含量,又使细胞具有更强的清除氧自由基的能力,进而使植物表现出抗氧化能力^[39]。在拟南芥中过表达 miR398 前体的共抑制转基因植株中,miR398b、miR398c 的表达量降低,导致靶基因 *CSD* 的表达量增加,相对于野生型植株,在高铜处理状态下转基因幼苗发芽率明显提高,在强氧化剂甲基紫精处理后转基因幼苗的生长发育未受影响^[38]。

在水稻中,根据密码子的简并性,突变 *CSD2* 基因上

miR398 的结合位点,但不改变 CDS2 的氨基酸序列,相关研究表明,CSD2 基因的表达不再受 miR398 调控,重金属铜处理后转基因植株的抗性明显增加^[40]。过表达 miR398b、miR398c 的拟南芥植株出现了 CSD1、CSD2 水平降低的现象,但 COX5b.1 的 mRNA、蛋白质含量均未受到影响;与 miR398 互补的 CSD1、CSD2 基因的核苷酸序列突变后,miR398 不能识别 CSDs 基因,CSD1、CSD2 的 mRNA 水平上调,但是 CSD1、CSD2 蛋白水平却依然对 miR398 敏感,这暗示 miRNA 在不能与靶 mRNA 完全互补的时候,可以负调控靶蛋白的翻译过程^[37]。

2.3 miRNA408

miR408 在植物体内的主要功能是参与非生物胁迫应答和维持细胞内铜离子含量的稳定性,目前对 miR408 的研究还比较少。miR408 的靶基因编码了光合电子传递链中的含铜蛋白质体蓝素(PC)、参与木质素氧化聚合的漆酶^[41]。PC 是植物光合电子传递链中位于类囊体膜内表面的铜蛋白^[42],是光系统 I 电子传递链的重要组成部分,1 分子 PC 含有 1 个铜离子。植物中大约有 50% 铜离子结合 PC 存在于叶绿体中,从而参与光合作用。

Sunkar 认为,拟南芥 miR408 的目标基因是质体蓝素基因 PC 和 3 种漆酶基因 LAC3、LAC12、LAC13^[43]。预测表明,miR408 通过与 LAC3、LAC12、LAC13 的 5'-UTR 结合而调控靶基因的表达^[30]。在毛果杨中,miR408 的靶基因包括质体蓝素蛋白家族基因(PCLs) PtPCL1、PtPCL2、PtPCL3 及漆酶基因 PtLAC4。毛果杨 miR408 在成熟叶、次生木质部及韧皮部中表达量较高,且表达量随着铜浓度的升高而降低,其靶基因的表达水平则随着铜浓度的升高而增加^[34]。拟南芥、毛果杨、水稻 miR408 的核苷酸序列比对结果表明,miR408 是一种高度保守的 miRNA,在大量单子叶、双子叶甚至裸子植物中都存在^[44]。

在拟南芥中,当铜离子匮乏时,转录因子 SPL7 会与 miR408 启动子区的多个 GTAC 基序结合,诱导 miR408 表达;在 spl7 突变体中过表达 miR408,低铜条件下转化子的光合速率、质体蓝素功能恢复正常^[45]。此外,研究者推测,转基因植物如果能降低 miR408 表达量,引起漆酶含量升高,即可达到

通过增加维管组织中木质素含量而增强植物抵抗病原菌侵染能力的目的。

2.4 miR857

目前,对 miR857 的研究还较少。miR857 的靶基因是漆酶家族中的 LAC7,通过与 LAC7 的第 1 个外显子结合控制 LAC7 的表达^[30]。LAC7 在拟南芥叶片的排水器、根毛中特异表达^[46];miR857 还在拟南芥维管组织的次生生长中发挥作用^[47]。此外,在拟南芥果实中 miR857 不表达,过表达 miR857 的拟南芥转基因植株出现了异常的小角果,使种子严重减产;尽管在转基因植株中并没有找到 miR857 和角果大小的相关性,但是拟南芥 LAC7 的表达量与种子数量具有明显的相关性,LAC7 的表达量不足,会严重影响种子的生成^[48]。在很长一段时间内,研究者认为,miR857 只在拟南芥中存在。随着测序技术的不断发展,在其他植物中陆续鉴定了 miR857。有研究表明,miR857 在十字花科植物中是保守的^[49]。在白色羽扇豆中,miR857 在根、茎、叶中均表达,缺磷处理后其表达量降低^[50]。Zhang 等于 2014 年在棉花中也鉴定了 miR857^[51]。

2.5 miR1444

毛果杨中的 miR1444 是一种杨树特异性 miRNA。在杨树中,miR1444 调控铜蛋白多酚氧化酶(PPO)^[34],PPO 具有将酚类氧化成醌类的功能^[52]。Lu 等研究表明,PtPPO3、PtPPO6 是 miRNA1444 的靶基因,并预测杨树中至少有 13 个 PtPPOs 基因受 miR1444 调控;随着铜处理浓度的增加,miR1444 的表达量降低,而其靶基因 PtPPO3、PtPPO6 的表达量逐渐增加^[34]。当铜缺乏时,miR1444 积累,PPO 的表达被抑制^[53]。此外,铜缺乏条件下,毛果杨中锌离子含量明显上升;随着锌离子浓度的增加,各组织中 miR1444 含量均呈上升趋势,且 miR1444 的靶基因表达量下降。这些研究表明,miR1444 不仅受铜调控,还参与了锌胁迫的应答^[54]。

综上所述,随着外界铜浓度的变化,植物通过特定 Cu-miRNAs 的表达调节含铜蛋白的含量,进而维持植物细胞内的铜稳态。表 1 中列举了植物中的 Cu-miRNAs 及其靶基因^[27,44]。

表 1 植物中的 Cu-miRNA 及其靶基因

miRNA 名称	裸子植物	单子叶植物	双子叶植物	主要靶基因
miR397	+	+	+	LACs(高度保守) ^[30]
miR398	+	+	+	Cu/Zn SOD,CCS,COX 5b.1(高度保守) ^[35]
miR408	+	+	+	PCLs,LACs ^[41]
miR857	-	-	+	LAC7 ^[30]
miR1444	-	-	+	PPO(只在杨树中被鉴定) ^[34]

注:“+”号表示存在,“-”号表示不存在。

3 SPL7 转录因子对 miRNA 的调控

所有低铜响应相关的 miRNA 和基因,在其启动子上均含有 GTAC 基序。GTAC 基序最初是在绿藻的粪生素氧化酶(Cpx1)和细胞色素 C6(Cyc6)基因的启动子区域鉴定的,GTAC 基序被称为铜响应元件(CuRE)^[55]。GTAC 基序是转录因子 SPL7 的结合位点,SPL7 与这一铜响应特定基序的结合决定了植物 miRNA 对铜胁迫的应答^[56]。

GTAC 基序是 Cu-miRNAs 和某些基因受低铜调控所必需的。当铜获取受限时,SPL7 会上调细胞的铜摄取量和吸收量,即 SPL7 通过上调细胞膜上的 COPT1 铜转运蛋白的表达量来行使此功能^[53]。铜缺乏条件会诱导植物中 miR398、miR397、miR408 和 miR857 的上调表达,miRNAs 进而下调含铜蛋白 CCS、Cu/Zn SOD、PCL、LAC 和 PPO 的表达量。例如,铜匮乏条件下,毛果杨中一些铜相关 miRNA 会下调一些含铜蛋白基因的转录,降低含铜蛋白的含量,从而将铜优先供给

COX 和 PC 等光合电子传递链中重要的含铜蛋白^[23]。在恢复铜供给后,质体蓝素水平和光合电子传递效率先于其他含铜蛋白被优先恢复,铜相关的 miRNAs 能调节辅因子铜的优

先供给顺序^[53]。在 spl7 突变体中,miR397a、miR408 和 miR857 的表达不再受低铜条件诱导,这说明 SPL7 在调节植物体内铜分配过程中发挥重要作用(图 1)^[56]。

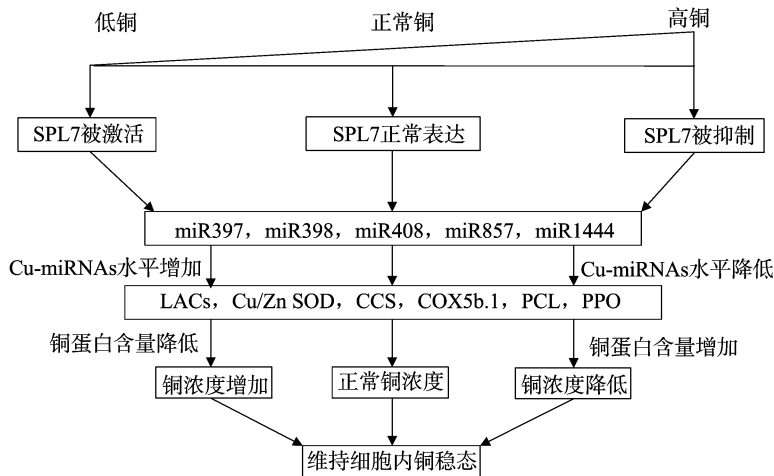


图1 不同铜浓度条件下 SPL7 维持细胞内铜稳态示意

4 展望

自线虫中发现的第 1 个 miRNA 至今,已有 30 000 多个 miRNAs 被鉴定,据估计 miRNA 基因约占基因总量的 1%,因此,仍有大量的 miRNA 尚未被鉴定。目前,Cu - miRNAs 的研究仍集中于 miR397、miR398、miR408、miR857 和 miR1444 等 miRNAs 中。随着高通量测序技术的不断进步,期望能在更多的物种中发现新的 Cu - miRNAs。

尽管很多 miRNAs 被证实与植物的生长发育和逆境胁迫抗性相关,但是某些 miRNAs 对靶基因的调控机制尚不清晰。miRNA 一般靶向 1 个基因家族或者作用于相同代谢途径中的基因,这种一对多的形式为研究 miRNA 调控网络增加了难度。目前对植物 miRNA 的相关研究多集中在确定 miRNA 与胁迫抗性的相关性方面。

植物杀菌剂的施加、铜矿的长期开采、生活污水的排放等提高了土壤中的铜离子浓度^[57]。在发现 Cu - miRNAs 之前,铜转运蛋白及铜伴侣蛋白是植物抗铜分子生物学研究的重点;miRNA 的表达比蛋白质更迅速,效率更高,可以快速应对外界铜离子浓度的变化情况。因此,通过转基因手段调控 Cu - miRNAs 表达,培育更具耐受铜胁迫特性的转基因植株,为采用生物技术手段对铜污染土壤进行植物修复提供了一种新思路。

参考文献:

- [1] Yruela I. Copper in plants: acquisition, transport and interactions [J]. Functional Plant Biology, 2009, 36(5): 409 - 430.
- [2] Weber M B, Schat H, Ten Bookum - van der Maarel W M. The effect of copper toxicity on the contents of nitrogen compounds in *Silene vulgaris* (moench) garcke [J]. Plant and Soil, 1991, 133(1): 101 - 109.
- [3] Vinit - Dunand F, Epron D, Alaoui - Sossé B, et al. Effects of copper on growth and on photosynthesis of mature and expanding leaves in cucumber plants [J]. Plant Science, 2002, 163(1): 53 - 58.
- [4] Lombardi L, Sebastiani L. Copper toxicity in *Prunus cerasifera*: growth

- and antioxidant enzymes responses of *in vitro* grown plants [J]. Plant Science, 2005, 168(3): 797 - 802.
- [5] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance [J]. Trends in Plant Science, 2002, 7(9): 405 - 410.
- [6] 张红晓, 张芬琴. 铜在植物细胞中的运输和分布 [J]. 洛阳理工学院学报(自然科学版), 2011, 21(3): 1 - 5.
- [7] Zhang B, Stellwag E J, Pan X. Large - scale genome analysis reveals unique features of microRNAs [J]. Gene, 2009, 443(1/2): 100 - 109.
- [8] Lee R C, Feinbaum R L, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin - 4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin - 14* [J]. Cell, 1993, 75(5): 843 - 854.
- [9] Reinhart B J, Slack F J, Basson M, et al. The 21 - nucleotide *let - 7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans* [J]. Nature, 2000, 403(6772): 901 - 906.
- [10] Llave C, Kasschau K D, Rector M A, et al. Endogenous and silencing - associated small RNAs in plants [J]. The Plant Cell, 2002, 14(7): 1605 - 1619.
- [11] Mette M F, Van Der Winden J, Matzke M, et al. Short RNAs can identify new candidate transposable element families in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2002, 130(1): 6 - 9.
- [12] Park W, Li J, Song R, et al. CARPEL FACTORY, a Dicer homolog, and HEN1, a novel protein, act in microRNA metabolism in *Arabidopsis thaliana* [J]. Current Biology, 2002, 12(17): 1484 - 1495.
- [13] Reinhart B J, Weinstein E G, Rhoades M W, et al. MicroRNAs in plants [J]. Genes & Development, 2002, 16(13): 1616 - 1626.
- [14] Lee Y, Kim M, Han J, et al. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II [J]. The EMBO Journal, 2004, 23(20): 4051 - 4060.
- [15] Kurihara Y, Watanabe Y. *Arabidopsis* micro - RNA biogenesis through Dicer - like 1 protein functions [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(34): 12753 - 12758.
- [16] Voinnet O. Origin, biogenesis, and activity of plant microRNAs [J].

- Cell, 2009, 136(4): 669–687.
- [17] Chen X, Liu J, Cheng Y, et al. *HEN1* functions pleiotropically in *Arabidopsis* development and acts in C function in the flower[J]. Development, 2002, 129(5): 1085–1094.
 - [18] Bollman K M, Aukerman M J, Park M Y, et al. HASTY, the *Arabidopsis* ortholog of exportin 5/MSN5, regulates phase change and morphogenesis[J]. Development, 2003, 130(8): 1493–1504.
 - [19] Schwarz D S, Hutvágner G, Du T, et al. Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex[J]. Cell, 2003, 115(2): 199–208.
 - [20] Vaucheret H. Plant ARGONAUTES[J]. Trends in Plant Science, 2008, 13(7): 350–358.
 - [21] Mallory A, Vaucheret H. Form, function, and regulation of ARGONAUTE proteins[J]. The Plant Cell, 2010, 22(12): 3879–3889.
 - [22] Bartel B, Bartel D P. MicroRNAs: at the root of plant development? [J]. Plant Physiology, 2003, 132(2): 709–717.
 - [23] Burkhead J L, Reynolds K A G, Abdel – Ghany S E, et al. Copper homeostasis[J]. New Phytologist, 2009, 182(4): 799–816.
 - [24] Liang G, Ai Q, Yu D. Uncovering miRNAs involved in crosstalk between nutrient deficiencies in *Arabidopsis* [J]. Scientific Reports, 2015, 5: 11813.
 - [25] Gielen H, Remans T, Vangronsveld J, et al. Toxicity responses of Cu and Cd; the involvement of miRNAs and the transcription factor SPL7[J]. BMC Plant Biology, 2016, 16(1): 145.
 - [26] Paul S, Datta S K, Datta K. miRNA regulation of nutrient homeostasis in plants[J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 6: 232.
 - [27] Pilon M. The Copper microRNAs[J]. The New Phytologist, 2017, 213(3): 1030–1035.
 - [28] Liang M, Davis E, Gardner D, et al. Involvement of *AtLAC15* in lignin synthesis in seeds and in root elongation of *Arabidopsis* [J]. Planta, 2006, 224(5): 1185–1196.
 - [29] Berthet S, Demont – Caulet N, Pollet B, et al. Disruption of LACCASE4 and 17 results in tissue – specific alterations to lignification of *Arabidopsis thaliana* stems [J]. The Plant Cell, 2011, 23(3): 1124–1137.
 - [30] Abdel – Ghany S E, Pilon M. MicroRNA – mediated systemic down – regulation of copper protein expression in response to low copper availability in *Arabidopsis* [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2008, 283(23): 15932–15945.
 - [31] Wang C Y, Zhang S, Yu Y, et al. MiR397b regulates both lignin content and seed number in *Arabidopsis* via modulating a laccase involved in lignin biosynthesis [J]. Plant Biotechnology Journal, 2014, 12(8): 1132–1142.
 - [32] Zhang Y C, Yu Y, Wang C Y, et al. Overexpression of microRNA OsmiR397 improves rice yield by increasing grain size and promoting panicle branching[J]. Nature Biotechnology, 2013, 31(9): 848–852.
 - [33] Lu S, Sun Y H, Chiang V L. Stress – responsive microRNAs in *Populus* [J]. The Plant Journal, 2008, 55(1): 131–151.
 - [34] Lu S, Yang C, Chiang V L. Conservation and diversity of microRNA – associated copper – regulatory networks in *Populus trichocarpa* [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2011, 53(11): 879–891.
 - [35] Yamasaki H, Abdel – Ghany S E, Cohu C M, et al. Regulation of Copper homeostasis by micro – RNA in *Arabidopsis* [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2007, 282(22): 16369–16378.
 - [36] Bonnet E, Wuyts J, Rouzé P, et al. Detection of 91 potential conserved plant microRNAs in *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa* identifies important target genes [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(31): 11511–11516.
 - [37] Dugas D V, Bartel B. Sucrose induction of *Arabidopsis* miR398 represses two Cu/Zn superoxide dismutases [J]. Plant Molecular Biology, 2008, 67(4): 403–417.
 - [38] Sunkar R, Kapoor A, Zhu J K. Posttranscriptional induction of two Cu/Zn superoxide dismutase genes in *Arabidopsis* is mediated by downregulation of miR398 and important for oxidative stress tolerance[J]. The Plant Cell, 2006, 18(8): 2051–2065.
 - [39] Lu Y, Feng Z, Bian L, et al. miR398 regulation in rice of the responses to abiotic and biotic stresses depends on *CSD1* and *CSD2* expression[J]. Functional Plant Biology, 2011, 38(1): 44–53.
 - [40] 鲁玉柱, 封 振, 边黎颖, 等. 过表达抗 miR398 的 *OsmCSD2* 基因提高水稻的重金属抗性[J]. 植物生理学报, 2011, 47(11): 1064–1068.
 - [41] Schuetz M, Benske A, Smith R A, et al. Laccases direct lignification in the discrete secondary cell wall domains of protoxylem[J]. Plant Physiology, 2014, 166(2): 798–807.
 - [42] Weigel M, Varotto C, Pesaresi P, et al. Plastocyanin is indispensable for photosynthetic electron flow in *Arabidopsis thaliana* [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2003, 278(33): 31286–31289.
 - [43] Sunkar R. MicroRNAs with macro – effects on plant stress responses [J]. Seminars in Cell & Developmental Biology, 2010, 21(8): 805–811.
 - [44] Cuperus J T, Fahlgren N, Carrington J C. Evolution and functional diversification of MIRNA genes[J]. Plant Cell, 2011, 23(2): 431–442.
 - [45] Zhang H, Li L. SQUAMOSA promoter binding protein – like7 regulated microRNA408 is required for vegetative development in *Arabidopsis* [J]. The Plant Journal, 2013, 74(1): 98–109.
 - [46] Turlapati P V, Kim K W, Davin L B, et al. The laccase multigene family in *Arabidopsis thaliana*; towards addressing the mystery of their gene function(s) [J]. Planta, 2011, 233(3): 439–470.
 - [47] Zhao Y, Lin S, Qiu Z, et al. MicroRNA857 is involved in the regulation of secondary growth of vascular tissues in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2015, 169(4): 2539–2552.
 - [48] Ágyi Á. Mechanism of operation of micro – RNAs involved in plant viral infection and fruit development [D]. Budapest, Hungary: Faculty of Science Biology, Eötvös Loránd University, 2014: 1–11.
 - [49] Geng M, Li H, Jin C, et al. Genome – wide identification and characterization of miRNAs in the hypocotyl and cotyledon of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis*) seedlings [J]. Planta, 2014, 239(2): 341–356.
 - [50] Zhu Y Y, Zeng H Q, Dong C X, et al. microRNA expression profiles associated with phosphorus deficiency in white lupin (*lupinus albus* L.) [J]. Plant Science, 2010, 178(1): 23–29.
 - [51] Zhang Y, Yin Z, Feng X. Differential expression of microRNAs between 21A genetic male sterile line and its maintainer line in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. J Plant Studies, 2014, 3(1): 13–27.
 - [52] Tran L T, Constabel C P. The polyphenol oxidase gene family in poplar: phylogeny, differential expression and identification of a

官秀杰,钱春荣,于 洋,等. 我国玉米秸秆还田现状及效应研究进展[J]. 江苏农业科学,2017,45(9):10-13.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.09.003

我国玉米秸秆还田现状及效应研究进展

官秀杰,钱春荣,于 洋,葛选良

(黑龙江省农业科学院耕作栽培研究所/农业部东北地区作物栽培科学观测实验站,黑龙江哈尔滨 150086)

摘要:玉米秸秆还田是秸秆综合利用的一项主要措施,它不仅可以补充和平衡土壤养分,还可以有效地改善土壤结构。本文对我国玉米秸秆还田现状、玉米秸秆还田对土壤物理性状、土壤肥力和土壤生物性状的影响以及秸秆还田对玉米产量影响等方面的研究进行综述。在此基础上,提出了秸秆还田存在的问题和建议,为秸秆还田在更大范围内的应用推广提供理论参考。

关键词:玉米;秸秆还田;现状;效应;研究进展

中图分类号: S141.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)09-0010-04

玉米是我国第一大粮食作物,发展潜力巨大,播种面积及单产逐年上升,玉米秸秆作为其生物副产品,资源极为丰富,仅 2010 年玉米秸秆总生产量便超过 2.2 亿 t^[1]。玉米秸秆作为一种具有再生能力的有机质能源,如何对其进行有效利用,对维持玉米产业的可持续发展、农田立体生态的良性循环都具有重要意义。但是,我国玉米秸秆的利用却长期处于高消耗、高污染、低产出的状态。过去玉米秸秆以作为生活燃料为主,少量用于饲养家畜,随着农村生活质量的提高,以秸秆作为生活燃料的情况已不多见,为解决大量秸秆过剩问题,多数农户选择了直接焚烧,浪费了资源,污染了环境^[2-3]。近年来,随着技术的发展,玉米秸秆的利用逐步向肥料、饲料、食用菌基料、工业原料和燃料等多个领域延伸,尤其是随着我国耕地土壤养分含量下降、理化指标变差及地下水污染等问题的出现^[4],玉米秸秆还田作为一种清洁能源补充手段得到了较大发展,成为土壤基质改良的主要手段之一,既增效又环保,对玉米产业的可持续发展起到了很好的助推作用。

1 玉米秸秆还田现状

我国的玉米秸秆资源丰富,总量常年在 2 亿 t 以上,是一

笔巨大的可再生资源,但还田工作起步较晚,技术尚有待完善,还田比例也相对较低,2010 玉米秸秆还田比例仅为 17.60%^[1],与美国 68% 的还田比例和英国 73% 的还田比例相比,存在着不小的差距^[5]。从还田方式上来看,主要包括直接还田、间接还田及综合还田 3 种方式,受环境条件和耕作制度影响,各种植区在操作上有一定差别。

直接还田包括覆盖还田和翻压还田 2 种方式。我国秸秆覆盖还田技术的研究始于 20 世纪 70 年代,山西、陕西、吉林、黑龙江等省相继开展了以秸秆覆盖为主,少耕、免耕技术为辅的保护性耕作技术体系研究,方式以整株还田覆盖为主;此后,随着农艺及农机技术的革新,秸秆粉碎后覆盖还田又逐步成为主流趋势。覆盖还田方式操作简便,省时省工,优点是可以减少土壤中水分的蒸发,达到保墒的目的;秸秆腐烂后增加土壤有机质含量,优化土壤结构,促进生物循环。秸秆作为不利导体,可通过启温作用和降温作用实现对土壤温度的有效调节,缺点是不利于灌溉及影响播种。因此,覆盖还田方式只对于干旱地区及北方玉米产区相对适用^[6]。我国翻压还田技术的研究始于 20 世纪 90 年代,是为解决土壤肥力日趋下降的问题而逐步发展起来的,经过多年努力,初步形成了适用于我国的翻压还田技术体系,研制出了一批相对适用的农业机械^[7-8]。目前的大体操作为通过农业机械将玉米秸秆粉碎成 <10 cm 的茎段,均匀抛洒于地表,于秋季或春季配合化肥一同翻入土壤中压平,深度以 20~30 cm 为宜。翻压还田操作简便,但对农业机械要求较高,优点是秸秆中的营养物质得以全部保留,分解速度得以加快,可以更加有效地改良土壤的理化性状,改善土壤的微生物环境,提高土壤的肥育能力,实

novel, vacuolar isoform[J]. *Planta*, 2011, 234(4):799-813.

[53] Ravet K, Danford F L, Dihle A, et al. Spatiotemporal analysis of copper homeostasis in *Populus trichocarpa* reveals an integrated molecular remodeling for a preferential allocation of copper to plastocyanin in the chloroplasts of developing leaves[J]. *Plant Physiology*, 2011, 157(3):1300-1312.

[54] 崔秀娜,袁丽钊,苏晓娟,等. miR1444a 参与毛果杨对锌胁迫的响应[J]. *中国科学:生命科学*, 2012, 42(10):850-860.

[55] Quinn J M, Barraco P, Eriksson M, et al. Coordinate copper- and

oxygen-responsive *Cyc6* and *Cpx1* expression in *Chlamydomonas* is mediated by the same element[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275(9):6080-6089.

[56] Yamasaki H, Hayashi M, Fukazawa M, et al. SQUAMOSA promoter binding protein-like7 is a central regulator for copper homeostasis in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2009, 21(1):347-361.

[57] 冷翔鹏,孙 欣,房经贵,等. 波尔多液作用机理及其在果树生产上的应用与相应药害研究进展[J]. *江苏农业科学*, 2012, 40(2):97-99.