

唐孟泉,黄佳欢,陈瑾元,等. 植物的铜稳态研究综述[J]. 江苏农业科学,2019,47(10):305-311.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.10.067

植物的铜稳态研究综述

唐孟泉¹, 黄佳欢¹, 陈瑾元¹, 王 琪², 许志茹^{1,2}

(1. 东北林业大学生命科学学院, 黑龙江哈尔滨 150040; 2. 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)

摘要:微量元素在植物生长发育过程中是必不可少的,因此研究植物内各种微量元素的稳态具有重要意义。铜在光合作用、呼吸作用、乙烯感应、活性氧清除和细胞壁重塑中发挥重要作用。铜的运输是由一组进化上高度保守的转运蛋白和金属伴侣共同完成的。由于根中转运蛋白的调控和高铜含量土壤非常稀缺,使得植物组织中的铜含量一般不会过高。然而,铜的利用率会降低植物的生产能力。由于某些功能保守的基因的控制,植物会响应铜缺乏的外界环境。植物主要通过 Ctr/COPT 铜转运家族转运蛋白家族从细胞外吸收铜,之后由铜伴侣蛋白及 P 型 ATP 酶将铜运输到各细胞器中。铜在木质部的运输及铜从衰老叶片到嫩叶与生殖组织中进行的再分配都须要烟酰胺发挥作用。此外,铜的再分配过程须要黄色条纹状(yellow stripe-like,简称 YSL)转运体及铜伴侣蛋白 CCH 的参与,其中 CCH 蛋白存在于植物的韧皮部。当铜供给不足时,植物中增加铜吸收的系统会被激活,并且使铜能更有效地被利用。一些参与铜调控的小分子 RNA 会下调某些不重要的铜蛋白的表达量。低铜条件下,主要的铜应答转录因子 SPL7 既可以激活参与铜吸收的基因的表达,又可以上调某些 Cu-microRNAs 的表达量。这种调节允许光合自养生物生长所需的最重要的含铜蛋白质(如质体蓝素)在一定的铜浓度范围内保持活性,这更有利于植物的生长。植物中铜过量会造成活性氧的快速积累,活性氧会破坏核酸、氧化蛋白并导致脂质过氧化,从而影响细胞的诸多功能,对细胞产生毒害。细胞内铜过量时会上调金属硫蛋白(metallothionein,简称 MT)的表达以减少细胞质中游离铜离子的含量。主要阐述植物中铜稳态的作用及其研究进展,以及植物对铜的吸收与再分配过程,同时对铜在细胞内的传递及细胞内铜稳态的调控进行简单概述。并对大部分重要的含铜蛋白的研究进行简要描述。由于高等植物中铜蛋白的研究报道还较少,因此对植物中铜稳态的研究概述可以加强研究者对含铜蛋白质生物学功能的了解,同时也可以为进一步阐明植物吸收利用铜的分子机制提供依据。

关键词:铜稳态;铜转运体;铜伴侣蛋白;Cu-microRNAs;其他含铜蛋白

中图分类号: Q581;S184 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)10-0305-07

过渡金属铜是质体蓝素、细胞色素 C 等蛋白质的辅因子,参与叶绿体和线粒体的电子传递、乙烯感应和抗氧化胁迫反应等过程。生物体缺铜会影响自身生长发育;铜过量时会造成活性氧的积累,对膜、蛋白质、核酸产生氧化毒害。此外,铜还能取代其他蛋白质中的必需金属元素^[1]。因此,生物体在进化过程中形成了特定的调节机制严格控制体内的铜含量。

植物中许多在铜稳态过程中发挥作用的关键成分在进化上是保守的。蓝藻获得的铜传递给细胞色素 C 氧化酶和类囊体内腔光合电子载体质体蓝素。一些集胞藻和鱼腥藻在铜缺乏条件下利用细胞色素 C₂ 代替质体蓝素^[2]。在集胞藻中,铜是由质膜上的 CtaA 和类囊体膜上的 PacS 这 2 个 P 型 ATP 酶传递的。PacS 类似于海氏肠球菌的 CopB,其作用是使铜从胞浆中排出^[3]。集胞藻 PCC6803 的铜伴侣蛋白 ATX1 只与 CtaA 和 PacS 相互作用,为质体蓝素和细胞色素 C 氧化酶提

供铜^[4]。

铜在真核绿藻莱茵衣藻中的主要结合目标是质体蓝素、细胞色素 C 氧化酶和 Fox1。Fox1 是一个酵母细胞表面铁还原酶的同源物^[5]。衣藻中存在 Ctr 转运体和 3 个铜转运 P 型 ATP 酶的同系物,其中 2 个 P 型 ATP 酶有可能是蓝藻 CtaA 和 PacS 或高等植物 PAA1 和 PAA2 的功能同系物,都能为质体蓝素提供铜离子^[6]。衣藻蛋白铜响应调节器 1(copper response regulator 1,简称 CRR1)是应答铜缺乏条件的转录因子。CRR1 的靶基因含有 1 个铜应答调控元件 GTAC,低铜条件下 CRR1 的激活作用须要此顺式作用元件参与。CRR1 与高等植物转录因子 SPL(squamosa promoter binding protein-like)功能相似^[7],包含转录因子中的 1 个保守结构域 SBP 和羧基末端富含半胱氨酸(Cys)的区域。

高等植物拟南芥中存在转运蛋白和铜伴侣蛋白共同应答铜胁迫的调控模式,其中,通过 COPT2、ZIP2、CCH 等基因的转录水平与铜含量成反比可知,这些蛋白质在铜稳态的调节过程中是必需的^[8]。此外,葡萄中转运蛋白、铜伴侣蛋白和 P 型 ATP 酶也共同控制细胞内的铜平衡^[9]。

1 铜在植物中的作用

土壤中的铜浓度范围为 3 ~ 110 μg/g,平均丰度为 55 μg/g^[10]。铜的平均丰度与锌相当,但与铁、铝、锰相比则

收稿日期:2018-03-06

基金项目:国家自然科学基金面上项目(编号:31470664);中央高校基本科研业务费专项资金项目(编号:2572017EA05)。

作者简介:唐孟泉(1993—),男,湖南永州人,硕士研究生,主要从事植物铜伴侣蛋白研究。E-mail:1426926639@qq.com。

通信作者:许志茹,博士,副教授,主要从事植物铜体内平衡及调节机理、花青素合成的分子机理研究。E-mail:xuzhiru2003@126.com。

较低。植物对铜的有效吸收取决于不同的土壤类型。铜离子,特别是 Cu^{2+} ,与有机物有很高的亲和力,因此有机土壤更可能是铜缺乏土壤^[11]。有报道称植物中的铜含量范围在 2 ~ 50 $\mu\text{g/g}$ 之间^[12],通常情况下,植物组织中铜含量降低到 5 $\mu\text{g/g}$ 以下时表现为铜缺乏,铜含量大于等于 20 $\mu\text{g/g}$ 时则会产生铜毒害^[11]。

铜是植物中重要的微量元素,在植物中发现的主要含铜蛋白如表 1 所示。植物在缺铜时生长速度减慢,嫩叶畸变或

变白(萎黄病),叶缘卷曲,顶端分生组织受损,甚至会造成果实产量减少^[12]。细胞壁的形成速度降低和一些组织(包括木质部组织)木质化引起的水分运输受阻是铜缺乏导致的^[11]。由于植物的根会优先积累铜,所以土壤中铜浓度过量首先会减缓植物根系的生长^[13]。铜毒害最常见的症状是营养组织黄化,植物的铁吸收能力降低,甚至出现铁吸收缺陷^[11]。幼苗中,叶绿体的类囊体膜,特别是光系统 II (PS II),是铜毒害的主要目标之一^[14]。

表 1 植物中主要铜蛋白的功能和细胞定位

铜蛋白	细胞定位	主要功能
质体蓝素	类囊体内腔	参与电子传递
细胞色素 C 氧化酶	线粒体内膜	参与电子传递,作为质子泵和末端氧化酶
Cu/Zn 超氧化物歧化酶(CSD)	CSD1 在细胞质,CSD2 在基质,CSD3 在过氧化物酶体	参与超氧化物的歧化: $2\text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$
乙烯受体	内质网	参与激素的感知和信号转导
漆酶	质外体	参与细胞壁重塑和酚类化合物的新陈代谢
抗坏血酸氧化酶	质外体	在细胞扩增、耐盐过程中发挥作用
胺氧化酶	质外体	参与细胞壁分化、伤口愈合及对病原体的反应
Plantacyanin	质外体	在繁殖中发挥作用
多酚氧化酶	类囊体内腔	在伤害和病原体反应中起作用;单元酚转换为二元酚,二羟基酚类物质转化为邻醌

2 铜的吸收与再分配

2.1 铜的吸收

铜通过 COPT 家族转运蛋白进入植物根细胞的细胞质。COPT 转运体属于保守的 Ctr 家族,拟南芥中存在 5 个 COPT 家族成员,COPT1 定位于质膜,在根中大量表达,其表达量受低铜水平的调控^[15-17];COPT2 定位于液泡,在茎中大量表达的 COPT2 是细胞表面最主要的铜吸收蛋白^[16,18];COPT3 定位于质膜上,主要负责将铜从胞内运输到胞外^[19];COPT5 定位于液泡,其功能是在铜缺乏条件下把液泡内的铜运输到细胞质中^[20]。此外,拟南芥中铜在器官间的再分配须要液泡膜上的铜转运蛋白 COPT5 发挥作用^[21]。

COPT/Ctr 类蛋白运输还原型铜^[22]。大多数的 COPT/Ctr 转运蛋白的氮末端的甲硫氨酸区域参与铜的结合,促进铜的运输^[23]。拟南芥 COPT1、COPT2、COPT3、COPT5、ZIP2、ZIP4 都能恢复酵母 *ctr1Δ* 突变体对铜的高亲和力吸收功能。因此,ZIP2、ZIP4 也负责植物细胞对铜的吸收。ZIP2 在根中的表达量相对较高,而 ZIP4 在叶片中的表达量较高^[16,18]。

铜过量会上调富含半胱氨酸的金属硫蛋白(MT)的表达,用来缓冲细胞内的铜浓度。在关于酵母细胞中金属硫蛋白过量表达的研究结果显示,拟南芥中 4 种类型的 MT 在结合铜和锌的过程中都能发挥作用^[24-25]。此外,拟南芥可以通过螯合和运输铜到细胞外的机制来避免因铜过量引起的细胞质损伤。

2.2 铜由根到地上部分的运输及再分配

铜在进入木质部前是从根的共质体中运出的。蒸腾作用会让铜离子由木质部到达成熟叶片,然后将其运输到韧皮部,最终到达库组织(指消耗养料或储藏养料的器官),如新生叶子、花、种子。P 型 ATP 酶如 HMA5 位于质膜上,作用是把一价铜离子运输到细胞外。HMA5 基因主要在根和花中表达;

铜过量时,HMA5 基因的表达量上调^[26]。有报道称,蛋白 COPT1 能把铜运往根细胞内^[17,27]。

铜的长距离运输有螯合剂如氨基酸衍生化合物烟酰胺的参与。烟酰胺是一种金属螯合物,在植物中参与铁和其他金属离子的运输。烟酰胺对铜离子具有高亲和力,会使铜在不含烟酰胺的番茄植株的木质部中的运输效率大大降低,当外源给予烟酰胺时,突变体木质部中的铜离子水平恢复到野生型植株的铜离子水平^[28]。缺乏烟酰胺的烟草植物的叶中缺乏铁、锌、铜,并且表现出生殖缺陷^[29]。上述结果均表明,烟酰胺参与了铜等金属离子在木质部中的运输过程。烟酰胺的另一个功能是参与高亲和力的铁的吸收过程。此外,黄色条纹状(yellow stripe-like,简称 YSL)转运体可能参与了其他细胞吸收金属螯合物(烟酰胺)的过程。拟南芥基因组编码了 8 个 YSL 转运体^[30]。YSL1、YSL2、YSL3 在叶片衰老时参与铜的再分配过程^[31]。YSL2 在铜缺乏时表达量显著上调^[32]。当铜过量时,YSL1 和 YSL3 蛋白含量下降^[33]。YSL 转运体的作用可能是在组织间重新分配矿物质,因此韧皮部中烟酰胺的含量较高。烟酰胺不仅能结合金属离子,且其氮含量较高,所以植物的库组织接收了烟酰胺等同于同时接收氮和必需的金属离子,这将有利于植物的生长发育。

COPT 转运体家族还参与了从叶片和其他地上部分器官的共质体中吸收铜的过程,此过程须要在细胞表面对铜离子进行还原。在拟南芥中,大部分生殖组织中的铁、锰、铜离子似乎是通过维管系统从根部直接进行运输的。此外,拟南芥生殖组织会通过韧皮部吸收并转移营养组织中包括铜在内的一些矿物元素^[34]。拟南芥铜伴侣蛋白 CCH 在衰老叶片中的表达量上调^[35-36],在韧皮部分泌液中能够检测到 CCH 蛋白,由此推测,拟南芥铜伴侣蛋白 CCH 中植物特有的羧基末端结构域可能参与了通过胞间连丝进行的铜运输过程。金属硫蛋白家族成员 MT1a 和 MT2b 可能参与了拟南芥中铜在韧皮部

运输过程,MT1 在拟南芥植株衰老过程中表达量上调^[24,36]。

3 细胞内铜的传递

3.1 铜在内膜系统中传到乙烯受体和质外体

拟南芥中重金属转运 P 型 ATP 酶有 8 个成员(HMA1 ~ HMA8),其中 RAN1 的功能是最先被鉴定出来^[37]。酵母和哺乳动物细胞中 RAN1 同系物的功能是将铜从细胞质运输到细胞外^[38]。植物中铜传递到乙烯受体需要 RAN1/HMA7 基因的产物。拟南芥 RAN1 是酵母和人类的铜转运 P 型 ATP 酶的功能同系物,在内膜系统中发挥功能,它可以将铜传递给乙烯受体,而乙烯受体的生物合成需要铜^[39]。RAN1 结合的铜离子可能来源于 ATX1 和 CCH^[26]。最新的研究表明,利用小分子 Triplin 整合铜离子的试验证实了铜是从 ATX1 传递给 RAN1 的,此过程是乙烯受体生物合成和信号转导所必需的^[40]。

拟南芥 HMA5 是 RAN1 的同源物^[37]。与 *ran1* 突变体植株不同的是,拟南芥 *hma5* 突变体不表现感知乙烯信号的相关缺陷。研究表明,*ran1* 与 *hma5* 功能缺失突变体在细胞增殖方面都存在缺陷,由于缺乏 RAN1 和 HMA5,铜无法传递到需要铜的质外体氧化酶和漆酶,而质外体氧化酶和漆酶均参与了细胞壁的形成过程,进而影响了 *ran1* 和 *hma5* 突变体细胞的增殖^[27]。此外,质外体抗坏血酸氧化酶还在细胞增殖、烟草和拟南芥的耐盐性能中发挥作用^[41]。拟南芥质外体中的另一个铜蛋白 plantacyanin 在柱头引导花粉管形成过程中起作用^[42]。

3.2 胞浆的铜伴侣蛋白

拟南芥中有 2 个与酵母 ScATX1 同源的蛋白,分别为 AtATX1、AtCCH。AtATX1 定位在细胞质中,功能是把铜传递给重金属 P 型 ATP 酶。AtATX1 和 AtCCH 蛋白可以恢复酵母 *atx1* 与 *sod1* 突变体的相关功能缺陷。不同于 ScATX1 和 AtATX1 蛋白,拟南芥 CCH 蛋白具有植物特有的羧基末端延伸区^[35,43]。酵母双杂交结果显示,拟南芥 ATX1 能与 HMA5 的 N-末端相互作用^[43];完整的 CCH 蛋白不能与 HMA5 蛋白相互作用,在删除羧基末端结构域之后可以实现相互作用^[27,43]。酿酒酵母中 Cd^{2+} 结合 ATX1 后会影响到 ATX1 和 CCC2 之间的相互作用^[44]。拟南芥 CCH 基因在维管组织周围表达,在韧皮分泌物中可以检测到该蛋白。CCH 蛋白通过胞间连丝运输到无核细胞(如筛管成分)可能需要 CCH 羧基末端结构域的参与,这提供了一种细胞间铜转运的共质体途径。铜缺乏、衰老、氧化应激和茉莉酸处理是导致拟南芥 CCH 基因表达上调的原因^[36,43]。拟南芥 ATX1 的过量表达会提高植物对铜胁迫的耐受性,此过程需要 ATX1 的铜结合基序 MXCXXC 发挥作用^[26]。

植物中超氧化物歧化酶(SOD)的铜伴侣 CCS 已经在番茄^[45]、马铃薯^[46]、玉米^[47]和拟南芥^[48]中被鉴定。拟南芥只有 1 个酵母 CCS 功能同系物^[49]。当这个全长的拟南芥蛋白融合绿色荧光蛋白(GFP)后只定位于叶绿体^[50];然而,在 CCS 突变体中,3 种铜锌超氧化物歧化酶的活性都受到影响^[49]。因此,质体中的 CCS 将铜传递给 CSD2,细胞质中的 CCS 为 CSD1 和 CSD3 提供铜。CSD2 的成熟需要 CCS 传递的铜,CSD1 的成熟不需要 CCS,但是无 CCS 蛋白时其成熟效率

很低^[51]。研究表明,CCS 的 N 末端结构域能促使铜离子从 CCS 释放并结合到 SOD1 上^[52]。

3.3 铜转运至线粒体

线粒体基质是包括铜在内的金属的储存场所^[53]。酵母 Cox19 蛋白参与了功能性细胞色素 C 氧化酶的形成^[54]。拟南芥 Cox17 是线粒体膜间隙中参与铜传递到细胞色素 C 氧化酶的可溶性蛋白;此外,细胞色素 C 氧化酶还需要其他的线粒体铜伴侣蛋白激活,Cox11 和 Sco1 是植物中保守的线粒体铜伴侣蛋白,负责把铜离子结合到细胞色素 C 氧化酶上^[54]。拟南芥中有 2 个 *Cox17* 基因,在酵母 *cox19* 突变体中都可以发挥功能互补作用^[55]。研究发现,盐胁迫处理后,*atcox17-1* 和 *atcox17-2* 突变体都可以正常生长发育,细胞色素氧化酶也具有活性,但是会出现盐胁迫应答基因的表达量降低、活性氧升高和脂质过氧化等现象,由此说明 AtCox17 可能参与拟南芥中一组胁迫响应基因的表达调控^[56]。

3.4 向叶绿体传递铜

在植物叶绿体中,铜传递给类囊体腔的质体蓝素和基质中的 CSD2,其中质体蓝素和 CSD2 都是核基因编码的。质体蓝素参与光合作用,对植物的生长发育至关重要,因此,当铜缺乏时,植物体调节细胞内铜离子的分布,优先将铜传递给质体蓝素,从而保证光合作用能够正常进行^[57-58]。PAA1 和 PAA2 编码铜转运 P 型 ATP 酶,分别位于叶绿体内膜和类囊体膜上^[59]。拟南芥 *paa1* 和 *paa2* 突变体的相关研究表明,铜传递到质体蓝素和电子传递途径需要这 2 个转运蛋白的参与;此外,这 2 种转运蛋白具有不同功能,在 *paa1* 突变体中,铜无法被运输到基质和 CSD2,但在 *paa2* 突变体中无此现象。因此,PAA1 和 PAA2 可能分别是 CtaA 和 PacS 的功能同系物。*paa1paa2* 双突变体可使幼苗致死^[60],由此说明铜对光合作用至关重要及质体蓝素在拟南芥光合自养生长中的重要作用^[58]。有趣的是,通过外界补充铜可以减轻 *paa1* 突变体和 *paa2* 突变体(但不是 *paa1paa2* 双突变体)植株的表型症状,由此说明,植物细胞中可能存在另一种途径将铜传递给叶绿体。与 *paa2* 突变体相比,*paa1* 突变体对铜过量更敏感^[60],此研究结果与类囊体膜是铜毒害的主要目标这一观点^[61]一致。

许多铜转运 P 型 ATP 酶可以与铜伴侣的氨基末端重金属结合的结构域相互作用^[62]。蓝藻细胞膜上有 3 种 P 型 ATP 酶,分别参与铜(CtaA)、锌(ZiaA)、钴(Co, CoA)的吸收。Atx1 的功能是把铜传递给重金属转运 P 型 ATP 酶 PacS, PacS 再把铜传递到类囊体。PacS 和 ZiaA 的氨基末端结构域结合相应的金属离子(分别为铜,锌),但铜结合 ZiaA 氨基末端结构域的能力比锌强。此外,蓝藻细胞中 ZiaA 的氨基末端不能接受 Atx1 传递的铜,因为这 2 个蛋白质不能相互作用^[63]。因此,蓝藻铜伴侣蛋白 Atx1 可以促进铜传递到正确的靶蛋白上,同时防止错误的相互作用发生。由此推测,如果转运体的拓扑结构允许,PAA1 和 PAA2 的氨基末端的 HMB 结构域有可能发生相互作用,PAA1 则有可能作为 PAA2 的铜伴侣行使铜传递功能,反之亦然,这一现象是否存在尚需相关试验验证。

3.5 液泡在铜稳态中的作用

酵母细胞质中某些物质的整合能力保证了每个细胞内没有游离的铜离子存在。那么铜是如何传递给细胞器的呢?植

物的线粒体和质体都是重要的铜储存部位(绿色细胞中的大部分铜储存在叶绿体中),但没有特定的铜伴侣直接把铜运输到这些细胞器表面。事实上,植物细胞的细胞器通常靠近液泡膜。因此,一个金属离子从液泡膜运输到各类细胞器只是一个很短的距离,之后铜离子就能与 PAA1 类的转运蛋白结合。叶绿体、液泡和细胞壁是主要的铜积累位点^[61]。

4 铜稳态的调控

4.1 铜转运体等蛋白在细胞铜稳态中的作用

植物通过调节铜的吸收和分布来响应环境的铜胁迫。转运体 COPT1 和 COPT2 在高铜含量时下调表达,COPT3 ~ COPT5 的表达不受铜浓度影响^[16]。铜含量较高的条件下,根中把铜运入细胞的 COPT1 表达量下调,而将铜运出细胞的 HMA5 表达量上调,这说明根中存在反馈机制来调节细胞内的铜浓度。此外,转录调节因子 SPL7 也调节 COPT1 和 COPT2 的表达水平^[64]。低铜含量的条件下,转运体 ZIP2 和 ZIP4 的表达量上调,但这 2 种蛋白质的表达量受锌浓度的影响较大。研究发现,在铜和锌缺乏的条件下,叶中的 COPT2 表达量上调。铜缺乏时,根中 *AtOPT3* 和 3 个烟酰胺合成酶基因的表达式上调^[18]。2 个 YSL 转运蛋白(YSL2 和 YSL3)参与植物衰老过程中铜的重新分布^[65]。这些蛋白共同调节植物细胞中的铜稳态以应答环境的铜胁迫。

4.2 铜稳态涉及的 microRNAs

铜稳态机制的一个重要组成部分是通过下调一些不重要的含铜蛋白,优先把铜传递给质体蓝素和其他重要的铜蛋白。铜的可利用性是植物铜锌超氧化物歧化酶基因表达的主要因素^[66]。Wintz 等的研究表明,铜锌超氧化物歧化酶基因(*CSD1* 和 *CSD2*)及其铜伴侣 CCS 在低铜条件下表达下调,通过这一共同调节的方式响应铜胁迫^[18]。除了铜锌超氧化物歧化酶(Cu/Zn SOD),植物在叶绿体基质中还存在铁超氧化物歧化酶(FeSOD)。在铜含量较低条件下,铁超氧化物歧化酶 FSD1 具有活性,Cu/Zn SOD 不表达,铜可以优先供给类囊体腔的质体蓝素。高铜条件下,FSD1 不表达,Cu/Zn SOD 成为铜在基质中主要的传递目标^[50,60,66]。因此,拟南芥通过控制 Cu/Zn SOD 和 FeSOD 的表达来响应铜胁迫^[66];拟南芥中铜的缺乏并不影响质体蓝素 mRNA 的积累^[67]。此外,铜通过控制 1 个 microRNA 即 miR398 的表达来调控 *CSD2* 的含量^[68]。miR398 的结构目标是 *CSD1*、*CSD2*、*CCS* 和 *COX5b* mRNA^[69]。

功能保守的 miR398 家族有 3 个成员,包括 miR398a、miR398b、miR398c。Sunkar 等提出 miR398 参与了拟南芥抗氧化应激胁迫的调控^[70]。拟南芥 miR398 和 miRNA 靶向结合位点的分析结果显示,miR398 调控 *CSD1* 和 *CSD2* 的表达式^[68]。拟南芥中铜的含量是决定 miR398 表达的主要因素^[69]。通过剪切产物 5' - RACE 法在拟南芥中证实了 miR397 和 miR408 的结合位点,它们以参与木质化的 2 种铜酶 LAC4 和 LAC17 的转录产物为靶位点^[71],miR408 也可以结合植物质外体铜蛋白 plantacyanin 的转录产物^[67]。miR1444 的靶位点是多酚氧化酶(PPO)的转录产物^[72]。由于这些 miRNA 的靶目标都编码铜蛋白,当前的研究将 miR397、miR398、miR408、miR1444 统称为 Cu - microRNAs。

Cu - microRNAs 的结合位点是铜应答相关基因的表达产物^[67],这些 Cu - microRNAs 的表达量在低铜条件下上升,在高铜条件下下降或不表达。

4.3 转录因子 SPL7 的调控

衣藻蛋白 CRR1 是一种转录因子,在铜缺乏时上调特定基因的表达^[7]。CRR1 的靶基因(如 *CYC6* 和 *CPX1*)在启动子区域含有序列 GTAC。植物中,Cu - microRNAs 和 FeSOD 的启动子区域有高频出现的序列 GTAC,拟南芥 miRNA398c 等 Cu - miRNAs 和 FSD1 在低铜条件下表达上调。SPL7 是植物中保守的铜应答调控因子。拟南芥 SPL7 是 SPL 转录因子家族成员,与 CRR1 蛋白的同源性较高^[73]。拟南芥 *spl7* 突变体中,Cu - microRNAs 在低铜条件下不表达,铜转运体、铜伴侣及一些转录因子都无法表达^[64]。此外,低铜条件下,拟南芥 SPL7 对 COPT2 和 FSD1 的调节具有昼夜节律的特征,额外添加铜会减少此节律变化的幅度^[74]。最近的研究表明,SPL7 是细胞内最主要的铜缺乏响应成分,转录因子 HY5 与转录因子 SPL7 相互作用促使光以及铜传递信号共同参与植物的生长发育,HY5 通过与 miR408 的共同调节来影响植物的铜稳态^[75]。

5 结论与展望

铜在细胞内的传递以及含铜蛋白的组装是一个被高度调节的过程,涉及特定蛋白质的相互作用和复杂的调控体系;此外,参与植物体内铜稳态调解过程的小 RNA 和调解蛋白,其功能都是保守的。目前,在植物中,与其他金属离子相比,铜稳态的相关研究较为详细。对一些转运体及铜伴侣的研究证明了铜向特定目标传递的大体过程,此过程参与植物重要的生理作用。Cu - microRNAs 如何调控细胞内铜稳态及其生物学意义仍需进一步研究验证。尽管如此,与酵母和细菌相比,植物体内铜稳态的相关研究仍然滞后;植物在进化过程中由于基因组复制产生了铜转运体、铜伴侣蛋白、含铜蛋白等多种蛋白家族,使得家族成员在植物中是否存在功能分工、是否具有新功能抑或出现假基因均需试验验证。本文主要从植物铜稳态的角度综述了植物对铜的吸收与再分配过程,同时对铜在细胞内的传递及细胞内铜稳态的调控进行了概述,希望可以为阐明植物吸收利用铜的分子机制的相关研究提供依据。

参考文献:

- [1] Foster A W, Osman D, Robinson N J. Metal preferences and metallation[J]. Journal of Biological Chemistry, 2014, 289 (41): 28095 - 28103.
- [2] Zhang L, Mcspadden B, Pakrasi H B, et al. Copper - mediated regulation of cytochrome c553 and plastocyanin in the cyanobacterium *Synechocystis* 6803[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1992, 267 (27): 19054 - 19059.
- [3] Magnani D, Solioz M. How bacteria handle copper[M]//Nies D H, Silver S. Molecular microbiology of heavy metals. Heidelberg: Springer, 2007: 259 - 285.
- [4] Tottey S, Rondet S A, Borrelly G P, et al. A copper metallochaperone for photosynthesis and respiration reveals metal - specific targets, interaction with an importer, and alternative sites for copper acquisition[J]. Journal of Biological Chemistry, 2002, 277 (7):

- 5490 – 5497.
- [5] Merchant S S, Allen M D, Kropat J, et al. Between a rock and a hard place; Trace element nutrition in *Chlamydomonas* [J]. *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Cell Research*, 2006, 1763 (7) : 578 – 594.
 - [6] Hanikenne M, Krämer U, Demoulin V, et al. A comparative inventory of metal transporters in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* and the red alga *Cyanidioschyzon merolae* [J]. *Plant Physiology*, 2005, 137: 428 – 446.
 - [7] Kropat J, Tottey S, Birkenbihl R P, et al. A regulator of nutritional copper signaling in *Chlamydomonas* is an SBP domain protein that recognizes the GTAC core of copper response element [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102 (51) : 18730 – 18735.
 - [8] Pozo T D, Cambiazo V, González M. Gene expression profiling analysis of copper homeostasis in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 2010, 393 (2) : 248 – 252.
 - [9] Leng X, Wang X, Li X, et al. Transporters, chaperones, and P – type ATPases controlling grapevine copper homeostasis [J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2015, 15 (6) : 673 – 684.
 - [10] Misra K C. Understanding mineral deposits [M]. Berlin: Springer Netherlands, 2000.
 - [11] Marschner H. Mineral nutrition of higher plants [M]. London: Academic Press, 1995.
 - [12] Epstein E, Bloom A J. Mineral nutrition of plants: principles and perspectives [M]. 2nd. New York: Academic Press, 2005.
 - [13] Navariizzo F, Cestone B, Cavallini A A, et al. Copper excess triggers phospholipase D activity in wheat roots [J]. *Phytochemistry*, 2006, 67 (12) : 1232 – 1242.
 - [14] Bernal M, Roncel M, Ortega J M, et al. Copper effect on cytochrome b₅₅₉ of photosystem II under photoinhibitory conditions [J]. *Physiol Plant*, 2004, 120 (4) : 686 – 694.
 - [15] Andrés – colás N, Perea – García A, Puig S, et al. Deregulated copper transport affects arabidopsis development especially in the absence of environmental cycles [J]. *Plant Physiology*, 2010, 153: 170 – 184.
 - [16] Sancenon V, Puig S, Mira H, et al. Identification of a copper transporter family in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Molecular Biology*, 2003, 51 (4) : 577 – 587.
 - [17] Sancenón V, Puig S, Mateu – Andrés I, et al. The *Arabidopsis* copper transporter COPT1 functions in root elongation and pollen development [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279 (15) : 15348 – 15355.
 - [18] Wintz H, Fox T, Wu Y Y, et al. Expression profiles of *Arabidopsis thaliana* in mineral deficiencies reveal novel transporters involved in metal homeostasis [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278 (48) : 47644 – 47653.
 - [19] Pilon M. Moving copper in plants [J]. *New Phytologist*, 2011, 192 (2) : 305 – 307.
 - [20] Garcia – Molina A, Andrés – Colás N, Perea – García A, et al. The intracellular Arabidopsis COPT5 transport protein is required for photosynthetic electron transport under severe copper deficiency [J]. *The Plant Journal*, 2011, 65 (6) : 848 – 860.
 - [21] Klaumann S, Nickolaus S D, Fürst S H, et al. The tonoplast copper transporter COPT5 acts as an exporter and is required for interorgan allocation of copper in *Arabidopsis thaliana* [J]. *New Phytologist*, 2011, 192 (2) : 393 – 404.
 - [22] Eisses J F, Kaplan J H. The mechanism of copper uptake mediated by human CTR1, a mutational analysis [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280 (44) : 37159 – 37168.
 - [23] Beaudoin J, Thiele D J, Labbé S, et al. Dissection of the relative contribution of the *Schizosaccharomyces pombe* Ctr4 and Ctr5 proteins to the copper transport and cell surface delivery functions [J]. *Microbiology*, 2011, 157 (4) : 1021 – 1031.
 - [24] Guo W J, Bundithya W, Goldsbrough P B. Characterization of the *Arabidopsis* metallothionein gene family: tissue – specific expression and induction during senescence and in response to copper [J]. *New Phytologist*, 2003, 159 (2) : 369 – 381.
 - [25] Guo W J, Meematt M, Goldsbrough P B. Examining the specific contributions of individual *Arabidopsis* metallothioneins to copper distribution and metal tolerance [J]. *Plant Physiology*, 2008, 146 (4) : 1697 – 1706.
 - [26] Shin L J, Lo J C, Yeh K C. Copper chaperone antioxidant protein1 is essential for copper homeostasis [J]. *Plant Physiology*, 2012, 159 (3) : 1099 – 1110.
 - [27] Andrés – Colás N, Sancenón V, Rodríguez – Navarro S, et al. The *Arabidopsis* heavy metal P – type ATPase HMA5 interacts with metallochaperones and functions in copper detoxification of roots [J]. *The Plant Journal*, 2006, 45 (2) : 225 – 236.
 - [28] Pich A, Scholz G. Translocation of copper and other micronutrients in tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.): nicotianamine – stimulated copper transport in the xylem [J]. *Journal of Experimental Botany*, 1996, 47 (294) : 41 – 47.
 - [29] Takahashi M, Terada Y, Nakai I, et al. Role of nicotianamine in the intracellular delivery of metals and plant reproductive development [J]. *Plant Cell*, 2003, 15 (6) : 1263 – 1280.
 - [30] Briat J F, Curie C, Gaymard F. Iron utilization and metabolism in plants [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2007, 10 (3) : 276 – 282.
 - [31] Chu H H, Chiecko J, Punshon T, et al. Successful reproduction requires the function of *Arabidopsis* YELLOW STRIPE – LIKE1 and YELLOW STRIPE – LIKE3 metal – nicotianamine transporters in both vegetative and reproductive structures [J]. *Plant Physiology*, 2010, 154 (1) : 197 – 210.
 - [32] Bernal M, Casero D, Singh V, et al. Transcriptome sequencing identifies *SPL7* – regulated copper acquisition genes *FRO4/FRO5* and the copper dependence of iron homeostasis in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2012, 24 (2) : 738 – 761.
 - [33] Chen C C, Chen Y Y, Tang I C, et al. *Arabidopsis* SUMO E3 ligase SIZ1 is involved in excess copper tolerance [J]. *Plant Physiology*, 2011, 156 (4) : 2225 – 2234.
 - [34] Waters B M, Grusak M A. Whole – plant mineral partitioning throughout the life cycle in *Arabidopsis thaliana* ecotypes Columbia, Landsberg erecta, Cape Verde Islands, and the mutant line *ysl1ysl3* [J]. *New Phytologist*, 2008, 177 (2) : 389 – 405.
 - [35] Himelblau E, Mira H, Lin S J, et al. Identification of a functional homolog of the yeast copper homeostasis gene *ATX1* from *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 1998, 117 (4) : 1227 – 1234.
 - [36] Mira H, Martínez N, Peñarrubia L. Expression of a vegetative –

- storage – protein gene from *Arabidopsis* is regulated by copper, senescence and ozone[J]. *Planta*,2002,214(6):939–946.
- [37] Williams L E, Mills R F. P_{1B} – ATPases – an ancient family of transition metal pumps with diverse functions in plants[J]. *Trends in Plant Science*,2005,10(10):491–502.
- [38] Lutsenko S, Barnes N L, Bartee M Y, et al. Function and regulation of human copper – transporting ATPases[J]. *Physiological Reviews*, 2007,87(3):1011–1046.
- [39] Binder B M, Rodríguez F I, Bleecker A B. The copper transporter RAN1 is essential for biogenesis of ethylene receptors in *Arabidopsis* [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285 (48): 37263 – 37270.
- [40] Li W, Lacey R F, Ye Y J, et al. Triplin, a small molecule, reveals copper ion transport in ethylene signaling from ATX1 to RAN1[J]. *Plos Genetics*,2017,13(4):e1006703.
- [41] Yamamoto A, Bhuiyan M N, Waditee R, et al. Suppressed expression of the apoplastic ascorbate oxidase gene increases salt tolerance in tobacco and *Arabidopsis* plants[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2005,56(417):1785–1796.
- [42] Dong J, Kim S T, Lord E M. Plantacyanin plays a role in reproduction in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*,2005,138(2):778–789.
- [43] Puig S, Mira H, Dorcey E, et al. Higher plants possess two different types of ATX1 – like copper chaperones [J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*,2007,354(2):385–390.
- [44] Heo D H, Baek I J, Kang H J, et al. Cd^{2+} binds to Atx1 and affects the physical interaction between Atx1 and Ccc2 in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Biotechnology Letters*,2012,34(2):303–307.
- [45] Zhu H N, Shipp E, Sanchez R J, et al. Cobalt $^{2+}$ binding to human and tomato copper chaperone for superoxide dismutase: implications for the metal ion transfer mechanism [J]. *Biochemistry*, 2000, 39 (18):5413–5421.
- [46] Trindade L M, Horvath B M, Bergervoe M J, et al. Isolation of a gene encoding a copper chaperone for the copper/zinc superoxide dismutase and characterization of its promoter in potato[J]. *Plant Physiology*,2003,133(2):618–629.
- [47] Ruzsa S M, Scandalios J G. Altered Cu metabolism and differential transcription of Cu/ZnSod genes in a Cu/ZnSOD – deficient mutant of maize; evidence for a Cu – responsive transcription factor[J]. *Biochemistry*,2003,42(6):1508–1516.
- [48] Wintz H, Vulpe D C. Plant copper chaperones [J]. *Biochemical Society Transactions*,2002,30(4):732–735.
- [49] Chu C C, Lee W C, Guo W Y, et al. A copper chaperone for superoxide dismutase that confers three types of copper/zinc superoxide dismutase activity in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2005,139(1):425–436.
- [50] Abdelghany S E, Burkhead J L, Gogolin K A, et al. AtCCS is a functional homolog of the yeast copper chaperone Ccs1/Lys7 [J]. *Febs Letters*,2005,579(11):2307–2312.
- [51] Huang C H, Kuo W Y, Weiss C, et al. Copper chaperone – dependent and – independent activation of three copper – zinc superoxide dismutase homologs localized in different cellular compartments in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*,2012,158(2):737–746.
- [52] Fukuoka M, Tokuda E, Nakagome K, et al. An essential role of N – terminal domain of copper chaperone in the enzymatic activation of Cu/Zn – superoxide dismutase [J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*,2017,175:208–216.
- [53] Pierrel F, Cobine P A, Winge D R. Metal Ion availability in mitochondria[J]. *Biomaterials*,2007,20(3–4):675–682.
- [54] Carr H S, Winge D R. Assembly of cytochrome c oxidase within the mitochondrion[J]. *Accounts of Chemical Research*,2003,36(5):309–316.
- [55] Balandin T, Castresana C. AtCOX17, an *Arabidopsis* homolog of the yeast copper chaperone COX17 [J]. *Plant Physiology*, 2002, 129 (4):1852–1857.
- [56] Garcia L, Welchen E, Gey U, et al. The cytochrome c oxidase biogenesis factor AtCOX17 modulates stress responses in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell & Environment*,2016,39(3):628–644.
- [57] Molina – Heredia F P, Wastl J, Navarro J A, et al. Photosynthesis; a new function for an old cytochrome? [J]. *Nature*, 2003, 424 (6944):33–34.
- [58] 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.
- [59] Bernal M, Testillano P S, Alfonso M, et al. Identification and subcellular localization of the soybean copper P_{1B} – ATPase GmHMA8 transporter [J]. *Journal of Structural Biology*,2007,158(1):46–58.
- [60] Abdelghany S E, Müllermoulé P, Niyogi K K, et al. Two P – type ATPases are required for copper delivery in *Arabidopsis thaliana* chloroplasts [J]. *The Plant Cell*,2005,17(4):1233–1251.
- [61] Bernal M, Ramiro M V, Cases R, et al. Excess copper effect on growth, chloroplast ultrastructure, oxygen – evolution activity and chlorophyll fluorescence in *Glycine max* cell suspensions [J]. *Physiologia Plantarum*,2006,127(2):312–325.
- [62] Arnesano F, Banci L, Bertini I, et al. Metallochaperones and metal – transporting ATPases: a comparative analysis of sequences and structures [J]. *Genome Research*,2002,12(2):255–271.
- [63] Borrelly G P, Rondet S A, Tottey S, et al. Chimeras of P_1 – type ATPases and their transcriptional regulators: contributions of a cytosolic amino – terminal domain to metal specificity [J]. *Molecular Microbiology*,2004,53(1):217–227.
- [64] 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.
- [65] Waters B M, Chu H H, Didonato R J, et al. Mutations in *Arabidopsis yellow stripe – like1* and *yellow stripe – like3* reveal their roles in metal ion homeostasis and loading of metal ions in seeds [J]. *Plant Physiology*,2006,141(4):1446–1458.
- [66] Cohu C M, Pilon M. Regulation of superoxide dismutase expression by copper availability [J]. *Physiologia Plantarum*,2007,129(4):747–755.
- [67] Abdelghany 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.
- [68] 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.

- [69] Yamasaki H, Abdelghany 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.
- [70] 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.
- [71] Berthet S, Demontcaulet 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.
- [72] 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.
- [73] Cardon G, Höhmnn S, Klein J, et al. Molecular characterisation of the *Arabidopsis* SBP - box genes [J]. Gene, 1999, 237(1): 91 - 104.
- [74] Perea - García A, Andrés - Bordería A, Andrés S M D, et al. Modulation of copper deficiency responses by diurnal and circadian rhythms in *Arabidopsis thaliana* [J]. Journal of Experimental Botany, 2016, 67(1): 391 - 403.
- [75] Zhang H, Zhao X, Li J, et al. MicroRNA408 is critical for the *HY5* - *SPL7* gene network that mediates the coordinated response to light and copper[J]. Plant Cell, 2014, 26(12): 4933 - 4953.
- [76] Pesaresi P, Scharfenberg M, Weigel M, et al. Mutants, overexpressors, and interactors of *Arabidopsis* plastocyanin isoforms: revised roles of plastocyanin in photosynthetic electron flow and thylakoid redox state[J]. Molecular Plant, 2009, 2(2): 236 - 248.
- [77] Abdel - Ghany S E. Contribution of plastocyanin isoforms to photosynthesis and copper homeostasis in *Arabidopsis thaliana*, grown at different copper regimes[J]. Planta, 2008, 229(4): 767 - 779.
- [78] Welchen E, Chan R L, Gonzalez D H. The promoter of the *Arabidopsis* nuclear gene *COX5b - I*, encoding subunit 5b of the mitochondrial cytochrome c oxidase, directs tissue - specific expression by a combination of positive and negative regulatory elements[J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55(405): 1997 - 2004.
- [79] Kliebenstein D J, Monde R A, Last R L. Superoxide dismutase in *Arabidopsis*: an eclectic enzyme family with disparate regulation and protein localization [J]. Plant Physiology, 1998, 118(2): 637 - 650.
- [80] Chen Y F, Randlett M D, Findell J L, et al. Localization of the ethylene receptor ETR1 to the endoplasmic reticulum of *Arabidopsis* [J]. Journal of Biological Chemistry, 2002, 277(22): 19861 - 19866.
- [81] Nakamura K, Go N. Function and molecular evolution of multicopper blue proteins [J]. Cellular & Molecular Life Sciences, 2005, 62(18): 2050 - 2066.
- [82] Cai X N, Davis E J, Ballif J, et al. Mutant identification and characterization of the laccase gene family in *Arabidopsis* [J]. Journal of Experimental Botany, 2006, 57(11): 2563 - 2569.
- [83] Frébert I, Sebela M, Svendsen I, et al. Molecular mode of interaction of plant amine oxidase with the mechanism - based inhibitor 2 - butyne - 1, 4 - diamine [J]. The FEBS Journal, 2000, 267(5): 1423 - 1433.
- [84] An Z, Jing W, Liu Y, et al. Hydrogen peroxide generated by copper amine oxidase is involved in abscisic acid - induced stomatal closure in *Vicia faba* [J]. Journal of Experimental Botany, 2008, 59(4): 815 - 825.
- [85] Marina M, Maiale S J, Rossi F R, et al. Apoplastic polyamine oxidation plays different roles in local responses of tobacco to infection by the necrotrophic fungus *Sclerotinia sclerotiorum* and the biotrophic bacterium *Pseudomonas viridiflava* [J]. Plant Physiology, 2008, 147(4): 2164 - 2178.
- [86] Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris* [J]. Plant Physiology, 1949, 24(1): 1 - 15.
- [87] Mayer A M. Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places? A review[J]. Phytochemistry, 2006, 67(21): 2318 - 2331.
- [88] Schubert M, Petersson U A, Haas B J, et al. Proteome map of the chloroplast lumen of *Arabidopsis thaliana* [J]. Journal of Biological Chemistry, 2002, 277(10): 8354 - 8365.

(上接第 304 页)

- [12] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community - level sole - carbon - source utilization [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1991, 57(8): 2351 - 2359.
- [13] 王文鹏, 毛如志, 陈建斌, 等. 种植方式对玉米不同生长期土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2015, 23(10): 1293 - 1301.
- [14] 任美霖, 王绍明, 张霞, 等. 准噶尔盆地南缘两种典型禾本科植物根鞘土壤微生物群落功能多样性[J]. 生态学报, 2017, 37(17): 5630 - 5639.
- [15] 乔胜英. 土壤理化性质实验指导书[M]. 武汉: 中国地质大学出版社, 2012: 20 - 72.
- [16] 郑丽萍, 龙涛, 林玉锁, 等. Biolog - ECO 解析有机氯农药污染场地土壤微生物群落功能多样性特征[J]. 应用与环境生物学报, 2013, 19(5): 759 - 765.
- [17] 李忠佩, 吴晓晨, 陈碧云. 不同利用方式下土壤有机碳转化及微生物群落功能多样性变化[J]. 中国农业科学, 2007, 40(8): 1712 - 1721.
- [18] 党雯, 郇春花, 张强, 等. Biolog 法测定土壤微生物群落功能多样性预处理方法的筛选[J]. 中国农学通报, 2015, 31(2): 153 - 158.
- [19] 董艳, 董坤, 汤利, 等. 小麦蚕豆间作对蚕豆根际微生物群落功能多样性的影响及其与蚕豆枯萎病发生的关系[J]. 生态学报, 2013, 33(23): 7445 - 7454.
- [20] 徐鸿斌, 王绍明, 赵维奇, 等. 红花根际微生物群落磷脂脂肪酸 (PLFAs) 特征分析[J]. 新疆农业科学, 2015, 52(1): 72 - 78.
- [21] 彭振宝, 赵思峰, 危常州, 等. 甲拌磷残留对加工番茄根际与非根际微生物活性的影响[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2010, 28(3): 303 - 309.
- [22] 陆爽, 张霞, 谭勇, 等. 栽培红花生长期土壤微生物与土壤理化因子动态[J]. 草业科学, 2011, 28(12): 2084 - 2091.
- [23] 罗丽朦, 王瑾, 王丽学, 等. 扁穗冰草根鞘与其环境土壤理化性质和微生物数量的比较[J]. 草地学报, 2013, 21(6): 1109 - 1112.