

李昕晏,崔杰,李俊良,等. miRNA 调控植物抗逆机制的研究现状[J]. 江苏农业科学,2019,47(21):63-66.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.21.014

miRNA 调控植物抗逆机制的研究现状

李昕晏,崔杰,李俊良,王琮玉,罗成飞

(哈尔滨工业大学,黑龙江哈尔滨 150001)

摘要:逆境胁迫会对植物的生长发育产生负面影响,在漫长的进化中,植物拥有了一套复杂的调控网络以应对不良环境,在这一套调控网络中 miRNA 起到了重要作用。本文对近几年关于 miRNA 及其靶基因调控作用的研究进行了总结,并对 miRNA 的形成过程和作用机制进行了概括,介绍了与抗逆相关的 miRNA 及其靶基因,包括以靶基因为抗逆相关转录因子的 miRNA (miR160/miR167、miR159、miR156 和 miR164) 以及以靶基因为抗逆相关结构基因的 miRNA (miR398 和 miR395),可为利用基因工程手段增强植物的抗逆性提供更有效的改良途径。

关键词:miRNA;逆境胁迫;转录因子;结构基因;靶基因

中图分类号:S332.1;S184 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)21-0063-04

1 miRNA 概述

microRNA(miRNA)是小的非编码内源性 RNA(18~24 个核苷酸),首先在线虫(*Caenorhabditis elegans*)中被发现,可在突变的秀丽隐杆线虫中暂时表达,所以 miRNA 最初被称为短时间 RNA(stRNA)^[1]。植物 miRNA 是一类内源性非编码小 RNA,对植物生长发育至关重要。植物 miRNA 主要经过以下几个过程产生:首先编码 miRNA 的基因依赖 RNA 聚合酶 Pol II 复合体形成长约 1 000 bp 的初级转录物,初级转录物呈现不完全配对的茎环结构,随后初级转录物转变为成熟的 miRNA,该过程需要经过 2 个步骤,第 1 步在细胞核中进

行,蛋白酶 DCL1 识别茎环结构并对其进行切割,形成前体 miRNA,前体 miRNA 通过 HASTY 转运蛋白转运到细胞质中;第 2 步在细胞质中进行,ATP 依赖性 RNase III 蛋白 Dicer 识别前体 miRNA 的 2 nt 3'突出端,并从其末端去除约 21 nt 序列形成成熟的 miRNA-miRNA* 双链体^[2]。接着成熟的 miRNA 双链体展开形成 22 nt 的单链成熟 miRNA,其与 Argonaute 蛋白-1(AGO-1)以及其他调节蛋白如 GW182 和聚 A 结合蛋白(PABP)一起形成 RNA 诱导沉默复合物(RISC)。最后,成熟的 miRNA 沉默复合物(RISC)通过与靶 mRNA 转录物 3'端非翻译区(3'UTR)中的区域进行碱基互补配对导致靶 mRNA 翻译抑制或降解。靶 mRNA 被抑制还是被降解取决于其与同源 miRNA 序列的互补程度。在动物中 miRNA 与靶 mRNA 的相互作用是部分互补,会导致蛋白质翻译被抑制,而在植物中是完全互补,会导致靶基因完全降解^[3-4]。

2 miRNA 在植物抗逆过程中的作用方式

2.1 通过靶向应激相关转录因子抗逆

研究表明,一些 miRNA 的靶基因可翻译为与应激相关的

收稿日期:2018-09-28

基金项目:国家自然科学基金(编号:31571731)。

作者简介:李昕晏(1995—),女,湖南长沙人,硕士研究生,主要从事植物抗逆分子生物学研究。E-mail:496349958@qq.com。

通信作者:崔杰,博士,副教授,主要从事植物抗逆分子生物学研究。E-mail:cuijie2006@163.com。

[34] Voinnet O. Induction and suppression of RNA silencing: insights from viral infections[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2005, 6: 206-220.

[35] Ding S W. RNA-based antiviral immunity[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2010, 10(9): 632-644.

[36] Ding S W, Voinnet O. Antiviral immunity directed by small RNAs[J]. *Cell*, 2007, 130(3): 413-426.

[37] Young B A, Stenger D C, Qu F, et al. Tritimovirus P1 functions as a suppressor of RNA silencing and an enhancer of disease symptoms[J]. *Virus Research*, 2012, 163(2): 672-677.

[38] Urcuqui-Inchima S, Haenni A L, Bernardi F. Potyvirus proteins: a wealth of functions[J]. *Virus Research*, 2001, 74(1/2): 157-175.

[39] Kasschau K D, Xie Z X, Allen E, et al. P1/HC-Pro, a viral suppressor of RNA silencing, interferes with *Arabidopsis* development and miRNA function[J]. *Developmental Cell*, 2003, 4(2): 205-217.

[40] Fukuzawa N, Itchoda N, Ishihara T, et al. HC-Pro, a potyvirus RNA silencing suppressor, cancels cycling of cucumber mosaic virus

in *Nicotiana benthamiana* plants[J]. *Virus Genes*, 2010, 40(3): 440-446.

[41] Brault V, Uezet M, Monsion B, et al. Aphids as transport devices for plant viruses[J]. *Comptes Rendus Biologies*, 2010, 333(6/7): 524-538.

[42] Manoussopoulos I N. Acquisition and retention of potato virus Y helper component in the transmission of potato aucuba mosaic virus by aphids[J]. *Journal of Phytopathology*, 2001, 149(2): 103-106.

[43] Xia Z, Zhao Z, Chen L, et al. Synergistic infection of two viruses MCMV and SCMV increases the accumulations of both MCMV and MCMV-derived siRNAs in maize[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 20520.

[44] Nowak M A. Five rules for the evolution of cooperation[J]. *Science*, 2006, 314(5805): 1560-1563.

[45] Nowak M A, Sigmund K. Evolutionary dynamics of biological games[J]. *Science*, 2004, 303(5659): 793-799.

转录因子^[5-7]。转录因子是一种蛋白质,它能够与下游靶基因启动子区域中的顺式作用元件发生特异性结合,激活或抑制基因的表达。转录因子一般有 4 个保守的功能区,分别为 DNA 结合域、转录激活或抑制结构域(转录调控域)、寡聚化位点和核定位信号。但并不是所有的转录因子都具有以上所有的功能区,有些转录因子没有寡聚化位点。DNA 结合域能够识别并结合特定的顺式作用元件,其氨基酸序列的特异性决定了转录因子能够结合的顺式作用元件的特异性。转录调控域是转录因子家庭的分类依据,同一类转录因子家族拥有相似的转录调控区域,根据对靶基因作用的差异可将其分为转录激活域和转录抑制域。寡聚化位点的存在是转录因子发生相互作用形成同源或异源二聚体的条件。核定位信号是富含精氨酸和赖氨酸残基的核定区域,转录因子通过该区域的调控进入细胞核^[8]。植物中的转录因子数量众多,且广泛地参与植物生长发育过程,其中一部分转录因子与抗逆有关,能够在植物受到胁迫时被胁迫信号激发,与特定基因的启动子结合,调控其表达从而引起植物发生生理生化变化,进而提高植物抵抗外界环境压力的能力。

2.1.1 miR160/miR167 与转录因子 ARF 互作研究 生长素可调节许多基因的表达,生长素响应因子(ARF)是调节其下游靶基因表达的基因。大多数 ARF 蛋白由 3 个特征结构域组成,即 B3 DNA 结合结构域(DBD),位于 N 末端区域;C-末端二聚化结构域(CTD),位于 C-末端区域,是一个蛋白质-蛋白质相互作用结构域,其氨基酸序列与 Aux/IAA 蛋白质 C-末端的结构域Ⅲ和Ⅳ相关,允许 ARF 或 ARF 和 Aux/IAA 蛋白的二聚化;赋予活化剂或阻遏物活性的可变中

间区域(MR)。miR160 和 miR164 被发现靶向 ARF 转录因子^[9-10]。

在几种植物物种中观察到干旱和盐胁迫条件下,miR393、miR160 和 miR167 的表达上调,已有研究证明,盐度触发 miR393 表达,导致 TIR1 和 AFB2 受体的结合被抑制,进而影响生长素信号转导途径^[11]。而 miR160 和 miR164 通过负调节生长素响应因子 ARF10、ARF16、ARF17 等在植物发育中起关键作用^[12]。miR393/(miR160,miR167)与 ARF 转录因子之间存在一个应对胁迫的调控途径,如图 1 所示。生长素受体 TIR1 通过释放 AUX/IAA 与生长素响应因子形成异二聚体的方式调控植物生长和发育所必需的生长素响应基因的表达。当生长素水平低时,ARF 与 AUX/IAA 因子异二聚化。在结合生长素时,TIR1 和 AFB 等受体被激活并使 AUX/IAA 成员泛素化,使原本因与 AUX/IAA 结合而被抑制的 ARF 得到释放。这几种保守的 miRNA 在生长素感知和信号传导中起重要作用,miR393 下调 TIR1 和 AFB 转录物的含量,miR160 和 miR167 通过指导 mRNA 的切割来下调 5 种不同的 ARF 转录物的含量。在适宜的生长条件下,低水平的 miR393 以及 miR160 和 miR167 即可微调转录生长素响应基因所需的 ARF 水平。在应激期间,miR393 的上调表达将 TIR1 保持在较低的水平,有助于抑制生长素信号传导,从而增加 AUX/IAA-ARF 异二聚化。此外,miR160 和 miR167 的表达量在应激期间也被上调,它们的上调引起 ARF 的下调,从而下调 ARF 介导的基因表达。总的来说,ARF 介导的基因表达受到 miR393、miR160 和 miR167 的抑制,导致植物生长和胁迫下的发育减弱,促进植物对胁迫的耐受性。

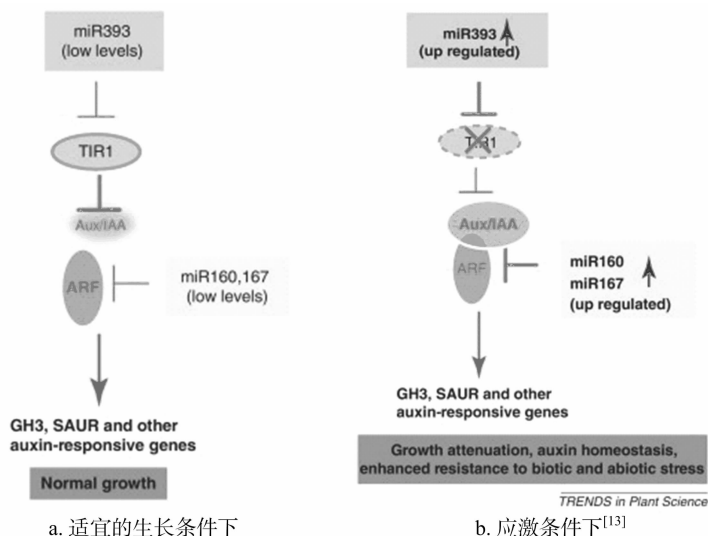


图1 在正常生长和应激条件下 miRNA 对生长素感知和信号传导的调节

2.1.2 miR159 与转录因子 MYB 互作研究 MYB 转录因子广泛分布于真核生物中,是植物界最大的转录因子家族之一。MYB 蛋白具有高度保守的 MYB 结构域,其由在 N 末端的 1~4 个不完整的串联重复组成。每个 MYB 重复序列编码 3 个 α -螺旋,其中第 2 个和第 3 个螺旋形成螺旋-转角-螺旋结构,识别并结合特定识别位点 C/TAACG/TG 处的 DNA 主沟。前人研究证明,MYB 转录因子被 miR159、miR828 和 miR858 等 miRNA 靶向,其主要调节植物在各种胁迫条件下

的信号转导和发育^[14]。Gupta 等研究表明,在不同胁迫条件下 miR159 的表达量有不同的表现,例如在 20% 聚乙二醇 6000 渗透胁迫下 miR159 表达量被显著上调,在盐胁迫和冷胁迫下 miR159 表达量呈现下调趋势^[15],miR159 可以通过控制 ABI3 的表达来调控 MYB33 转录因子的含量,从而参与 ABA 信号通路响应干旱^[16]。

2.1.3 miR156 与转录因子 SPL 互作研究 SPL (SQUAMOSA promoter-binding protein-like) 是植物特有的

一类转录因子,广泛存在于植物中。最初从金鱼草(*Antirrhinum majus*)中筛选到 2 个 SPL 基因,分别命名为 *SBP1* 和 *SBP2*,其因能够识别并结合到 *SQUAMOSA* 的启动子上而得名。SPL 转录因子是植物发育时间的主要调节因子,由 miR156 在转录后调节。最近在拟南芥中的一项研究中发现,miR156 介导的 SPL2 和 SPL11 表达量的下调增强了植物对环境胁迫的反应,包括植物的耐热性^[17]。研究发现,通过 miR156 过表达和 SPL13 RNA 含量降低能够使紫花苜蓿显示出对热应激耐受性的增加,在热应激下表现为水势升高,非酶抗氧化剂含量、花青素含量和叶绿素丰度增加^[18]。miRNA156 同时被发现对植物耐盐机制也有作用,在盐处理条件下,miR156 过表达基因型中苜蓿中记录到总氮含量的增加和离子稳态的改变;在严重的盐度胁迫下,miR156 下调 SPL 转录因子家族基因的表达量,间接调控其他重要转录因子以及下游盐胁迫应答基因的表达^[19]。另有研究表明,miR156 通过沉默 SPL13 减少水分损失和增加气孔导度,增加叶绿素含量和增强光合同化作用,从而达到抗旱的作用^[20]。

2.1.4 miR164 与转录因子 NAC 互作研究 作为植物中最大的转录因子家族之一,NAC 包含复杂的植物特异性超家族,并且存在于多种物种中。NAC 的首字母缩写词源自 3 种最早发现 NAC 结构域的蛋白质,分别为矮牵牛 NAM、拟南芥 ATAF1/2 和 CUC2。NAC 被证明在植物应激反应期间在复杂的信号传导网络中发挥重要作用,尤其是在非生物胁迫下,NAC 在植物中的表达会发生明显变化^[21]。NAC 转录因子被 miRNA 广泛靶向。几项关于拟南芥和水稻的研究已经显示,miR164 通过切割 NAC mRNA 调节植物发育过程,并且能够响应非生物胁迫^[22-24]。在水稻中测试了 6 个 miR164 靶向 NAC 基因(*OMTNI ~ OMTN6*),结果发现,其中 4 个参与耐旱性的调控^[22]。在胡杨中也发现,miR164 指导 PeNAC070、PeNAC012 和 PeNAC028 mRNAs 的切割,在干旱和盐胁迫条件下,miR164 及其靶基因 *NAC070* 在根、叶和茎中的表达情况不同,总体而言增加了植物的抗旱性和耐盐性^[25]。孙宗艳在对甜菜抗逆性的研究中发现,甜菜根中的 miR164 在盐处理 12 h 时表达量下降剧烈,叶中的 miR164 表达量在处理 12 h 时下降,在处理 24 h 时呈现上升趋势,随后又下降,在根和叶中的 miR164 表达量都分别与根和叶中的 NAC21/22 呈负相关关系^[26]。

2.2 通过靶向应激相关结构基因抗逆

2.2.1 miR398 与 CSD 基因互作研究 逆境会引起植物体内自由基的积累,超氧化物歧化酶(SOD)是一种重要的活性氧(ROS)清除酶,它催化超氧化物自由基向 H_2O_2 和 O_2 转化,该反应构成了对氧化应激的第 1 层细胞防御,植物已经进化出 3 种具有不同金属配体的 SOD,即铁 SOD(Fe-SOD)、锰 SOD(Mn-SOD)和铜/锌 SOD(Cu/Zn-SOD,也称为 CSD),其中 Cu/Zn-SOD 是植物中的主要铜酶。拟南芥基因组编码 3 种 CSD 同工酶:细胞质中的 CSD1、叶绿体中的 CSD2 和过氧化物酶体中的 CSD3。在拟南芥中,miR398 具有 4 个靶基因,分别为 CSD1、CSD2、CCS 和 COX5b-1。当植物暴露于高光、重金属(Cu^{2+} 和 Fe^{3+})或甲基紫精(MV)条件下时,miR398 的表达量下调,引起 CSD2 表达量的上调^[27],进而在氧化应激下提高植物性能。在高温胁迫下,miR398 表达量呈

现上调趋势,在 miR398 的 4 个靶标中除了 COX5b-1 之外,其余 3 个靶标的表达量都呈现下降趋势,通过定点诱变 CSD1、CSD2、CCS 而产生的 3 种 miR398 特性转基因拟南芥与野生型相比,在 37 °C 中对热应激更加敏感,可积累更高水平的超氧化物自由基^[28]。

2.2.2 miR395 与 APS 基因互作研究 硫元素参与许多生物功能,并且是多种次级代谢物的必需元素,包括硫脂、硫酸葡萄糖胺、谷胱甘肽和辅酶。缺硫环境会严重影响植物的生长,因此,硫营养对植物生长和发育至关重要。植物可从土壤中获得无机硫酸盐形式的硫,从大气中获得二氧化硫和硫化氢气体形式的硫。硫酸盐在同化过程首先由 ATP 硫酸化酶催化无机硫酸盐和 ATP 形成腺苷 5'-磷酸硫酸盐和无机焦磷酸盐。随后,腺苷 5'-磷酸硫酸盐被 2 种不同的硫酸盐同化途径利用。前人对拟南芥中的 4 种 ATP 硫酸化酶编码基因(*APS* 基因)进行定量分析,结果发现,miR395 靶向 *APS* 基因,在硫酸盐限制期间,3 种 *APS* 基因在转录后水平受 miR395 调节,miR395 过表达植物中的硫酸盐浓度增加^[29-30]。更有研究证明,硫酸盐浓度与 miR395 的丰度呈正相关关系,即 miR395 水平升高导致硫酸盐浓度增加,而 miR395 丰度的下调导致硫酸盐浓度降低。相应地,miR395 靶向的 *APS* 基因的过表达导致硫酸盐浓度的下降^[31]。有研究在镉胁迫下鉴定了过表达 miR395 的转基因油菜,结果表明,过表达 miR395 的植物表现出比野生型更低程度的镉诱导氧化应激,相比之下,转化体中的叶绿素、谷胱甘肽和非蛋白质硫醇含量高于野生型^[32]。

3 展望

非生物胁迫对植物生长发育影响很大^[33],植物进化出了一套复杂的调控机制来应对不良环境。非生物胁迫诱导 miRNA 的异常表达,miRNA 位于调节植物对非生物胁迫反应的基因网络中心,使得 miRNA 成为改良农作物遗传性状的重要新靶标,包括植物对环境胁迫的反应。前人研究已经确定,miRNA 的调控是通过与靶基因完全或不完全结合的方式来完全降解靶基因或抑制靶基因的翻译过程,进而起到对靶基因不同程度的抑制作用。前人鉴定了多种植物中的 miRNA,并且研究了各个 miRNA 的靶基因以及在不同胁迫下 miRNA 和其靶基因的表达量变化,分析其在植物抗逆中的作用。但总的来说,对于 miRNA 的研究大多数还是以不同物种中 miRNA 的鉴定为主,对于其在整体逆境调控网络中作用的研究较少,根据现有的研究可以总结出,植物中的 miRNA 既有靶向应激相关转录因子的,也有靶向应激相关结构基因的,最终使植物在生理生化上作出应对胁迫的改变。今后应当加强对调控网络的研究,更深入地探讨 miRNA 在抗逆调控网络的功能,进而更好地指导农作物的改良,增加作物产量,优化作物质量。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] Kurihara Y, Watanabe Y. *Arabidopsis* micro-RNA biogenesis

- through Dicer – like 1 protein functions [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2004, 101(34): 12753 – 12758.
- [3] H \ddot{u} ck J, Meister G. The Argonaute protein family [J]. Genome Biology, 2008, 9(2): 210.
 - [4] Kumar R. Role of microRNAs in biotic and abiotic stress responses in crop plants [J]. Applied Biochemistry & Biotechnology, 2014, 174(1): 93 – 115.
 - [5] Wang J W, Czech B, Weigel D. miR156 – regulated SPL transcription factors define an endogenous flowering pathway in *Arabidopsis thaliana* [J]. Cell, 2009, 138(4): 738 – 749.
 - [6] Palatnik J F, Wollmann H, Schommer C, et al. Sequence and expression differences underlie functional specialization of *Arabidopsis* microRNAs miR159 and miR319 [J]. Developmental Cell, 2007, 13(1): 115 – 125.
 - [7] Rodriguez R E, Mecchia M A, Debemardi J M, et al. Control of cell proliferation in *Arabidopsis thaliana* by microRNA miR396 [J]. Development, 2010, 137(1): 103 – 112.
 - [8] Imagawa M, Sakaue R, Tanabe A, et al. Two nuclear localization signals are required for nuclear translocation of nuclear factor 1 – A [J]. FEBS Letters, 2000, 484(2): 118 – 124.
 - [9] Huang J, Li Z Y, Zhao D Z. Deregulation of the *OsmiR160* target gene *OsARF18* causes growth and developmental defects with an alteration of auxin signaling in rice [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 29938.
 - [10] Glazińska P, Wojciechowski W, Wilmowicz E, et al. The involvement of InMIR167 in the regulation of expression of its target gene InARF8, and their participation in the vegetative and generative development of *Ipomoea nil* plants [J]. Journal of Plant Physiology, 2014, 171(3/4): 225 – 234.
 - [11] Iglesias M J, Terrile M C, Windels D, et al. MiR393 regulation of auxin signaling and redox – related components during acclimation to salinity in *Arabidopsis* [J]. PLoS One, 2014, 9(9): e107678.
 - [12] Lin Y L, Lai Z X, Tian Q L, et al. Endogenous target mimics down – regulate miR160 mediation of *ARF10*, – 16, and – 17 cleavage during somatic embryogenesis in *Dimocarpus longan* Lour [J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 6: 956.
 - [13] Sunkar R, Li Y F, Jagadeeswaran G. Functions of microRNAs in plant stress responses [J]. Trends in Plant Science, 2012, 17(4): 196 – 203.
 - [14] Sun G L. MicroRNAs and their diverse functions in plants [J]. Plant Molecular Biology, 2012, 80(1): 17 – 36.
 - [15] Gupta O P, Meena N L, Sharma I, et al. Differential regulation of microRNAs in response to osmotic, salt and cold stresses in wheat [J]. Molecular Biology Reports, 2014, 41(7): 4623 – 4629.
 - [16] Lopez – Molina L, Mongrand S, McLachlin D T, et al. ABI5 acts downstream of ABI3 to execute an ABA – dependent growth arrest during germination [J]. Plant Journal, 2002, 32(3): 317 – 328.
 - [17] Matthews C, Arshad M, Hannoufa A. Alfalfa response to heat stress is modulated by microRNA156 [J]. Physiologia Plantarum, 2018, 165(4): 830 – 842.
 - [18] Arshad M, Gruber M Y, Wall K, et al. An insight into microRNA156 role in salinity stress responses of alfalfa [J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 356.
 - [19] Arshad M, Feyissa B A, Amyot L, et al. MicroRNA156 improves drought stress tolerance in alfalfa (*Medicago sativa*) by silencing SPL13 [J]. Plant Science, 2017, 258: 122 – 136.
 - [20] Le D T, Nishiyama R, Watanabe Y, et al. Genome – wide survey and expression analysis of the plant – specific NAC transcription factor family in soybean during development and dehydration stress [J]. DNA Research, 2011, 18(4): 263 – 276.
 - [21] Huang H, Wang Y, Wang S L, et al. Transcriptome – wide survey and expression analysis of stress – responsive NAC genes in *Chrysanthemum lavandulifolium* [J]. Plant Science, 2012, 193 – 194: 18 – 27.
 - [22] Fang Y, Xie K, Xiong L. Conserved miR164 – targeted NAC genes negatively regulate drought resistance in rice [J]. Journal of Experimental Botany, 2014, 65(8): 2119 – 2135.
 - [23] Guo H S, Xie Q, Fei J F, et al. MicroRNA164 directs NAC1 mRNA cleavage of the transcription factor *NAC1* to downregulate auxin signals for *Arabidopsis* lateral root development [J]. Plant Cell, 2005, 17: 1376 – 1386.
 - [24] Nakashima K, Takasaki H, Mizoi J, et al. NAC transcription factors in plant abiotic stress responses [J]. Biochimica et Biophysica Acta (Gene Regulatory Mechanisms), 2012, 1819(2): 97 – 103.
 - [25] Lu X, Dun H, Lian C L, et al. The role of *peu* – miR164 and its target *PeNAC* genes in response to abiotic stress in *Populus euphratica* [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2017, 115: 418 – 438.
 - [26] 孙宗艳. 盐/干旱胁迫下甜菜幼苗中 miR160/164 及其靶基因的表达与分析 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2017.
 - [27] 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]. Plant Cell, 2006, 18(8): 2051 – 2065.
 - [28] Guan Q M, Lu X Y, Zeng H T, et al. Heat stress induction of miR398 triggers a regulatory loop that is critical for thermotolerance in *Arabidopsis* [J]. Plant Journal, 2013, 74(5): 840 – 851.
 - [29] Kawashima C G, Yoshimoto N, Maruyama – Nakashita A, et al. Sulphur starvation induces the expression of microRNA – 395 and one of its target genes but in different cell types [J]. Plant Journal, 2009, 57(2): 313 – 321.
 - [30] Liang G, Yang F X, Yu D Q. MicroRNA395 mediates regulation of sulfate accumulation and allocation in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Journal, 2010, 62(6): 1046 – 1057.
 - [31] Ai Q, Liang G, Zhang H M, et al. Control of sulfate concentration by miR395 – targeted *APS* genes in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Diversity, 2016, 38(2): 92 – 100.
 - [32] Zhang L W, Song J B, Shu X X, et al. miR395 is involved in detoxification of cadmium in *Brassica napus* [J]. Journal of Hazardous Materials, 2013, 250 – 251: 204 – 211.
 - [33] 李晓刚, 李 慧, 杨青松, 等. 杜梨 bHLH 转录因子家族两成员的序列特征及对非生物胁迫的转录响应 [J]. 江苏农业科学, 2017, 45(22): 40 – 45.