

于洋, 朱庆锋, 薛 敏, 陈 沛, 冯彦钊. 非编码遗传资源在作物重要农艺性状调控中的研究进展 [J]. 广东农业科学, 2024, 51 (9): 1-17.

YU Yang, ZHU Qingfeng, XUE Jiao, CHEN Pei, FENG Yanzhao. Research progress on the regulation of important agronomic traits in crops by non-coding genetic Resources [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2024, 51 (9): 1-17.

## 特约综述



于洋, 博士, 广东省农业科学院农业生物基因研究中心副研究员, 2020 年院青年科技骨干引进人才, 2022 年获院青年研究员人才培养项目支持, 主要从事作物非编码基因功能与机制研究。主持 3 项国家自然科学基金项目 (青年基金 1 项、面上项目 2 项) 和 3 项广东省自然科学基金项目, 参与国家自然科学基金重大研究计划和 NSFC- 广东联合基金重点项目各 1 项。近年来在作物基因资源的发掘、鉴定和功能解析等方面取得创新性成果, 以第一或通信作者在《Plant Cell》《Plant Biotechnology Journal》(2 篇)《Plant Physiology》(3 篇)《Science China Life Sciences》(2 篇)《aBIOTECH》等重要期刊发表学术论文 16 篇; 以主要完成人取得的“水稻产量和生殖发育相关非编码 RNA 的发掘与功能机制”成果荣获 2018 年广东省科学技术奖 (自然科学类) 一等奖 (排名第 5)。入选 2020 年度广东省百名博士博士后创新人物。

# 非编码遗传资源在作物重要农艺性状调控中的研究进展

于 洋, 朱庆锋, 薛 敏, 陈 沛, 冯彦钊

(广东省农业科学院农业生物基因研究中心 / 广东省农作物种质资源保存与利用重点实验室, 广东 广州 510640)

**摘 要:** 在传统作物遗传研究中, 蛋白质编码基因一直是研究的焦点。然而, 近年来的科学进展揭示了非编码遗传资源在调控作物产量、品质和抗性等重要农艺性状中的关键作用。这些非编码遗传资源包括调控性非编码 RNA、组成性非编码 RNA、基因非编码区序列、核酸适配体以及由非编码序列衍生的小肽, 它们在基因表达调控、细胞代谢、基因组稳定性以及生物技术应用中发挥着至关重要的作用。高通量测序技术、生物信息学和功能基因组学的快速发展, 为非编码遗传资源的系统发掘和功能研究提供了技术支撑。在作物育种领域, 非编码遗传资源的精准调控特性为提升农艺性状提供了全新手段, 突破了传统编码基因研究的局限性。相关研究不仅揭示了非编码序列在作物复杂性状调控中的多样化功能与精细调控机制, 也展现出巨大的应用潜力。该文综合评述非编码遗传资源在作物农艺性状调控中的研究进展, 系统梳理这些非编码元件的分类、起源与演化背景, 详细讨论其在调控作物重要农艺性状中的作用机制和调控网络, 最后探讨非编码遗传资源在作物育种中的应用潜力, 并对其在未来遗传改良中的发展方向提出展望。通过系统地总结现有研究成果, 可为未来研究提供坚实的理论基础, 并促进非编码遗传资源在作物遗传改良中的创新应用。

**关键词:** 非编码调控序列; 农艺性状; 基因表达调控; 作用机制; 作物遗传改良

中图分类号: S-3

文献标志码: A

文章编号: 1004-874X (2024) 09-0001-17

收稿日期: 2024-08-15

基金项目: 国家自然科学基金 (32372066); 广东省自然科学基金 (2024A1515013064); 广东省农业科学院科技人才引进专项 (R2021YJ-QG005, R2021YJ-YB3011)

作者简介: 于洋 (1987—), 男, 博士, 副研究员, 研究方向为作物基因资源发掘与利用, E-mail: yuyang@gdaas.cn

通信作者: 冯彦钊 (1991—), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向为作物基因资源发掘与利用, E-mail: fengyanzhao@gdaas.cn

# Research Progress on the Regulation of Important Agronomic Traits in Crops by Non-coding Genetic Resources

YU Yang, ZHU Qingfeng, XUE Jiao, CHEN Pei, FENG Yanzhao

( *Agro-biological Gene Research Center, Guangdong Academy of Agricultural Sciences / Guangdong Key Laboratory for Crop Germplasm Resources Preservation and Utilization, Guangzhou 510640, China* )

**Abstract:** In traditional crop genetics research, protein-coding genes have always been the primary focus. However, recent scientific advances have revealed the critical role of non-coding genetic resources in regulating key agronomic traits such as crop yield, quality, and resistance. These non-coding genetic resources include regulatory non-coding RNAs, constitutive non-coding RNAs, non-coding regions of genes, nucleic acid aptamers, and small peptides derived from non-coding sequences. They play crucial roles in gene expression regulation, cellular metabolism, genome stability, and biotechnological applications. The rapid development of high-throughput sequencing technologies, bioinformatics, and functional genomics has provided technical support for the systematic discovery and functional study of these non-coding genetic resources. In the field of crop breeding, the precise regulatory features of non-coding genetic elements offer new strategies for improving agronomic traits, surpassing the limitations of traditional protein-coding gene research. These studies not only reveal the diverse functions and refined regulatory mechanisms of non-coding sequences in controlling complex crop traits but also demonstrate immense application potential. This paper comprehensively reviews the progress in research on non-coding genetic resources in regulating agronomic traits, systematically categorizing these elements and examining their origins and evolutionary background. It discusses in detail the regulatory mechanisms and networks through which these non-coding elements influence critical agronomic traits in crops. Finally, the article explores the potential applications of non-coding genetic resources in crop breeding and presents future directions for their development in genetic improvement. By systematically summarizing current research findings, this review aims to provide a solid theoretical foundation for future studies and promote the innovative application of non-coding genetic resources in crop genetic improvement.

**Key words:** non-coding regulatory sequences; agronomic traits; gene expression regulation; mechanisms of action; crop genetic improvement

传统的基因表达调控模型主要集中于蛋白质编码基因及其经典翻译产物，而近年来研究表明非编码 RNA 和基因非编码区序列等在调控网络中同样发挥着不可替代的作用，展现出非编码遗传资源介导基因表达调控的普遍性、精准性和复杂性。非编码遗传资源是指基因组中不直接编码蛋白质的 DNA 和 RNA 序列，包括调控性非编码 RNA（如 miRNA、lncRNA、phasiRNA 和 circRNA 等）、组成性非编码 RNA（如 rRNA、tRNA、snRNA 和 snoRNA 等）、基因非编码区序列（如启动子、增强子、沉默子和内含子等）以及核酸适配体，广义的非编码遗传资源通常还包括来源于非编码序列的非经典翻译小肽<sup>[1]</sup>。这些非编码遗传资源在基因表达调控、细胞代谢调控及基因组稳定性维持等方面发挥着关键作用。

随着高通量测序技术、生物信息学分析和功能验证方法的进步，非编码遗传资源研究取得了显著进展，揭示了其在作物重要农艺性状中的广泛参与和重要调控功能<sup>[2]</sup>。“非编码遗传资源与作物复杂农艺性状”已成为生物研究的热点和前沿，也是农学研究领域的重要内涵。发掘丰富的非编码遗传资源并开发高效的非编码调控技术，在现代农业科技创新工作中具有独特的理论优势和良好的应用前景。深入研究非编码遗传资源在作物中的作用机制，不仅能够揭示复杂农艺性状的分子基础，还可以为遗传改良提供新的靶标和思路。本文系统综述非编码遗传资源在调控作物重要农艺性状方面的最新研究进展，重点探讨非编码遗传资源的分类、起源与演化、调控机制与特点以及当前功能研究现状，同时介绍非编

码基因资源的发掘与功能验证方法,并展望其在作物育种中的应用前景。通过系统总结相关研究成果,本文旨在为未来的研究提供理论依据和实践指导,推动非编码遗传资源在作物遗传改良中的广泛应用。

## 1 非编码遗传资源的分类

### 1.1 调控性非编码 RNA

调控性非编码 RNA 是指通过调控基因表达及基因组功能,对生物体生长发育等性状产生显著影响的一类非编码 RNA 分子,主要包括 miRNA、lncRNA、phasiRNA 和 circRNA 等<sup>[3]</sup>(图 1)。miRNA 通过与特定的 mRNA 靶标结合,抑制其翻译或促使其降解,从而精确调控基因表达。

lncRNA 则通过参与转录、转录后调控及表观遗传调控等机制,在基因表达的多个层次发挥作用。phasiRNA 来源于 lncRNA 或蛋白编码基因的特定位点,主要在植物育性和抗逆反应中发挥作用<sup>[4]</sup>。circRNA 由于其独特的环状结构,可以通过海绵效应吸附 miRNA 或直接参与调控翻译过程。这些调控性非编码 RNA 在作物基因组中形成复杂而精细的调控网络,深刻影响着作物的重要性状<sup>[5]</sup>。

### 1.2 组成性非编码 RNA

组成性非编码 RNA 是指在细胞内执行基本功能、维持细胞基本代谢活动的一类非编码 RNA 分子,主要包括 rRNA、tRNA、snRNA 和核酶等。rRNA 是核糖体的主要组成部分,直接参与蛋白质的合成过程,是翻译机制中不可或缺

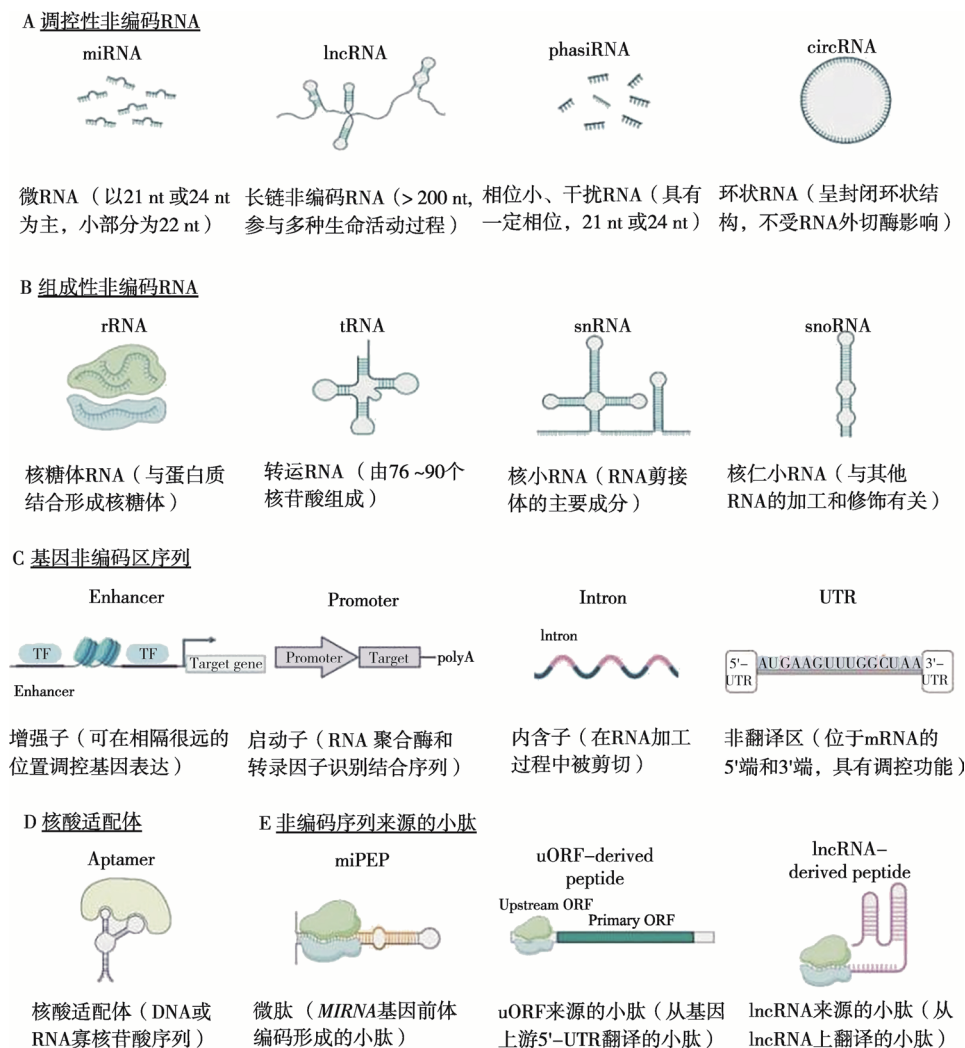


图 1 非编码遗传资源的分类及简介

Fig. 1 Classification and overview of non-coding genetic resources

的成分。tRNA 在蛋白质合成过程中将氨基酸转运至核糖体,并按 mRNA 的序列信息合成多肽链,确保基因信息的精确传递。snoRNA 主要在核仁发挥作用,参与 rRNA 的修饰和加工,保证核糖体的正常功能。核酶作为一种催化小 RNA,具有催化特定 RNA 降解的活性,在 RNA 合成后的剪接修饰中起着重要作用<sup>[6]</sup>。以上这些 RNA 的存在与功能对细胞的基本生命活动至关重要,构成了细胞维持生命活动的基础。

### 1.3 基因非编码区序列

基因非编码区序列指位于基因编码区外部的 DNA 序列,这些序列虽然不编码蛋白质,但通过调控基因的转录或翻译影响作物的生物学功能<sup>[7]</sup>。启动子是 RNA 聚合酶及其他转录因子结合的 DNA 序列,控制基因的转录起始位置及其在细胞中的表达水平和时空特异性。增强子虽然远离启动子,但通过与转录因子结合,大幅度提升基因的转录效率。沉默子则通过抑制基因的转录发挥负调控作用,确保基因表达的精确性和动态平衡。此外,内含子尽管不参与编码蛋白质,但在 RNA 剪接及基因表达调控中也有着重要作用。这些基因非编码区序列通过复杂的调控机制,影响着作物的生长发育和适应性,成为作物基因组功能研究的重要组成部分。

### 1.4 核酸适配体

核酸适配体是由短链 RNA 或 DNA 组成的一类非编码序列,能够特异性地结合目标分子,如蛋白质、金属离子或小分子化合物,并在结合后发挥独特功能<sup>[8]</sup>。其三维结构使其具备高特异性和多样性,被广泛应用于分子识别、传感器及药物递送等领域。在作物研究中,核酸适配体通过识别和调控特定的代谢物或信号分子,可以直接影响作物的生长发育和抗逆性。例如,目前已筛选出多种用于检测微量植物激素的 DNA 适配体,显示出在精准农业中的潜力<sup>[9]</sup>。此外,针对丁香假单胞菌 (*Pseudomonas syringae*) 效应蛋白 HopU1 的 RNA 适配体也已被成功筛选,且研究结果显示其能够增强植物的抗病能力<sup>[10]</sup>。

### 1.5 非编码序列来源的小肽

近年来研究发现,许多被认为是非编码 RNA 的序列实际上可以编码小肽,这些非编码

序列来源的小肽在细胞信号传导、基因表达调控以及抗逆反应中扮演重要角色。非编码序列来源的小肽通常较短,仅由几个或几十个氨基酸组成,但其功能往往高度特异,且在植物的不同发育阶段或环境条件下表现出不同的表达模式。例如,一些非编码序列来源的小肽参与植物激素信号通路的调节,影响植物的生长发育和应激反应<sup>[11]</sup>。这一发现扩展了非编码遗传资源的功能视野,提示基因组中大量潜在的编码资源,具有重要的生物学意义和重大的应用价值。

## 2 植物非编码遗传资源的保守性与多样性

### 2.1 植物 miRNA 的演化

非编码序列不仅在基因调控中发挥重要作用,还为生物进化提供了重要的遗传资源。植物 miRNA 的起源与演化是分子生物学中一个复杂且尚未完全解开的谜团。随着高通量测序技术的发展,研究者在多种植物中鉴定了大量 miRNA。然而,miRNA 的起源和进化机制在不同物种间表现出显著差异,并且关于其演化路径仍存在争议。有研究显示,动物和植物的 miRNA 序列无同源性,且作用机制也不同<sup>[12-13]</sup>,推测动植物的 miRNA 可能经历了相互独立的演化进程。然而,另一些研究则提出不同观点,认为基因组中 miRNA 的大量丢失可能导致不同物种间 miRNA 序列同源性较低的现象。在植物中,miRNA 的进化表现出较高速率,部分 miRNA 家族仅在特定物种或生态型中保守存在。例如,miR857 仅在少数双子叶植物中被发现,且其成熟序列在不同植物中存在长度和结构上的显著差异<sup>[14]</sup>,这种不保守性提示 miR857 可能在特定环境条件下进行快速演化,以满足植物在特定生境中的适应需求。此外,miRNA 的产生可能与基因组中的转座子或重复序列有关。一些 miRNA 可能通过基因组的重复或转座事件形成,并在随后的进化过程中通过中性进化机制逐渐被保留或丢失<sup>[15]</sup>。

### 2.2 植物 lncRNA 的演化

植物 lncRNA 的起源与演化是近年来的研究热点。与蛋白编码基因相比,lncRNA 的进化动态和多样性仍然所知甚少。现有研究表明,植物 lncRNA 在物种间的序列保守性较低,但其功

能性却可能在不同植物中得以保留。例如, 尽管 *HID1*、*IPS1* 和 *ENOD40* 等 lncRNA 在不同植物中的序列存在较大差异, 但它们的功能仍在多个物种中得以保存<sup>[16-18]</sup>。此外, 植物 lncRNA 的基因结构通常比蛋白编码基因更短、外显子数量也更少, 并且在同种植物内部(即个体、亚种或不同生态型)的保守性高于跨物种之间的保守性<sup>[19]</sup>。值得注意的是, 与部分新生 miRNA 的来源相似, 转座子同样也是植物 lncRNA 的重要来源之一, 这些转座子来源的 lncRNA 在植物进化过程中经历了快速的获得和丧失, 并受到组蛋白修饰和转录因子的调控。例如, 在水稻驯化过程中, lncRNA 的序列长度和外显子数目增加, 且普通野生稻中的转座子来源 lncRNA 数量远多于栽培稻, 表明这些 lncRNA 可能在人工选择的压力下被沉默或淘汰<sup>[20]</sup>。

### 2.3 植物 circRNA 的演化

近年来, circRNA 在多种植物中被广泛鉴定, 然而其起源与演化仍然是一个较为模糊的领域。现有研究表明, 大部分植物 circRNA 在物种间的序列保守性较低, 显示出快速进化和种属特异性表达的特征。例如, 在对 6 519 个水稻 circRNA 和 4 663 个拟南芥 circRNA 进行系统分析后发现, 水稻 circRNA 仅有 8.7% 在双子叶植物中保守, 而在水稻属内的保守性则达 49.1%<sup>[21]</sup>。这些数据表明, 大多数水稻 circRNA 可能起源较晚, 特别是在单子叶植物分化之后, 这一观点在拟南芥中得到进一步验证。植物 circRNA 的生成机制与功能特性也显示出与动物 circRNA 的显著差异。例如, 植物 circRNA 的反向剪接位点缺乏丰富的重复元件和反向互补区域, 其剪接信号也表现出较大的多样性与非典型性<sup>[22]</sup>, 这种差异性进一步支持植物 circRNA 的快速进化和种属特异性。此外, 尽管植物 circRNA 在序列上的保守性较低, 但它们在物种中的功能可能得以保留, 尤其是在应对生物胁迫和非生物胁迫方面。研究表明, 植物 circRNA 在应对病原体侵染、干旱和低温胁迫中发挥重要作用。例如, 在猕猴桃、西红柿和葡萄等作物中, circRNA 通过作为 miRNA 的海绵分子或调控相关基因的表达, 增强植物对环境胁迫的耐受性<sup>[23-25]</sup>。

以上内容主要讨论植物 miRNA、lncRNA 和 circRNA 的起源与演化, 但非编码遗传资源的范围远不止于此, 其他类型的非编码遗传资源同样在植物的演化中发挥着不可忽视的作用。未来研究有望揭示这些非编码遗传资源更深层次的演化机制及其在植物适应性进化中的独特贡献。

## 3 非编码遗传资源调控作物重要农艺性状的作用机制

### 3.1 miRNA 通过介导 mRNA 的靶向和切割调控作物复杂性状

通过 miRNA 微调靶基因的表达, 可以实现对蛋白编码基因的时空精准调控, 从而对作物的重要农艺性状进行特异性调节。例如, miR397-*OsLAC*-*OsTTL* 分子模块通过影响 BR 信号通路, 从而增加水稻的籽粒大小和穗分枝数量, 显著提高了水稻产量<sup>[26]</sup>。同样, *OsSPL9*-miR528-*OsRFI2* 通路则在水稻开花过程中发挥了关键作用, miR528 通过靶向 *OsRFI2* 基因, 精确调控水稻在长日照条件下的开花时间<sup>[27]</sup>。

### 3.2 phasiRNA 调控植物生殖发育

在植物生殖过程中, phasiRNA 起着至关重要的作用, 尤其是在调控基因表达和减数分裂的过程中。以水稻为例, 21 nt phasiRNA 在减数分裂早期最为丰富, 它们能够被加载到 MEL1 (MEIOSIS ARRESTED AT LEPTOTENE1) 等 Argonaute (AGO) 家族蛋白中, 通过引导这些 AGO 蛋白裂解靶 mRNA, 参与基因的后转录调控<sup>[28]</sup>。phasiRNA 的靶向机制与传统的小 RNA (如 miRNA) 有所不同。一般来说, 植物中的小 RNA 通常靶向同一基因家族中的一个或多个基因, 以实现精确的基因调控。然而, phasiRNA 的靶向机制则更加灵活且高效。研究表明, 一个 phasiRNA 可以靶向多个不同基因家族的基因, 而同一个靶基因也可能同时被来自不同 phasiRNA 产生座位 (phasiRNA producing loci, PHAS) 的多个 phasiRNAs 靶向。例如, 21 nt phasiRNA 通过靶向和裂解大量与碳水化合物合成和代谢相关的基因, 调控雄性生殖细胞中的代谢活动, 从而确保减数分裂的顺利进行<sup>[29]</sup>。这种“军团作战”的模式可提高基因沉默的容错性,

即使某个 phasiRNA 功能丧失, 其他 phasiRNA 仍可通过靶向相同的基因来维持植物的正常发育。因此, 单个 phasiRNA 功能的丧失通常不会导致明显的生殖缺陷。

### 3.3 lncRNA 在植物基因表达调控中的多层次作用

lncRNA 在植物中的调控机制呈现多样性和复杂性, 主要通过影响 DNA 甲基化、组蛋白修饰、染色质组织及与调控元件的相互作用等途径来调控基因表达。lncRNA 可通过调控 DNA 甲基化参与基因表达的沉默和激活。例如, APOLO 蛋白介导的 RNA 导向 DNA 甲基化 (RdDM) 途径在生长素刺激下启动<sup>[30]</sup>。lncRNA 还可通过作为顺式或反式作用因子, 影响邻近基因的转录或通过染色质重塑复合物相互作用来改变染色质的三维结构, 从而调节基因的表达<sup>[31]</sup>。此外, 某些 lncRNA 作为 miRNA 的前体或抑制物, 通过影响 miRNA 的生成和活性间接调控下游基因。组蛋白修饰和染色质重塑也是 lncRNA 调控基因表达的重要途径, lncRNA 可通过与组蛋白甲基转移酶、去乙酰化酶等相互作用<sup>[32]</sup>, 调控组蛋白修饰及染色质结构变化, 进而影响基因表达和植物对环境刺激的响应。通过这些多层次的调控机制, lncRNA 在植物生理和发育中的作用日益受到重视。

### 3.4 circRNA 通过多重互作抑制植物基因表达调控中的关键分子

circRNA 在植物基因表达调控中展现了多维度的“调虎离山”策略。首先, circRNA 通过与母基因的基因组序列形成 R-loop 结构, 抑制母基因的转录活性。这种机制不仅可减少母基因的表达, 还可促进相关可变剪接转录本的产生。例如, 拟南芥中 *SEPALLATA3* (*SEP3*) 基因第 6 外显子所产生的 circRNA 可通过形成 R-loop 以降低 *SEP3* 的转录水平, 同时促进反义转录本 *SEP3.3* 的上调<sup>[33]</sup>。其次, circRNA 作为 miRNA 的“海绵”, 通过与 miRNA 结合可抑制 miRNA 对 mRNA 的降解, 间接调控 mRNA 的表达水平。这种竞争性结合使得 circRNA 能够调节多种基因的表达<sup>[34]</sup>。此外, circRNA 还与 RNA 结合蛋白发生相互作用, 发挥“诱饵”或“海绵”的功能。虽然植物中关于 circRNA 与 RNA 结合蛋

白的具体作用还需进一步研究, 但现有数据表明, circRNA 可能在调控蛋白质功能中起着重要作用<sup>[35]</sup>。最后, 虽然 circRNA 通常不被认为具有翻译潜力, 但研究显示其可能通过内部核糖体进入位点 (Internal ribosome entry site, IRES) 或 m6A 修饰机制进行翻译, 产生功能性多肽或蛋白质。这一系列机制展示了 circRNA 在植物基因表达调控中的复杂性和多样性, 揭示其在调控网络中的关键角色。

### 3.5 snRNA 通过精准剪接优化植物基因表达

snRNA 在细胞生物学中扮演关键角色, 尤其是在 RNA 剪接过程中的功能。snRNA 主要通过形成剪接体 (Spliceosome) 来调控前体 mRNA (pre-mRNA) 和非编码 RNA 的剪接, 生成成熟 RNA。剪接体由多种 snRNA 和蛋白质组成, 其中 U1、U2、U4、U5 和 U6 是主要的 snRNA, 分别负责识别剪接位点并推动内含子的剪切和外显子的连接<sup>[36]</sup>。研究发现, 拟南芥 U1 snRNA 通过调控下游基因 *SPEECHLESS* (*AtSPCH*) 的剪接, 影响植物的气孔发育, 从而提高耐旱性<sup>[37]</sup>。

### 3.6 核酸适配体在植物生物技术领域的应用

核酸适配体可扮演桥接分子的角色, 通过与特定蛋白质或 RNA 结合实现分子间的精准互动。例如, MS2 系统通过噬菌体 MS2 外壳蛋白 (MS2 coat protein, MCP) 与其结合的 RNA 序列 (MS2 序列) 标记 lncRNA, 与传统的双分子荧光互补 (BiFC) 系统相结合, 发展出三分子荧光互补 (TriFC) 系统, 成功实现植物体内 RNA-蛋白质互作的实时可视化<sup>[38]</sup>。这一系统通过在烟草叶片中瞬时表达, 利用共聚焦显微镜观察揭示了 RNA-蛋白质互作的多样化细胞定位。此外, tRSA (tRNA scaffold to a Streptavidin aptamer) 系统通过将 tRSA 融合 RNA 与链霉亲和素适配体 (Streptavidin aptamer) 结合, 显著提高了捕获特定转录本相关 RNA 结合蛋白的效率<sup>[39]</sup>。这些先进的技术手段展示了核酸适配体在桥接 RNA 和蛋白质功能研究中的广阔应用前景。

通过对上述作用机制的阐述, 可以发现非编码遗传资源在作物复杂性状调控中具有独特的优势和潜力, 其特点可从以下 3 个方面进行总结: 首先, 非编码遗传资源在多种作物中的广泛存在

和作用,显示出其普遍性。其次,非编码遗传资源展现出对特定基因和信号通路的精准调控能力。通过精细的时空表达调控,非编码遗传资源可以特异性地影响目标基因的表达,从而实现对作物重要性状的优化。最后,非编码基因调控网络的复杂性和多层次性,使其在作物性状调控中具有独特优势。非编码遗传资源在作物复杂性状的调控中展现出普遍性、精准性和复杂性的特点,不仅可为作物性状的遗传改良提供新的思路和手段,也可为深入理解植物基因调控网络的复杂性提供重要线索。

## 4 非编码遗传资源调控作物重要农艺性状的研究现状

### 4.1 非编码遗传资源与作物生长、发育和生殖

作物的正常生长、发育及生殖是保证产量

的基础条件。大量研究表明,操纵非编码遗传资源可实现对作物种子生长发育的调控。例如,Zhang等<sup>[40]</sup>研究发现,在水稻中过表达 miR397可以增加水稻的一级分枝和籽粒大小,增产效果高达25%(表1)。进一步研究发现,水稻 miR397的靶基因编码的 OsLAC 蛋白与类甲状腺素蛋白 OsTTL (Transthyretin-like protein) 结合,阻止 OsTTL 的泛素化降解并进一步抑制油菜素内酯(BR)信号转导,从而影响水稻的籽粒大小等产量性状<sup>[26]</sup>。Wang等<sup>[41]</sup>研究还表明,miR397也能增加拟南芥的花茎数、延长角果并增加种子数量,表明 miR397在单双子叶植物中的功能是保守的。此外,miR397还能影响开花时间,且其作用、效果和机制在水稻与拟南芥中有所不同<sup>[42-43]</sup>。

尽管 miRNA 的前体早期也被认为是不编码

表1 非编码遗传资源及其调控的生物学功能

Table 1 Non-coding genetic resources and their regulatory biological functions

非编码遗传资源 Non-coding genetic resources	靶基因/蛋白 Target genes / proteins	物种 Species	相关农艺性状 Related agronomic traits	参考文献 References
miR160	<i>ARF10/ARF16</i>	拟南芥	正向调控侧根发育	[44-45]
miPEP165a	<i>Pre-MIR165</i>	拟南芥	增加主根长度	[46]
miPEP171b	<i>Pre-MIR171b</i>	蒺藜苜蓿	增加主根长度	[46]
miPEP156a	<i>Pre-MIR156a</i>	拟南芥	增加主根长度	[47]
<i>ENOD40</i>	未明确	大豆	根瘤形成	[48]
miPEP172c	<i>Pre-MIR172c</i>	大豆	增加根瘤数目	[49]
miR390	<i>TAS3</i>	拟南芥	正向调控叶原基极性	[50]
miR397	<i>CKB3</i>	拟南芥	推迟开花	[42]
miR528	<i>OsRF12</i>	水稻	促进开花	[27]
lariat41	<i>FT</i>	拟南芥	推迟开花	[51-52]
<i>COOLAIR</i>	<i>FLC</i>	拟南芥	促进开花	[53]
<i>COLDAIR</i>	<i>FLC</i>	拟南芥	促进开花	[54]
miR397	<i>OsLAC</i>	拟南芥、水稻	增加产量	[40-41]
miR408	<i>UCL8</i>	水稻	增加产量	[55]
miR528	<i>UCL23</i>	水稻	正向调控花药内壁形成	[56]
<i>LAIR</i>	<i>LRK</i>	水稻	增加产量	[32]
<i>MISSEN</i>	HeFP	水稻	负调控胚乳细胞化	[57]
phasiTASL1	<i>GID1</i>	荔枝	负调控果实发育	[58]
miR160	<i>HSP</i>	拟南芥	增强耐热性	[59]
miR398	<i>CSD1</i>	冬小麦	负调控耐冷性	[60]
<i>LncR9A</i> 、 <i>LncR117</i> 、 <i>LncR616</i>	<i>CSD1</i>	冬小麦	增加耐冷性	[60]

(续表 1)

非编码遗传资源 Non-coding genetic resources	靶基因 / 蛋白 Target genes / proteins	物种 Species	相关农艺性状 Related agronomic traits	参考文献 References
<i>ALEX1</i>	未明确	水稻	增加白叶枯抗性	[ 61 ]
circR11208	未明确	拟南芥	抗灰霉病	[ 62 ]
circRNA45	未明确	番茄	抗丁香假单孢菌	[ 63 ]
circRNA47	未明确	番茄	抗丁香假单孢菌	[ 63 ]
Wx 5' UTR、第一个内含子	<i>Wx</i>	水稻	直链淀粉合成	[ 64–65 ]
BADH2 5' UTR	<i>BADH2</i>	水稻	2-AP 合成	[ 66 ]
IPA1 启动子	<i>IPA1</i>	水稻	每穗粒数与分蘖数解偶联	[ 67 ]
<i>Ef-cd</i>	<i>OsSOC1</i>	水稻	早熟与产量的解偶联	[ 68 ]
miR168	<i>AGO1</i>	水稻	生长 - 防御平衡	[ 69 ]
OsmiR393a	<i>PvAFB1</i> 、 <i>PvAFB2</i> 、 <i>PvAFB3</i> 、 <i>PvTIR1</i>	柳枝稷	生长 - 防御平衡	[ 70 ]
miR398b	<i>CSD</i>	番茄	生长 - 防御平衡	[ 71 ]
miR1848	<i>OsCYP51G3</i>	水稻	生长 - 防御平衡	[ 72 ]
lncRNA354	miR160b	棉花	株高 - 盐胁迫平衡	[ 73 ]

蛋白的转录本,但目前发现许多 *MIRNA* 基因座上的开放阅读框可以产生小肽 miPEP,调控自身 miRNA 的转录<sup>[74]</sup>。例如,在拟南芥中,miPEP165a 能提高 miR165a 的表达量,增加初生根的长度<sup>[46]</sup>。另外,miPEP858a 可增加 miR858 的丰度,进而提高类黄酮含量<sup>[75]</sup>。

环状 RNA 在作物生长发育中同样发挥着重要作用<sup>[76–78]</sup>。circSEP3 可与 DNA 结合调控母基因表达,影响雄蕊和花瓣的数目<sup>[33]</sup>。在拟南芥中,环状 RNA lariat41 具有多效性,包括叶片卷曲、晚花和育性改变等<sup>[52]</sup>。此外,长链非编码 RNA *LAIR* 能富集邻近基因 *LRK* 的组蛋白 H3K4me3 和 H4K16ac 修饰,增加 *LRK* 表达,从而提高水稻产量<sup>[32]</sup>。胚乳特异表达的 lncRNA *MISSEN* 与解旋酶蛋白 HeFP 互作,过量表达 *MISSEN* 会导致微管组装障碍、胚乳形态异常<sup>[57]</sup>。近年来,Zhang 等<sup>[79]</sup> 鉴定出一类染色质结合的非编码 RNA (cheRNAs), 并发现 *OsCHENATI709*、*OsCHELIN2084* 两个成员与体胚发生相关。

在编码基因的内含子中也存在调控序列,这些序列可能会招募转录调控因子,实现对基因的激活或沉默。例如,水稻 *EUII* 基因第一个内含子中存在 8 碱基的 RY motif (CATGCATG),可以招募阻遏复合体抑制 *EUII* 的表达。缺失该

motif 的植株表现出 *EUII* 表达激活,导致水稻表现为半矮化性状<sup>[80]</sup>。类似地,拟南芥 *FLC* 基因第一个内含子中也存在 RY motif,可以招募阻遏因子 *VAL1* 和 *VAL2* 共同抑制 *FLC* 的表达,从而响应春化调控开花<sup>[81]</sup>。此外,Zhao 等<sup>[82]</sup> 在研究‘籼稻珍汕 97’时发现,*OsMADS51* 基因第一个内含子中的 9.5 kb 插入能够转录 lncRNA *HEATINR*,敲除这段片段可以提高水稻的温感性,且这个位点在华南地区的水稻品种中受到强烈选择。可见,非编码遗传资源通过多层次、多途径的调控网络,赋予作物生长发育以新的可能性,为实现更高效、更精准的农艺性状改良提供了坚实基础。

#### 4.2 非编码遗传资源与作物逆境响应

作为固着生物,植物面临众多环境挑战,如温度、渗透压、重金属和病虫害等。miRNA 在胁迫中的应答已有报道<sup>[83]</sup>。不同植物的 miR160 在不同逆境胁迫中发挥重要作用。例如,在拟南芥和玉米中,miR160 通过靶向 *HSP* 调控温度胁迫响应<sup>[59,84]</sup>。在苹果中,miR160-*MdARF17-HYPONASTIC LEAVES1* 模块能促进不定根的发育,以抵御干旱环境<sup>[85]</sup>。此外,多个 miRNA 家族(如 miR397、miR408、miR528 和 miR857)共同靶向蓝铜蛋白漆酶,这些 miRNA 能响应铜



浓度变化,调节植物在铜胁迫下的分子响应<sup>[86]</sup>。miR398也是被子植物中保守的miRNA,靶向铜/锌超氧化物歧化酶,参与氧化、重金属、盐和干旱胁迫响应<sup>[44, 87-89]</sup>。lncRNA也能与miRNA共同作用。例如,冬小麦中的*LncR9A*、*LncR117*和*LncR616*可充当miR398的诱饵,从而调控作物的冷胁迫响应<sup>[60]</sup>。此外,lncRNA在抗生物胁迫中也发挥重要作用。水稻lncRNA *ALEXI*在白叶枯病菌感染后被诱导表达,进而激活茉莉酸途径,提高水稻对白叶枯病的抗性<sup>[61]</sup>。

随着高通量测序和生物信息学分析技术的发展,人们鉴定出响应不同逆境的circRNA,包括盐、干旱、紫外线、热、冷、重金属和生物胁迫等<sup>[90-93]</sup>。利用这些工具,一些circRNA的功能已被揭示。例如,拟南芥中的circR11208对葡萄孢杆菌感染表现出抗性;在番茄中,circRNA45和circRNA47是抗疫霉菌的正调控因子<sup>[62-63]</sup>。

此外,5' UTR中的uORF通常对下游主体ORF的翻译起调控作用。例如,在生菜中,编辑*LsGGP2*的uORF不仅能提高体内的维生素C含量,还能赋予作物对百草枯的抗性<sup>[94]</sup>。病原菌通过释放转录激活效应蛋白对植物靶基因进行表达调控,以实现其侵染目的。这些靶基因的启动子中往往存在效应蛋白的响应元件,改变这些元件便可调节植物的抗病性。例如,通过TALEN技术编辑*OsSWEET14*基因启动子中的效应蛋白结合元件可增强水稻抗白叶枯病的能力<sup>[95]</sup>。非编码遗传资源在逆境响应中的广泛参与,不仅拓展了人们对植物抗性机制的理解,更为未来作物抗逆性状的精准改良提供了全新策略。

### 4.3 非编码遗传资源与作物品质改良

随着农业与生物技术的发展,我国的温饱问题已基本解决,因此,作物品质的提升成为新时期育种家的追求目标。对于稻米而言,关键的品质指标包括外观品质、加工品质、营养品质和蒸煮食味品质。*Waxy*基因编码的颗粒结合型淀粉合成酶对直链淀粉含量、胶稠度、黏性及热力学性质有显著影响。通过编辑*Wxb*等位基因核心启动子的TATA-box区域,可以降低直链淀粉含量并提升稻米品质<sup>[96]</sup>。此外,在水稻品种‘天丰B’中,编辑*Wxa*基因5' UTR的内含子

剪接位点可影响*Wxa*的转录后加工,导致成熟mRNA水平的下降,从而降低直链淀粉含量<sup>[64]</sup>。Liu等<sup>[65]</sup>研究发现,在*Wxb*背景下敲除第一个内含子可使直链淀粉含量增加13%~24%。香味是稻米的另一个重要品质性状,其产生与甜菜碱醛脱氢酶2(*Badh2*)功能缺失引发的2-乙酰-1-吡咯啉(2-AP)积累有关。Wang等<sup>[66]</sup>发现,‘南开138’中*Badh2*基因5' UTR的突变导致2-AP的积累,从而产生香味。上述例子表明,利用非编码遗传资源对作物品质进行改良是可行且有效的。然而,关于调控作物品质的miRNA、lncRNA及circRNA等的研究仍然相对缺乏。未来需要整合小RNA组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学等多种手段,深入挖掘和科学鉴定这些非编码遗传资源,发现并开发对作物品质具有调控功能的非编码RNA分子。

### 4.4 非编码遗传资源在协调高产、优质、多抗、广适等重要农艺性状中的应用潜力

在作物育种过程中,复杂性状往往受多基因控制,这些基因之间存在相互作用或连锁现象,导致性状改良的难度增加<sup>[97]</sup>。例如,提高作物产量可能导致抗病性下降<sup>[97]</sup>,增加株高和生物量可能引起植株倒伏<sup>[98]</sup>,增大籽粒可能降低穗粒数<sup>[99]</sup>。作物重要农艺性状之间的偶联关系极大地限制了多性状综合改良的实现,严重制约了育种效率和效果,是当前遗传育种工作的重大瓶颈。以理想株型基因*IPAI*为例,尽管其应用可以增加每穗粒数,但同时也会导致分蘖数的减少,难以在两者之间取得平衡。然而,Song等<sup>[67]</sup>通过编辑*IPAI*的启动子调控序列,筛选出一个*IPAI-Pro10*株系,该株系缺失了负调控因子An-1的结合位点,改变了*IPAI*的组织表达模式,提高了*IPAI*在穗中的表达水平,从而成功解除每穗粒数和分蘖数之间的偶联,实现产量效益的最大化。此外,*OsSOC1*反义链转录的lncRNA *Ef-cd*的自然变异能够缩短生育期而不影响产量,打破早花与产量之间的制约<sup>[68]</sup>。

非编码遗传资源也参与生长-防御平衡,Wang等<sup>[69]</sup>研究发现,敲低靶向沉默复合体*AGO1*的miR168不仅可以提高产量,还能加速开花并增强植物免疫性。Tian等<sup>[100]</sup>通过开

发 CRISPR 介导的 uORF 转换技术, 筛选出一个 uORF 变体, 该变体通过调控谷氨酰氨合成酶 2 的翻译, 在不影响适合度的情况下赋予植物广谱抗性。在非生物胁迫方面, 异源表达 *OsmiR393a* 的柳枝稷不仅增加了生物量, 还提高了植物的耐冷性<sup>[70]</sup>。然而, 也有一些非编码 RNA 会同时负调控生长和抗逆性, 如番茄的 *miR398b* 和水稻的 *miR1848* 均能抑制生长和非生物胁迫抗性<sup>[71-72]</sup>。长链非编码 RNA 同样在农艺性状的解偶联中发挥着重要作用, 如棉花中的 *lncRNA354* 能够负调控株高和盐胁迫耐受性<sup>[73]</sup>。

这些研究表明, 非编码遗传资源在作物重要农艺性状的解偶联中起到关键作用, 是未来育种工作中不可忽视的重要资源。育种家可以将这些非编码遗传资源利用杂交技术渗入到广泛种植的水稻品种中, 进一步优化品种目前的性状, 育成高产、高抗、优质的材料。

#### 4.5 基于非编码遗传资源的农业生物技术及作物遗传改良实践

非编码遗传资源不仅在调控重要生物学功能方面发挥着关键作用, 还可作为工具推动生物技术研究的发展。在 CRISPR/Cas9 系统中, 最初的引导 RNA 来自于 crRNA、tracrRNA 两个独立的 RNA 分子。为便于操作, 这两个 RNA 被整合成单个 sgRNA, 用以引导 Cas9 蛋白到靶位点进行基因编辑。通过 SELEX 技术, 还可以筛选出特异性 RNA 适配体, 这些适配体能够结合特定蛋白质或小分子。例如, 将 RNA 适配体 MS2 或 PP7 与 sgRNA 融合, 并招募与 MCP 或 PCP 融合的荧光蛋白, 可以在植物细胞中实现端粒成像<sup>[101]</sup>。此外, 基因组中的“小肽”被认为是基因组的“暗物质”, 它们可以被植物吸收, 进而调控基因表达, 甚至可以参与植物-微生物互作<sup>[102]</sup>, 成为功能研究的新手段。例如, miPEP (microRNA 前体肽) 能够增强母体 miRNA 的表达, 通过外源施加 miPEP 的方法研究未知 miRNA 的功能, 特别是在转化体系尚未成熟的非模式植物中, 这种方法大大简化了研究过程<sup>[11]</sup>。

不仅如此, 利用植物的抗病 *R* 基因作为自然激活陷阱, 也是一种提高植物抗病性的有效策略。例如, 天然的 *Xa10* 基因只对少数白叶枯菌

生理小种有响应, 为拓宽 *Xa10* 的抗菌谱, 研究人员将多个 TALE 效应子结合位点 (如 *PthXo1*、*PthXo6*、*PthXo7*、*AvrXa10* 和 *AvrXa27*) 整合到抗白叶枯病基因 *Xa10* 开放阅读框上游 600 bp 内的启动子区, 获得 *XaE5* 等位基因, 通过侵染试验发现转基因植株对来自 11 个国家的 27 个白叶枯菌株均有抗性, 从而获得广谱抗白叶枯病的转基因水稻植株<sup>[103]</sup>。此外, 通过编辑感病基因的启动子区, 研究人员可以获得带有病原菌效应子对应突变 EBE 区的转基因植株, 进一步提高广谱抗病性。通过对启动子区或 5' UTR 区进行基因编辑, 研究者们还能创制新的上游开放阅读框, 从而精准调节下游主开放阅读框的蛋白表达水平<sup>[104]</sup>。类似地, 人们可以从这些案例中得到启发, 编辑其他抗病基因的调控序列, 并且在水稻以外的其他粮食作物和经济作物中进行研究应用。因此, 非编码遗传资源不仅揭示了植物基因调控的深层奥秘, 更为农业生物技术的创新开辟了广阔前景。

## 5 非编码遗传资源的发掘与功能验证方法

### 5.1 高通量测序与生物信息学技术

高通量测序技术已成为非编码遗传资源鉴定的关键工具, 特别是在 miRNA、lncRNA、phasiRNA 和 circRNA 的识别方面。miRNA 的鉴定最早依赖于二级结构和保守序列的计算预测, 但随着数据量的增加和技术的发展, 深度测序成为主要手段。miRBase 的更新显示, 注册的 miRNA 数量从 2001 年的 28 个增加到当前 (2024 年) 的 48 885 个, 这要求鉴定方法更加精确和高效。当前, miRNA 的鉴定方法包括基于二级结构和保守序列的计算预测、small RNA 文库克隆法以及高通量测序<sup>[105-108]</sup>。计算预测法通过分析 miRNA 前体的特征和二级结构来预测 miRNA, 这些方法虽然成功识别了大量特异性 miRNA, 但也存在假阳性问题; 高通量测序技术提供了更为全面的鉴定结果, 其中 miRDeep-P2 和 sRNA bench 等工具被广泛应用于植物 miRNA 的注释, 这些工具结合序列相似性分析和机器学习方法, 有效提高了 miRNA 鉴定的准确性<sup>[109]</sup>。phasiRNA 的鉴定同样依赖于高通量测序技术。

通过构建小 RNA 文库并进行测序,结合降解组测序来确认 miRNA 或 phasiRNA 引发的切割事件,可以识别 miRNA 和 phasiRNA 的切割位点及其靶基因。pssRNAMiner 和 Phase Tank 等工具被用于识别和分析可能生成 phasiRNA 的前体基因 (*PHAS* 基因) [110-111],并通过检测 sRNA 数据中的周期性 siRNA 簇来筛选候选 *PHAS* 基因。

lncRNA 的鉴定则主要依赖于对 RNA-seq 数据的改进分析。由于植物 lncRNA 可能具有开放阅读框或被误识别为编码基因,导致识别过程复杂。常规流程包括从 RNA-seq 实验中获取原始读数,使用比对软件(如 Bowtie)进行比对,或在无参考基因组的情况下进行 de novo 转录组组装。然后,筛选出长度大于 200 个核苷酸的转录本,排除开放阅读框长度大于 100 个氨基酸的转录本。利用编码潜力计算软件(如 CPC、CPC2、CPAT)进一步评估转录本的编码潜力,然后通过 INFERNAL 等工具识别二级结构特征,最后排除与已知编码基因外显子重叠的转录本 [112-114]。这一流程虽然具有一定的局限性,但已经成功鉴定许多功能重要的 lncRNA。

对于 circRNA 的鉴定,考虑到其闭合环状结构对外切酶不敏感、稳定性高,建库过程中需去除 rRNA 并消化线性 RNA,以提高 circRNA 的富集度。随着测序技术的发展,Nanopore 等三代测序技术的应用使得 circRNA 的全长直接测序成为可能,提高了检测效率和可靠性。CIRCexplorer2、CircPlant 和 PCirc 等工具被广泛应用于植物 circRNA 的鉴定与分析 [115-117]。

## 5.2 功能验证方法

功能验证是确定非编码序列生物学功能的关键步骤,近年来非编码 RNA 的研究方法也有一些改进 [39, 118]。亚细胞定位研究是了解非编码 RNA 功能的重要基础。通过荧光原位杂交 (FISH) 技术,可以标记并观察非编码 RNA 在细胞核、细胞质或特殊细胞器中的定位,这有助于理解其在转录调控、翻译调控及其他细胞功能中的作用 [119-120]。分离胞浆和胞质的 RNA 进行 PCR 检测也是一种常用方法,能够验证非编码 RNA 的亚细胞定位 [120]。RNA-蛋白质相互作用在调节 mRNA 和非编码 RNA 功能中扮演着

重要角色,近年来开发出多种鉴定 RNA-蛋白质相互作用的方法 [118]。RNA pulldown 技术则是研究 RNA 与蛋白质相互作用的核心方法。通过体外转录标记生物素 RNA 探针,与细胞提取液中的蛋白质孵育,形成 RNA-蛋白质复合物,再利用链霉亲和素标记的磁珠进行富集,最终通过 Western blot 或质谱等技术鉴定 RNA 与蛋白质的结合情况 [121]。这种方法能够高效地捕获和分析 RNA-蛋白质复合物。RNA 结合蛋白免疫沉淀技术 (RIP) 用于研究单个蛋白质和 RNA 分子之间的结合。通过特异性抗体沉淀 RNA-蛋白复合物,经过分离和纯化后,可使用 q-PCR 或测序分析结合在复合物上的 RNA。这一技术能够提供有关 RNA 和蛋白质相互作用的详细信息。三分子荧光互补实验 (TriFC) 是一种新兴技术,通过 MS2 序列偶联的 RNA、MSCP 偶联以及待验证蛋白偶联的黄色荧光蛋白片段实现 RNA-蛋白质的荧光标记。该系统利用 MSCP 识别并结合 MS2 RNA 序列,使得距离较远的荧光蛋白片段在空间上靠近并重新组成完整的荧光蛋白,从而发出黄色荧光 [38]。这种方法能有效地观察和验证 RNA 与蛋白质的相互作用。以上众多功能验证方法为非编码 RNA 的生物学功能研究提供了多角度的解析手段,有助于揭示其在细胞中的真实作用及机制。

## 6 结语与展望

种质创新与分子育种是农学研究的核心,也是保障国家粮食安全与农业长期发展的战略性任务。现代生命科学技术的飞速发展,尤其是对非编码遗传资源的深入挖掘与应用,为农业生物复杂遗传性状的研究注入新的活力。近年来,众多研究揭示非编码遗传资源在植物生长发育、代谢、产量和品质等关键性状调控中的关键作用,为人们理解植物性状的遗传基础提供了全新的视角,并为现代农业的分子育种技术开辟创新之路。非编码遗传资源的持续研究,不仅为现代农业提供坚实的理论基础和实用的技术工具,更加速了种质创新与分子育种技术的发展,有助于破解农业生产中的瓶颈问题,确保国家粮食安全与农业的可持续发展。

基于当前研究基础和对未来趋势的观察，“非编码遗传资源与作物重要农艺性状调控”领域的未来发展方向应着眼于以下几个方面：

(1) 新型非编码遗传资源的发掘与鉴定。未来可进一步发掘和鉴定未知的非编码遗传资源，尤其是在基因组“暗物质”中寻找对农艺性状具有潜在调控作用的分子。通过高通量测序和生物信息学分析相结合，挖掘具有重要功能的新型非编码 RNA。(2) 决定农作物重要农艺性状的非编码遗传资源及作用机制研究。深入研究非编码遗传资源在作物生长发育、产量和品质等关键性状中的调控机制。通过功能和机制研究明确非编码遗传资源如何通过调控基因表达网络，影响农艺性状的形成。(3) 非编码遗传资源优异等位变异的挖掘与功能鉴定。通过大规模基因组分析和群体遗传学方法，挖掘与优良性状相关的非编码序列变异，解析其对性状的贡献。利用功能验证试验确定这些变异的具体作用，为分子设计育种提供候选基因和靶标，推动作物品种的改良和创新。(4) 非编码 RNA 跨界传播的功能和机制。研究非编码 RNA 在植物间、植物与其他生物体间的跨界传播机制，揭示其在生态系统中信息传递和适应性调控中的作用，以及非编码 RNA 在生物适应性、抗病性等性状中的独特贡献，为农业生产提供新的调控手段。(5) 非编码遗传资源应用于作物品种改良及分子育种设计。利用非编码 RNA 开发创新型育种技术，提升作物抗逆性、营养品质和产量等关键性状。将优良非编码 RNA 资源引入作物品种改良中，开发具有自主知识产权的育种技术，为现代农业提供高效的分子工具和解决方案。(6) 非编码遗传资源应用的安全性评价。在非编码 RNA 应用于作物育种的过程中，系统评估其环境和食品安全性，分析潜在的生态风险和基因流动性。通过建立安全评价体系和监管框架，确保非编码 RNA 技术的安全应用，为其在农业中的大规模推广提供科学依据和政策支持。(7) RNA 合成生物学研究。通过合成和工程化设计 RNA 分子，开发新型 RNA 工具，如人工合成的核酸适配体、开关型 RNA 和智能化 RNA 分子等，以实现对农业生物的精微调控和改良，为作物育种提供更为灵活和高效

的技术手段。

#### 参考文献 (References) :

- [1] ALEXANDER R P, FANG G, ROZOWSKY J, SNYDER M, GERSTEIN M B. Annotating non-coding regions of the genome [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2010, 11(8): 559–571. DOI: 10.1038/nrg2814.
- [2] 马博涵, 姚丹, 焦苏淇, 鲁中爽, 李泽远, 张爱晶, 何浩博, 张家野. 非编码 RNA 在植物中的研究进展 [J]. *广东农业科学*, 2019, 46(7): 8–16. DOI: 10.16768/j.issn.1004–874X.2019.07.002.  
MA B H, YAO D, JIAO S Q, LU Z X, LI Z Y, ZHANG A J, HE H B, ZHANG J Y. Research progress of non-coding RNA in plants [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2019, 46(7): 8–16. DOI: 10.16768/j.issn.1004–874X.2019.07.002.
- [3] YU Y, ZHANG Y, CHEN X, CHEN Y. Plant noncoding RNAs: Hidden players in development and stress responses [J]. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 2019(35): 407–431. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-100818-125218.
- [4] LIU Y, TENG C, XIA R, MEYERS B C. PhasiRNAs in plants: Their biogenesis, genic sources, and roles in stress responses, development, and reproduction [J]. *The Plant Cell*, 2020, 32(10): 3059–3080. DOI: 10.1105/tpc.20.00335.
- [5] ZHANG P, LI S, CHEN M. Characterization and function of circular RNAs in plants [J]. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2020, 7. DOI: 10.3389/fmolb.2020.00091.
- [6] PALAZZO A F, LEE E S. Non-coding RNA: What is functional and what is junk? [J]. *Frontiers in Genetics*, 2015(6): 2. DOI: 10.3389/fgene.2015.00002.
- [7] CHEN Y H, LU J, YANG X, HUANG -C, ZHANG C Q, LIU Q Q, LI Q F. Gene editing of non-coding regulatory DNA and its application in crop improvement [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2023, 74(19): 6158–6175. DOI: 10.1093/jxb/erad313.
- [8] YUAN Y, LI Y, LIU S, GONG P, LIN J, ZHANG X. An overview of aptamer: Design strategy, prominent applications, and potential challenge in plants [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2024, 296: 154235. DOI: 10.1016/j.jplph.2024.154235.
- [9] TUNGSIRISURP S, O'REILLY R, NAPIER R. Nucleic acid aptamers as aptasensors for plant biology [J]. *Trends in Plant Science*, 2023, 28(3): 359–371. DOI: 10.1016/j.tplants.2022.10.002.
- [10] ABDEEVA I A, MALOSHENOK L G, POGORELKO G V, BRUSKIN S A. Using an RNA aptamer to inhibit the action of effector proteins of plant pathogens [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(23): 16604. DOI: 10.3390/ijms242316604.
- [11] FENG Y Z, ZHU Q F, XUE J, CHEN P, YU Y. Shining in the dark: The big world of small peptides in plants [J]. *ABIOTECH*, 2023, 4(3): 238–256. DOI: 10.1007/s42994-023-00100-0.
- [12] HUANG F, QIAO X, MEI S, ZHANG C, JIANG C. Analysis of non-coding small RNA similarity/sharing between plant and animal genomes [J]. *Science China Life Sciences*, 2023, 66(10): 2437–2440. DOI: 10.1007/s11427-022-2373-8.
- [13] SEMPERE L F, COLE C N, MCPEEK M A, PETERSON K J. The

- phylogenetic distribution of metazoan microRNAs: Insights into evolutionary complexity and constraint [J]. *Journal of Experimental Zoology (Part B): Molecular and Developmental Evolution*, 2006, 306(6): 575–588. DOI: 10.1002/jez.b.21118.
- [14] ZHAO Y, LIN S, QIU Z, CAO D, WEN J, DENG X, WANG X, LIN J, LI X. MicroRNA857 is involved in the regulation of secondary growth of vascular tissues in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2015, 169(4): 2539–2552. DOI: 10.1104/pp.15.01011.
- [15] GUO Z, KUANG Z, TAO Y, WANG H, WAN M, HAO C, SHEN F, YANG X, LI L. Miniature inverted-repeat transposable elements drive rapid microRNA diversification in angiosperms [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2022, 39(11): msac224. DOI: 10.1093/molbev/msac224.
- [16] WANG Y, LI J, DENG X W, ZHU D. Arabidopsis noncoding RNA modulates seedling greening during deetiolation [J]. *Science China Life Sciences*, 2018, 61(2): 199–203. DOI: 10.1007/s11427–017–9187–9.
- [17] CORONA–GOMEZ J A, STADLER P F, FERNANDEZ–VALVERDE S L. Evolutionary conservation of secondary structures in the lncRNAs of plants [J]. *bioRxiv*, 2023. DOI: 10.1101/2023.08.13.553158.
- [18] GULTYAEV A P, KOSTER C, VAN BATENBURG D C, SISTERMANS T, VAN BELLE N, VIJFVINKEL D, ROUSSIS A. Conserved structured domains in plant non-coding RNA enod40, their evolution and recruitment of sequences from transposable elements [J]. *NAR Genomics and Bioinformatics*, 2023, 5(4): lqad091. DOI: 10.1093/nargab/lqad091.
- [19] DENG P, LIU S, NIE X, WEINING S, WU L. Conservation analysis of long non-coding RNAs in plants [J]. *Science China Life Sciences*, 2018, 61(2): 190–198. DOI: 10.1007/s11427–017–9174–9.
- [20] HE H, ZHOU Y F, YANG Y W, ZHANG Z, LEI M Q, FENG Y Z, ZHANG Y C, CHEN Y Q, LIAN J P, YU Y. Genome-wide analysis identified a set of conserved lncRNAs associated with domestication-related traits in rice [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22: 4742. DOI: 10.3390/ijms22094742.
- [21] CHU Q, DING Y, XU X, YE C Y, ZHU Q H, GUO L, FAN L. Recent origination of circular RNAs in plants [J]. *New Phytologist*, 2022, 233(1): 515–525. DOI: 10.1111/nph.17798.
- [22] LIS, WANG J, REN G. CircRNA: An emerging star in plant research: A review [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 272: 132800. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.132800.
- [23] WANG Z, LIU Y, LI D, LI L, ZHANG Q, WANG S, HUANG H. Identification of circular RNAs in kiwifruit and their species-specific response to bacterial canker pathogen invasion [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 413. DOI: 10.3389/fpls.2017.00413.
- [24] LIU J, LI H, ZHANG L, SONG Y, HE J, XU W, MA C, REN Y, LIU H. Integrative investigation of root-related mRNAs, lncRNAs and circRNAs of “Muscat Hamburg” (*Vitis vinifera* L.) grapevine in response to root restriction through transcriptomic analyses [J]. *Genes*, 2022, 13: 1547. DOI: 10.3390/genes13091547.
- [25] ZUO J, WANG Q, ZHU B, LUO Y, GAO L. Deciphering the roles of circRNAs on chilling injury in tomato [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2016, 479(2): 132–138. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.07.032.
- [26] YU Y, HE R R, YANG L, FENG Y Z, XUE J, LIU Q, ZHOU Y F, LEI M Q, ZHANG Y C, LIAN J P, CHEN Y Q. A transthyretin-like protein acts downstream of miR397 and LACCASE to regulate grain yield in rice [J]. *The Plant Cell*, 2024, 36(8): 2893–2907. DOI: 10.1093/plcell/koae147.
- [27] YANG R, LI P, MEI H, WANG D, SUN J, YANG C, HAO L, CAO S, CHU C, HU S, SONG X, CAO X. Fine-tuning of MiR528 accumulation modulates flowering time in rice [J]. *Molecular Plant*, 2019, 12(8): 1103–1113. DOI: 10.1016/j.molp.2019.04.009.
- [28] KOMIYA R, OHYANAGI H, NIIHAMA M, WATANABE T, NAKANO M, KURATA N, NONOMURA K I. Rice germline-specific Argonaute MEL1 protein binds to phasiRNAs generated from more than 700 lincRNAs [J]. *The Plant Journal*, 2014, 78(3): 385–397. DOI: 10.1111/tpj.12483.
- [29] ZHANG Y C, LEI M Q, ZHOU Y F, YANG Y W, LIAN J P, YU Y, FENG Y Z, ZHOU K R, HE R R, HE H, ZHANG Z, YANG J H, CHEN Y Q. Reproductive phasiRNAs regulate reprogramming of gene expression and meiotic progression in rice [J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 6031. DOI: 10.1038/s41467–020–19922–3.
- [30] FONOUNI–FARDE C, CHRIST A, BLEIN T, LEGASCUE M F, FERRERO L, MOISON M, LUCERO L, RAMÍREZ–PRADO J S, LATRASSE D, GONZALEZ D, BENHAMED M, QUADRANA L, CRESPI M, ARIEL F. The *Arabidopsis* APOLO and human UPAT sequence-unrelated long noncoding RNAs can modulate DNA and histone methylation machineries in plants [J]. *Genome Biology*, 2022, 23(1): 181. DOI: 10.1186/s13059–022–02750–7.
- [31] HAN S K, WU M F, CUI S, WAGNER D. Roles and activities of chromatin remodeling ATPases in plants [J]. *The Plant Journal*, 2015, 83(1): 62–77. DOI: 10.1111/tpj.12877.
- [32] WANG Y, LUO X, SUN F, HU J, ZHA X, SU W, YANG J. Overexpressing lncRNA LAIR increases grain yield and regulates neighbouring gene cluster expression in rice [J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 3516. DOI: 10.1038/s41467–018–05829–7.
- [33] CONN V M, HUGOUVIEUX V, NAYAK A, CONOS S A, CAPOVILLA G, CILDIR G, JOURDAIN A, TERGAONKAR V, SCHMID M, ZUBIETA C, CONN S J. A circRNA from SEPALLATA3 regulates splicing of its cognate mRNA through R-loop formation [J]. *Nature Plants*, 2017, 3(5): 17053. DOI: 10.1038/nplants.2017.53.
- [34] ZHOU J, YUAN M, ZHAO Y, QUAN Q, YU D, YANG H, TANG X, XIN X, CAI G, QIAN Q, QI Y, ZHANG Y. Efficient deletion of multiple circle RNA loci by CRISPR–Cas9 reveals Os06circ02797 as a putative sponge for OsMIR408 in rice [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2021, 19(6): 1240–1252. DOI: 10.1111/pbi.13544.
- [35] ZAND KARIMI H, BALDRICH P, RUTTER B D, BORNIEGO L, ZAJT K K, MEYERS B C, INNES R W. *Arabidopsis* apoplasmic fluid contains sRNA- and circular RNA- protein complexes that are located outside extracellular vesicles [J]. *The Plant Cell*, 2022, 34(5): 1863–1881. DOI: 10.1093/plcell/koac043.
- [36] KARIJOLICH J, YU Y T. Spliceosomal snRNA modifications and

- their function [J]. *RNA Biology*, 2010, 7(2): 192–204. DOI: 10.4161/rna.7.2.11207.
- [37] WANG F, LI Y, YUAN J, LI C, LIN Y, GU J, WANG Z Y. The U1 small nuclear RNA enhances drought tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2024: kiae389. DOI: 10.1093/plphys/kiae389.
- [38] SEO J S, CHUA N H. Trimolecular fluorescence complementation (TriFC) assay for visualization of RNA–protein interaction in plants, in plant long non-coding RNAs: Methods and protocols [M] // CHEKANOVA J A, WANG H L V. Plant long non-coding RNAs. Methods in molecular biology, Vol 1933. New York: Humana Press, 2019: 297–303. DOI:10.1007/978-1-4939-9045-019.
- [39] FENG Y Z, YU Y. Experimental strategies for studying the functions of plant circRNAs, in plant circular RNAs: Methods and protocols [M] // VASCHETTO L M. Plant circular RNAs. Methods in molecular biology. Vol 2362. New York: Humana Press, 2021: 21–33. DOI: 10.1007/978-1-0716-1645-12.
- [40] ZHANG Y C, YU Y, WANG C Y, LI Z Y, LIU Q, XU J, LIAO J Y, WANG X J, QU L H, CHEN F, XIN P, YAN C, CHU J, LI H Q, CHEN Y Q. Overexpression of microRNA OsmiR397 improves rice yield by increasing grain size and promoting panicle branching [J]. *Nature Biotechnology*, 2013, 31(9): 848–852. DOI: 10.1038/nbt.2646.
- [41] WANG C Y, ZHANG S, YU Y, LUO Y C, LIU Q, JU C, ZHANG Y-C, QU L H, LUCAS W J, WANG X, CHEN Y-Q. 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. DOI: 10.1111/pbi.12222.
- [42] FENG Y Z, YU Y, ZHOU Y F, YANG Y W, LEI M Q, LIAN J P, HE H, ZHANG Y C, HUANG W, CHEN Y Q. A natural variant of miR397 mediates a feedback loop in circadian rhythm [J]. *Plant Physiology*, 2020, 182(1): 204–214. DOI: 10.1104/pp.19.00710.
- [43] LIAN J P, YUAN C, FENG Y Z, LIU Q, WANG C Y, ZHOU Y F, HUANG Q J, ZHU Q F, ZHANG Y C, CHEN Y Q, YU Y. MicroRNA397 promotes rice flowering by regulating the photorespiration pathway [J]. *Plant Physiology*, 2024, 194(4): 2101–2116. DOI: 10.1093/plphys/kiad626.
- [44] DAI X, LU Q, WANG J, WANG L, XIANG F, LIU Z. MiR160 and its target genes ARF10, ARF16 and ARF17 modulate hypocotyl elongation in a light, BRZ, or PAC-dependent manner in *Arabidopsis*: miR160 promotes hypocotyl elongation [J]. *Plant Science*, 2021, 303: 110686. DOI: 10.1016/j.plantsci.2020.110686.
- [45] LIANG G, LI Y, HE H, WANG F, YU D. Identification of miRNAs and miRNA-mediated regulatory pathways in *Carica papaya* [J]. *Planta*, 2013, 238: 739–752. DOI: 10.1007/s00425-013-1929-6.
- [46] LAURESSERGUES D, COUZIGOU J M, CLEMENTE H S, MARTINEZ Y, DUNAND C, BÉCARD G, COMBIER J P. Primary transcripts of microRNAs encode regulatory peptides [J]. *Nature*, 2015, 520(7545): 90–93. DOI: 10.1038/nature14346.
- [47] EROKHINA T N, RYAZANTSEV D Y, SAMOCHVALOVA L V, ORSA A N, ZAVRIEV S K, MOROZOV S Y. Possible functions of the conserved peptide encoded by the RNA-precursor of miR-156a in plants of the family *Brassicaceae* [J]. *bioRxiv*, 2020: 2020.10.29.361550. DOI: 10.1101/2020.10.29.361550.
- [48] IMAIZUMI-ANRAKU H, KOUCHI H, SYONO K, AKAO S, KAWAGUCHI M. Analysis of *ENOD40* expression in *abl1*, a symbiotic mutant of *Lotus japonicus* that forms empty nodules with incompletely developed nodule vascular bundles [J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2000, 264(4): 402–410. DOI: 10.1007/s004380000330.
- [49] COUZIGOU J M, ANDRÉ O, GUILLOTIN B, ALEXANDRE M, COMBIER J P. Use of microRNA-encoded peptide miPEP172c to stimulate nodulation in soybean [J]. *New Phytologist*, 2016, 211(2): 379–381. DOI:10.1111/nph.13991.
- [50] ZHOU C, HAN L, FU C, WEN J, CHENG X, NAKASHIMA J, MA J, TANG Y, TAN Y, TADEGE M, MYSORE K S, XIA G, WANG Z Y. The transacting short interfering RNA3 pathway and NO APICAL MERISTEM antagonistically regulate leaf margin development and lateral organ separation, as revealed by analysis of an argonaute7/lobed leaflet1 mutant in *Medicago truncatula* [J]. *The Plant Cell*, 2013, 25(12): 4845–4862. DOI: 10.1105/tpc.113.117788.
- [51] LI Z, WANG S, CHENG J, SU C, ZHONG S, LIU Q, FANG Y, YU Y, LYU H, ZHENG Y, ZHENG B. Intron lariat RNA inhibits microRNA biogenesis by sequestering the dicing complex in *Arabidopsis* [J]. *PLOS Genetics*, 2016, 12(11): e1006422. DOI: 10.1371/journal.pgen.1006422.
- [52] CHENG J, ZHANG Y, LI Z, WANG T, ZHANG X, ZHENG B. A lariat-derived circular RNA is required for plant development in *Arabidopsis* [J]. *Science China Life Sciences*, 2018, 61(2): 204–213. DOI: 10.1007/s11427-017-9182-3.
- [53] CSORBA T, QUESTA J I, SUN Q, DEAN C. Antisense COOLAIR mediates the coordinated switching of chromatin states at FLC during vernalization [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2014, 111(45): 16160–16165. DOI: 10.1073/pnas.1419030111.
- [54] KIM D H, XI Y, SUNG S. Modular function of long noncoding RNA, *COLD AIR*, in the vernalization response [J]. *PLoS Genetics*, 2017, 13(7): e1006939. DOI: 10.1371/journal.pgen.1006939.
- [55] ZHANG J P, YU Y, FENG Y Z, ZHOU Y F, ZHANG F, YANG Y W, LEI M Q, ZHANG Y C, CHEN Y Q. MiR408 regulates grain yield and photosynthesis via a phytoeyanin protein [J]. *Plant Physiology*, 2017, 175(3): 1175–1185. DOI: 10.1104/pp.17.01169.
- [56] ZHANG Y C, HE R R, LIAN J P, ZHOU Y F, ZHANG F, LI Q F, YU Y, FENG Y Z, YANG Y W, LEI M Q, HE H, ZHANG Z, CHEN Y Q. OsmiR528 regulates rice–pollen intine formation by targeting an uclacyanin to influence flavonoid metabolism [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2020, 117(1): 727–732. DOI: 10.1073/pnas.1810968117.
- [57] ZHOU Y F, ZHANG Y C, SUN Y M, YU Y, LEI M Q, YANG Y W, LIAN J P, FENG Y Z, ZHANG Z, YANG L, HE R R, HUANG J H, CHENG Y, LIU Y W, CHEN Y Q. The parent-of-origin lncRNA MISSEN regulates rice endosperm development [J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 6525. DOI: 10.1038/s41467-021-26795-7.
- [58] ZHANG Y, ZENG Z, HU H, ZHAO M, CHEN C, MA X, LI G, LI J, LIU Y, HAO Y, XU J, XIA R. MicroRNA482/2118 is lineage-specifically involved in gibberellin signalling via the regulation of GID1 expression by targeting noncoding *PHAS* genes and

- subsequently instigated phasiRNAs [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2024, 22(4): 819–832. DOI: 10.1111/pbi.14226.
- [59] LIN J S, KUO C C, YANG I C, TSAI W A, SHEN Y H, LIN C C, LIANG Y C, LI Y C, KUO Y W, KING Y C, LAI H M, JENG S T. MicroRNA160 modulates plant development and heat shock protein gene expression to mediate heat tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 68. DOI: 10.3389/fpls.2018.00068.
- [60] LU Q, GUO F, XU Q, CANG J. LncRNA improves cold resistance of winter wheat by interacting with miR398 [J]. *Functional Plant Biology*, 2020, 47(6): 544–557. DOI: 10.1071/FP19267.
- [61] YU Y, ZHOU Y F, FENG Y Z, HE H, LIAN J P, YANG Y W, LEI M Q, ZHANG Y C, CHEN Y Q. Transcriptional landscape of pathogen-responsive lncRNAs in rice unveils the role of ALEX1 in jasmonate pathway and disease resistance [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2020, 18(3): 679–690. DOI: 10.1111/pbi.13234.
- [62] WANG L, LI J, GUO B, XU L, LI L, SONG X, WANG X, ZENG X, WU L, NIU D, SUN K, SUN X, ZHAO H. Exonic circular RNAs are involved in *Arabidopsis* immune response against bacterial and fungal pathogens and function synergistically with corresponding linear RNAs [J]. *Phytopathology*, 2021, 112(3): 608–619. DOI: 10.1094/PHYTO-09-20-0398-R.
- [63] HONG Y H, MENG J, ZHANG M, LUAN Y S. Identification of tomato circular RNAs responsive to *Phytophthora infestans* [J]. *Gene*, 2020, 746: 144652. DOI: 10.1016/j.gene.2020.144652.
- [64] ZENG D, LIU T, MA X, WANG B, ZHENG Z, ZHANG Y, XIE X, YANG B, ZHAO Z, ZHU Q, LIU Y G. Quantitative regulation of Waxy expression by CRISPR/Cas9-based promoter and 5'UTR-intron editing improves grain quality in rice [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2020, 18(12): 2385–2387. DOI: 10.1111/pbi.13427.
- [65] LIU X, DING Q, WANG W, PAN Y, TAN C, QIU Y, CHEN Y, LI H, LI Y, YE N, XU N, WU X, YE R, LIU J, MA C. Targeted deletion of the first intron of the wxb allele via CRISPR/Cas9 significantly increases grain amylose content in rice [J]. *Rice*, 2022, 15(1): 1. DOI: 10.1186/s12284-021-00548-y.
- [66] WANG J F, XU X I, LUO Q, LI J Y. Mutation in the non-coding sequence of *Badh2* gene reduces its transcription and translation in fragrant rice 'Nankai 138' [J]. *Crop Science*, 2016, 56(3): 1157–1162. DOI: 10.2135/cropsci2014.03.0243.
- [67] SONG X, MENG X, GUO H, CHENG Q, JING Y, CHEN M, LIU G, WANG B, WANG Y, LI J, YU H. Targeting a gene regulatory element enhances rice grain yield by decoupling panicle number and size [J]. *Nature Biotechnology*, 2022, 40(9): 1403–1411. DOI: 10.1038/s41587-022-01281-7.
- [68] DWIVEDI S L, REYNOLDS M P, ORTIZ R. Mitigating tradeoffs in plant breeding [J]. *iScience*, 2021, 24(9): 102965. DOI: 10.1016/j.isci.2021.102965.
- [69] WANG H, LI Y, CHERN M, ZHU Y, ZHANG L L, LU J H, LI X P, DANG W Q, MA X C, YANG Z R, YAO S Z, ZHAO Z X, FAN J, HUANG Y Y, ZHANG J W, PU M, WANG J, HE M, LI W T, CHEN X W, WU X J, LI S G, LI P, LI Y, RONALD P C, WANG W M. Suppression of rice miR168 improves yield, flowering time and immunity [J]. *Nature Plants*, 2021, 7(2): 129–136. DOI: 10.1038/s41477-021-00852-x.
- [70] LIU Y, WANG K, LI D, YAN J, ZHANG W. Enhanced cold tolerance and tillering in switchgrass (*Panicum virgatum* L.) by heterologous expression of Osa-miR393a [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2017, 58(12): 2226–2240. DOI: 10.1093/pcp/pcx157.
- [71] HE Y, ZHOU J, HU Y, FANG C, YU Y, YANG J, ZHU B, RUAN Y L, ZHU Z. Overexpression of sly-miR398b increased salt sensitivity likely via regulating antioxidant system and photosynthesis in tomato [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2021, 181: 104273. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2020.104273.
- [72] XIA K, OU X, TANG H, WANG R, WU P, JIA Y, WEI X, XU X, KANG S H, KIM S K, ZHANG M. Rice microRNA osa-miR1848 targets the obtusifoliol 14 $\alpha$ -demethylase gene OsCYP51G3 and mediates the biosynthesis of phytosterols and brassinosteroids during development and in response to stress [J]. *New Phytol*, 2015, 208(3): 790–802. DOI: 10.1111/nph.13513.
- [73] ZHANG X, SHEN J, XU Q, DONG J, SONG L, WANG W, SHEN F. Long noncoding RNA lncRNA354 functions as a competing endogenous RNA of miR160b to regulate genes in response to salt stress in upland cotton [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2021, 44(10): 3302–3321. DOI: 10.1111/pce.14133.
- [74] LAURESSERGUES D, ORMANCEY M, GUILLOTIN B, SAN CLEMENTE H, CAMBORDE L, DUBOÉ C, TOURNEUR S, CHARPENTIER P, BAROZET A, JAUNEAU A, LE RU A, THULEAU P, GERVAIS V, PLAZA S, COMBIER J-P. Characterization of plant microRNA-encoded peptides (miPEPs) reveals molecular mechanisms from the translation to activity and specificity [J]. *Cell Reports*, 2022, 38(6): 110339. DOI: 10.1016/j.celrep.2022.110339.
- [75] SHARMA A, BADOLA P K, BHATIA C, SHARMA D, TRIVEDI P K. Primary transcript of miR858 encodes regulatory peptide and controls flavonoid biosynthesis and development in *Arabidopsis* [J]. *Nature Plants*, 2020, 6(10): 1262–1274. DOI: 10.1038/s41477-020-00769-x.
- [76] ADENOT X, ELMAYAN T, LAURESSERGUES D, BOUTET S, BOUCHÉ N, GASCIOLLI V, VAUCHERET H. DRB4-dependent TAS3 trans-acting siRNAs control leaf morphology through AGO7 [J]. *Current Biology*, 2006, 16(9): 927–932. DOI: 10.1016/j.cub.2006.03.035.
- [77] YIFHAR T, PEKKER I, PELED D, FRIEDLANDER G, PISTUNOV A, SABBAN M, WACHSMAN G, ALVAREZ J P, AMSELLEM Z, ESHED Y. Failure of the tomato trans-acting short interfering RNA program to regulate AUXIN RESPONSE FACTOR3 and ARF4 underlies the wiry leaf syndrome [J]. *The Plant Cell*, 2012, 24(9): 3575–3589. DOI: 10.1105/tpc.112.100222.
- [78] SHI C, ZOU W, ZHU Y, ZHANG J, TENG C, WEI H, HE H, HE W, LIU X, ZHANG B, ZHANG H, LENG Y, GUO M, WANG X, CHEN W, ZHANG Z, QIAN H, CUI Y, JIANG H, CHEN Y, FEI Q, MEYERS B C, LIANG W, QIAN Q, SHANG L. mRNA cleavage by 21-nucleotide phasiRNAs determines temperature-sensitive male sterility in rice [J]. *Plant Physiology*, 2024, 194(4): 2354–2371. DOI: 10.1093/

- plphys/kiad654.
- [79] ZHANG Y C, ZHOU Y F, CHENG Y, HUANG J H, LIAN J P, YANG L, HE R R, LEI M Q, LIU Y W, YUAN C, ZHAO W L, XIAO S, CHEN Y Q. Genome-wide analysis and functional annotation of chromatin-enriched noncoding RNAs in rice during somatic cell regeneration [J]. *Genome Biology*, 2022, 23(1): 28. DOI: 10.1186/s13059-022-02608-y.
- [80] XIE Y, ZHANG Y, HAN J, LUO J, LI G, HUANG J, WU H, TIAN Q, ZHU Q, CHEN Y, KAWANO Y, LIU Y G, CHEN L. The intronic cis element SE1 recruits trans-acting repressor complexes to repress the expression of *ELONGATED UPPERMOST INTERNODE1* in rice [J]. *Molecular Plant*, 2018, 11(5): 720-735. DOI: 10.1016/j.molp.2018.03.001.
- [81] YUAN W, LUO X, LI Z, YANG W, WANG Y, LIU R, DU J, HE Y. A cis cold memory element and a trans epigenome reader mediate Polycomb silencing of FLC by vernalization in *Arabidopsis* [J]. *Nature Genetics*, 2016, 48(12): 1527-1534. DOI: 10.1038/ng.3712.
- [82] ZHAO L, HU H, CHEN J, WANG C, CHEN Y, LI H, HUANG D, WANG Z, ZHOU D, GONG R, PAN Y, ZHAO J, MA L, ZHOU S. A 9.5-kb deletion in the 1st intron of *OsMADS51* enhances temperature sensitivity in rice [J]. *The Crop Journal*, 2024, 12(4): 1031-1040. DOI: 10.1016/j.cj.2024.05.010.
- [83] 郝雨帆, 王俊杰, 杨丹丹, 张静, 闫鑫甜, 梁卫红. miRNA 对水稻非生物胁迫的应答 [J]. *广东农业科学*, 2014, 41(19): 5-9. DOI: 10.16768/j.issn.1004-874X.2018.03.012.
- HAO Y F, WANG J J, YANG D D, ZHANG J, YAN X T, LIANG W H. Recent advances in plant micrnas responses to abiotic stresses [J]. *Guangdong Agriculatrual Sciences*, 2014, 41(19): 5-9. DOI: 10.16768/j.issn.1004-874X.2018.03.012.
- [84] HAO K, WANG Y, ZHU Z, WU Y, CHEN R, ZHANG L. miR160: An indispensable regulator in plant [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 833322. DOI: 10.3389/fpls.2022.833322.
- [85] SHEN X, HE J, PING Y, GUO J, HOU N, CAO F, LI X, GENG D, WANG S, CHEN P, QIN G, MA F, GUAN Q. The positive feedback regulatory loop of miR160-Auxin Response Factor 17-HYPONASTIC LEAVES 1 mediates drought tolerance in apple trees [J]. *Plant Physiology*, 2022, 188(3): 1686-1708. DOI: 10.1093/plphys/kiab565.
- [86] HE R R, LEI M Q, ENG Y Z, XUE J, ZHANG Y C, CHEN Y Q, YU Y. Unveiling the evolutionary dynamics of microRNA-targeted plant laccase genes [J]. *Science China Life Sciences*, 2024, 67(11): 2523-2526. DOI: 10.1007/s11427-024-2678-1.
- [87] 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. DOI: 10.1105/tpc.106.041673.
- [88] ÇELİK Ö, AKDAŞ E Y. Tissue-specific transcriptional regulation of seven heavy metal stress-responsive miRNAs and their putative targets in nickel indicator castor bean (*R. communis* L.) plants [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 170: 682-690. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2018.12.006.
- [89] LU Y, FENG Z, BIAN L, XIE H, LIANG J. miR398 regulation in rice of the responses to abiotic and biotic stresses depends on *CSD1* and *CSD2* expression [J]. *Functional Plant Biology*, 2010, 38(1): 44-53. DOI: 10.1071/FP10178.
- [90] KALWAN G, GILL S S, PRIYADARSHINI P, GILL R, YADAVA Y K, YADAV S, BARUAH P M, AGARWALA N, GAIKWAD K, JAIN P K. Approaches for identification and analysis of plant circular RNAs and their role in stress responses [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2023, 205: 105099. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2022.105099.
- [91] RAWAL H C, ALI S, MONDAL T K. Role of non-coding RNAs against salinity stress in *Oryza* species: Strategies and challenges in analyzing miRNAs, tRFs and circRNAs [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 242: 125172. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.125172.
- [92] LI Y, YANG Y, KONG B, SONG X, GAO Z, LI X. Identification and characterization of circRNAs under drought stress in Moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) [J]. *Forests*, 2022, 13(3):426. DOI: 10.3390/f13030426.
- [93] SUN J, DONG Y, WANG C, XIAO S, JIAO Z, GAO C. Identification and characterization of melon circular RNAs involved in powdery mildew responses through comparative transcriptome analysis [J]. *PeerJ*, 2021, 9: e11216. DOI: 10.7717/peerj.11216.
- [94] ZHANG H, SI X, JI X, FAN R, LIU J, CHEN K, WANG D, GAO C. Genome editing of upstream open reading frames enables translational control in plants [J]. *Nature Biotechnology*, 2018, 36(9): 894-898. DOI: 10.1038/nbt.4202.
- [95] BLANVILLAIN-BAUFUMÉ S, RESCHKE M, SOLÉ M, AUGUY F, DOUCOURE H, SZUREK B, MEYNARD D, PORTEFAIX M, CUNNAC S, GUIDERDONI E, BOCH J, KOEBNIK R. Targeted promoter editing for rice resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* reveals differential activities for 14-inducing TAL effectors [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2017, 15(3): 306-317. DOI: 10.1111/pbi.12613.
- [96] HUANG L, LI Q, ZHANG C, CHU R, GU Z, TAN H, ZHAO D, FAN X, LIU Q. Creating novel Wx alleles with fine-tuned amylose levels and improved grain quality in rice by promoter editing using CRISPR/Cas9 system [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2020, 18(11): 2164-2166. DOI: 10.1111/pbi.13391.
- [97] HE Z, WEBSTER S, HE S Y. Growth&defense trade-offs in plants [J]. *Current Biology*, 2022, 32(12): 634-639. DOI: 10.1016/j.cub.2022.04.070.
- [98] NIU Y, CHEN T, ZHAO C, ZHOU M. Improving crop lodging resistance by adjusting plant height and stem strength [J]. *Agronomy*, 2021, 11(12): 2421. DOI: 10.3390/agronomy11122421.
- [99] FAN Y, LI Y. Molecular, cellular and Yin-Yang regulation of grain size and number in rice [J]. *Molecular Breeding*, 2019, 39(12): 163. DOI: 10.1007/s11032-019-1078-0.
- [100] TIAN J, TANG Z, NIU R, ZHOU Y, YANG D, CHEN D, LUO M, MOU R, YUAN M, XU G. Engineering disease-resistant plants with alternative translation efficiency by switching uORF types through CRISPR [J]. *Science China Life Sciences*, 2024, 67(8): 1715-1726. DOI: 10.1007/s11427-024-2588-9.
- [101] KHOSRAVI S, SCHINDELE P, GLADILIN E, DUNEMANN F,



- RUTTEN T, PUCHTA H, HOUBEN A. Application of aptamers improves CRISPR-based live imaging of plant telomeres [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 1254.. DOI: 10.3389/fpls.2020.01254.
- [102] TAN W, NIAN H, TRAN L-S P, JIN J, LIAN T. Small peptides: Novel targets for modulating plant-rhizosphere microbe interactions [J]. *Trends in Microbiology*, 2024. DOI: 10.1016/j.tim.2024.03.011.
- [103] ZENG X, TIAN D, GU K, ZHOU Z, YANG X, LUO Y, WHITE F F, YIN Z. Genetic engineering of the *Xa10* promoter for broad-spectrum and durable resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2015, 13(7): 993-1001. DOI: 10.1111/pbi.12342.
- [104] XU Z, XU X, GONG Q, LI Z, LI Y, WANG S, YANG Y, MA W, LIU L, ZHU B, ZOU L, CHEN G. Engineering broad-spectrum bacterial blight resistance by simultaneously disrupting variable TALE-binding elements of multiple susceptibility genes in rice [J]. *Molecular Plant*, 2019, 12(11): 1434-1446. DOI: 10.1016/j.molp.2019.08.006.
- [105] RHOADES M W, REINHART B J, LIM L P, BURGE C B, BARTEL B, BARTEL D P. Prediction of plant microRNA targets [J]. *Cell*, 2002, 110(4): 513-520. DOI: 10.1016/S0092-8674(02)00863-2.
- [106] MOXON S, SCHWACH F, DALMAY T, MACLEAN D, STUDHOLME D J, MOULTON V. A toolkit for analysing large-scale plant small RNA datasets [J]. *Bioinformatics*, 2008, 24(19): 2252-2253. DOI: 10.1093/bioinformatics/btn428.
- [107] SZITTYA G, MOXON S, SANTOS D M, JING R, FEVEREIRO M P S, MOULTON V, DALMAY T. High-throughput sequencing of *Medicago truncatula* short RNAs identifies eight new miRNA families [J]. *BMC Genomics*, 2008, 9(1): 593. DOI: 10.1186/1471-2164-9-593.
- [108] WU J, LIU Q, WANG X, ZHENG J, WANG T, YOU M, SHENG SUN Z, SHI Q. mirTools 2.0 for non-coding RNA discovery, profiling, and functional annotation based on high-throughput sequencing [J]. *RNA Biology*, 2013, 10(7): 1087-1092. DOI: 10.4161/rna.25193.
- [109] KUANG Z, WANG Y, LI L, YANG X. miRDeep-P2: Accurate and fast analysis of the microRNA transcriptome in plants [J]. *Bioinformatics*, 2019, 35(14): 2521-2522. DOI: 10.1093/bioinformatics/bty972.
- [110] DAI X, ZHAO P X. pssRNAMiner: A plant short small RNA regulatory cascade analysis server [J]. *Nucleic Acids Research*, 2008, 36(S): W114-W118. DOI: 10.1093/nar/gkn297.
- [111] GUO Q, QU X, JIN W. PhaseTank: Genome-wide computational identification of phasiRNAs and their regulatory cascades [J]. *Bioinformatics*, 2015, 31(2): 284-286. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu628.
- [112] KONG L, ZHANG Y, YE Z Q, LIU X Q, ZHAO S Q, WEI L, GAO G. CPC: Assess the protein-coding potential of transcripts using sequence features and support vector machine [J]. *Nucleic Acids Research*, 2007, 35(S): 345-349. DOI: 10.1093/nar/gkm391.
- [113] KANG Y J, YANG D C, KONG L, HOU M, MENG Y Q, WEI L, GAO G. CPC2: A fast and accurate coding potential calculator based on sequence intrinsic features [J]. *Nucleic Acids Research*, 2017, 45(1): 12-16. DOI: 10.1093/nar/gkx428.
- [114] WANG L, PARK H J, DASARI S, WANG S, KOCHER J P, LI W. CPAT: Coding-potential assessment tool using an alignment-free logistic regression model [J]. *Nucleic Acids Research*, 2013, 41(6): e74. DOI: 10.1093/nar/gkt006.
- [115] MA X K, WANG M R, LIU C X, DONG R, CARMICHAEL G G, CHEN L L, YANG L. CIRCexplorer3: A CLEAR pipeline for direct comparison of circular and linear RNA expression [J]. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 2019, 17(5): 511-521. DOI: 10.1016/j.gpb.2019.11.004.
- [116] ZHANG P, LIU Y, CHEN H, MENG X, XUE J, CHEN K, CHEN M. CircPlant: An integrated tool for circRNA detection and functional prediction in plants [J]. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 2020, 18(3): 352-358. DOI: 10.1016/j.gpb.2020.10.001.
- [117] YIN S, TIAN X, ZHANG J, SUN P, LI G. PCirc: Random forest-based plant circRNA identification software [J]. *BMC Bioinformatics*, 2021, 22(1): 10. DOI: 10.1186/s12859-020-03944-1.
- [118] ZHANG A, PI W, WANG Y, LI Y, WANG J, LIU S, CUI X, LIU H, YAO D, ZHAO R. Update on functional analysis of long non-coding RNAs in common crops [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2024, 15: 1389154. DOI: 10.3389/fpls.2024.1389154.
- [119] YANG W, SCHUSTER C, PRUNET N, DONG Q, LANDREIN B, WIGHTMAN R, MEYEROWITZ E M. Visualization of protein coding, long noncoding, and nuclear RNAs by fluorescence in situ hybridization in sections of shoot apical meristems and developing flowers [J]. *Plant Physiology*, 2020, 182(1): 147-158. DOI: 10.1104/pp.19.00980.
- [120] GANESAN G, RAO S M R. A novel noncoding RNA processed by Drosha is restricted to nucleus in mouse [J]. *RNA*, 2008, 14(7): 1399-1410. DOI: 10.1261/rna.838308.
- [121] FENG Y, HU X, ZHANG Y, ZHANG D, LI C, ZHANG L. Methods for the study of long noncoding RNA in cancer cell signaling, in cancer cell signaling: Methods and protocols [M]// ROBLES-FLORES M. Cancer cell signaling. Methods in molecular biology. Vol 1165, New York: Humana Press, 2014: 115-143. DOI: 10.1007/978-1-4939-0856-1\_10.

【责任编辑 张辉玲】