

3 种典型湿地基质脱氮潜在能力与微生物学机制研究

沈炫旭, 张建\*, 程呈, 谢慧君 (山东大学环境科学与工程学院, 山东大学水污染控制与资源再利用实验室, 山东济南 250100)

**摘要** [目的]比较 3 个典型湿地的脱氮潜能,探讨微生物学机制。[方法]在湿地中实地采样,测定基质脱氮能力,通过高通量及实时定量 PCR 分析微生物学机制。[结果]黄河三角洲自然湿地(YRD)更有利于 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的去除,东汶河人工湿地(DWR)与小湄河河流湿地(XMR)更有利于 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的去除。DWR 中 *nobL* 的拷贝数最高,而在 YRD 与 XMR 中差异不大;YRD 基质中 *amoA* 的拷贝数低于 DWR 和 XMR 中。 $\beta$ -变形菌( $\beta$ -Proteobacteria)在 DWR 和 XMR 中的相对丰度最高,而 YRD 中  $\gamma$ -变形菌( $\gamma$ -Proteobacteria)最高。蓝藻细菌(Cyanobacteria)在 DWR 和 XMR 群落中占据比较重要的地位。[结论]虽然 YRD 中反硝化菌的数量最少,但是  $\gamma$ -Proteobacteria 较高的丰度导致反硝化能力较高;而 DWR 与 XMR 具有较多的硝化和反硝化细菌,但是基质类型更有利于发生硝化反应。

**关键词** 湿地;微生物群落;功能基因;脱氮;环境因素  
**中图分类号** S181 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)23-0035-04

**Potential Capacity of Denitrification of Substrate in Three Typical Wetlands and Microbiological Mechanism**  
**SHEN Xuan-xu, ZHANG Jian, CHENG Cheng et al** (School of Environmental Science and Engineering, Shandong University, Water Pollution Control and Resource Reuse Laboratory of Shandong University, Jinan, Shandong 250100)

**Abstract** [Objective] To compare the potential capacity of denitrification in three typical wetlands and study the microbiology mechanism. [Method] Collecting samples in situ, to determine nitrogen removal capacity of substrate and study microbiological mechanism by means of qPCR and high-throughput sequencing analysis. [Result] YRD was more conducive to removing NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, while DWR and XMR were more conducive to removing NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. DWR had the highest copy of *nobL*, while there was no significant difference between YRD and XMR. YRD had the lowest copy of *amoA*. The relative abundance of  $\beta$ -Proteobacteria in DWR and XMR was the highest, while in YRD was  $\gamma$ -Proteobacteria. Cyanobacteria played an important role in DWR and XMR. [Conclusion] Although YRD has the lowest copy of denitrifying bacteria, the high abundance of  $\gamma$ -Proteobacteria leads to strong denitrifying ability. DWR and XMR have more nitrifying and denitrifying bacteria, but the type of substrate is more conducive to nitrifying reaction.

**Key words** Wetland; Microflora; Function gene; Denitrification; Environmental factor

湿地是陆地生态系统和水生生态系统相互作用形成的独特的生态系统。湿地在种群、生态系统和全球生态 3 个不同等级尺度上都有重要的生态功能,被称为“生物超市”“文明的发源地”和“地球之肾”<sup>[1]</sup>。湿地有 2 种基本类型:天然湿地和人工湿地<sup>[2]</sup>。根据系统内的水力水流特性,人工湿地分为表流人工湿地和潜流人工湿地两大类<sup>[3]</sup>。表流湿地与自然湿地相似,在饱和土壤基质上有浅层水面覆盖流动(通常小于 60 cm 深)<sup>[4]</sup>,也是工程应用较多的一种湿地类型。

长久以来水体中氮素累积一直是一个令人担忧的问题。湿地中的无机氮主要有氨氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)、亚硝酸盐(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)和硝酸盐(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)<sup>[5]</sup>。湿地脱氮主要包括微生物氨化、硝化-反硝化以及植物吸收和物理化学转化,如沉淀和离子交换等<sup>[6]</sup>。其中微生物转化是最重要的去除过程,占 60% 以上<sup>[7]</sup>。氮转化的相关微生物功能基因主要有氨单氧酶(*amoA*)、膜结合硝酸还原酶(*narG*)、含铜亚硝酸还原酶(*nirK*)、含 cd1 的亚硝酸还原酶(*nirS*)和一氧化氮还原酶(*nosZ*)。研究表明,氨氮去除率受 *amoA* 控制,硝态氮去除率受 *narG* 基因影响<sup>[8]</sup>。

不同湿地类型对氮去除效果差异较大。据报道,湿地通过氨化作用去除氮的量为 0.004~0.530 g/(m<sup>2</sup>·d),通过硝化作用去除氮的量为 0.010~2.150 g/(m<sup>2</sup>·d),通过反硝化作用去除氮的量为 0.003~1.020 g/(m<sup>2</sup>·d)<sup>[9]</sup>。按照湿地形态学分类,我国的湿地类型主要为自然湿地、人工湿地和河流湿

地。笔者研究了 3 种湿地类型基质的潜在脱氮能力,利用荧光定量 PCR 和高通量测序技术解析了其微生物学机制,以期工程为湿地类型的选择提供理论依据和科学支撑。

1 材料与方法

**1.1 选址与采样** 试验选取山东省内 3 处典型的湿地类型:①东营的黄河三角洲湿地(YRD,山东省最大的自然湿地),②蒙阴的东汶河湿地(DWR,人工湿地),③聊城的小湄河湿地(XMR,河流湿地)(图 1)。采用梅花取样方法,每个湿地取 3 个土样(0~20 cm 深),将收集的每个土样在除去根系和有机物后混合均匀,然后立即放入密闭的塑料袋中保鲜并转移到实验室,4 h 内进行进一步的样品处理。

**1.2 理化性质分析** 取样时,分别使用温度计、pH 计(PHS-3C)和溶解氧仪(HQ30d 53LEDTM, HACH, USA)测定温度、pH 和溶解氧(DO)。使用 1 mol/L 的氯化钾溶液提取基质中 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 和 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>,测定其含量。另外,使用重铬酸钾氧化法确定土壤中的有机碳含量(TOC)。

**1.3 潜在氮去除试验** 转移 5 g 基质样品到 100 mL 经氩气冲洗过的玻璃瓶中,并加入 50 mL 氩气清洗过的去离子水。随后,将样品分成 3 组并进行不同的处理,分别是:①对照组,②添加 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 组,③添加 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 组。将上述装有样品液的烧瓶放置于暗处,室温下培养 24 h。在试验开始(加入氮源后 0 h)和末尾(加入氮源后 24 h)取水样分析系统中氮和有机物的转化。其中,水样经离心分离并过 0.45  $\mu$ m 滤膜后测定样品中的 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 和 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量。

**1.4 样品 DNA 分析** 使用土壤 DNA 提取试剂盒(MoBio, USA)提取总群落 DNA。DNA 浓度和纯度用超微量分光光

**基金项目** 国家自然科学基金项目(5157081493)。  
**作者简介** 沈炫旭(1992—),男,江苏宜兴人,硕士研究生,研究方向:人工湿地。\*通讯作者,教授,博士,博士生导师,从事污水生物及生态净化理论与技术研究。  
**收稿日期** 2018-06-14

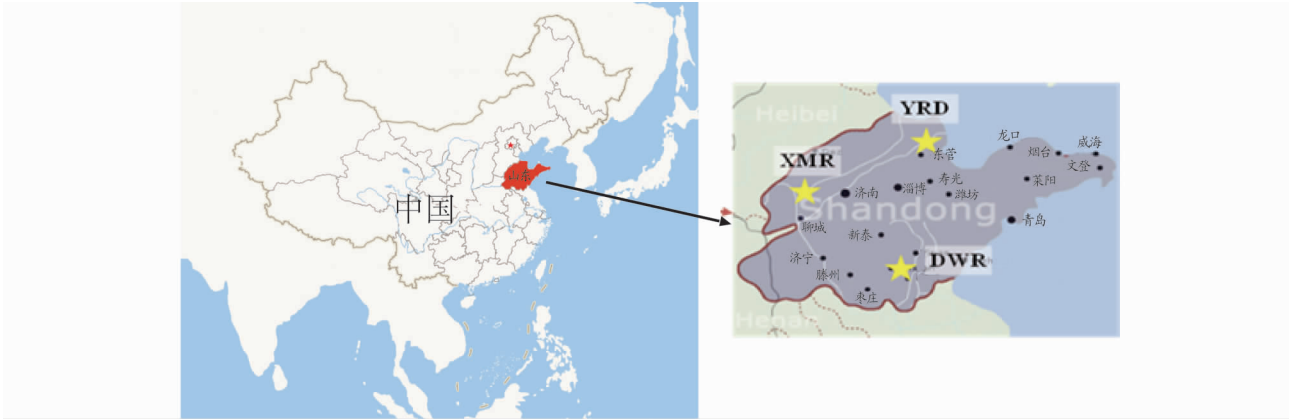


图 1 取样点地理位置

Fig.1 Location of sampling sites

度计(Nano-Drop Technologies,USA)进行分析。选取 *amoA*、*AOA*、*amx*、*nobL*、*narG*、*nirK*、*nirS* 和 *nosZ* 进行 qPCR,具体方法见参考文献[10],所有的样品测量都设 3 个平行。每次 qPCR 试验都包含 1 个阴性对照。在上海源序生物科技有限公司(Shanghai,China)进行高通量测序。

2 结果与分析

2.1 湿地水质和基质的理化性质 3 个湿地的温度相似。从表 1 可以看出,3 个湿地上覆水 pH 为 8~9,说明 3 个湿地都偏碱性。其中 YRD 的 pH 最大,碱性最强,其次是 DWR。而 3 个湿地上覆水 DO 差异较大,DWR 的 DO 最高(3.63 mg/L),而 XMR 的 DO 只有 1.68 mg/L,可能是因为 XMR 和 YRD 的土壤为致密黏壤土,DWR 为沙子,空隙比较大,利于基质中 DO 的传输<sup>[10]</sup>。3 个湿地上覆水中,YRD 的  $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NO}_3^-$  和 TOC 浓度都是最低的,这与 YRD 是天然

湿地,几乎没有污水排入有关。城市污水导致人工湿地中氮和 TOC 的浓度变高<sup>[11]</sup>。DWR 中  $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NO}_3^-$  浓度高于 XMR,这是由于 DWR 用于净化污水处理厂出水,而 XMR 是河道湿地,植物种类繁多,能够摄取水中  $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_2^-$  和  $\text{NO}_3^-$  等污染物<sup>[12]</sup>。DWR 中 TOC 浓度略低于 XMR,这可能是因为 DO 在 DWR 中的浓度比 XMR 高 1.95 mg/L。与此同时,XMR 湿地中植物较多,在秋末冬初会腐烂,进而导致 XMR 内的 TOC 浓度升高。水中较高的氮含量导致在基质中相应含量较高,比如 DWR 基质的  $\text{NO}_3^-$  浓度最高,达 1.59 mg/kg,然而在 YRD 和 XMR 中并未检测到  $\text{NO}_3^-$ (表 2)。这是由于 DWR 地表水中 DO 较高,抑制了反硝化细菌的作用,造成  $\text{NO}_3^-$  浓度升高。在 3 个湿地基质中, $\text{NH}_4^+$  浓度与 DO 呈负相关,而  $\text{NO}_2^-$  几乎无法检测到。这可能是因为湿地基质 DO 较低,从而抑制了硝化细菌的活性。

表 1 湿地表层水质理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of surface water quality in wetland

| 湿地类型<br>Wetland type | pH      | DO<br>mg/L | $\text{NO}_3^-$<br>mg/L | $\text{NO}_2^-$<br>mg/L | $\text{NH}_4^+$<br>mg/L | TOC<br>mg/L |
|----------------------|---------|------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------|
| YRD                  | 9.1±0.2 | 2.40±0.20  | 0.37±0.01               | —                       | 1.05±0.20               | 5.30±0.30   |
| DWR                  | 8.5±0.1 | 3.63±0.41  | 17.50±0.50              | 0.050±0.010             | 3.70±0.80               | 8.00±0.10   |
| XMR                  | 8.2±0.1 | 1.68±0.16  | 7.10±0.10               | 0.037±0.010             | 1.70±0.20               | 8.50±0.60   |

注:—代表未检测出  
Note:—represented not detected

表 2 湿地深层基质化学性质

Table 2 Chemical properties of deep substrates in wetland

| 湿地类型<br>Wetland type | DO | $\text{NO}_3^-$ | $\text{NO}_2^-$ | $\text{NH}_4^+$ | TOC       |
|----------------------|----|-----------------|-----------------|-----------------|-----------|
| YRD                  | *  | —               | 0.019±0.008     | 4.50±0.97       | 2.01±0.10 |
| DWR                  | *  | 1.59±0.51       | 0.005±0.006     | 2.70±0.27       | 2.21±0.50 |
| XMR                  | *  | —               | 0.029±0.010     | 2.90±0.22       | 2.41±0.30 |

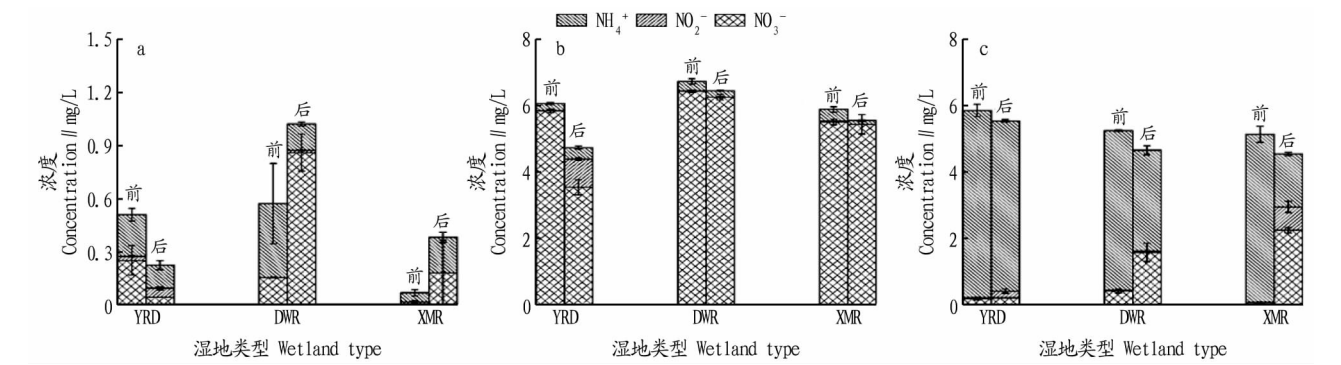
注:—代表未检测出;\* 代表未进行检测  
Note:—represented not detected;\* represented undetected

2.2 潜在氮去除试验结果 通过研究试验前后水样中氮浓度变化,可以确定不同类型湿地基质对氮的转化能力。从图 2a 可以看出,YRD 和 XMR 对照组中氮的浓度几乎不变。而 DWR 中  $\text{NO}_3^-$  的浓度从 0.15 mg/L 增加到 0.86 mg/L,这可能是由于 DWR 基质中含有  $\text{NO}_3^-$  释放的结果。从图 2b 可以看出,添加  $\text{NO}_3^-$  后,YRD 中  $\text{NO}_3^-$  的浓度从 5.86 mg/L 降低到 3.55 mg/L,而  $\text{NO}_2^-$  的浓度从 0.02 mg/L 增加到 0.85 mg/L,

说明 YRD 中硝酸盐变为亚硝酸盐,这是反硝化的第一步<sup>[13]</sup>。而 DWR 和 XMR 中,添加  $\text{NO}_3^-$  反应前后, $\text{NO}_3^-$  几乎没有变化,可能跟其本身  $\text{NO}_3^-$  累积,而 DO 相对较高比例与反硝化反应的发生有关。从图 2c 可以看出,在添加  $\text{NH}_4^+$  后,XMR 的  $\text{NH}_4^+$  浓度降低最多,达 3.50 mg/L,硝酸盐和亚硝酸盐浓度分别增加了 2.30 mg/L 和 0.70 mg/L。这可能是由于 XMR 发生了部分硝化反应。DWR 的  $\text{NH}_4^+$  浓度从 4.80 mg/L 下降

到 3.00 mg/L,而  $\text{NO}_3^-$  浓度从 0.41 mg/L 提高到 1.60 mg/L,表明发生了硝化过程<sup>[14]</sup>。虽然 XMR 中消耗的  $\text{NH}_4^+$  量最多,但是在 XMR 中发现了  $\text{NO}_2^-$  的积累,说明在 XMR 中硝化反

应进行不彻底,这可能是由于 XMR 中 DO 浓度不足以进行完全硝化反应。而在 YRD 中,基本未检测到  $\text{NH}_4^+$  浓度变化。

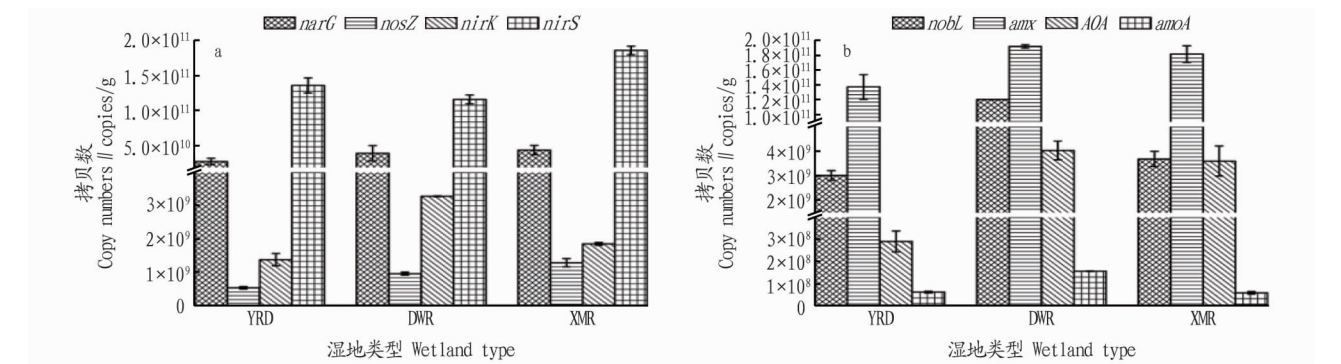


注:a.空白组;b.添加  $\text{NO}_3^-$ ;c.添加  $\text{NH}_4^+$   
Note:a. Control;b. Adding  $\text{NO}_3^-$ ;c. Adding  $\text{NH}_4^+$

图2 表层水质中氮浓度变化  
Fig.2 Change in nitrogen concentration in surface water

**2.3 实时荧光定量 PCR 结果** 图 3a 代表了反硝化过程相关基因,在 3 个湿地中 *narG* 和 *nosZ* 的拷贝数没有显著差异,而 DWR 与 XMR 中 *narG* 的拷贝数高于 YRD。虽然 YRD 中反硝化细菌的数量比 DWR 中少,但在添加硝酸盐的试验中表明,YRD 更容易进行反硝化。结果表明,与反硝化有关的功能基因的数量与湿地基质的反硝化有一定的关系,但并不绝对。反硝化受多种因素的影响,包括硝酸盐浓度、不同植

物种类的残留、 $\text{O}_2$  的缺失、反硝化剂的存在、覆水的存在等<sup>[15]</sup>。图 3b 显示 DWR 中的 *nobL* 拷贝数为  $1.2 \times 10^{11}$  copies/g,而在 YRD 与 XMR 中 *nobL* 拷贝数约为  $3.0 \times 10^9$  copies/g。这可能是因为 DWR 的 DO 浓度高于另外 2 个湿地,相对有利于硝化细菌的生长。通过比较 3 个不同的湿地厌氧氨氧化基因的拷贝数,发现 YRD 的 *AOA* 拷贝数 ( $3.0 \times 10^8$  copies/g) 低于 DWR ( $4.0 \times 10^9$  copies/g) 和 XMR ( $3.5 \times 10^9$  copies/g)。



注:a.3 个湿地的 *narG*、*nosZ*、*nirK* 和 *nirS* 的拷贝数;b.3 个湿地的 *nobL*、*amx*、*AOA* 和 *amoA* 的拷贝数  
Note:a. The copy number of *narG*, *nosZ*, *nirK* and *nirS* in three wetlands;b. The copy number of *nobL*, *amx*, *AOA* and *amoA* in three wetlands

图3 样品中总细菌的丰度  
Fig.3 The abundances of total bacteria in samples

**2.4 高通量测序结果** 高通量测序结果表明,DWR、XMR 和 YRD 底泥样品中的微生物群落结构存在明显差异。图 4 显示在门水平上,3 个样品中相对丰度最高的 2 个菌种为变形菌门 (Proteobacteria), 分别为 60.0% (DWR)、56.0% (XMR) 和 61.0% (YRD);其次是拟杆菌门 (Bacteroidetes), 分别为 12.0% (DWR)、21.0% (XMR) 和 20.0% (YRD)。此外,具有光合作用的蓝藻细菌 (Cyanobacteria) 在 DWR 和 XMR 群落中也占据比较重要的地位,相对丰度分别为 8.5% 和 6.7%,而该类光合细菌在 YRD 中的相对丰度仅有 0.2%。图 5a 是样品群落中变形菌门的进一步分析结果,DWR 和 XMR 中的主导变形菌为  $\beta$ -变形菌 ( $\beta$ -Proteobacteria),而 YRD 中

的主导变形菌为  $\gamma$ -Proteobacteria。图 5b 对拟杆菌门进行了进一步划分,从图中可以看出,3 个样品群落中的主导菌种均为拟杆菌 (Bacteroidia) 和未定地位的拟杆菌 (Bacteroidetes incertae sedis),但 XMR 样品中这 2 类菌种的相对丰度之和明显大于另外 2 个样品。结合图 4 与图 5 的分析可以得出结论: $\gamma$ -变形菌 ( $\gamma$ -Proteobacteria) 导致了 YRD 中较好的反硝化能力<sup>[16]</sup>,而  $\beta$ -Proteobacteria 和 Cyanobacteria 造成了 DWR 和 XMR 较好的硝化能力<sup>[17-18]</sup>。  
**3 结论**  
虽然 YRD 中反硝化菌的数量最少,但是较低的 DO 和  $\gamma$ -Proteobacteria 较高的丰度导致了反硝化能力较高;而

DWR 与 XMR 具有较多的硝化和反硝化细菌,但是较高的 DO 和  $\beta$ -Proteobacteria 和 Cyanobacteria 更有利于发生硝化反应。

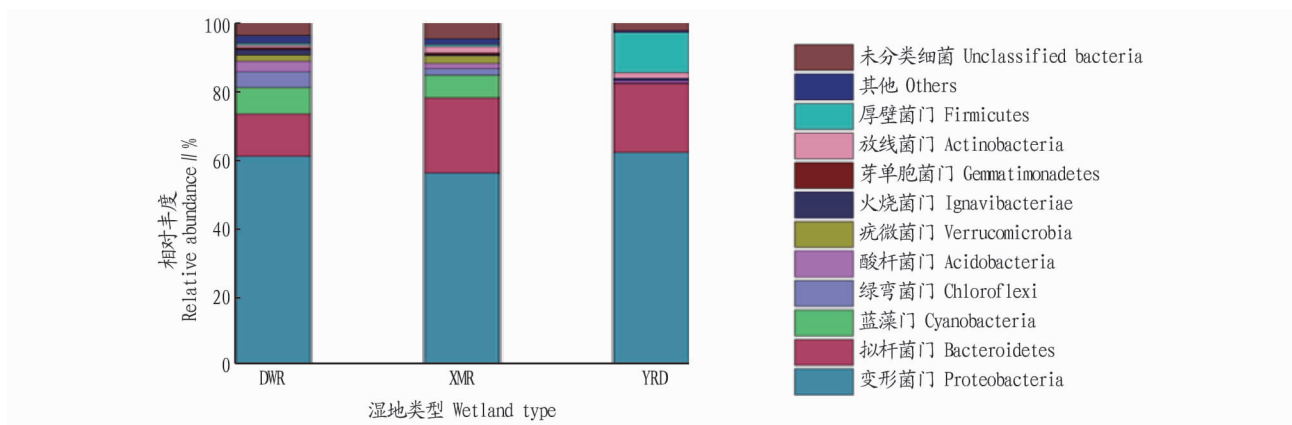
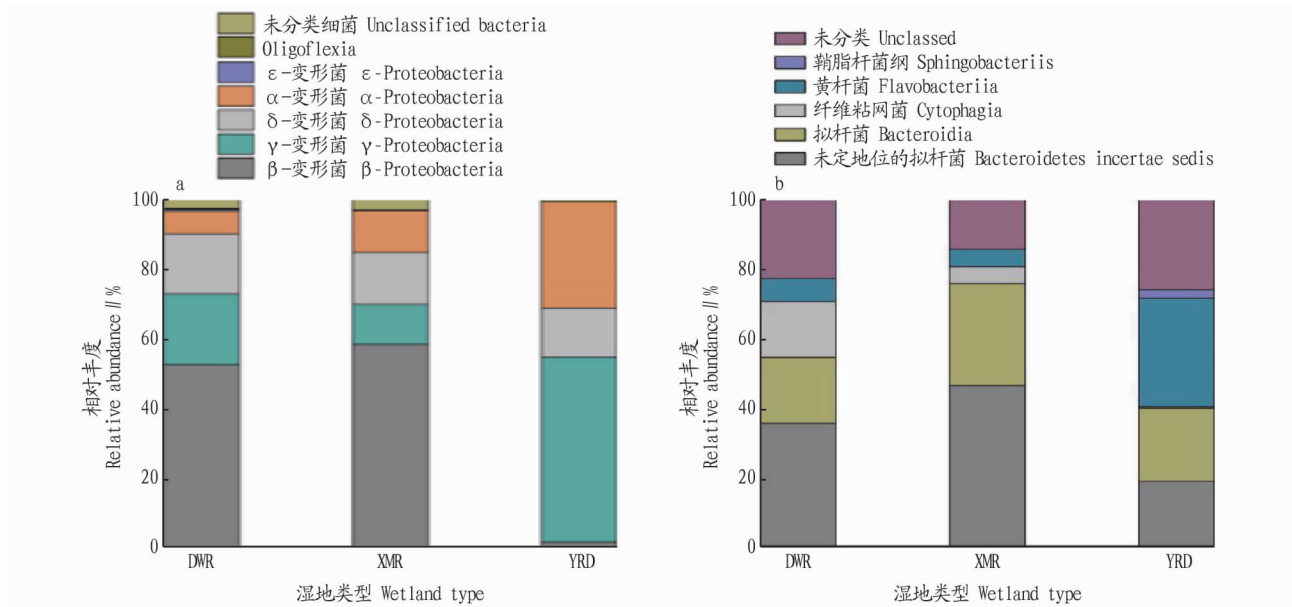


图 4 3 个湿地门水平上的细菌群落组成

Fig. 4 Bacterial community composition at phylum level in three wetlands



注:a. 变形菌门下纲水平的群落结构;b. 拟杆菌门下纲水平的群落结构

Note:a. Bacterial community composition at class level of Proteobacteria;b. Bacterial community composition at class level of Bacteroidetes

图 5 3 个湿地纲水平上的细菌群落组成

Fig. 5 Bacterial community composition at class level in three wetlands

参考文献

[1] WOOD A. Constructed wetlands in water pollution control: Fundamentals to their understanding[J]. Water science and technology, 1995, 32(3): 21-29.  
[2] 唐小平, 黄桂林. 中国湿地分类系统的研究[J]. 林业科学研究, 2003, 16(5): 531-539.  
[3] 籍国东, 孙铁珩, 李顺. 人工湿地及其在工业废水处理中的应用[J]. 应用生态学报, 2002, 13(2): 224-228.  
[4] SAEED T, SUNG Z. A review on nitrogen and organics removal mechanisms in subsurface flow constructed wetlands: Dependency on environmental parameters, operating conditions and supporting media[J]. Journal of environmental management, 2012, 112: 429-448.  
[5] 卢少勇, 金相灿, 余刚. 人工湿地的氮去除机理[J]. 生态学报, 2006, 26(8): 2670-2677.  
[6] United States Environmental Protection Agency Office of Water. Subsurface flow constructed wetlands for wastewater treatment. A technology assessment[J]. Ecological engineering, 1993, 2(4): 382.  
[7] LEE C, FLETCHER T D, SUN G Z. Nitrogen removal in constructed wetland systems[J]. Engineering in life sciences, 2009, 9(1): 11-22.  
[8] ZHI W, YUAN L, JI G D, et al. Enhanced long-term nitrogen removal and

its quantitative molecular mechanism in tidal flow constructed wetlands [J]. Environmental science & technology, 2015, 49(7): 4575-4583.  
[9] REDDY K R, D'ANGELO E M. Biogeochemical indicators to evaluate pollutant removal efficiency in constructed wetlands[J]. Water science and technology, 1997, 35(5): 1-10.  
[10] LIU J N, YANG Z C, YU W J, et al. Relationship between nitrogen transformation and its related genes: Comparison among riparian, marsh, and full-scale constructed wetlands [J]. Desalination and water treatment, 2016, 57(46): 21806-21816.  
[11] 孙红英. 人工湿地高氮水平下植物多样性对温室气体释放的效应及机制[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.  
[12] 李林锋, 年跃刚, 蒋高明. 植物吸收在人工湿地脱氮除磷中的贡献[J]. 环境科学研究, 2009, 22(3): 337-342.  
[13] 陆松柳, 胡洪营. 人工湿地的反硝化能力研究[J]. 中国给水排水, 2008, 24(7): 63-65.  
[14] 张政, 付融冰, 顾国维, 等. 人工湿地脱氮途径及其影响因素分析[J]. 生态环境, 2006, 15(6): 1385-1390.  
[15] 熊飞, 李文朝, 潘继征, 等. 人工湿地脱氮除磷的效果与机理研究进展[J]. 湿地科学, 2005, 3(3): 228-234.

(下转第 68 页)



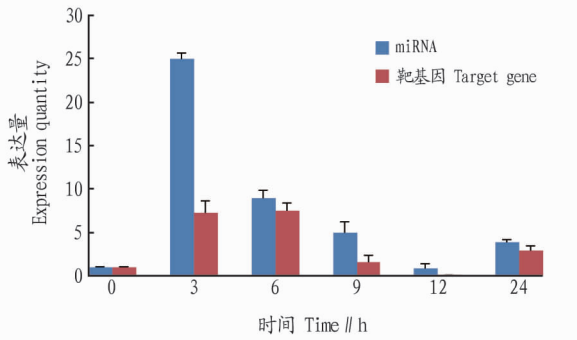


图4 ApNPV 感染的 miRNA MD217 及靶基因 MAPKK7 实时定量 PCR 结果

Fig. 4 The relative expression levels of MD217 and its target genes MAPKK7 after induced by ApNPV

该研究通过 Vmir 预测筛选获得了 ApNPV 基因组编码的 miRNA MD217 前体序列,经过一系列试验验证结果与预期符合;对 MD217 成熟体序列及其作用的宿主靶标基因进行了功能预测,利用实时定量 PCR 实时监测 MD217 和其靶标基因 MAPKK7 的表达水平,通过 Ct 差值法对相对表达量进行了分析,结果显示在 3 h 后 MD217 的相对表达量随时间增加而逐渐降低。miRNA MD217 在病毒感染后诱导表达,很可能是降低了宿主免疫系统的防御能力,并同时影响靶基因 MAPKK7 的功能表达,从而避免了在免疫应答过程中的免疫清除。

促丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 级联途径是一类在真核生物中广泛存在的重要的信号传导网络。经典的 MAPK 级联途径包括 3 个必需的激酶组分: MAPKKK、MAPKK 和 MAPK,通过顺序磷酸化而发挥功能<sup>[14]</sup>。李国奇等<sup>[15]</sup>认为, MAPK 信号传导通路是广泛存在于哺乳动物及植物体内的重要信号传导系统,其接受多种多样的生物刺激,通过多级级联式传导程序引发细胞的生长、繁殖、分裂、凋亡等生理过程,同时参与炎症、肿瘤等病理过程。他们的研究表明, MAPKK7 是肿瘤发生、发展与转移的抑制因素,关于 MAPKK7 的进一步研究很可能推导出新的肿瘤诊治措施。虞朝辉<sup>[16]</sup>运用 miRNA 表达谱技术对小鼠肝脏缺血的研究表明, miR-370 可能通过影响潜在靶标基因 MAPKK3 和 MAPKK7 的表达,进一步调节 MAPK 信号传导通路的信号分子,由此在肝脏 I/R 损伤和 IPC 中发挥调节作用。笔者在 ApNPV 上取得的数据与 MAPK 在植物和人体上的结论有相关性,同时也将丰富 MAPK 信号传导网络的研究。

越来越多的研究表明,miRNA 参与对病毒侵染免疫反应的调控过程。不同昆虫及细胞感染不同病毒后,其 miRNA 表达谱多会发生显著变化,如棉铃虫 (*Helicoverpa armigera*) 幼虫<sup>[17]</sup>和草地贪夜蛾 Sf9 细胞<sup>[18]</sup>感染杆状病毒、家蚕幼虫感染质型多角体病毒 (BmCPV)<sup>[19-20]</sup>等,它们 miRNA 表达谱

的变化可能来自寄主本身的抗病毒反应,亦可能受病毒基因的调控而产生。

综上所述,病毒除了通过自身的一些基因与宿主发生相互作用外,亦可通过编码一些 VmiRNA 与宿主发生相互作用,通过 VmiRNA 调节宿主体内某些相关基因以及自身相关基因的表达,为病毒在宿主内的存在创造有利的生存环境。随着对 ApNPV 和 miRNA 的进一步探索,将全面地了解柞蚕和 ApNPV 之间的作用关系,并以此制订更好的柞蚕脓病防御措施。

## 参考文献

- [1] 焦阳. 柞蚕脓病流行趋势、发生原因及防控技术[J]. 北方蚕业, 2007, 28 (2): 34-35.
- [2] FAN Q, LI S, WANG L, et al. The genome sequence of the multinucleocapsid nucleopolyhedrovirus of the Chinese oak silkworm *Antheraea pernyi* [J]. Virology, 2007, 366 (2): 304-315.
- [3] 孟庆峰, 刘晓勇. 杆状病毒与昆虫宿主相互作用的研究进展[J]. 昆虫学报, 2013, 56 (8): 925-933.
- [4] YADAV S, SINGH A, VERMA S K. Computational identification of microRNAs for targeting long and short segments of lassa virus [J]. International journal of scientific & engineering research, 2014, 5 (4): 247-251.
- [5] XIANG J, CHENG A C, WANG M S, et al. Computational identification of microRNAs in Ananid herpesvirus 1 genome [J]. Virology journal, 2012, 9 (1): 1-4.
- [6] TANZER A, STADLER P F. Molecular evolution of a microRNA cluster [J]. Journal of molecular biology, 2004, 339 (2): 327-335.
- [7] 侯丽娟, 汤华. 细胞周期中 MicroRNA 的调控作用[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2008, 24 (5): 403-407.
- [8] NAIR V K, ZAVOLAN M. Virus-encoded microRNAs: Novel regulators of gene expression [J]. Trends in microbiology, 2006, 14 (4): 169-175.
- [9] KIM V N, NAM J W. Genomics of microRNA [J]. Trends in genetics, 2006, 22 (3): 165-173.
- [10] 陈蔚, 黄勇, 赵巧玲, 等. 利用生物信息学方法预测家蚕核型多角体病毒基因组编码的 miRNA [J]. 蚕业科学, 2011, 37 (5): 818-824.
- [11] ZHANG J, HE Q, ZHANG C D, et al. Inhibition of BmNPV replication in silkworm cells using inducible and regulated artificial microRNA precursors targeting the essential viral gene *lef-11* [J]. Antiviral research, 2014, 104 (1): 143-152.
- [12] 李文利, 林澜, 王乃红, 等. 柞蚕核型多角体病毒基因组编码 VmiRNA 的预测与功能分析[J]. 蚕业科学, 2013, 39 (2): 324-332.
- [13] SKALSKY R L, CULLEN B R. Viruses, microRNAs, and host interactions [J]. Annual review of microbiology, 2010, 64 (1): 123-141.
- [14] 吕伟增, 曹广灿, 林一欣, 等. 玉米种子老化相关 MAPK 途径基因表达分析[J]. 植物生理学报, 2015 (6): 869-881.
- [15] 李国奇, 杨祚璋. MAPKK7 的功能以及在肿瘤领域作用的研究进展[J]. 中华临床医师杂志 (电子版), 2012, 6 (24): 8255-8257.
- [16] 虞朝辉. 基于蛋白质组学技术和 miRNA 表达谱技术的缺血预处理对肝脏缺血再灌注损伤作用机理研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2008.
- [17] JAYACHANDRAN B, HUSSAIN M, ASGARI S. Regulation of *Helicoverpa armigera* ecdysone receptor by miR-14 and its potential link to baculovirus infection [J]. Journal of invertebrate pathology, 2013, 114 (2): 151-157.
- [18] MEHRABADI M, HUSSAIN M, ASGARI S. MicroRNAome of *Spodoptera frugiperda* cells (Sf9) and its alteration following baculovirus infection [J]. Journal of general virology, 2013, 94 (Pt 6): 1385-1397.
- [19] PING W, HAN S H, CHEN T, et al. Involvement of MicroRNAs in infection of silkworm with *Bombyx mori* cytoplasmic polyhedrosis virus (BmCPV) [J]. PLoS One, 2013, 8 (7): 1-12.
- [20] WU P, QIN G X, QIAN H Y, et al. Roles of miR-278-3p in IBP2 regulation and *Bombyx mori* cytoplasmic polyhedrosis virus replication [J]. Gene, 2015, 575 (2 Pt 1): 264-269.

(上接第 38 页)

- [16] AHMED Z, LIM B R, CHO J, et al. Biological nitrogen and phosphorus removal and changes in microbial community structure in a membrane bioreactor. Effect of different carbon sources [J]. Water research, 2007, 42 (1/2): 198-210.
- [17] PENG Y Z, ZHU G B. Biological nitrogen removal with nitrification and

denitrification via nitrite pathway [J]. Applied microbiology and biotechnology, 2006, 73 (1): 15-26.

- [18] CHEVALIER P, PROULX D, LESSARD P, et al. Nitrogen and phosphorus removal by high latitude mat-forming cyanobacteria for potential use in tertiary wastewater treatment [J]. Journal of applied phycology, 2000, 12 (2): 105-112.