

植物microRNAs与逆境应答研究进展

王翔宇¹, 程荣², 范海延^{2,3,*}, 于洋², 孟丹娜⁴

沈阳农业大学¹园艺学院, ²生物科学技术学院, ³设施园艺省部共建教育部重点实验室, ⁴植物保护学院, 沈阳110866

摘要: 植物microRNAs (miRNAs)是在植物体内产生的长度为21~24 nt的一类非编码单链RNA分子, 在植物生命的各个过程中均起着重要的调控作用。环境胁迫是影响植物正常生长的重要因素, 不同的胁迫可以使植物相应的miRNAs表达量发生变化, miRNAs可通过调控其靶基因的表达量, 使植物在形态及生理上产生对逆境的适应性。本文阐述了植物miRNAs的合成过程与作用机理, 及其在响应盐、干旱、温度、营养、UV-B、机械损伤等非生物胁迫和病原菌侵染等生物胁迫方面的研究概况与进展, 并概述了miRNAs研究中的问题及应用前景。

关键词: 植物microRNAs; 生物合成; 作用机制; 环境胁迫

Advances in Plant MicroRNAs and Stresses Response

WANG Xiang-Yu¹, CHENG Rong², FAN Hai-Yan^{2,3,*}, YU Yang², MENG Dan-Na⁴

¹College of Horticulture, ²College of Biological Science and Technology, ³Key Laboratory of Protected Horticulture Co-Established by Liaoning Province and Ministry of Education, ⁴College of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China

Abstract: Plant microRNAs (miRNAs), about 21–24 nucleotides length, are a group of endogenous, non-coding, single-stranded RNAs which play an important regulatory role in plant growth and development. Environmental stresses seriously affect plant growth, and the expression of miRNAs may change under different stresses. Some miRNAs respond to several environmental stresses which can improve the resistance of plants by regulating target genes expression. This paper summarized the research development of plant miRNAs in recent years including biosynthesis, action mechanisms and the respond to stresses such as salinity, drought, temperature, nutrients, mechanical wounding, UV-B and pathogenic bacteria, and the problems and prospect in the study were also elaborated.

Key words: plant microRNAs; biosynthesis; action mechanisms; environmental stresses

MicroRNAs (miRNAs)是一类由内源基因编码的长度为21~24 nt的非编码单链RNA分子, 主要功能是参与动植物转录后的基因表达与调控 (Bartel 2004; Waterhouse和Hellens 2015)。Lee等 (1993)在研究秀丽新小杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)的突变体遗传性状时首次发现一种长度为22 nt的 *lin-4* RNA能够调控细胞发育。植物miRNAs最早由Reinhart等(2002)从拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)小分子RNA文库中获得, 目前已经获取了几百种植物的miRNAs家族, 多达上千条植物miRNAs在miRBase序列数据库(<http://www.mirbase.org/>)中登录(表1)。植物中miRNAs的靶基因多为转录因子(表2), 这些转录因子主要参与植物的生长发育及响应环境胁迫, 因此miRNAs在植物生长发育及逆境应答中起着至关重要的调节作用(He等2008; 耿锐梅等2011; Meng等2011a; Sunkar 2010; Sunkar等

2012; Zhang和Wang 2015)。植物生长发育会受到不同的胁迫, 但分子水平上抵御胁迫的机制研究还不够透彻, 本文通过总结国内外研究进展来讨论植物响应不同胁迫的miRNAs, 认为miRNAs是在基因水平上改良植物抗逆性的重要切入点, 深入研究miRNAs在植物中的作用与机制, 将为探寻植物生长发育以及抗性调控机制等方面提供新的研究方向, 同时为一些基因家族的功能研究奠定理论基础。

1 植物miRNAs的合成

miRNAs在植物体内的合成场所是细胞核, 其

收稿 2015-07-03 修定 2015-09-08

资助 辽宁省高等学校优秀人才支持计划(LR2014019)和辽宁省百千万人才工程资助项目(2014921040)。

* 通讯作者(E-mail: hyfan74@163.com; Tel: 024-88487163)。

表1 miRBase数据库中登记的的部分植物miRNAs
Table 1 miRNAs of some plants registered in miRBase

植物种类	miRNA前体数量	成熟miRNA数量
拟南芥(<i>Arabidopsis thaliana</i>)	325	427
烟草(<i>Nicotiana tabacum</i>)	197	209
番茄(<i>Solanum lycopersicum</i>)	77	110
水稻(<i>Oryza sativa</i>)	592	713
大豆(<i>Glycine max</i>)	573	639
玉米(<i>Zea mays</i>)	172	321
小麦(<i>Triticum aestivum</i>)	116	119
马铃薯(<i>Solanum tuberosum</i>)	224	343
油菜(<i>Brassica napus</i>)	90	92
黄瓜(<i>Cucumis sativus</i>)	27	25
甜瓜(<i>Cucumis melo</i>)	120	120
甜橙(<i>Citrus sinensis</i>)	60	64
苹果(<i>Malus domestica</i>)	206	207
桃(<i>Prunus persica</i>)	180	214

表2 部分植物miRNAs及其靶基因
Table 2 miRNAs and their targets of some plants

miRNA名称	靶基因	参考文献
miR156	SPL转录因子, SBP转录因子	Liu等2008; Stief等2014
miR158	三角状五肽重复蛋白PPR	Barozai等2011
miR159	MYB转录因子	Reyes和Chua 2007
miR160	生长素反应因子ARF	Liu等2008
miR164	NAC转录因子	Fang等2014
miR167	生长素反应因子ARF	Zhou等2007
miR168	基因沉默及调控生长相关蛋白AGO	Vaucheret等2004
miR169	转录因子NFY, 转录因子MthAP2-1	Liu等2008; Ni等2013
miR171	SCL转录因子	Zhou等2007
miR172	AP2转录因子	Aukerman和Sakai 2003
miR173	小麦易感蛋白TAS	Li等2014
miR319	TCP转录因子	Liu等2008
miR390	生长素反应因子ARF	Allen等2005
miR393	生长素受体TIR, 富含F-box结构域蛋白	Liu等2008
miR394	富含F-box结构域蛋白	Jones-Rhoades和Bartel 2004
miR395	淀粉合成限速酶相关基因 <i>APS</i> , 种皮花青素相关基因 <i>AST</i>	Jones-Rhoades和Bartel 2004; Allen等2005
miR396	植物生长调节因子GRF	Sunkar和Zhu 2004
miR397	虫漆酶基因 <i>Laccases</i>	Lu等2013
miR398	Cu/Zn过氧化物歧化酶基因 <i>CSD</i>	Guan等2013; Naya等2014
miR399	泛素结合酶基因 <i>UBC24</i> , 磷酸酯酶转录调控因子 <i>PHO2</i>	Liu等2008
miR402	去甲基化相关基因 <i>DML3</i>	Kim等2010
miR403	基因沉默及调控生长相关蛋白AGO	Allen等2005
miR408	质体蓝素基因 <i>Plastocyanin</i>	Liu等2008
miR828	MYB转录因子	Luo等2012

合成主要分为转录、加工以及装载RNA诱导沉默复合体3个步骤。如图1所示, miRNA基因在RNA聚合酶II作用下形成具有帽子结构和多聚腺苷酸

尾巴的pri-miRNA, 然后经过RNase III (Dicer-like1, DCL1)切割形成茎环状前体(pre-miRNA); 再经过裂解处理成miRNA/miRNA*双链二聚体双链复合

物(Voinnet 2009); 然后甲基转移酶HEN1可以使该复合物3'端发生甲基化修饰; 最后转运蛋白HASTY将双链复合物从细胞核转运至细胞质中, 其中miRNA与Argonaute (AGO)蛋白可以结合形成RNA诱导沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC), 进而指导AGO1对互补靶基因的mRNA进行切割, 从而抑制靶基因的表达, 而miRNA*可以被迅速降解, 双链结构的另一条链装载到含有AGO1的miRISC复合体上成为成熟miRNA (Chen 2005; Budak和Akpinar 2015)。由于DCL1参与了植物中大部分miRNA的剪切加工过程, DCL1的完全缺失突变可导致胚胎死亡, 而部分功能缺失的突变体会因为许多成熟miRNAs表达量的降低引起发育异常(Park等2002; Suarez等2015)。

2 miRNAs在植物中的作用机制

植物miRNAs具有多种生物学功能, 可以参与调控植物的生长发育、植物激素信号转导、环境胁迫的应答等。植物中miRNAs的作用机制一般存在两种: 第一种作用方式与小干扰RNAs (small interfering RNAs, siRNAs)相似, 植物miRNAs与靶mRNA完全匹配, miRNAs的5'端残基可以和靶mRNA的开放读码框(open reading frame, ORF)区相互识别并完整互补配对进行切割降解, 从而使

靶mRNA无法翻译, 这种作用方式在植物中比较常见(Johnson等2005; Khraiwesh等2012; 伊六喜等2013); 第二种方式是植物miRNAs与靶mRNA结合不完全匹配, 进而抑制mRNA的翻译, 但转录却不受其影响(Slack等2000)。在miRNAs抑制翻译过程中, miRNAs与靶mRNA的3'非翻译区(untranslated region, UTR)结合并改变mRNA上核糖体密度或者特异性降解新合成的多肽链来抑制mRNA的翻译。也有研究发现植物miRNA172中存在特殊情况, miRNA172和靶基因*APETALA2*的ORF区完全互补, 但并不直接降解RNA, 而是通过介导*APETALA2*的翻译抑制, 说明miRNAs作用机制中的切割和抑制可能是协调进行的(Chen 2004)。有研究发现, miRNAs可以促进基因表达, 部分miRNAs位于其靶基因的内含子中, 这类miRNAs为内含子miRNAs, 而大多数内含子miRNAs与其靶基因的表达量相一致, 内含子miRNAs可以通过调控靶基因上游的转录体系来调控靶基因的表达, 比如通过下调转录抑制因子来促进宿主基因的表达(Musiyenko等2008; Monteys等2010; Kos等2012), 一些植物miRNAs可以通过自身下调来促进靶基因的表达从而应对生长需求和胁迫(Jin等2012; Zhao等2015), 下调是一个很复杂的过程, 可以认为miRNAs与靶基因存在着反馈抑制调节途径。

3 植物miRNAs与环境胁迫

植物在生长过程中经常会受到各种环境胁迫, 环境胁迫可以分为生物胁迫和非生物胁迫两种, 生物胁迫包括虫害和病原物侵染等; 非生物胁迫包括干旱、洪涝、盐碱、矿物质缺乏、温度胁迫等。胁迫可以诱导植物相关基因表达, 从而积累物质以及促使相关的代谢途径发生改变来使植物产生抗性(Zhu 2002)。近年来, 许多与胁迫相关的编码蛋白基因被发掘, 而miRNAs对这些基因具有重要的调控作用(Baxter等2014; Zhang 2015)。大多数非生物胁迫和生物胁迫都会引起氧化胁迫, 使植物体中活性氧大量积累, 损伤细胞的结构, 进而导致细胞死亡; 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)可以通过改善细胞活性氧的清除能力在植株遭受逆境时减少活性氧的累积, 减轻逆境对植物的伤害。在对水稻及拟南芥的研究中发现, miR398家族在植物遇到氧化胁迫时表达量会

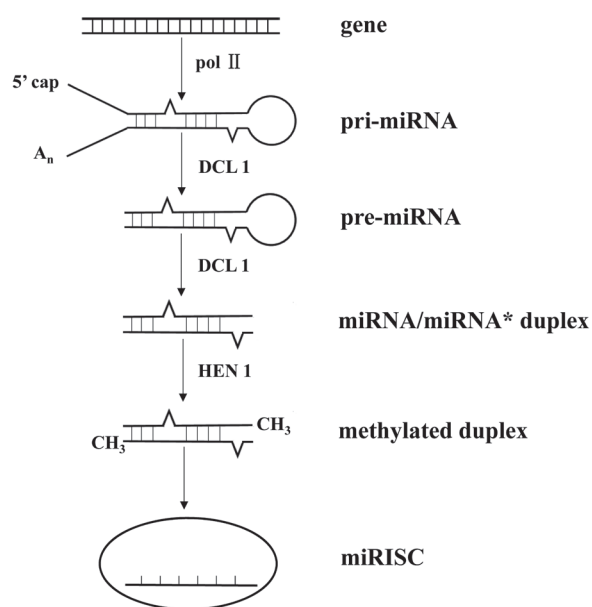


图1 植物miRNAs的生物合成示意图

Fig.1 Biogenesis mechanism of plant miRNAs

发生变化,从而使植株产生抗性,miR398的靶目标是*CSD*基因,*CSD1*和*CSD2*是两种Cu/Zn过氧化物歧化酶基因,miR398能降解*CSD1*和*CSD2*;在遭受氧化胁迫时,miR398的表达量会持续降低,从而不断减轻对*CSD*基因的抑制,细胞中的*CSD* mRNA会不断积累,进而消除体内的氧化基因,减缓在氧化胁迫下植物受到的损伤(丁艳菲等2010; Sunkar等2012)。不同环境胁迫能够诱导一些相应的miRNAs的表达,部分miRNAs也可以同时受到多种胁迫的诱导。研究表明,植物miRNAs可通过在转录水平和转录后水平上调相关靶基因的表达量,从而响应环境胁迫(Jian等2010),但具体机制尚不明确。探索miRNAs的调控通路将有助于阐明植物抵抗环境胁迫的分子机理,并对寻找新的抗性基因资源具有重要意义。

3.1 miRNAs与盐胁迫

土壤中盐分的含量是植物生长发育的重要影响因子,植物中的miR159、miR164、miR167、miR169、miR319、miR396、miR397和miR417等均能响应盐胁迫,但它们在植物中的表达量以及响应机制并不完全相同。研究表明,植物中的miR319对盐胁迫呈正响应,而miR164和miR167呈负响应,并且它们与植物体内的激素有一定关系(艾佳等2014; 牟桂萍等2013)。植物miR169家族可以对盐胁迫产生响应,水稻中的miR169家族的很多成员均会受到高盐浓度的诱导,从而对盐胁迫产生调节作用;而miR396c在植株遭到盐胁迫之后表达量下调,对水稻中的miR396c进行过表达,发现水稻的耐盐性会降低(Gao等2010)。在拟南芥中,miR397能够对抗盐相关蛋白LACs和CKB3进行负调控(Liu等2008)。

3.2 miRNAs与干旱胁迫

干旱胁迫是制约植物生长的重要因素,植物中的miR159、miR160、miR169、miR393、miR394和miR395等均会在干旱响应途径中发挥调节作用。在拟南芥中发现miR169的靶基因为*NFYA5*,该基因在抗旱过程中起重要作用,而miR169对其靶向mRNA进行降解抑制,pre-miR169在干旱胁迫下表达量减少(Li等2008);在马铃薯中miR169也具有相同的功能(Zhang等2011)。大豆中miR169c的靶基因是*GmNFYA3*,miR169会在大豆

体内对*GmNFYA3*的mRNA进行降解;*GmNFYA3*基因在拟南芥中进行过表达可以减缓叶片中水分散失,从而提高拟南芥突变体的抗干旱能力;在转基因拟南芥中过表达大豆miR394,可以抑制拟南芥中*F-box*基因的转录,提高拟南芥的抗旱能力(Kim等2010; 倪志勇2013)。当烟草处于干旱条件下,烟草中的miR160及miR395均会响应干旱胁迫,但它们的表达量不同,分别表现为下降和上升,进而通过对各自靶基因之间的作用,促进根系伸长,降低植株能量消耗,提高烟草对干旱的抗性(尹福强2013)。

3.3 miRNAs与温度胁迫

植物在生长过程中经常会遭受低温以及高温胁迫,研究发现植物miR160、miR164、miR319以及miR397会响应低温胁迫。水稻和拟南芥等植物遭受低温胁迫时,miR160的表达量会明显增加,靶基因*ARF*受到负调控;*ARF*是一类生长素应答基因,可以与生长素反应元件特异结合并发挥调节作用,从而抑制生长速率,增强植株抗低温胁迫的能力(Liu等2008; Yang等2013)。甜杨(*Populus suaveolens*)中miR164在植株遭到低温胁迫时可以通过调控其靶基因*NAC1*进而调控生长素信号来增强植物的抗寒能力(孙润泽等2011)。小麦在低温胁迫条件下,miR397表达量会下调,使其靶基因*ICE1*含量上升,从而增强植株对低温的耐受力(Gupta等2014)。

对高温胁迫下小麦叶片miRNAs进行高通量测序,发现小麦miRNAs会表现出不同的表达模式,共检测到32个miRNAs家族,其中9个保守的miRNAs与高温胁迫相关,miR156、miR159、miR160、miR166、miR168、miR169、miR393和miR827表达量增加,而miR172表达量明显降低(Xin等2010)。Stief等(2014)也报道了拟南芥miR156在高温胁迫下表达量明显增加;miR398也被认为是提高拟南芥耐热性的关键因子(Guan等2013)。

3.4 miRNAs与营养胁迫

营养元素在植物生长中起重要的作用。磷元素的缺乏会减缓植物生长的速率,使叶片变小,推迟成熟。研究发现,转录因子*NAC1*受到miR164的调控,在植物遇到低磷胁迫时,miR164的表达量下

调, 增强*NAC1*的表达量, 从而促进侧根的发育, 使植物根系在土壤中的吸收面积增加, 提高抗逆性(曾后清等2010)。拟南芥中, miR399可受到低磷胁迫的诱导, miR399的靶基因是泛素结合酶(*UBC24*)基因家族, 在植物受到低磷胁迫时, 会促进miR399的表达量上升, 抑制其靶基因*UBC24*的表达, 提高磷转运子的表达, 增强主根的延伸能力(Chiou等2006); 而当磷的供给量正常或者过高时, miR399的表达量会下调, 提高*UBC24*的表达量, 降低植株对磷的吸收, 避免植株磷中毒。但是在植物的根系中不存在miR399的转录初产物, 这可能是一个从叶片和茎向根运输的途径, 从而来稳定根系中的磷元素含量(Pan等2008)。

植物缺少硫元素时, 叶绿素及相关蛋白质合成受到抑制, 导致植株矮化, 叶片黄化。在拟南芥中发现miR395的靶点分别是硫转运子*AsT68*和ATP硫化酶基因*APS*家族的部分成员, 前者的作用是将根系中的硫元素运输到茎和叶, 后者则催化植株对硫的吸收。当植株遭到低硫胁迫的时候, *APS1*、*APS3*以及*APS4*在转录水平上受到miR395的负调控, 进而调节硫酸盐在叶片之间的转运, 稳定植株中硫酸盐的含量(Liang等2010)。

植物如果缺少氮元素, 叶片会受到较大的影响, 叶片面积变小, 颜色变黄, 茎变细长, 茎基部变黄红色。植物中有许多miRNAs可以在低氮胁迫时发挥作用, 在玉米和拟南芥中均发现miR167对低氮胁迫响应, 说明miR167对单子叶和双子叶植物低氮的响应是具有保守性的(Liang等2012)。在拟南芥中过表达miR169, 其靶基因*NFYA*受到抑制, 植物体内的氮含量下降, 其原因可能是miR169的过表达破坏了植物根系对氮的吸收能力, 说明miR169对调控植物在土壤中的氮元素吸收有着重要的作用(Zhao等2011)。miR393可通过与其靶基因*AFB3*的互作来调节硝酸盐的含量, 并且可以改变植株根系的生长情况(Vidal等2010)。

3.5 miRNAs与机械胁迫

机械胁迫一般是指植物在外力的条件下造成弯曲等伤害。在长时间遭受外力(如风力)的影响, 植物会产生木化组织来维持弯曲的枝条正常生长, 但目前对于植物的这种防御机制并不明确。已有研究从遭受机械胁迫的毛果杨(*Populus trichocarpa*)

中鉴定出了21种miRNAs基因家族, 多个靶基因与植物发育和抗胁迫相关, 比如细胞壁代谢合成基因等; 在受到机械胁迫时, 这些miRNAs的表达调控与植物适应性生长具有高度的相关性(Lu等2005)。这说明植物miRNAs在遭受机械胁迫的时候会发生变化, 并且可以在改变植物生长适应性上发挥重要的作用。

3.6 miRNAs与UV-B辐射胁迫

在对拟南芥的研究中, 利用基因芯片技术筛选与UV-B辐射相关的miRNAs, 共得到了分属于11个miRNAs家族的21个miRNAs, 其中miR156、miR157、miR159、miR160、miR165、miR166、miR167、miR169、miR170、miR171、miR172、miR319、miR393、miR398和miR401受UV-B辐射的正调控(Zhou等2007)。杨树中miR156、miR160、miR165、miR166、miR167、miR168和miR398也受到UV-B辐射的正调控, 但与拟南芥不同的是, miR159、miR169和miR393受到UV-B辐射的负调控(Jia等2009), 可以推测不同物种对UV-B辐射的响应具有特异性。

3.7 miRNAs与病原菌胁迫

越来越多的研究表明, miRNAs可以抵御外源基因入侵, 并且可以抑制外源基因的表达, 进而参与植物抗病过程。在病原菌侵染植物时, 会诱导出植物体内大量的miRNAs (Bazzini等2007; Thiebaut等2015), miRNAs通过和靶基因互作, 干扰病原菌基因的表达。Zhang等(2011)用丁香假单胞菌侵染拟南芥后, 发现miR156、miR159、miR166、miR825、miR852和miR843出现显著的表达差异。Yin等(2012)在棉花(*Gossypium hirsutum*)中发现65个miRNA家族在接种黄萎病后出现表达差异, 并鉴定了14个新的miRNAs。在番茄中, 通过微阵列分析确定了3个可以响应番茄灰霉病胁迫的miRNAs, 即2个表达下调的miRNAs (miR160和miR171a)和1个表达上调的miRNA (miR169), miR169表达量的增加会抑制其靶基因*NF-YA5*的表达, 从而提高植物抗逆性; 同时, 响应胁迫的miRNAs在转录后的水平上调控番茄幼苗代谢、形态以及生理适应性(Jin等2012)。人工构建miR159靶向芜菁黄花叶病毒表达载体, 可以提高转化拟南芥的病毒抗性(Niu等2006)。Martínez等(2011)结合生物信

息学与miRNAs高通量测序技术,分析和预测了黄
瓜的miRNAs家族及其靶基因,其中,miR5的靶基
因是*R-FOM2*,而*R-FOM2*在甜瓜中是枯萎病抗性
基因。

3.8 miRNAs*与环境胁迫

miRNA*是与成熟miRNA互补的小RNA,以
往认为miRNA*是在miRNA合成时产生的无功能
产物,它的表达量很低,而且短时间内会迅速降
解。研究表明,miRNA*在特定条件下表达量较高,
且作用方式与miRNA相类似,miRNA是与AGO1形
成RISC,而miRNA*是与AGO2形成沉默复合体
(Meng等2011b; Sunkar等2012; An等2014)。甜高
粱(*Sorghum bicolor*)的miR395*在植株营养丰富条
件下表达量极高,推测其可能在植株的生长发育
进程中起作用(Calviño等2011)。在拟南芥受到丁
香假单胞菌胁迫时,miR393*会大量积累并通过调
控靶基因*MEMB12*(编码SNARE蛋白)的表达来提
高植株的抗性(Zhang等2011),而miR399*在拟南芥
缺乏磷酸盐的条件下表达量明显增加(Hsieh等
2009)。目前对于植物中miRNA*的研究比较少,
而且部分miRNA*的靶基因并不明确,其具体的作
用机制以及对靶基因功能的挖掘还有待进一步的
研究。

4 展望

植物miRNAs作为一类重要的小RNA,具有调
控植物生长发育、新陈代谢等重要功能。植物中
miRNAs通常是与靶基因的编码序列完全互补来
切割降解mRNA,从而对植物的生理过程进行调
控,这与动物中miRNAs的翻译抑制不同。目前,
对植物miRNAs的功能及其作用机制已有较多的
研究报道,极大地促进了人们对植物抗逆机制的
深入理解。但是多数miRNAs存在多种靶基因,互
相之间也存在着复杂的调控网络,对于植物中这
些调控网络的研究尚不够深入;虽然在多数植物
中鉴定出了大量保守的miRNAs,但是相当一部分
的miRNAs仍然需要通过预测其靶基因来推测其
功能,由于miRNAs的长度有限,对其靶基因的精
确预测及鉴定也是一个亟待解决的难点;同时,对
于植物中非保守的miRNAs研究尚少,对这些特异
性的miRNAs功能研究将是未来一个重要的目
标。高通量测序技术不但可以鉴定出同一样品中

已知的miRNAs,而且可以检测出所有差异表达的
miRNAs,将miRNAs测序及转录组测序联合分析
可以提高靶基因筛选的准确性,因此该技术是鉴
定响应胁迫miRNAs及深入研究响应胁迫miRNAs
调控通路的重要工具。利用过表达或者敲除miR-
NAs及其靶基因是验证miRNAs响应不同环境胁迫
的有效方式,因此,通过对植物中与抗逆相关的
miRNAs进行深入研究,利用基因工程手段对植物
抗逆miRNA进行改造,过表达、敲除或人工合成
特异抑制部分基因的miRNAs将会是提高植物抗
逆性的一个重要手段。目前关于miRNAs的研究
主要集中在拟南芥、烟草、番茄等模式植物,而
在其他植物中的研究还比较有限,深入了解miR-
NAs在植物生长发育和抗逆、抗病中的调控机制,
并通过基因工程手段对抗逆相关miRNAs进行改
造以改良植物抗逆性将是未来研究的重要方向。

参考文献

- 艾佳,李永光,王涛,宋北光,杨德光,李文滨(2014). 植物逆境
microRNA的研究进展. 基因组学与应用生物学, 33 (5):
1154~1160
- 丁艳菲,王光钺,傅亚萍,朱诚(2010). miR398在植物逆境胁迫应
答中的作用. 遗传, 32 (2): 129~134
- 耿锐梅,杨宏伟,曹长代,冯全福,陈志强,罗成刚(2011). 植物Mi-
croRNA研究进展及其在植物与病原菌互作中的作用. 浙江农
业科学, (5): 1092~1094
- 牟桂萍,纪春艳,许东林,周国辉(2013). 植物miR164家族研究进展.
生命科学, (5): 525~531
- 倪志勇(2013). 大豆抗逆相关miR169c及其靶位点*GmNFYA3*和mi-
R394a的功能研究[博士学位论文]. 北京: 中国农业科学院
- 孙润泽,侯琦,章文乐,钮俊,张志毅,林善枝(2011). 甜杨低温响应
microRNAs的克隆与分析. 基因组学与应用生物学, 30 (2):
204~211
- 伊六喜,苏少锋,刘红葵,斯钦巴特尔(2013). 植物miRNA的生物功
能与研究方法. 生物技术进展, 3 (3): 166~170
- 尹福强(2013). 烟草苗期干旱胁迫诱导根系mRNA和miRNA快速
响应机理研究[博士学位论文]. 雅安: 四川农业大学
- 曾后清,朱毅勇,包勇,沈其荣,郭凯,黄思齐,杨志敏(2010). 缺磷胁
迫下番茄侧根形成与miR164及NAC1表达的关系. 植物营养
与肥料学报, 16 (1): 166~171
- Allen E, Xie Z, Gustafson AM, Carrington JC (2005). MicroRNA-di-
rected phasing during *trans*-acting siRNA biogenesis in plants.
Cell, 121 (2): 207~221
- An J, Lai J, Sajjanhar A, Lehman ML, Nelson CC (2014). MiRPlant:
an integrated tool for identification of plant miRNA from RNA
sequencing data. BMC Bioinformatics, 15 (1): 275
- Aukerman MJ, Sakai H (2003). Regulation of flowering time and flo-
ral organ identity by a microRNA and its *APETALA2*-like target
genes. Plant Cell, 15 (11): 2730~2741

- Barozai MYK, Baloch IA, Din M (2011). Computational identification of microRNAs and their targets in two species of evergreen spruce tree (*Picea*). *PWaset*, 5 (3): 1227~1232
- Bartel DP (2004). MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116 (2): 281~297
- Baxter A, Mittler R, Suzuki N (2014). ROS as key players in plant stress signalling. *J Exp Bot*, 65 (5): 1229~1240
- Bazzini AA, Hopp HE, Beachy RN, Asurmendi S (2007). Infection and coaccumulation of tobacco mosaic virus proteins alter microRNA levels, correlating with symptom and plant development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104 (29): 12157~12162
- Budak H, Akpinar BA (2015). Plant miRNAs: biogenesis, organization and origins. *Funct Integr Genomics*, 15 (5): 523~531
- Calviño M, Bruggmann R, Messing J (2011). Characterization of the small RNA component of the transcriptome from grain and sweet sorghum stems. *BMC Genomics*, 12 (1): 356
- Chen X (2004). A microRNA as a translational repressor of *APETA-LA2* in *Arabidopsis* flower development. *Science*, 303 (5666): 2022~2025
- Chen X (2005). MicroRNA biogenesis and function in plants. *FEBS Lett*, 579 (26): 5923~5931
- Chiou TJ, Aung K, Lin SI, Wu CC, Chiang SF, Su CL (2006). Regulation of phosphate homeostasis by microRNA in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 18 (2): 412~421
- Fang Y, Xie K, Xiong L (2014). Conserved miR164-targeted NAC genes negatively regulate drought resistance in rice. *J Exp Bot*, 65 (8): 2119~2135
- Gao P, Bai X, Yang L, Lv D, Li Y, Cai H, Ji W, Guo D, Zhu Y (2010). Over-expression of *osa-MIR396c* decreases salt and alkali stress tolerance. *Planta*, 231 (5): 991~1001
- Guan Q, Lu X, Zeng H, Zhang Y, Zhu J (2013). Heat stress induction of *miR398* triggers a regulatory loop that is critical for thermotolerance in *Arabidopsis*. *Plant J*, 74 (5): 840~851
- Gupta OP, Meena NL, Sharma I, Sharma P (2014). Differential regulation of microRNAs in response to osmotic, salt and cold stresses in wheat. *Mol Biol Rep*, 41 (7): 4623~4629
- He XF, Fang YY, Feng L, Guo HS (2008). Characterization of conserved and novel microRNAs and their targets, including a TuMV-induced TIR-NBS-LRR class *R* gene-derived novel miRNA in *Brassica*. *FEBS Lett*, 582 (16): 2445~2452
- Hsieh LC, Lin SI, Shih ACC, Chen JW, Lin WY, Tseng CY, Li WH, Chiou TJ (2009). Uncovering small RNA-mediated responses to phosphate deficiency in *Arabidopsis* by deep sequencing. *Plant Physiol*, 151 (4): 2120~2132
- Jia X, Ren L, Chen QJ, Li R, Tang G (2009). UV-B-responsive microRNAs in *Populus tremula*. *J Plant Physiol*, 166 (18): 2046~2057
- Jian X, Zhang L, Li G, Zhang L, Wang X, Cao X, Fang X, Chen F (2010). Identification of novel stress-regulated microRNAs from *Oryza sativa* L. *Genomics*, 95 (1): 47~55
- Jin W, Wu F, Xiao L, Liang G, Zhen Y, Guo Z, Guo A (2012). Microarray-based analysis of tomato miRNA regulated by *Botrytis cinerea*. *J Plant Growth Regul*, 31 (1): 38~46
- Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, Byrom M, Jarvis R, Cheng A, Labourier E, Reinert KL, Brown D, Slack FJ (2005). *RAS* is regulated by the *let-7* MicroRNA family. *Cell*, 120 (5): 635~647
- Jones-Rhoades MW, Bartel DP (2004). Computational identification of plant microRNAs and their targets, including a stress-induced miRNA. *Mol Cell*, 14 (6): 787~799
- Khraiwesh B, Zhu JK, Zhu J (2012). Role of miRNAs and siRNAs in biotic and abiotic stress responses of plants. *Biochim Biophys Acta*, 1819 (2): 137~148
- Kim JY, Kwak KJ, Jung HJ, Lee HJ, Kang H (2010). MicroRNA402 affects seed germination of *Arabidopsis thaliana* under stress conditions via targeting DEMETER-LIKE Protein3 mRNA. *Plant Cell Physiol*, 51 (6): 1079~1083
- Kos A, Olde Loohuis NFM, Wieczorek ML, Glennon, JC, Martens GJM, Kolk SM, Aschrafi A (2012). A potential regulatory role for intronic microRNA-338-3p for its host gene encoding apoptosis-associated tyrosine kinase. *PLoS ONE*, 7 (2): e31022
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V (1993). The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 75 (5): 843~854
- Li WX, Oono Y, Zhu J, He XJ, Wu JM, Lida K, Lu XY, Cui X, Jin H, Zhu JK (2008). The *Arabidopsis* NFYA5 transcription factor is regulated transcriptionally and posttranscriptionally to promote drought resistance. *Plant Cell*, 20 (8): 2238~2251
- Li X, Guo C, Gu J, Duan W, Zhao M, Ma C, Du X, Lu W, Xiao K (2014). Overexpression of *VP*, a vacuolar H⁺-pyrophosphatase gene in wheat (*Triticum aestivum* L.), improves tobacco plant growth under Pi and N deprivation, high salinity, and drought. *J Exp Bot*, 65 (2): 683~696
- Liang G, Yang F, Yu D (2010). MicroRNA395 mediates regulation of sulfate accumulation and allocation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 62 (6): 1046~1057
- Liang G, He H, Yu D (2012). Identification of nitrogen starvation-responsive microRNAs in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS ONE*, 7 (11): e48951
- Liu HH, Tian X, Li YJ, Wu CA, Zheng CC (2008). Microarray-based analysis of stress-regulated microRNAs in *Arabidopsis thaliana*. *RNA*, 14 (5): 836~843
- Lu S, Sun YH, Shi R, Clark C, Li L, Chiang VL (2005). Novel and mechanical stress-responsive microRNAs in *Populus trichocarpa* that are absent from *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 17 (8): 2186~2203
- Lu S, Li Q, Wei H, Chang MJ, Tunlaya-Anukit S, Kim H, Liu J, Song J, Sun YH, Yuan L et al (2013). Ptr-miR397a is a negative regulator of laccase genes affecting lignin content in *Populus trichocarpa*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110 (26): 10848~10853
- Luo QJ, Mittal A, Jia F, Rock CD (2012). An autoregulatory feedback loop involving *PAP1* and *TAS4* in response to sugars in *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol*, 80 (1): 117~129
- Martínez G, Forment J, Llave C, Pallás V, Gómez G (2011). High-throughput sequencing, characterization and detection of new and conserved cucumber miRNAs. *PLoS ONE*, 6 (5): e19523
- Meng Y, Shao C, Chen M (2011a). Toward microRNA-mediated gene regulatory networks in plants. *Brief Bioinform*, 12 (6): 645~659

- Meng Y, Shao C, Gou L, Jin Y, Chen M (2011b). Construction of microRNA- and microRNA*-mediated regulatory networks in plants. *RNA Biol*, 8 (6): 1124~1148
- Monteys AM, Spengler RM, Wan J, Tecedor L, Lennox KA, Xing Y, Davidson BL (2010). Structure and activity of putative intronic miRNA promoters. *RNA*, 16 (3): 495~505
- Musiayenko A, Bitko V, Barik S (2008). Ectopic expression of miR-126*, an intronic product of the vascular endothelial *EGF*-like 7 gene, regulates prostein translation and invasiveness of prostate cancer LNCaP cells. *J Mol Med*, 86 (3): 313~322
- Naya L, Paul S, Valdés-López O, Mendoza-Soto AB, Nova-Franco B, Sosa-Valencia G, Reyes JL, Hernández G (2014). Regulation of copper homeostasis and biotic interactions by microRNA 398b in common bean. *PLoS ONE*, 9 (1): e84416
- Ni Z, Hu Z, Jiang Q, Zhang H (2013). *GmNFYA3*, a target gene of miR169, is a positive regulator of plant tolerance to drought stress. *Plant Mol Biol*, 82 (1): 113~129
- Niu QW, Lin SS, Reyes JL, Chen KC, Wu HW, Yeh SD, Chua NH (2006). Expression of artificial microRNAs in transgenic *Arabidopsis thaliana* confers virus resistance. *Nat Biotechnol*, 24 (11): 1420~1428
- Pant BD, Buhtz A, Kehr J, Scheible WR (2008). MicroRNA399 is a long-distance signal for the regulation of plant phosphate homeostasis. *Plant J*, 53 (5): 731~738
- Park W, Li J, Song R, Messing J, Chen X (2002). CARPEL FACTORY, a Dicer homolog, and HEN1, a novel protein, act in microRNA metabolism in *Arabidopsis thaliana*. *Curr Biol*, 12 (17): 1484~1495
- Reinhart BJ, Weinsiein EG, Rhoades MW, Bartel B, Bartel DP (2002). MicroRNAs in plants. *Genes Dev*, 16 (13): 1616~1626
- Reyes JL, Chua NH (2007). ABA induction of miR159 controls transcript levels of two MYB factors during *Arabidopsis* seed germination. *Plant J*, 49 (4): 592~606
- Slack FJ, Basson M, Liu Z, Ambros V, Horvitz HR, Ruvkun G (2000). The *lin-41* RBCC gene acts in the *C. elegans* heterochronic pathway between the *let-7* regulatory RNA and the LIN-29 transcription factor. *Mol Cell*, 5 (4): 659~669
- Stief A, Altmann S, Hoffmann K, Pant BD, Scheible WR, Bäurle I (2014). *Arabidopsis* miR156 regulates tolerance to recurring environmental stress through *SPL* transcription factors. *Plant Cell*, 26 (4): 1792~1807
- Suarez IP, Burdisso P, Benoit MPMH, Boisbouvier J, Rasia RM (2015). Induced folding in RNA recognition by *Arabidopsis thaliana* DCL1. *Nucleic Acids Res*, 43 (13): 6607~6619
- Sunkar R, Zhu JK (2004). Novel and stress-regulated microRNAs and other small RNAs from *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 16 (8): 2001~2019
- Sunkar R (2010). MicroRNAs with macro-effects on plant stress responses. *Semin Cell Dev Biol*, 21 (8): 805~811
- Sunkar R, Li YF, Jagadeeswaran G (2012). Functions of microRNAs in plant stress responses. *Trends Plant Sci*, 17 (4): 196~203
- Thiebaut F, Grativol C, Hemerly AS, Ferreira PCG (2015). MicroRNA networks in plant-microorganism interactions. *Trop Plant Biol*, 8 (1): 40~50
- Vaucheret H, Vazquez F, Crété P, Bartel DP (2004). The action of *ARGONAUTE1* in the miRNA pathway and its regulation by the miRNA pathway are crucial for plant development. *Genes Dev*, 18 (10): 1187~1197
- Vidal EA, Araus V, Lu C, Parry G, Green PJ, Coruzzi GM, Gutiérrez RA (2010). Nitrate-responsive miR393/*AFB3* regulatory module controls root system architecture in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 107 (9): 4477~4482
- Voinnet O (2009). Origin, biogenesis, and activity of plant microRNAs. *Cell*, 136 (4): 669~687
- Waterhouse PM, Hellens RP (2015). Coding in non-coding RNAs. *Nature*, 520 (7545): 41~42
- Xin M, Wang Y, Yao Y, Xie C, Peng H, Ni Z, Sun Q (2010). Diverse set of microRNAs are responsive to powdery mildew infection and heat stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Plant Biol*, 10 (1): 123
- Yang C, Li D, Mao D, Liu X, Ji C, Li X, Zhao X, Cheng Z, Chen C, Zhu L (2013). Overexpression of microRNA319 impacts leaf morphogenesis and leads to enhanced cold tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Environ*, 36 (12): 2207~2218
- Yin Z, Li Y, Han X, Shen F (2012). Genome-wide profiling of miRNAs and other small non-coding RNAs in the *Verticillium dahliae*-inoculated cotton roots. *PLoS ONE*, 7 (4): e35765
- Zhang B (2015). MicroRNA: a new target for improving plant tolerance to abiotic stress. *J Exp Bot*, 66 (7): 1749~1761
- Zhang B, Wang Q (2015). MicroRNA-based biotechnology for plant improvement. *J Cell Physiol*, 230 (1): 1~15
- Zhang X, Zhao H, Gao S, Wang WC, Katiyar-Agarwal S, Huang HD, Raikhel N, Jin H (2011). *Arabidopsis* argonaute 2 regulates innate immunity via miRNA393*-mediated silencing of a Golgi-localized SNARE gene, *MEMB12*. *Mol Cell*, 42 (3): 356~366
- Zhao M, Ding H, Zhu JK, Zhang F, Li WX (2011). Involvement of miR169 in the nitrogen-starvation responses in *Arabidopsis*. *New Phytol*, 190 (4): 906~915
- Zhao M, Meyers BC, Cai C, Xu W, Ma J (2015). Evolutionary patterns and coevolutionary consequences of *MIRNA* genes and microRNA targets triggered by multiple mechanisms of genomic duplications in Soybean. *Plant Cell*, 27 (3): 546~562
- Zhou X, Wang G, Zhang W (2007). UV-B responsive microRNA genes in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Syst Biol*, 3 (1): 103
- Zhu JK (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 53: 247~273