

小分子 RNA 在植物激素信号通路中的调控功能

许佳, 侯宁, 韩凝, 边红武, 朱睦元

浙江大学生命科学学院遗传学研究所, 杭州 310058

摘要: 植物激素是调控植物生长发育的信号分子。近年来的研究发现, 小分子 RNA 作为基因表达调控网络的组分, 参与植物激素信号途径, 在植物生长发育和胁迫反应方面发挥重要作用。本文综述了 miRNA 和次级 siRNA(Short interfering RNAs)介导的基因调控与植物激素信号通路相互作用的研究进展, 主要包括生长素、赤霉素、油菜素内酯和脱落酸途径涉及的 miRNA 及其功能, 并对不同发育过程中 miRNA 参与的不同激素信号通路的交叉和互作进行了讨论。

关键词: 小分子 RNA; 植物激素; 植物发育

The regulatory roles of small RNAs in phytohormone signaling pathways

Jia Xu, Ning Hou, Ning Han, Hongwu Bian, Muyuan Zhu

Institute of Genetics, College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

Abstract: Phytohormones are signaling molecules that control plant growth and development. Recent studies revealed that non-coding small RNAs play critical roles in plant development and stress responses via phytohormone signaling pathways. In this review, we summarize the present knowledge on the microRNAs(miRNAs) and secondary short interfering RNAs(siRNAs) involved in phytohormone signaling pathways, which include auxin, gibberellic acid, brassinosteroid and abscisic acid pathways. We also discuss their possible implications in phytohormone cross-talk during specific developmental processes.

Keywords: small RNA; phytohormone; plant development

植物激素是植物体内产生的信号分子, 在发育时序、新陈代谢和应激反应等方面起着重要的调控作用。植物激素主要包括生长素(Auxin, AUX)、细胞分裂素(Cytokinin, CK)、脱落酸(Abscicic acid, ABA)、赤霉素(Gibberellic acid, GA)、乙烯(Ethylene,

ET)、油菜素内酯(Brassinosteroid, BR)和茉莉酸(Jasmonic acid, JA)等。这些激素的作用几乎贯穿整个植物生长周期, 某些特定的发育阶段还常常涉及多种激素的参与, 使植物细胞能对发育信号和内外环境的变化做出适应性反应。近年来的研究表明,

收稿日期: 2015-12-01; 修回日期: 2016-01-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 31571645)和浙江省自然科学基金项目(编号: Y15C130004)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31571645) and the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (No. Y15C130004)]

作者简介: 许佳, 硕士研究生, 专业方向: 遗传学。E-mail: mengxiang418@126.com

通讯作者: 韩凝, 博士, 副教授, 研究方向: 遗传学。E-mail: ninghan@zju.edu.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.15-485

网络出版时间: 2016/3/31 11:08:54

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20160331.1108.004.html>

microRNA(miRNA)通过转录后抑制靶基因表达,影响激素的代谢、分布和感知,参与植物激素信号通路的调控^[1]。

植物生长发育的激素调控网络非常复杂。本文以 miRNA 为切入点,综述了 miRNAs 调控激素信号的最新研究进展,为进一步深入探索 miRNAs 的功能、阐明激素互作的分子机制提供依据。

1 植物小分子 RNA 的种类及形成机制

小分子 RNA 是一类长约 21~23nt 的 RNA 分子,是植物内源转录组的一部分,也是应对外来感染及异常双链 RNA(Double-stranded RNA, dsRNA)的一种防御机制。根据形成机制不同,内源小 RNA 可以分为发卡 RNA (Hairpin RNA, hpRNA) 和小分子干扰 RNA (Small interfering RNA, siRNA) 两大类。前者来源于含有发卡结构的 RNA 单链前体,后者由双链 RNA 前体加工而成。根据生物起源模式和功能的差异,小分子 RNA 还可以细分成各种类别^[2],其中 miRNA 和次级 siRNA 分别属于 hpRNA 和 siRNA,是植物生长发育中重要的调控因子^[3]。

miRNA 是进化上相对保守的一类内源性分子^[4],由 MIRNA 基因编码,在细胞核内经过转录、剪切和加工,形成 3'端带 2 个核苷酸突出的 miRNA/miRNA* 双链结构,这些过程需要 DCL1(Dicer-like 1)^[5]、dsRNA 结合蛋白 HYL1(Hypoclastic leaves 1)、锌指蛋白 SE(Serrate)等的参与^[6]。HEN1 (Hua enhancer 1) 对 miRNA/miRNA* 的 3'端进行甲基化,再通过 HST (Hasty)从细胞核运输到胞质^[7]。植物 miRNA 主要通过转录后抑制^[8]或者干涉靶基因的翻译^[9]发挥调控作用。

次级 siRNA 来源于双链 RNA 前体,由上游一个或多个小 RNA 刺激产生,具体过程包括:小 RNA 作用于靶基因的初级转录本,并招募了 RDR(RNA-dependent RNA polymerase),产生互补 RNA 链,最终将 dsRNA 加工成 siRNA^[10]。次级 siRNA 是一种非常保守、独特和生物学功能多样的小 RNA^[2]。此外,一些次级 siRNA 也可以反式调控靶基因 mRNA,因此被称为 ta-siRNA (Trans-acting small interfering RNA)。在 ta-siRNA 形成途径中,由 TAS 基因转录形成的 ta-siRNA 前体中含有特异 miRNA 的结合位

点,通过 miRNA 介导 ta-siRNA 前体的降解产生次级 ta-siRNA^[11]。ta-siRNA 通过导致基因沉默发挥调控作用^[12],并以扩散方式将沉默信号传到生成区域以外的位点^[13]。

2 激素和小分子 RNA 在植物发育中的重要作用

激素是植物生长发育的重要调控因子,而 miRNA 通过抑制靶基因,影响激素信号途径^[1],参与许多不同的发育过程,其中包括时期的转变、器官的形态发生、细胞分裂和胁迫反应等^[14]。miRNA 生成途径关键酶的突变体 *hyl1* 由于整体 miRNA 积累水平降低,表现出多种发育缺陷表型,对 ABA、AUX 和 CK 异常敏感。这说明 miRNA 和植物激素在功能上相互作用,共同调控植物的生长发育^[15]。许多 MIRNA 基因启动子中含有植物激素和胁迫应答的顺式元件,说明 MIRNA 基因转录水平的调控可能是植物激素反应和胁迫应答的一种方式^[16]。此外,miRNA 还能以非细胞自主性的方式在不同的细胞或组织间移动^[17]。因此 miRNA 以多种方式协调激素应答反应,在发育中发挥重要功能。

3 小分子 RNA 在植物激素信号通路中的调控功能

植物激素信号通过基因表达调控影响植物生长发育^[1]。很多 miRNA 的表达受植物激素的诱导,如 AUX 增强 miR164、miR319 和 miR390 的表达^[18~20];ABA 诱导 miR393 的表达^[21],而抑制 miR167 和 miR319 的表达^[22];CK 下调 miR172 和 miR319 的表达^[22];ET 下调 miR159a、miR164a/b/c 和 miR319/390 的表达^[23,24];而 GA 和 JA 则分别上调 miR159 和 miR319 表达,暗示 miRNA 可能受激素信号的调控。小分子 RNA 执行植物激素信号通路中的调控功能主要通过两种方式:第一种方式是 miRNA 抑制靶基因表达,而后者作为激素信号途径的关键因子直接调控激素反应;第二种方式则是通过靶基因与激素信号途径相关基因的相互作用^[19,25],引起植物对激素信号敏感性的变化,参与植物生长发育的调控及对环境信号的应答(表 1)。

表 1 参与 AUX、GA、BR 和 ABA 信号通路的小 RNA

Table 1 Small RNAs and their targets involved in AUX, GA, BR and ABA signaling pathways

植物激素	miRNA	靶基因	次级靶基因	功能	参考文献
AUX	miR393	<i>AtTIR1</i>	<i>AtIAA12/17, AtGH3L</i>	主根伸长, 侧根发生, 叶的偏上性	[26~28]
		<i>AtAFB1/2/3</i>		抗菌性	[29]
		<i>MtTIR1 MtAFB1/2/3</i>		菌根形成	[30]
	miR160	<i>AtARF10</i>		种子萌发, 胚后发育	[31]
		<i>AtARF10/16/17</i>	<i>AtGH3.2/3.3/3.5/3.6</i>	叶的发育, 根瘤形成	[32, 33]
			<i>ABA-responsive genes</i>	种子休眠	[31]
	miR167	<i>AtARF6/8</i>		次生根发育, 雌雄花器官成熟	[34~36]
	miR390	<i>AtTAS3</i>	<i>AtARF2/3/4</i>	侧根生长	[37]
GA	miR156	<i>AtSPL3/4/5</i>		开花	[36]
		<i>AtSPL9/15</i>	<i>AtMIR172b, AtMIR146a</i>		[38]
			<i>AtGA2ox1/2, DELLAs</i>		[39]
	miR159	<i>AtMYB33/65</i>		叶、花、种子成熟	[40]
		<i>AtMYB101</i>	<i>ABA-responsive genes</i>		[41]
BR	miR1848	<i>OsCYP51G3</i>		BR 合成	[42]
ABA	miR159	<i>AtMYB101</i>	<i>ABA-responsive genes</i>	萌发, 胁迫反应	[43]
	miR169	<i>ZmNF-YA</i>		ABA 信号通路	[44]

3.1 生长素(AUX)

在植物激素应答途径中, miRNA 与 AUX 的关系研究得最为深入。AUX 的调控功能主要通过生长素受体 F-box 蛋白 TIR1/AFB 家族(TIR1/AFB auxin receptor, TAAR)、AUX/IAA 蛋白、生长素应答因子(Auxin response factor, ARF)和一些生长素反应基因等组成的生长素信号途径来实现^[26]。其中编码生长素受体 TIR1/AFB 家族的多个基因是 miR393 的靶基因。miR393 通过负调控靶基因 *TIR1/AFB* 的表达, 影响植物对生长素信号的敏感性^[26]。同时 miR393 介导对 *TAAR* 基因的剪切还能导致 ta-siRNA 的产生, 进一步下调 *TAAR* 基因的表达^[27]。拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中 miR393 主要调控植物主根伸长、侧根发生和叶的偏上性^[26~28]。在番茄(*Solanum lycopersicum*)、苜蓿(*Medicago truncatula*)和水稻(*Oryza sativa* L.)中, miR393 还可通过下调 *TIR1/AFB* 的表达, 抑制菌根的形成^[30]。在非生物胁迫方面, miR393 通过抑制生长素反应, 影响氧化还原系统, 调控渗透压, 在拟南芥对盐胁迫的适应性中发挥作用^[45, 46]。此外 Navarro 等^[29]报道外源的细菌鞭毛蛋白多肽片段 flg22 感染拟南芥后引起 *MIR393a* 表达的增强, 并通过靶

基因 *TIR1*、*AFB2* 和 *AFB3* 表达量的下调抑制生长素信号通路, 提高植株对外源细菌侵染的抵抗能力^[29]。还有报道显示, 拟南芥可以通过 AGO2 蛋白特异结合 miR393b* 作用于靶基因 *MEB12*, 调控抗细菌 PR 蛋白的胞外分泌, 在植物免疫反应中发挥功能^[47]。

AUX/IAA 蛋白和生长素反应因子 ARF 是生长素信号途径中两个重要的转录因子家族。*IAA28* 是目前发现的唯一直接受到 miRNA 调控的 AUX/IAA 基因。受 AUX 诱导的 miR847 通过剪切 *IAA28* 的 mRNA 促进生长素信号转导, 进而增强拟南芥莲座叶和侧根的分生能力, 调节细胞增殖和侧生器官发育^[48]。Liu 等^[31]发现拟南芥 miR160 通过剪切靶基因 *ARF10* 的 mRNA, 影响生长素信号通路, 并与 ABA 信号通路相互作用, 进而影响种子萌发和胚后发育。此外, miR160 还可通过靶基因 *ARF10* 和 *ARF16* 控制根冠细胞的形成^[49], 靶向 *ARF17* 调控次生根的起始^[50]。在叶发育中, miR160 通过靶基因 *ARF10*、*ARF16* 和 *ARF17* 调控生长素的应答, 影响叶发育。抗 miR160 剪切的靶基因过表达转基因拟南芥(35S::5mARF17)植株中出现子叶数目和位置异常, 叶片向上卷曲, 有明显的锯齿边缘且不对称的表型^[32]。

Nizampatnam 等^[33]还发现 miR160 通过抑制 *ARF* 家族的转录抑制子 *ARF10/16/17* 的表达, 促进生长素信号转导, 影响根瘤的形成与成熟; 在根瘤形成的早期, miR160 含量较低, 增强细胞分裂素信号, 促进了根瘤的形成; 在后期, miR160 含量升高, 增强生长素信号, 促进根瘤的成熟。而 miR167 则靶向作用于 *ARF6/8*, 参与次生根的发育以及雌雄花器官成熟的调控^[34~36]。miR319 和 miR164 则通过靶基因间接调控生长素信号, 从而影响侧生器官的发育和衰老^[1]。

此外, 在叶子极性模式的建立和侧根发生中 ta-siRNA 也发挥了重要功能。如拟南芥 miR390 介导对 *TAS3* 初级转录物进行加工, 并通过 DCL4(Dicer-like 4)的剪切, 形成 ta-siRNA, 然后靶向作用于 *ARF3* 和 *ARF4*, 调控幼苗向成苗的时期转换及模式建成^[51]; 源于 *TAS3* 基因的 ta-siARF 通过抑制 *ARF3* 和 *ARF4* 在叶片背面的表达来决定叶片的腹向化^[52]。在拟南芥侧根发育过程中, miR390 特异表达于侧根起始位点, 并触发 miR390、*TAS3* 来源的 ta-siRNA 的生成; 这些 ta-siRNA 则抑制 *ARF2*、*ARF3* 和 *ARF4* 的表达, 解除对侧根生长的抑制作用。通过 *ARF2/3/4* 介导

miR390 的正负反馈调控, 形成 miR390 及 *ARF* 表达的精细模式, 共同调控侧根生长^[37]。

总之, 生长素峰值和浓度梯度分布是植物正常发育的信号, 也是外界环境变化调控生长和引起胁迫反应的重要方式之一。miRNA 在生长素信号转导途径的不同层面参与调控, 影响了生长素的合成与分布、信号的接收与输出, 是生长素信号途径中不可缺少的重要组分^[53](图 1)。

3.2 赤霉素(GA)

GA 是一种双萜类植物激素, 在种子萌发、茎伸长生长及开花时间等方面起调控作用^[39]。在 GA 途径中, 存在一类转录抑制因子 DELLA 蛋白, GA 通过解除 DELLA 对开花关键基因 *LFY(Leafy)* 和 *SOC1(Suppressor of overexpression of CO1)* 的抑制来促进开花^[39]。目前, 发现至少有 3 个 miRNA——miR156、miR159 和 miR172 等, 通过与 GA 信号通路互作调控植物开花(图 2)。Yu 等^[39]指出 GA 促进开花是通过 miR156 依赖的途径。miR156 的靶基因 *SPL(Squamosa promoter binding-like)* 直接激活 *API(Apetala 1)*、*FUL(Fruitfull)* 和 *SOC1* 等 *MADS-box* 基因的表达诱

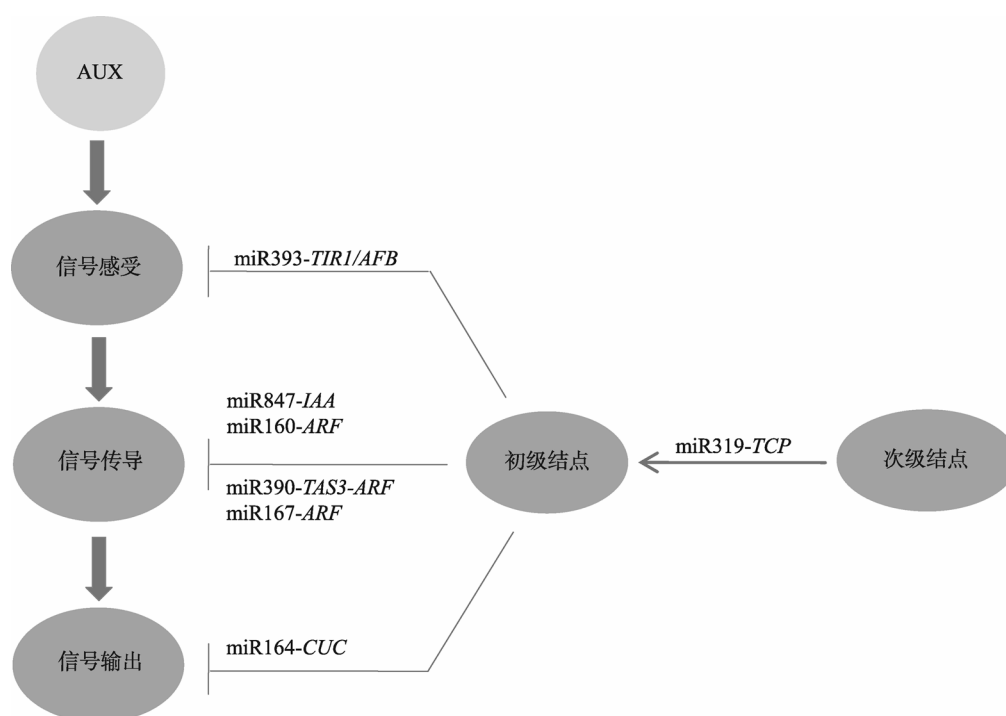


图 1 参与 AUX 信号通路调控的 miRNA-靶基因模块

Fig. 1 miRNA-targeted modules involved in the AUX signaling pathway

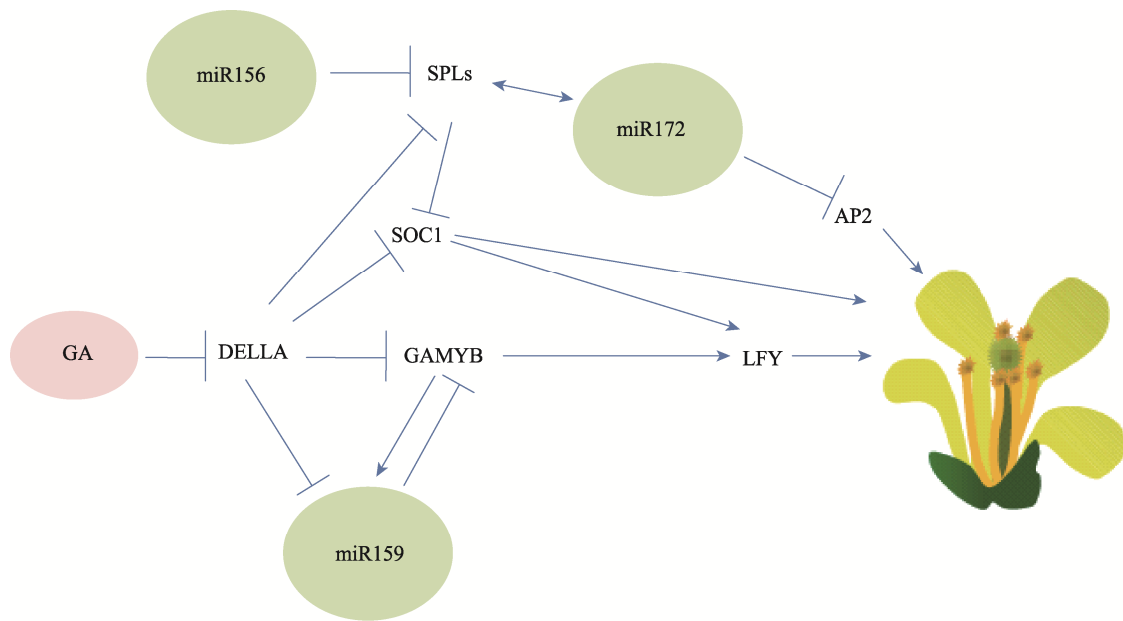


图 2 miRNA 参与 GA 信号通路调控开花

Fig. 2 miRNAs involved in the GA signaling pathway controlling plant flowering

导植物开花。进一步研究表明,GA 信号传递的关键分子 DELLA 与 miR156 的靶基因 *SPL* 存在直接的蛋白相互作用。DELLA 与 *SPL* 异源二聚体的形成降低了 *SPL* 的转录活性,在长光照条件下导致叶子中 miR172 和茎尖 *FUL* 和 *SOC1* 的激活受到阻遏,短光照下抑制茎尖 *MADS-box* 基因,进而延迟了植物的开花^[39]。另有研究发现,miR159 也参与了短光照条件下 GA-DELLA 介导的开花调控,miR159 的表达受 GA 的诱导和 DELLA 的负调控,它能在转录后水平下调靶基因 *GAMYB-like*(如 *MYB33* 等)的表达,从而实现花期和花药发育的精细调控^[25]。此外,miR159 还通过抑制保守的 *GAMYB-like* 基因家族,在叶、花和种子成熟中发挥作用^[40,41,43,54]。miR159 通过影响 *GAMYB* 的时空表达,与 GA 途径互作,控制器官的向外生长。在拟南芥和水稻中,花粉细胞的发育依赖于 miR159 介导的 *GAMYB* 类基因在花药中的精细表达调控^[41,54]。拟南芥种子中 3 个 *GAMYB* 基因(*AtMYB33/65/101*)受到 miR159 和 GA 的调控,这种调控机制为萌发过程 GA 介导的细胞程序性死亡——糊粉层细胞液泡化所必需^[55]。此外,Yanai 等^[56]发现在番茄中 miR319 通过抑制 *SIGA20ox1* (*SIGA20 oxidase1*)基因(编码 GA 合成通路中的一种酶)的表达影响番茄叶子的分化和叶形。

3.3 油菜素内酯(BR)

BR 由一组甾醇类植物激素组成,主要存在于幼嫩的组织中。目前 miRNA 与 BR 信号通路的相关性研究较少。Kim 等^[57]发现 miR172 通过影响 BAK1 (BR11-associated receptor kinase 1)介导的 BR 通路增强拟南芥对 BR 的敏感性,促进成苗叶子的伸长和幼苗下胚轴及根的生长。在水稻中发现,osa-miR1848 通过剪切靶基因 *OsCYP51G3* 的 mRNA 来调控植物甾醇和 BR 的合成,osa-miR1848 的过表达和 *OsCYP51G3* 表达量的降低会引起一些 BR 缺陷表型,包括植株矮小、叶子直立、花粉粒半不育和细胞变得短小等^[42]。

3.4 脱落酸(ABA)

ABA 别名脱落素(Abscisin)和休眠素(Dormin),是一种抑制生长的植物激素,因能促使叶子脱落而得名。ABA 主要调节种子发育、幼苗生长、叶片气孔开闭和植物对逆境的适应。目前,已有多种 miRNA 被证实参与了 ABA 信号途径。Reyes 等^[43]研究显示,ABA 诱导 miR159 的表达,并通过降解靶基因 *MYB101* 和 *MYB33* 的转录本,降低拟南芥种子对 ABA 的敏感性,影响萌发和胁迫应答反应,这种调控方式依赖 ABA 信号途径的转录因子 ABI3 (Abscic acid-insensitive 3)。miR159 的靶基因突变体 *myb33* 和

myb101 对 ABA 敏感性降低,说明转录因子 MYB101 和 MYB33 可以正向调控 ABA 反应; miR159 过表达株系对 ABA 的敏感性降低,而抗 miR159 剪切的 35S:*mMYB101* 株系对 ABA 高度敏感^[43]。此外, miR394 通过抑制靶基因 *LCR*(*Leaf curling responsiveness*) 的表达,正调控拟南芥植株对 ABA 敏感性,影响 ABA 和胁迫相关基因的表达^[58]; miR172b 抑制靶基因 *SNZ*(*Schnarchzapfen*) 的表达,从而调控萌发中的拟南芥幼苗向自养生长的转换,影响幼苗对 ABA 和渗透胁迫的敏感性^[59]。Luan 等^[44]的数据显示,玉米幼苗经 ABA 处理 15 d 后,大部分 *zma-miR169* 的前体表达量上升,大部分 *ZmNF-YAs* 基因表达量下降,说明 ABA 影响 miR169/*NF-YA* 模块的表达。而 ABA 对 miRNA 表达的调控还能以其他方式进行,如 ABA 可以影响多顺反子的 *MIR842* 和 *MIR846* 的选择性剪切,产生 3 种不同的异构体从而抑制这两种 miRNA 的表达^[60]。综上所述,miRNA 通过影响植物对 ABA 的敏感性及其他机制调控植物的生长发育。

3.5 miRNA 参与多种激素信号途径之间的互作

目前已发现多种 miRNA 与植物激素构成了信号网络,共同调节生长发育。miR160 通过抑制 *AtARF10* 调控拟南芥种子萌发和胚后发育。当抗 miR160 剪切的 *ARF10* 转入拟南芥后,ABA 调控基因的表达增强,植株对 ABA 超敏感,说明 AUX 途径存在与 ABA 反应的互作^[31]。在种子萌发时,miR160 介导的 *ARF10* 表达下调,降低了种子萌发过程中 ABA 敏感性,为胚根延伸生长所必需^[61]。种子萌发的过程同时受到 GA 和 ABA 的拮抗调控。Reyes 和 Chua 等^[61]的数据显示,过量表达抗 miR159 剪切的 *AtMYB33* 和 *AtMYB101* 能增强萌发时对 ABA 的敏感性,暗示 miR159 是 ABA 信号的负调控因子。此外,miR159 通过转录后调控 *GAMYB-like* 基因,与 ABA、GA 和 ET 途径互作调控细胞的程序性死亡,进而在叶发育、花和种子成熟中起作用^[43,55,62]。miR390 是 AUX 信号通路中一个重要的调控因子。Adenot 等^[52,63]发现,在拟南芥中 miR390 通过 tasi-ARF 调控 *AtARF3* 和 *AtARF4*,从而影响叶子的形态发生和营养生殖的转变。并且,miR390/*AtARF2* 作用模块还参与其他的激素信号通路的调控。*AtARF2* 的表达受到 ABA 诱导,与 ABA 反应基因 *HB33*(*Homeodomain gene 33*) 有关;

同时 *AtARF2* 蛋白在 ET 出现时快速降解,说明 miR390 可能还参与 ET 和 ABA 信号通路的调控^[64,65]。

4 结语与展望

miRNA 通过影响激素信号途径中的重要转录因子参与调控,这些转录因子或者是 miRNA 的靶基因,或者是受 miRNA 靶基因调控的次级转录因子。miRNA 影响外源或内源激素的作用效应,具体包括影响激素的代谢、转运和分布(浓度梯度),或者改变对激素的感知、对下游信号的传递等。miRNA 调控植物激素信号的途径有多种方式,同一激素信号途径可能涉及多个 miRNA 的参与,同一个 miRNA 可以参加多个激素信号途径,不同的激素信号途径之间又相互作用,因此 miRNA 参与植物激素信号通路的调控具有多重性和交叉性等特点。

植物 miRNA 的功能研究虽已取得了很大进展,但是还有很多未知的方面。目前已有多种 miRNA 被证实应答外源激素处理,然而相关分子机制有待进一步解析。首先,通过生物信息学预测并结合实验验证,可以发现 *MIRNA* 基因启动子区的激素应答元件,找到直接调控 *MIRNA* 表达的转录因子及其启动子上的结合基序,提供 miRNA 受激素调控的直接证据。其次,有数据证明很多 miRNA 参与了植物激素的应答及合成的调控,但这种调控方式对 miRNA 的依赖性还有待进一步证明。目前已筛选到的 miRNA 突变体非常有限,利用靶基因模拟抑制技术(Target mimicry)构建的转基因材料,往往只引起 miRNA 活性的降低;再加上植物中 miRNA 多以基因家族形式存在,多基因突变体和 miRNA 功能完全敲除突变体的获得非常困难。随着 CRISPR/Cas9 等新一代基因组编辑技术的发展,理论上可以通过多位点定向敲除同时突变 miRNA 多基因家族的成员,研究 miRNA 功能缺陷对激素敏感性和激素信号通路的影响,观察所调控的发育过程及胁迫反应的表型变化,将为这方面的研究提供更有力和可靠的证据。第三,目前的研究主要集中于 AUX 和 GA,对 BR、ET 及其他激素的相关研究相对缺乏。随着不同物种中新 miRNA 的发现,以及独脚金内酯、水杨酸等其他新型植物激素的深入研究,将会帮助人们构建更清晰和细致的作用模型,以阐明小分子 RNA 通过植物激

素信号途径参与植物生长发育调控的分子机制。

参考文献(References):

- [1] Curaba J, Singh MB, Bhalla PL. miRNAs in the crosstalk between phytohormone signalling pathways. *J Exp Bot*, 2014, 65(6): 1425–1438.
- [2] Axtell MJ. Classification and comparison of small RNAs from plants. *Annu Rev Plant Biol*, 2013, 64: 137–159.
- [3] Cuperus JT, Fahlgren N, Carrington JC. Evolution and functional diversification of MIRNA genes. *Plant Cell*, 2011, 23(2): 431–442.
- [4] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, 116(2): 281–297.
- [5] Dhir A, Proudfoot NJ. Feed backwards model for microRNA processing and splicing in plants. *EMBO Rep*, 2013, 14(7): 581–582.
- [6] Eamens AL, Wang MB. Alternate approaches to repress endogenous microRNA activity in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signal Behav*, 2014, 6(3): 349–359.
- [7] Park MY, Wu G, Gonzalez-Sulser A, Vaucheret H, Poethig RS. Nuclear processing and export of microRNAs in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(10): 3691–3696.
- [8] Zhang BH, Wang QL, Pan XP. MicroRNAs and their regulatory roles in animals and plants. *J Cell Physiol*, 2007, 210(2): 279–289.
- [9] Brodersen P, Sakvarelidze-Achard L, Bruun-Rasmussen M, Dunoyer P, Yamamoto YY, Sieburth L, Voinnet O. Widespread translational inhibition by plant miRNAs and siRNAs. *Science*, 2008, 320(5880): 1185–1190.
- [10] Chen HM, Chen LT, Patel K, Li YH, Baulcombe DC, Wu SH. 22-Nucleotide RNAs trigger secondary siRNA biogenesis in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(34): 15269–15274.
- [11] Howell MD, Fahlgren N, Chapman EJ, Cumbie JS, Sullivan CM, Givan SA, Kasschau KD, Carrington JC. Genome-wide analysis of the RNA-DEPENDENT RNA POLYMERASE6/DICER-LIKE4 pathway in *Arabidopsis* reveals dependency on miRNA- and tasiRNA-directed targeting. *Plant Cell*, 2007, 19(3): 926–942.
- [12] Cuperus JT, Carbonell A, Fahlgren N, Garcia-Ruiz H, Burke RT, Takeda A, Sullivan CM, Gilbert SD, Montgomery TA, Carrington JC. Unique functionality of 22-nt miRNAs in triggering RDR6-dependent siRNA biogenesis from target transcripts in *Arabidopsis*. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 17(8): 997–1003.
- [13] Schwab R, Maizel A, Ruiz-Ferrer V, Garcia D, Bayer M, Crespi M, Voinnet O, Martienssen RA. Endogenous Ta-siRNAs mediate non-cell autonomous effects on gene regulation in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS One*, 2009, 4(6): e5980.
- [14] Voinnet O. Origin, biogenesis, and activity of plant microRNAs. *Cell*, 2009, 136(4): 669–687.
- [15] Han MH, Goud S, Song L, Fedoroff N. The *Arabidopsis* double-stranded RNA-binding protein HYL1 plays a role in microRNA-mediated gene regulation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(4): 1093–1098.
- [16] Zhao X, Li L. Comparative analysis of microRNA promoters in *Arabidopsis* and rice. *Genom Proteom Bioinformat*, 2013, 11(1): 56–60.
- [17] Marín-González E, Suárez-López P. "And yet it moves": cell-to-cell and long-distance signaling by plant microRNAs. *Plant Sci*, 2012, 196: 18–30.
- [18] Guo HS, Xie Q, Fei JF, Chua NH. MicroRNA directs mRNA cleavage of the transcription factor NAC1 to downregulate auxin signals for *Arabidopsis* lateral root development. *Plant Cell*, 2005, 17(5): 1376–1386.
- [19] Srivastava S, Srivastava AK, Suprasanna P, D'Souza SF. Identification and profiling of arsenic stress-induced microRNAs in *Brassica juncea*. *J Exp Bot*, 2013, 64(1): 303–315.
- [20] Yoon EK, Yang JH, Lim J, Kim SH, Kim SK, Lee WS. Auxin regulation of the microRNA390-dependent transacting small interfering RNA pathway in *Arabidopsis* lateral root development. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(4): 1382–1391.
- [21] Sunkar R, Zhu JK. Novel and stress-regulated microRNAs and other small RNAs from *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2004, 16(8): 2001–2019.
- [22] Liu Q, Zhang YC, Wang CY, Luo YC, Huang QJ, Chen SY, Zhou H, Qu LH, Chen YQ. Expression analysis of phytohormone-regulated microRNAs in rice, implying their regulation roles in plant hormone signaling. *FEBS Lett*, 2009, 583(4): 723–728.
- [23] Chen L, Wang TZ, Zhao MG, Zhang WH. Ethylene-responsive miRNAs in roots of *Medicago truncatula* identified by high-throughput sequencing at whole genome level. *Plant Sci*, 2012, 184: 14–19.
- [24] Zuo JH, Zhu BZ, Fu DQ, Zhu Y, Ma YZ, Chi LH, Ju Z, Wang YX, Zhai BQ, Luo YB. Sculpting the maturation, softening and ethylene pathway: The influences of microRNAs on tomato fruits. *BMC Genomics*, 2012, 13: 7.
- [25] Achard P, Herr A, Baulcombe DC, Harberd NP. Modulation of floral development by a gibberellin-regulated mi-

- croRNA. *Development*, 2004, 131(14): 3357–3365.
- [26] Chen ZH, Bao ML, Sun YZ, Yang YJ, Xu XH, Wang JH, Han N, Bian HW, Zhu MY. Regulation of auxin response by miR393-targeted *transport inhibitor response protein 1* is involved in normal development in *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol*, 2011, 77(6): 619–629.
- [27] Si-Ammour A, Windels D, Arn-Bouldoires E, Kutter C, Ailhas J, Meins F, Jr., Vazquez F. miR393 and secondary siRNAs regulate expression of the TIR1/AFB2 auxin receptor clade and auxin-related development of *Arabidopsis* leaves. *Plant Physiol*, 2011, 157(2): 683–691.
- [28] Vidal EA, Araus V, Lu C, Parry G, Green PJ, Coruzzi GM, Gutierrez RA. Nitrate-responsive miR393/AFB3 regulatory module controls root system architecture in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(9): 4477–4482.
- [29] Navarro L, Dunoyer P, Jay F, Arnold B, Dharmasiri N, Estelle M, Voinnet O, Jones JDG. A plant miRNA contributes to antibacterial resistance by repressing auxin signaling. *Science*, 2006, 312(5772): 436–439.
- [30] Etemadi M, Gutjahr C, Couzigou JM, Zouine M, Laresergues D, Timmers A, Audran C, Bouzayen M, Becard G, Combier JP. Auxin perception is required for arbuscule development in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Physiol*, 2014, 166(1): 281–292.
- [31] Liu PP, Montgomery TA, Fahlgren N, Kasschau KD, Nonogaki H, Carrington JC. Repression of *AUXIN RESPONSE FACTOR10* by microRNA160 is critical for seed germination and post-germination stages. *Plant J*, 2007, 52(1): 133–146.
- [32] Mallory AC, Bartel DP, Bartel B. MicroRNA-directed regulation of *Arabidopsis AUXIN RESPONSE FACTOR17* is essential for proper development and modulates expression of early auxin response genes. *Plant Cell*, 2005, 17(5): 1360–1375.
- [33] Nizampatnam NR, Schreier SJ, Damodaran S, Adhikari S, Subramanian S. microRNA160 dictates stage-specific auxin and cytokinin sensitivities and directs soybean nodule development. *Plant J*, 2015, 84(1): 140–153.
- [34] Gutierrez L, Mongelard G, Floková K, Păcurar DI, Novák O, Staswick P, Kowalczyk M, Păcurar M, Demailly H, Geiss G, Bellini C. Auxin controls *Arabidopsis* adventitious root initiation by regulating jasmonic acid homeostasis. *Plant Cell*, 2012, 24(6): 2515–2527.
- [35] Ru P, Xu L, Ma H, Huang H. Plant fertility defects induced by the enhanced expression of microRNA167. *Cell Res*, 2006, 16(5): 457–465.
- [36] Wu G, Poethig RS. Temporal regulation of shoot development in *Arabidopsis thaliana* by miR156 and its target *SPL3*. *Development*, 2006, 133(18): 3539–3547.
- [37] Marin E, Jouannet V, Herz A, Lokerse AS, Weijers D, Vaucheret H, Nussaume L, Crespi MD, Maizel A. miR390, *Arabidopsis TAS3* tasiRNAs, and their *AUXIN RESPONSE FACTOR* targets define an autoregulatory network quantitatively regulating lateral root growth. *Plant Cell*, 2010, 22(4): 1104–1117.
- [38] Jung JH, Seo PJ, Kang SK, Park CM. miR172 signals are incorporated into the miR156 signaling pathway at the *SPL3/4/5* genes in *Arabidopsis* developmental transitions. *Plant Mol Biol*, 2011, 76(1–2): 35–45.
- [39] Yu S, Galvao VC, Zhang YC, Horrer D, Zhang TQ, Hao YH, Feng YQ, Wang S, Schmid M, Wang JW. Gibberellin regulates the *Arabidopsis* floral transition through miR156-targeted *SQUAMOSA* promoter binding-like transcription factors. *Plant Cell*, 2012, 24(8): 3320–3332.
- [40] Cheng H, Qin LJ, Lee S, Fu XD, Richards DE, Cao DN, Luo D, Harberd NP, Peng JR. Gibberellin regulates *Arabidopsis* floral development via suppression of *DELLA* protein function. *Development*, 2004, 131(5): 1055–1064.
- [41] Tsuji H, Aya K, Ueguchi-Tanaka M, Shimada Y, Nakazono M, Watanabe R, Nishizawa NK, Gomi K, Shimada A, Kitano H, Ashikari M, Matsuoka M. *GAMYB* controls different sets of genes and is differentially regulated by microRNA in aleurone cells and anthers. *Plant J*, 2006, 47(3): 427–444.
- [42] Xia KF, Ou XJ, Tang HD, Wang R, Wu P, Jia YX, Wei XY, Xu XL, Kang SH, Kim SK, Zhang MY. Rice microRNA osa-miR1848 targets the obtusifolius 14 α -demethylase gene *OsCYP51G3* and mediates the biosynthesis of phytoosterols and brassinosteroids during development and in response to stress. *New Phytol*, 2015, 208(3): 790–802.
- [43] Reyes JL, Chua NH. ABA induction of miR159 controls transcript levels of two MYB factors during *Arabidopsis* seed germination. *Plant J*, 2007, 49(4): 592–606.
- [44] Luan MD, Xu MY, Lu YM, Zhang L, Fan YL, Wang L. Expression of zma-miR169 miRNAs and their target *ZmNF-YA* genes in response to abiotic stress in maize leaves. *Gene*, 2015, 555(2): 178–185.
- [45] Chen ZH, Hu LZ, Han N, Hu JQ, Yang YJ, Xiang TH, Zhang XJ, Wang LL. Overexpression of a miR393-resistant form of *Transport Inhibitor Response Protein 1* (*mTIR1*) enhances salt tolerance by increased osmoregulation and Na⁺ exclusion in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 2015, 56(1): 73–83.
- [46] Iglesias MJ, Terrile MC, Windels D, Lombardo MC, Bartoli CG, Vazquez F, Estelle M, Casalongue CA. MiR393

- regulation of auxin signaling and redox-related components during acclimation to salinity in *Arabidopsis*. *PLoS One*, 2014, 9(9): e107678.
- [47] Zhang XM, Zhao HW, Gao S, Wang WC, Katiyar-Agarwal S, Huang HD, Raikhel N, Jin HL. *Arabidopsis* Argonaute 2 regulates innate immunity via miRNA393(*)-mediated silencing of a Golgi-localized SNARE gene, *MEMB12*. *Mol Cell*, 2011, 42(3): 356–366.
- [48] Wang JJ, Guo HS. Cleavage of *INDOLE-3-ACETIC ACID INDUCIBLE28* mRNA by microRNA847 upregulates auxin signaling to modulate cell proliferation and lateral organ growth in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2015, 27(3): 574–590.
- [49] Wang JW, Wang LJ, Mao YB, Cai WJ, Xue HW, Chen XY. Control of root cap formation by microRNA-targeted auxin response factors in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2005, 17(8): 2204–2216.
- [50] Gutierrez L, Bussell JD, Păcurar DI, Schwambach J, Păcurar M, Bellini C. Phenotypic plasticity of adventitious rooting in *Arabidopsis* is controlled by complex regulation of AUXIN RESPONSE FACTOR transcripts and microRNA abundance. *Plant Cell*, 2009, 21(10): 3119–3132.
- [51] Fahlgren N, Montgomery TA, Howell MD, Allen E, Dvorak SK, Alexander AL, Carrington JC. Regulation of *AUXIN RESPONSE FACTOR3* by *TAS3* ta-siRNA affects developmental timing and patterning in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 2006, 16(9): 939–944.
- [52] Hunter C, Willmann MR, Wu G, Yoshikawa M, de la Luz Gutiérrez-Nava M, Poethig SR. Trans-acting siRNA-mediated repression of *ETTIN* and *ARF4* regulates heteroblasty in *Arabidopsis*. *Development*, 2006, 133(15): 2973–2981.
- [53] Rubio-Somoza I, Cuperus JT, Weigel D, Carrington JC. Regulation and functional specialization of small RNA-target nodes during plant development. *Curr Opin Plant Biol*, 2009, 12(5): 622–627.
- [54] Millar AA, Gubler F. The *Arabidopsis* *GAMYB*-like genes, *MYB33* and *MYB65*, are microRNA-regulated genes that redundantly facilitate anther development. *Plant Cell*, 2005, 17(3): 705–721.
- [55] Alonso-Peral MM, Li JY, Li YJ, Allen RS, Schnippenkoetter W, Ohms S, White RG, Millar AA. The microRNA159-regulated *GAMYB*-like genes inhibit growth and promote programmed cell death in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2010, 154(2): 757–771.
- [56] Yanai O, Shani E, Russ D, Ori N. Gibberellin partly mediates LANCEOLATE activity in tomato. *Plant J*, 2011, 68(4): 571–582.
- [57] Kim BH, Kwon Y, Lee BH, Nam KH. Overexpression of miR172 suppresses the brassinosteroid signaling defects of *bak1* in *Arabidopsis*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 447(3): 479–484.
- [58] Song JB, Gao S, Sun D, Li H, Shu XX, Yang ZM. miR394 and LCR are involved in *Arabidopsis* salt and drought stress responses in an abscisic acid-dependent manner. *BMC Plant Biol*, 2013, 13: 210.
- [59] Zou YM, Wang YN, Wang LX, Yang L, Wang R, Li X. miR172b controls the transition to autotrophic development inhibited by ABA in *Arabidopsis*. *PLoS One*, 2013, 8(5): e64770.
- [60] Jia F, Rock CD. Jacalin lectin *At5g28520* is regulated by ABA and miR846. *Plant Signal Behav*, 2013, 8(6): e24563.
- [61] Nonogaki H. Repression of transcription factors by microRNA during seed germination and postgermination: Another level of molecular repression in seeds. *Plant Signal Behav*, 2008, 3(1): 65–67.
- [62] Aya K, Ueguchi-Tanaka M, Kondo M, Hamada K, Yano K, Nishimura M, Matsuoka M. Gibberellin modulates anther development in rice via the transcriptional regulation of *GAMYB*. *Plant Cell*, 2009, 21(5): 1453–1472.
- [63] Adenot X, Elmayan T, Lauressergues D, Boutet S, Bouche N, Gascioli V, Vaucheret H. DRB4-dependent *TAS3* trans-acting siRNAs control leaf morphology through AGO7. *Curr Biol*, 2006, 16(9): 927–932.
- [64] Li H, Johnson P, Stepanova A, Alonso JM, Ecker JR. Convergence of signaling of differential cell growth pathways in the control in *Arabidopsis*. *Dev Cell*, 2004, 7(2): 193–204.
- [65] Wang L, Hua DP, He JN, Duan Y, Chen ZZ, Hong XH, Gong ZZ. *Auxin Response Factor2* (*ARF2*) and its regulated homeodomain gene *HB33* mediate abscisic acid response in *Arabidopsis*. *PLoS Genet*, 2011, 7(7): e1002172.

(责任编辑: 李传友)