

杨树miRNA调控生长发育及逆境胁迫的研究进展

王丛鹏¹, 唐贤丰¹, 徐华¹, 黄非², 周功克¹, 柴国华^{1*}

¹中国科学院青岛生物能源与过程研究所, 山东青岛266101

²四川维度创研生物科技有限公司, 成都610041

摘要: 杨树(*Populus*)是木本模式树种, 是研究林木季节性休眠、木材形成和开花时间等独特生理过程的理想材料。微小RNA (miRNA)是真核生物体内一类单链非编码调控小分子RNA (sRNA), 长度为20~24 nt, 可以在转录后水平对靶基因进行负调控。近年来, 杨树miRNAs研究取得了较大进展, miRbase数据库(<http://www.mirbase.org>)中目前已收录401个毛果杨(*P. trichocarpa*) miRNAs, 分属于133个家族, 但仍缺乏系统性综述。本文结合最新进展详细评述了杨树miRNAs在生长发育和逆境胁迫等方面的功能, 并对它们的靶基因进行预测, 为全面、深入研究杨树miRNAs提供参考。

关键词: 杨树; miRNA; 发育; 胁迫; 靶基因

杨树是杨属(*Populus*)植物的统称, 在世界各地广泛分布, 具有重要的经济与生态价值。杨树作为主要的人工林树种, 具有生长速度快、适应性强、成材早和木材蓄积量大的特点, 而且其遗传背景丰富, 易于快速无性化扩繁和遗传转化, 已完成全基因组测序并拥有较为饱和的遗传图谱, 这些优点使杨树成为理想的木本模式植物(Jansson和Douglas 2007)。杨树是多年生、雌雄异株植物, 相比拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)和水稻(*Oryza sativa*)等草本植物, 在木材形成、季节性休眠、开花调控等方面具有独特的优势, 而且杨树在进化过程中产生大量的重复序列, 形成更为复杂的调控机制, 因而以杨树为研究对象进行基因功能分析显得尤为重要。

微小RNA (microRNA, miRNA)是真核生物中普遍存在的一类内源单链非编码调控小RNA (small RNA, sRNA), 它的形成涉及到一个复杂的过程: 首先, 在RNA聚合酶II的作用下, 转录形成一个具有茎环结构的初级转录本pri-miRNA; pri-miRNA经DCL1复合体剪切产生具有茎环结构的前体miRNA (pre-miRNA); pre-miRNA进一步被剪切形成二聚体——双链RNA (double-stranded RNA, dsRNA), 从细胞核运输到细胞质, 其中一条链形成成熟的miRNA (Kurihara等2006)。在植物中, miRNA最先在拟南芥中发现, 随后陆续在小立碗藓(*Physcomitrella patens*)、水稻、蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)、大豆(*Glycine max*)等其他植物中被鉴定(Axtell等2007)。植物miRNA可以分为保守miRNA和非保

守miRNA (Cuperus等2011)。保守miRNA家族主要包括miR156/157、miR160、miR165/166、miR169、miR319、miR390和miR395, 在不同植物中通常具有功能类似的靶基因, 参与植物生长发育和逆境胁迫等多个生物学过程(Taylor等2014)。非保守miRNA多为科特异miRNA, 大多通过高通量测序得到, 在植物中起着特异调控作用, 例如大豆miR1512和miR1515能够促进大豆根瘤的形成(Li等2010)。

目前, miRBase数据库(<http://www.mirbase.org/>; Kozomara等2014)收录有133个毛果杨(*P. trichocarpa*) miRNA家族, 包含401个基因, 明显多于以前发现的21个基因家族。在此基础上, 本研究对杨树miRNA的最新进展进行了综述, 重点关注miRNA在杨树特有生长发育过程和逆境胁迫中的作用(表1), 探讨杨树和其他植物miRNA的功能异同, 为深入研究杨树miRNA的生物学功能提供参考。

1 杨树miRNA在发育中的功能

1.1 杨树miRNA调控芽和形成层的休眠

多年生木本植物休眠是其应对寒冷、干旱等逆境胁迫的一种重要调控机制。目前, 对杨树休

收稿 2018-08-06 修定 2018-10-10

资助 农业部转基因生物新品种培育重大专项(2018ZX08020002)、科技部重点研发计划(2016YFD0600104)、国家自然科学基金(31570670、31670606和31700526)、四川省科技支撑计划项目(18SYXHZ0044)、山东省自然科学基金博士基金(ZR2017BC078)和中国博士后科学基金面上资助(2016M602206)。

* 通讯作者(chaigh@qibebt.ac.cn)。

表1 杨树miRNA的功能
Table 1 The roles of miRNAs in *Populus*

参与调控过程	miRNA家族成员名	参考文献
休眠	miR156、miR160、miR169、miR172	Potkar等2013; Ding等2014
次生长	miR166	Ko等2006
花发育	miR156、miR159、miR160、miR162、miR166、miR167、miR168、miR169、miR171、miR172、miR319、miR393、miR394、miR396、miR398、miR399、miR403、miR408、miR472、miR475、miR476、miR482、miR530、miR1444、miR1446、miR1447、miR1448、miR1450、miR6421、miR6425、miR6427、miR6433、miR6445、miR6459、miR6478	Song等2013; Baucher等2013
生长阶段转换	miR156、miR172	Wang等2011
木质素合成	miR156、miR397	Lu等2013; Rubinelli等2013
水胁迫	miR156、miR159、miR160、miR162、miR164、miR167、miR169、miR171、miR172、miR319、miR390、miR394、miR395、miR397、miR399、miR403、miR408、miR414、miR472、miR473、miR475、miR479、miR482、miR530、miR1444、miR6445、miR1448、miR1450、miR2111、miR2275、miR2、miR5、miR7	Ren等2012; Shuai等2013; Yer等2016; Shuai等2016
盐胁迫	miR156、miR157、miR165、miR166、miR167、miR393、miR396、miR398	Jia等2009; 司婧娜等2015; 段中鑫等2011
温度胁迫	miR156、miR160、miR167、miR168、miR169、miR171、miR319、miR394、miR395、miR396、miR398、miR399、miR408、miR472、miR482、miR530、miR1444、miR1450	张译云等2012; Chen等2012a; Chen等2012b
元素胁迫	miR1444、miR397、miR398、miR408、miR156、miR319、miR393、miR396、miR395	Lu等2011; Honsel等2012; Wang等2016
抗病	miR1448、miR1450、miR156、miR159、miR160、miR164、miR166、miR168、miR172、miR319、miR393、miR398、miR408	Chen等2012c; Zhao等2012

眠的研究主要集中在芽和形成层。美洲山杨(*P. tremuloides*) miR169a和miR169h分别在休眠花芽和营养芽中特异表达(Potkar等2013), 其中, miR169a的表达水平与调控芽休眠的基因*HAP2-5*负相关。在休眠前期, miR169a表达维持在较高水平, *HAP2-5*表达受到抑制, 但在后期miR169a丰度降低, *HAP2-5*表达升高。结合快速克隆cDNA 5'末端(rapid amplification of cDNA 5' ends, 5'RACE)结果, 作者提出*HAP2-5*是miR169a的靶基因。相比而言, 杨树miRNA调控形成层休眠的机制更为复杂。‘84K’杨(*P. alba* × *P. glandulosa* cv. 84K)在3种诱导条件(短日照、长日照和低温)下形成层文库中有157个miRNAs表达量出现差异, 其中大部分miRNAs与激素、生长发育和逆境胁迫有关(Ding等2014), 例如生长素(auxin)相关的miR160和脱落酸(abscisic acid, ABA)相关的miR169在低温诱导休眠形成层中特异表达。miR156和miR172以前被证明调控分生组织细胞分化(Wang等2011), 在这三个形成层文库中表现出完全相反的表达模式。Ding等(2016)进一步研究发现同一家族不同成员在休眠、生长期

形成层中也有不同的表达模式, 如miR169a/n/r和miR169i/o在休眠期形成层中表达模式相反, 而miR169a/n/r在这些组织中表现出较低的表达水平, 可能直接调控靶基因*PagHAP2-6*表达。

1.2 杨树miRNA调控茎部次生长

杨树等多年生木本植物有别于草本植物的一个重要特征是其茎部具备次生长能力。Tang等(2016)通过转录组和降解组测序在毛白杨(*P. tomentosa*)次生维管再生系统中鉴定了51个miRNAs (包括miR156、miR166和miR397), 对应232个靶基因, 部分参与分生组织发育, 这与Ko等(2006)在山杨(*P. tremula* × *P. alba*)中的研究结果相符, 他们发现miR166可以降解次生长关键调控因子PtaHB1, 参与调控木材形成和季节性节律。此外, 杨树miRNA也被研究发现影响次生长中木材组分变化。Lu等(2013)在毛果杨中鉴定了49个催化木质素单体聚合的漆酶(laccase, LAC), 预测发现其中29个是miR397a的靶基因。在杨树中过表达miR397a导致17个*PtrLACs*表达下调, 总漆酶活性下降40%, 木质素含量也显著下降。Rubinelli等(2013)在‘INRA 717-

1B4'杨(*P. tremula* × *P. alba* cv. INRA 717-1B4)中异源表达玉米(*Zea mays*) miR156家族成员*Corngrass1* (*Cg1*), 导致转基因杨树分枝增多, 节间变短, 木质素含量下降30%, 究其原因是丁香酚基木质素含量下降, 愈创木酚基木质素含量不变, 导致丁香酚基木质素与愈创木酚基木质素物质的量之比下降。

1.3 杨树miRNA调控花器官形成和发育阶段转换

杨树miRNA参与调控花器官发育。Song等(2013)对雌雄同株毛白杨的雌花和雄花分别进行高通量测序, 发现38个共有miRNA家族, 其中, 134个成员(包括miR166和miR472)在雌、雄花中高度表达, 它们的靶基因涉及花器官形成、钙离子转运、激素合成与代谢、DNA甲基化等诸多过程, 意味着这些miRNAs参与杨树花穗发育。毛果杨miR396包括9个成员, 在烟草(*Nicotiana tabacum*)中异源表达毛果杨miR396c导致转基因植株子叶融合, 茎尖分生组织缺乏, 在生长后期出现柱头状花药、心皮扁化的现象, 与*grf*突变体表型类似(Baucher等2013)。拟南芥miR396也同样靶向*GRF*基因, 说明杨树和拟南芥miR396在调控植物生长发育方面功能保守(Jones-Rhoades等2006)。

杨树miRNA也参与调控营养生长向生殖生长转换。杨树miR156在幼年期有较高表达, 随着营养生长向生殖生长转变表达量呈现下降趋势, 而miR172的表达模式恰好相反。过量表达miR156会降低靶基因*SPL*和miR172表达, 延长转基因杨树的幼苗期(Wang等2011), 这与拟南芥miR156、miR172的功能类似(Wu等2009)。据此, 我们推测木本和草本植物miR156在调控发育阶段时期转换方面可能相对保守。

2 杨树miRNA在逆境胁迫中的作用

2.1 杨树miRNA参与调控盐胁迫

胡杨(*P. euphratica*)有发达的根系, 具有较强的耐盐性, 是林木耐盐研究的理想树种。胡杨miR393a和miR156j在拟南芥中异源表达可以提高盐胁迫条件下种子萌发率和存活率, 说明这两个miRNAs参与调控对盐胁迫的响应(覃玉蓉等2011; 段中鑫等2011)。Li等(2011)通过sRNA组、降解组和转录组对胡杨盐胁迫叶片进行关联分析, 发现15个miRNAs与其靶基因表现出相反的变化趋势。最近, 诸多研究表明杨树miRNA通过激素影响其抗

盐性。胡杨miR390在盐诱导下通过影响反式小干扰RNA和生长素响应因子形成的模块, 共同调控侧根生长(He等2018)。遗传分析表明过表达miR390促进侧根发育、提高耐盐性, 而敲除其功能出现相反的表型。胡杨miR155a和miR155b也能靶向ABA信号通路中重要基因*PP2C*, 参与调控抗盐性(Chen等2017)。此外, 山杨miR398在ABA或盐处理下能够呈现出一种动态表达模式, 处理3~4 h后表达量开始升高, 48 h后下降, 72 h后再次升高。拟南芥miR398却没有这种盐胁迫动态调节模式, 它响应ABA的模式与山杨miR398相反(Jia等2009)。这说明杨树和拟南芥miRNAs应对盐胁迫既有相似性也有不同之处。

2.2 杨树miRNA对水分胁迫的调控

杨树miRNA能够调控干旱和水涝胁迫。Shuai等(2013)通过高通量测序在毛果杨中鉴定了12个响应干旱胁迫的miRNA家族, 可能调控72个靶基因, 共同参与转录调控、胁迫应答和脂类代谢等过程。Zhou等(2010)从干旱处理的水稻中鉴定出30个响应干旱胁迫的miRNAs, 其中只有miR159和miR408在毛果杨、水稻中被干旱诱导表达, 说明不同物种响应干旱胁迫的miRNAs并不相同。此外, 黑杨(*P. nigra*) miR390能够直接调控*HSP70-33*参与响应干旱胁迫(Yer等2016)。胡杨miR164可能通过调控靶基因*NAC070*、*NAC012*和*NAC028*在抗旱中发挥作用, 因为胡杨*NAC070*在拟南芥中异源表达能够促进侧根发育, 提高抗旱性(Lu等2017)。Ren等(2012)通过比较水淹和对照处理毛白杨sRNA文库, 鉴定了12个应答水淹胁迫的miRNAs, 它们的靶基因大多是与水分胁迫相关的转录因子、酶和信号转导蛋白等。相比而言, 杨树miRNA调控水涝胁迫的功能研究报道很少。

2.3 杨树miRNA对温度胁迫的调控

杨树miRNA在应答低温和高温胁迫中起重要调控作用。Chen等(2012a, b)先后对毛白杨低温、高温胁迫sRNA文库进行高通量测序, 发现冷胁迫诱导21个miRNAs表达下调, 9个表达上调; 热胁迫诱导41个miRNAs表达上调, 11个表达下调。拟南芥miR398对*CSD2*调控是植株耐热的关键(Lu等2013), 但是在杨树中却没有检测到miR398受高温诱导, 说明毛白杨与拟南芥响应热胁迫的途径可能不同。张译云等(2012)研究发现miRNA调控低温

胁迫存在时空性。毛白杨12个miRNAs中大部分在低温胁迫后期表达量受到抑制,而miR168a、miR169ac、miR394a-3p和miR530a在低温胁迫的各个时间段表达量都显著受到抑制。孙润泽等(2011)研究发现miRNA调控低温胁迫在不同杨树中存在品种差异。miR168a、miR168b和miR475a在毛果杨和甜杨(*P. suaveolens*)中有不同的低温诱导模式,意味着这三个miRNAs在两个杨树品种中抗冻性存在差异。

2.4 杨树miRNA参与调控营养元素胁迫

杨树miRNA参与调控氮、硫饥饿胁迫。Wang等(2016)研究发现缺氮处理‘南林1388’(*P. deltoides* × *P. euramericana*, 氮饥饿不敏感型)和‘南林895’(*P. deltoedes* × *P. euramericana*, 氮饥饿敏感型)分别导致110和120个miRNAs发生变化,其中部分miRNAs表现出差异的诱导模式。例如,miR646在‘南林1388’中诱导表达,miR156、miR319和miR393在‘南林895’中诱导表达,而miR396在两个杨树品种中都诱导表达,但变化趋势不同。Liang等(2012)研究了低氮胁迫下拟南芥miRNA的表达情况,发现14个miRNA家族发生变化,其中8个家族(miR160、miR169、miR171、miR397、miR398、miR399、miR408和miR827)在拟南芥和杨树中均被检测到,说明拟南芥、杨树在应对氮胁迫时,miRNA既有相同的途径,也有差异之处。Honsel等(2012)研究了硫饥饿对杨树miRNA的影响,发现‘717’杨(*P. tremula* × *P. alba* cv. 717)生长环境中缺硫时,miR395表达量升高,硫代谢相关基因*ATPS3/4*表达发生变化。miR395及其靶基因*APS*在拟南芥和杨树中高度保守,当环境中缺乏硫时,miR395被诱导表达(Kawashima等2009)。

2.5 杨树miRNA对生物胁迫的调控

Chen等(2012c)对溃疡病菌侵染的‘北京杨’(*P. cathayana* × *P. nigra*)进行高通量测序,发现33个miRNAs家族被诱导表达。Zhao等(2012)对轮纹病菌侵染的毛果杨进行高通量测序,发现12个miRNAs家族被诱导表达。拟南芥响应病原菌的miRNAs已有初步研究,例如,miR159和miR319通过调控JA合成通路参与抵御真菌侵染(Curaba等2014)。这些miRNAs都可以在杨树响应病原菌的sRNA文库中找到,说明杨树、拟南芥在抵御病原菌过程中具有一定保守性。

3 杨树miRNAs的靶基因

miRNA通过对靶基因的调控来发挥其在生物体内的作用,因此鉴定miRNA靶基因对于研究miRNA的功能有重要意义。我们利用miRNA预测网站psRNATarget (<http://plantgrn.noble.org/psRNA-Target>; Dai等2011)对毛果杨miRNAs靶基因进行预测,发现269个miRNAs(分属于77个家族)可能调控426个靶基因。这些靶基因编码的蛋白主要包括转录因子、氧化酶和抗病等功能蛋白,参与转录调控和代谢合成等诸多过程(图1)。这些杨树miRNAs彼此交叉调控靶基因,形成复杂的调控网络(图2)。此外,我们发现46个miRNAs家族(例如miR6445和miR1444)是杨树特有的,能够调控147个靶基因,主要参与代谢、转录调控、生殖等过程。

3.1 杨树miRNA靶基因中的转录因子

杨树miRNAs靶基因中转录因子是数量最多的一类(图1),共有20个miRNA家族对应调控14个转录因子家族,参与调控生长发育、逆境胁迫等诸多生物学过程(图3)。例如,杨树miR166通过抑制HD-ZIP家族成员*HBI*表达,控制茎部维管发育(Ko等2006)。miR156和miR396分别调控SBP家族成员*SPL*和GRF家族成员*GRFs*基因表达,参与控制杨树株型发育和花、根等器官的形成(Baucher等2013;周厚君等2017)。miR169通过调控NF-Y家族成员*HAP*表达,参与控制杨树芽休眠(Potkar等2013)。miR164通过调控NF-Y家族成员*NAC070*表达,调节杨树抵御多种逆境胁迫(Lu等2017)。在这20个miRNA家族中,3个miRNAs(miR159、miR319、miR828)家族调控多个MYB家族成员,是各转录因子家族中最多的。有意思的是,miR6445是杨树特

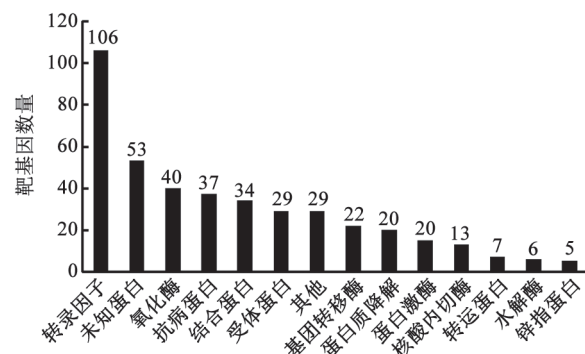


图1 杨树miRNA的靶基因分析

Fig.1 Target genes prediction of the miRNAs in *Populus*

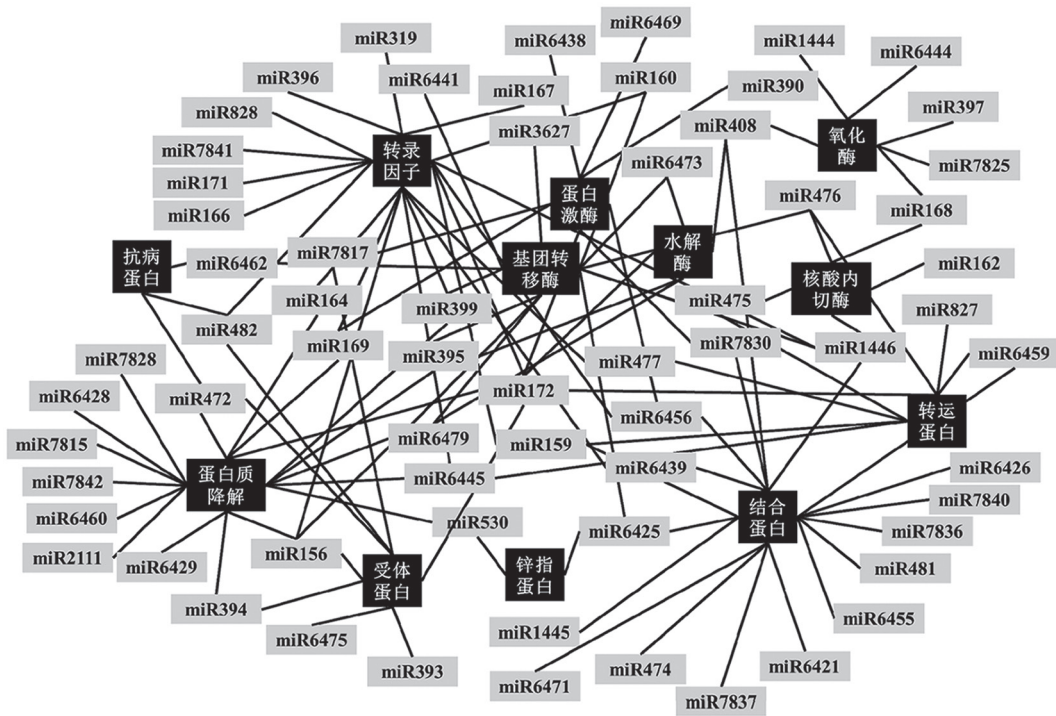


图2 杨树miRNAs调控靶基因的网络
Fig.2 The miRNAs and their target genes in *Populus*

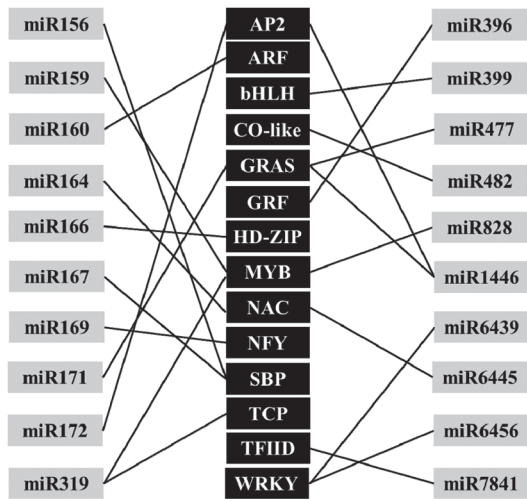


图3 杨树miRNA与靶基因(转录因子家族)
Fig.3 The miRNAs and their target genes (transcription factors family) in *Populus*

AP2: apetala2; ARF: auxin response factor; bHLH: basic helix-loop-helix; CO-like: constans-like; GRAS: the initials of GAI, RGA, and SCR; GRF: growth regulation factor; HD-ZIP: homeodomain-leucine zipper; MYB: myeloblastosis; NAC: the initials of NAM, ATAF1/2 and CUC1/2; NFY: nuclear factor Y; SBP: squamosal promoter binding protein; TCP: the initials of TB1, CYC and PCFs; TFIID: transcription factor IID; WRKY: seven conserved aminos acids of WRKYGQK.

有的miRNA家族, 它们的靶蛋白是NAC转录因子, 虽然与其他植物保守的miR164靶蛋白类似, 但二者靶序列完全不同, 说明miR6445家族在杨树与其他植物进化分离后才出现(Xie等2017)。

3.2 杨树miRNA的其他靶基因

杨树miRNA的靶基因除了转录因子之外大都是一些功能蛋白, 包括氧化酶、结合蛋白、抗病蛋白、蛋白质降解、蛋白激酶、受体蛋白、基团转移酶等(图1和2)。其中, 氧化酶多数与杨树体内代谢相关, 如miR397通过靶向漆酶(氧化酶) *LAC* 基因调控木质素合成(Lu等2013)。结合蛋白多数与离子胁迫相关, 如杨树体内缺乏铜离子时, miR397、miR398和miR408会调控*PCL*、*CSD*、*LAC*等铜离子结合蛋白编码基因表达, 优先保证质体蓝蛋白合成(Lu等2011)。miR5672的靶基因是一种钙结合蛋白, 在钙信号传导中起重要的调控作用(司婧娜等2015)。

4 杨树miRNA研究展望

miRNA作为转录后调控的重要手段, 在杨树生长发育和逆境胁迫中扮演重要角色, 因而对其

研究有重要意义。当前,杨树miRNA的研究大多依赖于高通量测序和靶基因预测,功能研究明显不足。基于此,我们认为杨树miRNA后续研究应侧重以下3个方面:(1)基于杨树miRNA-靶基因调控的复杂性和特异性,应更多倾向于miRNA-靶基因模块的功能鉴定;(2)明确杨树miRNA与其他非编码RNA(lincRNA、phasiRNA)之间的关系,例如毛果杨lincRNA20可以通过假靶基因模式来调控miR169的表达(Shuai等2016);(3)将miRNA与新兴的基因编辑技术CRISPR/Cas9有机结合。可以利用CRISPR/Cas9技术特异靶向miRNA位点或miRNA与靶基因的结合位点,敲除miRNA或者通过修改miRNA的启动子区来改变miRNA的表达模式,进而高效快速地遗传改良林木关键性状。

参考文献(References)

- Axtell MJ, Snyder JA, Bartel DP (2007). Common functions for diverse small RNAs of land plants. *Plant Cell*, 19 (6): 1750–1769
- Baucher M, Moussawi J, Vandeputte OM, et al (2013). A role for the miR396/GRF network in specification of organ type during flower development, as supported by ectopic expression of *Populus trichocarpa miR396c* in transgenic tobacco. *Plant Biol*, 15 (5): 892–898
- Chen J, Zhang J, Hu J, et al (2017). Integrated regulatory network reveals the early salt tolerance mechanism of *Populus euphratica*. *Sci Rep*, 7: 6769
- Chen L, Ren Y, Zhang Y, et al (2012a). Genome-wide identification and expression analysis of heat-responsive and novel microRNAs in *Populus tomentosa*. *Gene*, 504 (2): 160–165
- Chen L, Ren Y, Zhang Y, et al (2012c). Genome-wide profiling of novel and conserved *Populus* microRNAs involved in pathogen stress response by deep sequencing. *Planta*, 235 (5): 873–883
- Chen L, Zhang Y, Ren Y, et al (2012b). Genome-wide identification of cold-responsive and new microRNAs in *Populus tomentosa* by high-throughput sequencing. *Biochem Biophys Res Commun*, 417 (2): 892–896
- Cuperus JT, Fahlgren N, Carrington JC (2011). Evolution and functional diversification of *MIRNA* genes. *Plant Cell*, 23 (2): 431–442
- Curaba J, Singh MB, Bhalla PL (2014). miRNAs in the cross-talk between phytohormone signalling pathways. *J Exp Bot*, 65 (6): 1425–1438
- Dai X, Zhao PX (2011). psRNATarget: a plant small RNA target analysis server. *Nucleic Acids Res*, 39: W155–W159
- Ding Q, Zeng J, He XQ (2014). Deep sequencing on a genome-wide scale reveals diverse stage-specific microRNAs in cambium during dormancy-release induced by chilling in poplar. *BMC Plant Biol*, 14: 267
- Ding Q, Zeng J, He XQ (2016). MiR169 and its target *PagHAP2-6* regulated by ABA are involved in poplar cambium dormancy. *J Plant Physiol*, 198: 1–9
- Duan ZX, Qin YR, Xia XL, et al (2011). Overexpression of *Populus euphratica* *peu-MIR156j* gene enhancing salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *J Beijing For Univ*, 33 (6): 1–7 (in Chinese with English abstract) [段中鑫, 覃玉蓉, 夏新莉等(2011). 超量表达胡杨 $peu-MIR156j$ 基因增强拟南芥耐盐性. *北京林业大学学报*, 33 (6): 1–7]
- He F, Xu C, Fu X, et al (2018). The *microRNA390/TRANSPARENT SHORT INTERFERING RNA3* module mediates lateral root growth under salt stress via the auxin pathway. *Plant Physiol*, 177 (2): 775–791
- Honsel A, Kojima M, Haas R, et al (2012). Sulphur limitation and early sulphur deficiency responses in poplar: significance of gene expression, metabolites, and plant hormones. *J Exp Bot*, 63 (5): 1873–1893
- Jansson S, Douglas CJ (2007). *Populus*: a model system for plant biology. *Annu Rev Plant Biol*, 58: 435–458
- Jia X, Wang WX, Ren L, et al (2009). Differential and dynamic regulation of miR398 in response to ABA and salt stress in *Populus tremula* and *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol*, 71 (1–2): 51–59
- Jones-Rhoades MW, Bartel DP, Bartel B (2006). MicroRNAs and their regulatory roles in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 57: 19–53
- Kawashima CG, Yoshimoto N, Maruyama-Nakashita A, et al (2010). Sulphur starvation induces the expression of microRNA-395 and one of its target genes but in different cell types. *Plant J*, 57 (2): 313–321
- Ko JH, Prassinis C, Han KH (2006). Developmental and seasonal expression of *PtaHBI1*, a *Populus* gene encoding a class III HD-Zip protein, is closely associated with secondary growth and inversely correlated with the level of microRNA (*miR166*). *New Phytol*, 169 (3): 469–478
- Kozomara A, Griffiths-Jones S (2014). miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic Acids Res*, 42: D68–D73
- Kurihara Y, Takashi Y, Watanabe Y (2006). The interaction between DCL1 and HYL1 is important for efficient and precise processing of pri-miRNA in plant microRNA biogenesis. *RNA*, 12 (2): 206–212
- Li B, Qin Y, Duan H, et al (2011). Genome-wide characterization of new and drought stress responsive microRNAs in *Populus euphratica*. *J Exp Bot*, 62 (11): 3765–3779
- Li H, Deng Y, Wu T, et al (2010). Misexpression of miR482, miR1512, and miR1515 increases soybean nodulation. *Plant Physiol*, 153 (4): 1759–1770
- Liang G, He H, Yu D (2012). Identification of nitrogen star-

- vation-responsive microRNAs in *Arabidopsis thaliana*. PLoS ONE, 7 (11): e48951
- Lu S, Li Q, Wei H, 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
- Lu S, Yang C, Chiang VL (2011). Conservation and diversity of microRNA-associated copper-regulatory networks in *Populus trichocarpa*. J Integr Plant Biol, 53 (11): 879–891
- Lu X, Dun H, Lian C, et al (2017). The role of *peu*-miR164 and its target *PeNAC* genes in response to abiotic stress in *Populus euphratica*. Plant Physiol Biochem, 115: 418–438
- Lu X, Guan Q, Zhu J (2013). Downregulation of CSD2 by a heat-inducible miR398 is required for thermotolerance in *Arabidopsis*. Plant Signal Behav, 8 (8): e24952
- Potkar R, Recla J, Busov V (2013). *ptr*-miR169 is a posttranscriptional repressor of *PtrHAP2* during vegetative bud dormancy period of aspen (*Populus tremuloides*) trees. Biochem Biophys Res Commun, 431 (3): 512–518
- Qin Y, Xia X, Yin W (2011). Expression determination of miR169g under dehydration and high salinity stress in *Populus euphratica* leaves by real-time quantitative PCR. Mod Instrum Med Treat, 17 (3): 28–30 (in Chinese with English abstract) [覃玉蓉, 夏新莉, 尹伟伦 (2011). 实时荧光定量PCR检测miR169g在脱水与高盐胁迫下胡杨叶中的表达. 现代仪器与医疗, 17 (3): 28–30]
- Ren Y, Chen L, Zhang Y, et al (2012). Identification of novel and conserved *Populus tomentosa* microRNA as components of a response to water stress. Funct Integr Genomics, 12 (2): 327–339
- Rubinelli PM, Chuck G, Li X, et al (2013). Constitutive expression of the *Corngrass1* microRNA in poplar affects plant architecture and stem lignin content and composition. Biomass Bioenerg, 54 (4): 312–321
- Shuai P, Liang D, Zhang Z, et al (2013). Identification of drought-responsive and novel *Populus trichocarpa* microRNAs by high-throughput sequencing and their targets using degradome analysis. BMC Genomics, 14: 233
- Shuai P, Su Y, Liang D, et al (2016). Identification of phasiRNAs and their drought-responsiveness in *Populus trichocarpa*. FEBS Lett, 590 (8): 3616–3627
- Si JN, Zhou T, Xu F, et al (2015). Salt-responsive microRNAs in *Populus euphratica* by deep sequencing. Bull Bot Res, 35 (6): 836–842 (in Chinese with English abstract) [司婧娜, 周韬, 徐放等 (2015). 胡杨无性系幼苗响应盐胁迫的miRNA表达差异研究. 植物研究, 35 (6): 836–842]
- Song Y, Ma K, Ci D, et al (2013). Sexual dimorphism floral microRNA profiling and target gene expression in andromonoecious poplar (*Populus tomentosa*). PLoS ONE, 8 (5): e62681
- Sun R, Hou Q, Zhang W, et al (2011). Cloning and analysis of the low temperature stress-responsive microRNAs from *Populus suaveolens*. Genomics Appl Biol, 30 (2): 204–211 (in Chinese with English abstract) [孙润泽, 侯琦, 章文乐等 (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]
- Tang F, Wei H, Zhao S, et al (2016). Identification of microRNAs involved in regeneration of the secondary vascular system in *Populus tomentosa* Carr. Front Plant Sci, 7: 724
- Taylor RS, Tarver JE, Hiscock SJ, et al (2014). Evolutionary history of plant microRNAs. Trends Plant Sci, 19 (3): 175–182
- Wang JW, Park MY, Wang LJ, et al (2011). MiRNA control of vegetative phase change in trees. PLoS Genet, 7 (2): e1002012
- Wang X, Li X, Zhang S, et al (2016). Physiological and transcriptional responses of two contrasting *Populus* clones to nitrogen stress. Tree Physiol, 36 (5): 628–642
- Wu G, Park MY, Conway SR, et al (2009). The sequential action of miR156 and miR172 regulates developmental timing in *Arabidopsis*. Cell, 138: 750–759
- Xie J, Yang X, Song Y, et al (2017). Adaptive evolution and functional innovation of *Populus*-specific recently evolved microRNAs. New Phytol, 213: 206–219
- Yer EN, Baloglu MC, Ziplar UT, et al (2016). Drought-responsive *Hsp70* gene analysis in *Populus* at genome-wide level. Plant Mol Biol Rep, 34 (2): 483–500
- Zhang Y, Ren Y, Chen L, et al (2012). Differential expression analysis of 12 microRNAs under cold stress in *Populus tomentosa*. Chin Agr Sci Bull, 28 (7): 1–7 (in Chinese with English abstract) [张译云, 任媛媛, 陈磊等 (2012). 毛白杨12种microRNAs的低温胁迫差异表达分析. 中国农学通报, 28 (7): 1–7]
- Zhao JP, Jiang XL, Zhang BY, et al (2012). Involvement of microRNA-mediated gene expression regulation in the pathological development of stem canker disease in *Populus trichocarpa*. PLoS ONE, 7 (9): e44968
- Zhou H, Wei K, Jiang C, et al (2017). Negative Regulation of GRF1/2d on the formation and development of adventitious roots in *Populus alba* × *P. glandulosa* '84K'. Sci Silv Sin, 53 (3): 33–39 (in Chinese with English abstract) [周厚君, 魏凯莉, 江成等 (2017). 杨树GRF1/2d负调控不定根的发生和发育. 林业科学, 53 (3): 33–39]
- Zhou L, Liu Y, Liu Z, et al (2010). Genome-wide identification and analysis of drought-responsive microRNAs in *Oryza sativa*. J Exp Bot, 61 (15): 4157–4168

Research progresses of *Populus* miRNAs in regulating growth, development and stress response

WANG Cong-Peng¹, TANG Xian-Feng¹, XU Hua¹, HUANG Fei², ZHOU Gong-Ke¹, CHAI Guo-Hua^{1,*}

¹Qingdao Institute of Bioenergy and Bioprocess Technology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, Shandong 266101, China

²Sichuan Dimensional and Innovation Bio Co., Ltd., Chengdu 610041, China

Abstract: As a commonly accepted model tree species, *Populus* has unique characters in seasonal dormancy, wood formation and flowering time control. Therefore, it comes naturally to use *Populus* as the material for functional study on tree species. miRNA is a class of single chain non-coding sRNA with a length of 20–24 nt. miRNAs are widespread in eukaryotic organisms and negatively regulate target genes at the post-transcriptional level. Although a great progress has been made on *Populus* miRNAs functional research in recent years, the corresponding review is seldom. In this paper, we identified 133 miRNA families, including 401 members, from *P. trichocarpa* in miRBase database (<http://www.mirbase.org>), reviewed the biological functions of some known *Populus* miRNA, and predicted their target genes. Our work may provide information for the deep study of *Populus* miRNAs.

Key words: *Populus*; miRNA; development; stress; target gene

Received 2018-08-06 Accepted 2018-10-10

This work was supported by National Key Program on Transgenic Research (2018ZX08020002), National Key Scientific Research Project of China (2016YFD0600104), National Natural Science Foundation of China (31570670, 31670606 and 31700526), Science and Technology Support Plan Project of Sichuan (18SYXHZ0044), the Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2017BC078), and China Postdoctoral Science Foundation (2016M602206).

*Corresponding author (chaigh@qibebt.ac.cn).