

miRNA 介导植物-微生物互作中的调控作用及其研究进展

吕晓曼[#], 张文艺[#], 张海花, 梁宗锁, 陈海敏

浙江理工大学 生命科学与医药学院, 浙江 杭州 310018

吕晓曼, 张文艺, 张海花, 梁宗锁, 陈海敏. miRNA 介导植物-微生物互作中的调控作用及其研究进展. 生物工程学报, 2022, 38(5): 1695-1705.

LÜ XM, ZHANG WY, ZHANG HH, LIANG ZS, CHEN HM. Advances of miRNA-mediated regulatory roles in plant-microbe interaction. Chin J Biotech, 2022, 38(5): 1695-1705.

摘 要: 微生物与植物之间存在错综复杂的双向交流和串扰, 植物与病原微生物互作直接影响寄主植物的生存状况, 而植物和益生微生物互作则有利于宿主的生长和健康, 共生微生物也会从中受益。不管是病原微生物还是有益微生物进入植物体内, 植物 miRNA 都会迅速做出响应, 同时微生物也可以产生 miRNA 样 RNA (miRNA-like RNA, miRNA) 影响植物健康, 可见 miRNA (或 miRNA) 是植物与微生物互作过程中迅速响应的重要媒介分子, 其内在机制研究近年来取得了许多进展。文中概述了植物-病原微生物、植物-益生微生物互作中 miRNA 的调控作用, 重点阐述了植物 miRNA 在植物-病原微生物互作过程中对寄主植物抗病性的调控作用和植物-益生微生物互作过程中对宿主植物生长发育及代谢的调控, 以及真菌 miRNA 对寄主植物的跨界调控作用。

关键词: 植物-微生物互作; miRNA; miRNA; 跨界调控

Received: July 31, 2021; **Accepted:** January 17, 2022; **Published online:** January 19, 2022

Supported by: National Undergraduate Training Programs for Innovation and Entrepreneurship (202010338039); Zhejiang Provincial Natural Science Foundation, China (LY22H280011)

[#]These authors contributed equally to this study

Corresponding author: CHEN Haimin. E-mail: chenhm@zstu.edu.cn

基金项目: 国家级大学生创新创业训练计划项目 (202010338039); 浙江省自然科学基金 (LY22H280011)

Advances of miRNA-mediated regulatory roles in plant-microbe interaction

LÜ Xiaoman[#], ZHANG Wenyi[#], ZHANG Haihua, LIANG Zongsuo, CHEN Haimin

College of Life Sciences and Medicine, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, Zhejiang, China

Abstract: There are many bidirectional communication and crosstalk between microbes and host plants. The plant-pathogen interaction directly affects the survival of host plants, while the interaction between plants and their probiotics benefits both. Plant miRNA responds quickly to pathogenic or beneficial microbes when they enter the plant tissues, while microbes also produce miRNA-like RNA (miRNA) to affect plant health. These means miRNA or miRNA is an important fast-responding molecular mediator in plant-microbe interactions, and these internal mechanisms have been better understood in recent years. This review summarized the regulatory roles of miRNA in plant-pathogens and plant-probiotics interaction. The regulatory role of miRNA in disease resistance of host plants during plant-pathogens interaction, and the regulatory role of miRNA in promoting host growth and development during plant-probiotics interaction, as well as the cross-kingdom regulatory role of miRNA in host plants, were discussed in-depth.

Keywords: plant-microbe interaction; miRNA; miRNA; cross-kingdom regulation

微生物在植物发育和抗逆性中起着至关重要的作用。无论是植物-病原微生物，还是植物-有益微生物，无论它们是拮抗还是共生，它们之间必然存在着错综复杂的交流方式。近年来研究表明，microRNA (miRNA) 在植物生长发育^[1]、生物及非生物胁迫^[2]以及次生代谢^[3]等多方面起重要调节作用，且在跨界调控方面具有较大的潜力。Middleton 等^[4]更是直接指出，miRNA 是植物-微生物相互作用的关键介质，这种介质不只是介导单向的调控，而是促进宿主植物与微生物之间的双向交流。miRNA 作为植物与微生物互作过程中重要的调控因子，其具体的调控过程和机制尚未完全解析。miRNA 在植物与微生物互作中扮演何种角色是目前研究的热点问题，这将为微生物对宿主植物生长发育及代谢和植物抗病性研究提供新思路。

文中主要综述了植物 miRNA 在植物与微生物互作中的调控作用，内容主要包括 miRNA 在植物-病原微生物互作过程中对植物抗病性的调控和植物-益生菌共生过程中对宿主植物生长发育及代谢的调控，以及 miRNA 在植物与微生物之间的跨界调控作用。

1 植物 miRNA 与微生物 miRNA 研究概况

miRNA 是一类由内源基因编码的非编码短链 RNA 分子，其长度约为 19–25 nt，主要参与基因转录后水平负调控靶基因的表达^[5]。1993 年，科学家从秀丽隐杆线虫中首次发现了 miRNA^[6]，之后在拟南芥^[7]、水稻^[8]等植物中的 miRNA 也得到报道。随着动植物中越来越多的 miRNA 被鉴定，miRBase、TargetScan、PMRD、

PmiREN 等 miRNA 相关数据库也被建立, miRBase 是目前比较权威的公共数据库之一, 截至目前, miRBase22 数据库中收录了 48 860 条 miRNA 成熟序列^[9]。

近年来, 在多种植物中鉴定出了大量 miRNAs, 其中拟南芥就有 428 条 miRNA 成熟序列^[9]。植物 miRNA 在植物生长发育、次生代谢、抗逆及信号转导等多方面起着重要的调控作用, 甚至跨界调控其他物种体内基因的表达。如番茄 (*Solanum lycopersicum*) 中 miR156 和 miR172 分别通过靶基因 *AP2a* 和 *CNR* 调控果实的成熟^[10]。Sobhani 等^[11]发现植物香胶阿魏 (*Ferula gummosa* Boiss.) 的 miR1533、miR5021 和 miR5658 分别通过靶向 *SPL7*、*SPL11* 和 *ATHB13* 参与萜烯生物合成。Xu 等^[12]通过高通量测序鉴定出丹参中 589 个前体 miRNAs, 并发现 miR5072 靶向乙酰辅酶 A 酰基转移酶参与丹参酮的生物合成。miRNA 研究一般包括 miRNA 的鉴定与生物学功能解析两个方面。目前, 植物 miRNA 研究主要集中在 miRNA 的鉴定及靶基因预测, 关于 miRNA 生物学功能研究较少。特别是多个 miRNA 的协同调控网络以及跨界调控等方面的研究还不够深入。

近年来在微生物 (主要是真菌) 中发现了 miRNA 类似物, 2010 年, Lee 等在粗糙脉孢菌 (*Neurospora crassa*) 中发现了具有植物和动物 miRNA 特征的 miRNA 样 RNA, 取名 milRNA (miRNA-like)^[13]。对一些真菌中 milRNA 及其靶标的研究表明, milRNA 可能与毒力和生长发育相关。Xia 等^[14]在核盘菌 (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) 菌核发育过程中分析鉴定了 275 个 milRNA, 并对所有 milRNA 的靶基因进行预测分析, 发现 Ssc-milR-240 可能通过其目标组蛋白乙酰转移酶的表现遗传调控与菌核发育相关; Zhou 等^[15]通过深度测序和计算分析从

绿僵菌 (*Metarhizium anisopliae*) 中鉴定出了 15 个 milRNA, 分析其表达谱, 发现这 15 个 milRNA 与菌丝生长和分生孢子发育有关; Xu 等^[16]从植物病原真菌 (*Valsa mali*) 中分离鉴定了 14 milRNA, 并发现 Vm-milR16 可以适应性地调节毒力基因的表达。黄曲霉 (*Aspergillus flavus*) 是一种动植物致病真菌, Bai 等^[17]从黄曲霉中鉴定出 135 个黄曲霉 milRNA, 并推测其可能与霉菌毒素的生物合成和菌丝生长有关。大多数的研究集中在真菌 milRNA 的鉴定上, 尤其是植物致病真菌, milRNA 在毒力和调节机制中的作用知之甚少。拟南芥 sRNA 和棉花 miRNA 被证明可以转运到真菌细胞中并通过 mRNA 切割使真菌靶标转录物沉默^[18], 因此, 内源性 milRNA 介导的 mRNA 切割可能是真菌的重要途径。

植物与多种微生物相互作用, 共同进化形成了稳定的微环境, 这种共生不仅对植物的生长发育、营养和抗病性等起着重要作用, 同时微生物也在适应这种微环境的过程中逐渐形成了稳定的微生物群落。近年来, 一些研究表明 miRNA 是不同生物之间跨界的重要媒介分子, 也参与介导了一些植物-微生物相互作用的过程。

2 miRNA 在植物-病原微生物互动中的调控

2.1 miRNA 介导寄主植物的抗病反应

植物暴露在自然环境中, 经常会受到来自细菌、真菌和病毒等病原微生物的攻击或胁迫。大量研究表明 miRNA 是植物抵抗病原体感染的有效调控因子。miRNA 在寄主植物响应病原体侵染时, 主要通过非跨界调控和跨界调控两种方式进行应答和调控 (表 1)。

2.1.1 miRNA 在植物-微生物互作中对植物抗病性的非跨界调控

宿主植物在受到细菌或真菌攻击时, 宿主植物体内的 miRNA 表达谱快速响应, 引起其调控下游靶基因表达变化, 进而调控植物宿主的抗病性。Salvador-Guirao 等^[19]通过靶模拟物干扰拟南芥 miR773 活性, 发现拟南芥在被丁香假单胞菌 (*Pseudomonas syringae* pv. tomato) 侵染后, 拟南芥的 miR773 靶基因甲基转移酶 2 (*MET2*) 上调, 促进拟南芥对丁香假单胞菌感染的抗性。水稻被稻瘟病菌 (*Magnaporthe oryzae*) 侵染后, 水稻的 miR164a 下调, 靶向 *OsNAC60* 转录因子上调, 启动细胞程序性死亡、活性氧积累和胼胝质沉积, 从而增强对病原菌的免疫防御, 而过表达 miR164a 会抑制水稻对稻瘟病菌的免疫^[23]。

miRNA 响应植物的抗病性主要通过靶向植物的抗病蛋白 NB-LRR、几丁质和凝集素等起到调控作用。植物 NB-LRR 蛋白可作为激活剂在微生物侵染后激活植物防御反应。研究发现, 豆科植物中的 miR2118、miR1507 和 miR2109 靶向 NB-LRR 蛋白, 这可能与抵御病原菌的免疫反应有关^[33]。番茄感染尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) 后, 体内的 miR482、miR5300 负调控植物 NB-LRR 蛋白, 降低了番茄对病原菌的抗性^[26]。拟南芥经细菌脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 处理后, 体内 miR393 下调, 其靶基因凝集素受体样激酶基因 (lectin receptor-like kinases, LecRLKs) 上调, 可增强拟南芥对 LPS 的基础抗性^[22]。

miRNA 还可通过激素信号途径介导植物对病原菌的抗病性。在革兰氏阴性细菌 (*Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*) 感染的木薯 (*Manihot esculenta* Crantz.) 中, 木薯 miR160 靶向 ARF 样基因、miR167 靶向磷酸酶和肽酶, 这两个 miRNA 推测参与生长素信号的调控^[21]。Pinweha 等^[27]利

用胶孢炭疽菌 (*Colletotrichum gloeosporioides* f. sp.) 侵染木薯后, 发现木薯 miR393 和 miR160 通过下调其靶基因 *TIR1* 和 *ARF* 进而抑制生长素信号, 促进木薯对炭疽病的防御反应。丁香假单胞菌鞭毛蛋白诱导拟南芥 miR393 负调控 F-box 生长素受体 *TIR1* 从而抑制生长素信号促进拟南芥的抗菌^[20]。平邑甜茶 (*Malus hupehensis* (Pamp.) Rehd.) 被 (*Botryosphaeria dothidea*) 侵染后, 会促进宿主 miR168 的上调, 靶向抑制 *MhAGO1*, 促进水杨酸 (salicylic acid, SA) 介导的防御反应, 可延缓病原菌接种叶片的症状进展, 正向调控平邑甜茶对病原菌的抗性^[28]。李琳琳等则以番茄茉莉酸 (jasmonic acid, JA) 缺失突变体及其野生型为试验材料, 通过高通量测序鉴定番茄 miRNA 并预测其靶基因, 发现番茄被灰霉菌 (*Botrytis cinerea*) 侵染后, 番茄内 miR156e-3p、miR390b-5p、miR399b、miR482d-5p 通过依赖茉莉酸信号途径参与对灰霉病的抗性^[25]。

miRNA 介导植物响应病原微生物的侵染, 除上面促进植物的抗病性外, 也有部分 miRNA 会下调植物的免疫防御能力, 使植物易感病。Zhang 等^[24]发现稻瘟病菌 (*M. oryzae*) 菌株 Guy11 侵染水稻后, miR319 的表达上调, 进而下调其靶基因 *OsTCP21* 的表达量, 抑制 JA 的生物合成破坏宿主植物的免疫, 降低水稻对病原菌的抗病性。

2.1.2 miRNA (miRNA) 在植物-微生物互作中对植物抗病性的跨界调控

miRNA (miRNA) 在植物-病原微生物互作中充当媒介分子, 是植物-病原微生物双向交流的递质。病原微生物 (主要为真菌) 侵染植物时, 一方面病原微生物会向宿主植物输出 miRNA 以提高自身侵染的能力或毒性, 如条柄锈菌小麦专化型 (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) 中的一种新型 microRNA-like RNA 1

(Pst-milr1) 在侵染后被输出到小麦中, 会抑制小麦致病相关 2 (pathogenesis-related 2, PR2) 基因, 从而降低小麦对 Pst 的抗性^[29]。另一方面, 植物也可向某些病原微生物输出植物源 miRNA, 用以抑制微生物中重要的毒性因子, 从而削弱病原微生物的侵染及存活能力, 如棉花在受到黄萎病菌 (*Verticillium dahliae*) 侵染时, 体内 miR166 和 miR159 表达上调, 并将二者输出到真菌菌丝可特异性沉默编码 Ca²⁺依赖性的半胱氨酸蛋白酶 (Clp-1) 和异木皮素 C-15 羟化酶 (HiC-15) 的毒力基因, 以获得自身抗病能力^[18]。Meng 等的研究表明, 番茄的 miR1001 通过靶向灰霉菌 (*B. cinerea*) 中的 ATP 依赖性金属肽酶和半胱氨酸型内肽酶抑制

灰霉菌 (*B. cinerea*) 侵染植物的毒力^[30]。

miRNA (miRNA) 的跨界方式是研究的热点也是难点, 外源 miRNA (miRNA) 在转运过程中会遭遇恶劣的生物环境, 包括 RNA 酶、吞噬和极端 pH 等, 因此提高 miRNA 的稳定性对跨界转运来说至关重要。目前对于 miRNA 具体的跨界转运机制还未完全阐明。推测可能是植物-微生物接触部位积累并与囊泡融合的外泌体 (extracellular vesicle, EV) 是 miRNA 跨界转运的重要载体^[34]。最近在拟南芥的一项研究表明, 植物细胞可以分泌类似于 EV 的外泌体, 可将 sRNA 传递到灰霉菌 (*B. cinerea*) 中, 这些含有 sRNA 的囊泡在感染部位聚集, 并被真菌细胞吸收^[35]。

表 1 miRNA 在植物与病原微生物互作中对植物抗病性的调控

Table 1 Regulation of miRNA on plant disease resistance in plant-pathogens interaction

Interaction type	Microbe	Host plant	miRNA	Function	References
Non cross-kingdom regulation	<i>Pseudomonas syringae</i>	<i>Arabidopsis</i>	miR773	Up-regulate target gene <i>MET2</i> to enhance plant disease resistance	[19]
			miR393	Down-regulate F-box auxin receptor <i>TIR1</i> inhibits auxin signaling and enhances plant antimicrobial activity	[20]
	<i>Xanthomonas axonopodis</i> LPS	<i>Manihot esculenta</i>	miR160, miR167	Participate in regulating auxin signal	[21]
		<i>Arabidopsis</i>	miR393	Up-regulate target genes lectin receptor-like kinases, LecRLKs, and enhancement of <i>Arabidopsis</i> resistance to LPS	[22]
	<i>Magnaporthe oryzae</i>	<i>Oryza sativa</i>	miR164a	Increase programmed cell death, accumulation of reactive oxygen species, deposition of callose and immune defense	[23]
			miR319	Inhibit the expression of the target gene <i>OsTCP21</i> results in suppression of JA synthesis and reduce resistance of rice to pathogens	[24]
	<i>Botrytis cinerea</i>	Tomato	miR156e-3p, miR390b-5p, miR399b, miR482d-5p	Enhance resistance to <i>B. cinerea</i> by JA signaling pathway	[25]
	<i>Fusarium oxysporum</i>	Tomato	miR482, miR5300	Inhibit NB-LRR domain protein reduces tomato resistance to pathogens	[26]

(待续)

(续表 1)

Interaction type	Microbe	Host plant	miRNA	Function	References
	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<i>Manihot esculenta</i>	miR393, miR160	Down-regulate target genes <i>TIR1</i> and <i>ARF</i> , inhibite auxin signaling and promote cassava defense response	[27]
	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	<i>Malus hupehensis</i>	miR168	Targeted inhibite <i>MhAGO1</i> promotes SA-mediated defense responses and positively regulates host plant resistance to pathogens	[28]
Cross-kingdom regulation	<i>Puccinia graminis</i>	Wheat	miR1	Inhibite target gene pathogenesis-related 2 (<i>PR2</i>) expression to prevent plant defense	[29]
	<i>Verticillium dahliae</i>	Cotton	miR166, miR159	Improve disease resistance of host plants	[18]
	<i>Botrytis cinerea</i>	Tomato	miR1001	Inhibite <i>B. cinerea</i> toxicity to infected plants	[30]
	<i>Valsa mali</i>	Apple	miR37	Regulate the oxidative stress response of glutathione peroxidase gene <i>VmGP</i>	[31]
			miR1	Inhibite host immunity by silencing host receptor-like kinase genes, <i>MdRLKT1</i> and <i>MdRLKT2</i>	[32]

3 miRNA 在植物与益生微生物相互作用过程中的调控

与植物共生的微生物绝大多数是无害的, 其中有许多对宿主植物生长和健康有促进作用的益生微生物。miRNA 是植物-益生微生物相互作用中起重要调控作用的媒介分子, 下面从植物与共生微生物、内生菌、根际微生物等方面对其调控机制进行总结 (表 2)。

3.1 miRNA 在植物-共生微生物相互作用中的调控作用

miRNA 在植物-根瘤菌和植物-丛枝菌根 (arbuscular mycorrhizal fungi, AM) 共生关系中参与调节植物营养平衡^[46]、激素稳态和信号传导^[47], 或共生结节的时空发展^[48]。为了应对营养饥饿, 豆科植物与土壤根瘤菌和丛枝菌根真菌建立了共生作用, 分别形成固氮根瘤和丛枝菌根。对于植物来说, 固氮根瘤菌能将游离氮转化为生物可利用氮, 而丛枝菌根真菌则能帮助植物有效地吸收矿物养分。作为交换, 植物

向真菌提供碳水化合物。如 miR397 被归类为 Cu-miRNA, 参与百脉根体内固氮相关的铜稳态^[36]。在根瘤菌感染宿主植物的过程中, miR172^[37]、miR2111^[38]等是结瘤的正向调控因子, miR172 可抑制早期结节蛋白基因 *EDOD40* 的转录抑制因子, 使其去抑制, 从而促进根瘤的形成; miR211 则通过抑制 TML1 和 TML2 转录酶在根中的积累, 最终促进根瘤形成。苜蓿中的 miR396 对丛枝菌根的形成起负调控作用, miR396 在响应丛枝菌根真菌感染时表达下调其靶基因 *GRF4* 的表达上调, 进而促进根生物量的积累和 AM 真菌的定殖^[43]。研究证实许多植物通过与丛枝菌根真菌形成互惠共生关系来提高其磷 (Pi) 的摄取, 其中 miRNA399 本身虽不足以改善菌根的定殖, 但它的增加却是 MtPho2 表达和活性保持低水平的必要条件, 这有利于维持 Pi 的吸收和稳态^[49]。Wong-Bajracharya 等基于 sRNA 测序和原位 miRNA 检测技术从巨桉 (*Eucalyptus grandis*) 的外生菌根真菌小果豆马勃 (*Pisolithus microcarpus*) 中发现了一条新的

真菌 miRNA (miR8), 它能从真菌中转移到宿主根部, 在帮助真菌菌丝进入根组织形成菌根共生结构的同时也能促进宿主根部的营养吸收, 这表明真菌 miRNA 可以介导真菌对宿主植物的跨界调控, 并以此来稳定它们的共生相互作用^[45]。

3.2 miRNA 在植物-内生菌互作中的调控作用

植物内生菌生存在健康植物的组织或器官内, 是一类不会或暂时不会引发宿主植物产生明显病症的共生菌, 种类繁多, 具有多样性^[50]。植物内生菌包括内生真菌和内生细菌, 目前发现一些内生菌会通过 miRNA 介导调控植物的生长发育及抗病反应。厚垣普可尼亚菌 (*Pochonia chlamydosporia*) 定殖番茄后, 引起番茄体内 miR390b-3p 等 26 个 miRNA 差异表达, 通过靶基因分析发现其可能参与调控宿主植物的防御反应^[44]。内生链霉菌 SSD49 接种到毛白杨幼苗中后, 引起幼苗中包括 miR160、miR156 和 miR319 在内的 38 个 miRNA 差异表达, 并通过靶基因分析发现其可能参与调控转录因子 (生长素反应因子、生长素小分子 RNA 和 GRAS 蛋白)、抗病蛋白和植物激素氧化酶等进而调控宿主植物的生长发育和抗病性^[42]。

3.3 miRNA 在植物与根际微生物互作中的调控作用

根际微生物是紧密附着于根际土壤颗粒中的微生物, 以细菌为主, 其中革兰氏阴性菌占优势。一般认为它们最开始只是土壤中的微生物群, 通过与根沉积物的接触逐渐分化为它们长期存在于植物的根际微生物, 不断地与植物进行着相互作用, 长此以往, 植物与这些微生物形成了多种密切联系^[4]。miRNA 作为植

物与根际微生物相互作用过程中的关键因子, 是植物-根际微生物这个整体的协调单位。miRNA 不仅与形成根际菌群的丰度、组成、功能和活动有关, 还会影响植物的生长、代谢、发育等方面, 特别是与植物根的生长发育有重要关系^[51]。

根际的促生细菌作为一种常见的根际微生物, 对植物根的形态发育有着重大影响, 这些影响可以是直接的, 也可以是间接的。李菲等^[40]研究发现, 促生细菌枯草芽孢杆菌 ACCC 01380 VOCs 侵染拟南芥后, 宿主植物中 miRNA 的表达谱有较大改变, 其中 miR394b-5p、miR159c、miR164a、miR164c-5p、miR399c-5p 下调, 而 miR160b、miR319a、miR5015、miR171b-3p、miR5633、miR2938 上调。另一研究表明, 恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*) 在与拟南芥相互作用时可能通过 miR393a-5p-TIR1 等模块促进拟南芥根、芽和侧枝的生长^[41]。

4 总结与展望

综上所述, miRNA 是植物-病原微生物、植物-益生微生物互作过程中起调控作用的重要媒介分子, 是微生物调控宿 (寄) 主植物的靶标分子, miRNA 通过跨界或非跨界的方式调控植物的生长发育、胁迫应答、抵抗病原体的侵染和抗病反应。特别是真菌中的 miRNA 不但对真菌的生长发育具有调控作用, 其作为一种跨界调控的媒介分子, 还会影响宿主植物的机体免疫。

虽然目前 miRNA 的跨界调控是一个研究热点, 但 miRNA 在植物与微生物之间的调控研究机制还未完全阐明。近来, 有研究认为 miRNA 主要通过 EV 的方式实现跨界转运^[4],

表 2 miRNA 在植物与益生微生物互动中对植物生长发育及代谢的调控

Table 2 Regulation of miRNA on plant growth, development and metabolism in plant-probiotics interaction

Interaction type	Microbes	Host plant	miRNA	Function	References
Non cross-kingdom regulation	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	<i>Lotus japonicus</i>	miR397	Promote the steady state of copper	[36]
	<i>Rhizobium</i>	Legumes	miR169, miR172, miR2111	Promote tumorigenesis	[37-39]
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Arabidopsis</i>	miR394b-5p, miR159c, miR164a, miR399c-5p, miR160b, miR2938	Promote the growth of host plants	[40]
	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Arabidopsis</i>	miR393a-p	Increase the fresh and dry weight of roots and shoots and the number of lateral branches	[41]
	<i>Streptomyces</i> sp.	<i>Populus</i>	miR156, miR160, miR319	Promote seedling growth and enhance disease resistance	[42]
	Arbuscular mycorrhizal	<i>Medicago truncatula</i>	miR396	Down-regulate arbuscular mycorrhizal formation	[43]
Cross-kingdom regulation	<i>Pochonia chlamydosporia</i>	Tomato	miR390b-3p	Regulate defense genes to promote symbiosis between host plants and endophytes	[44]
	<i>Pisolithus microcarpus</i>	<i>Eucalyptus grandis</i>	miR8	Promote the entry of fungal hyphae and root's absorption of host plants	[45]

Xu 等^[52]提取了人参中的外泌体纳米囊泡 (G-Exos) 并通过基因测序技术鉴定了其中的 miRNA, 发现外泌体转入干细胞中可激活细胞内 Pi3k 等通路, 且诱导干细胞的神经分化。此外, 还有研究表明, 植物还可以利用 EV 将 sRNAs 转运到相互作用的真菌病原体中, 抑制真菌毒力相关基因的表达, 但是 EV 是如何选择 sRNAs 并稳定地装载仍然是未知的^[53]。miRNA 在植物-微生物之间的跨膜转运方式是否为单一的 EV 转运, 是否还存在其他穿梭途径, 这都还有待研究。近来, 本实验室也通过内生真菌-无菌苗二元共培养体系^[54], 分析了一株能显著促进丹参酮合成的内生真菌褶皱青霉 DF33 对丹参根部

miRNA 表达谱的影响, 结果发现该菌株定殖后, miR156a、miR408、miR164a、miR396 的表达水平有显著响应, 部分 miRNA 与丹参酮合成的调控密切相关, 可能是 DF33 调控丹参次生代谢的媒介分子 (待发表)。

尽管人们目前对 miRNA 调控植物与微生物互作研究只是冰山一角, 但随着进一步研究的深入和科学技术的进步, 了解跨界 miRNA 及其转运载体将有助于了解植物与病原菌互作机制, 甚至将其作为一种新型杀菌剂对抗病原微生物, 也可以更好地解析植物与内生菌、共生菌和根际菌等有益微生物之间复杂的信息交流与串扰。

REFERENCES

- [1] Jodder J. miRNA-mediated regulation of auxin signaling pathway during plant development and stress responses. *J Biosci*, 2020, 45: 91.
- [2] Asefpour VK. Machine learning improves our knowledge about miRNA functions towards plant abiotic stresses. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 3041.
- [3] Vashisht I, Mishra P, Pal T, et al. Mining NGS transcriptomes for miRNAs and dissecting their role in regulating growth, development, and secondary metabolites production in different organs of a medicinal herb, *Picrorhiza kurroa*. *Planta*, 2015, 241(5): 1255-1268.
- [4] Middleton H, Yergeau E, Monard C, et al. Rhizospheric plant-microbe interactions: miRNAs as a key mediator. *Trends Plant Sci*, 2021, 26(2): 132-141.
- [5] Hausser J, Zavolan M. Identification and consequences of miRNA-target interactions—beyond repression of gene expression. *Nat Rev Genet*, 2014, 15(9): 599-612.
- [6] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 1993, 75(5): 843-854.
- [7] Reinhart BJ, Weinstein EG, Rhoades MW, et al. microRNAs in plants. *Genes Dev*, 2002, 16(13): 1616-1626.
- [8] Dugas DV, Bartel B. microRNA regulation of gene expression in plants. *Curr Opin Plant Biol*, 2004, 7(5): 512-520.
- [9] Kozomara A, Birgaoanu M, Griffiths-Jones S. miRBase: from microRNA sequences to function. *Nucleic acids research*, 2019, 47(D1): D155-D162.
- [10] Karlova R, Van Haarst JC, Maliepaard C, et al. Identification of microRNA targets in tomato fruit development using high-throughput sequencing and degradome analysis. *J Exp Bot*, 2013, 64(7): 1863-1878.
- [11] Sobhani Najafabadi A, Naghavi MR. Mining *Ferula gummosa* transcriptome to identify miRNAs involved in the regulation and biosynthesis of terpenes. *Gene*, 2018, 645: 41-47.
- [12] Xu X, Jiang Q, Ma X, et al. Deep sequencing identifies tissue-specific microRNAs and their target genes involving in the biosynthesis of tanshinones in *Salvia miltiorrhiza*. *PLoS One*, 2014, 9(11): e111679.
- [13] Lee HC, Li L, Gu W, et al. Diverse pathways generate microRNA-like RNAs and dicer-independent small interfering RNAs in fungi. *Mol Cell*, 2010, 38(6): 803-814.
- [14] Xia ZH, Wang ZH, Kav NNV, et al. Characterization of microRNA-like RNAs associated with sclerotial development in *Sclerotinia sclerotiorum*. *Fungal Genet Biol*, 2020, 144: 103471.
- [15] Zhou Q, Wang ZX, Zhang J, et al. Genome-wide identification and profiling of microRNA-like RNAs from *Metarhizium anisopliae* during development. *Fungal Biol*, 2012, 116(11): 1156-1162.
- [16] Xu M, Guo Y, Tian RZ, et al. Adaptive regulation of virulence genes by microRNA-like RNAs in *Valsa mali*. *New Phytol*, 2020, 227(3): 899-913.
- [17] Bai YH, Lan FX, Yang WQ, et al. sRNA profiling in *Aspergillus flavus* reveals differentially expressed miRNA-like RNAs response to water activity and temperature. *Fungal Genet Biol*, 2015, 81: 113-119.
- [18] Zhang T, Zhao YL, Zhao JH, et al. Cotton plants export microRNAs to inhibit virulence gene expression in a fungal pathogen. *Nat Plants*, 2016, 2(10): 16153.
- [19] Salvador-Guirao R, Baldrich P, Weigel D, et al. The microRNA miR773 is involved in the *Arabidopsis* immune response to fungal pathogens. *Mol Plant Microbe Interact*, 2018, 31(2): 249-259.
- [20] Navarro L, Dunoyer P, Jay F, et al. A plant miRNA contributes to antibacterial resistance by repressing auxin signaling. *Science*, 2006, 312(5772): 436-439.
- [21] Pérez-Quintero ÁL, Quintero A, Urrego O, et al. Bioinformatic identification of cassava miRNAs differentially expressed in response to infection by *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. *BMC Plant Biol*, 2012, 12: 29.
- [22] Djami-Tchatchou AT, Dubery IA. miR393 regulation of lectin receptor-like kinases associated with LPS perception in *Arabidopsis thaliana*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 513(1): 88-92.
- [23] Wang ZY, Xia YQ, Lin SY, et al. Osa-miR164a targets OsNAC60 and negatively regulates rice immunity against the blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Plant J*, 2018, 95: 584-597.
- [24] Zhang X, Bao YL, Shan DQ, et al. *Magnaporthe oryzae* induces the expression of a microRNA to suppress the immune response in rice. *Plant Physiol*, 2018, 177(1): 352-368.
- [25] 李琳琳, 金华, 刘斯超, 等. 番茄茉莉酸缺失突变体

- 灰霉菌侵染响应 miRNA 及其表达分析. 园艺学报, 2020, 47(7): 1323-1334.
- Li LL, Jin H, Liu SC, et al. Expressed analysis of miRNA with tomato JA deficient mutant response to *Botrytis cinerea* infection. Acta Horti Sin, 2020, 47(7): 1323-1334 (in Chinese).
- [26] Ouyang SQ, Park G, Atamian HS, et al. microRNAs suppress NB domain genes in tomato that confer resistance to *Fusarium oxysporum*. PLoS Pathog, 2014, 10(10): e1004464.
- [27] Pinweha N, Asvarak T, Viboonjun U, et al. Involvement of miR160/miR393 and their targets in cassava responses to anthracnose disease. J Plant Physiol, 2015, 174: 26-35.
- [28] Yu XY, Hou YJ, Chen WP, et al. *Malus hupehensis* miR168 targets to ARGONAUTE1 and contributes to the resistance against *Botryosphaeria dothidea* infection by altering defense responses. Plant Cell Physiol, 2017, 58(9): 1541-1557.
- [29] Wang B, Sun YF, Song N, et al. *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* microRNA-like RNA 1 (Pst-miR1), an important pathogenicity factor of Pst, impairs wheat resistance to Pst by suppressing the wheat pathogenesis-related 2 gene. New Phytol, 2017, 215(1): 338-350.
- [30] Meng X, Jin WB, Wu FL. Novel tomato miRNA miR1001 initiates cross-species regulation to suppress the conidiospore germination and infection virulence of *Botrytis cinerea* *in vitro*. Gene, 2020, 759: 145002.
- [31] Feng H, Xu M, Gao YQ, et al. Vm-miR37 contributes to pathogenicity by regulating glutathione peroxidase gene *VmGP* in *Valsa mali*. Mol Plant Pathol, 2021, 22(2): 243-254.
- [32] Xu M, Li GY, Guo Y, et al. A fungal microRNA-like RNA subverts host immunity and facilitates pathogen infection by silencing two host receptor-like kinase genes. New Phytol, 2022.
- [33] Zhai JX, Jeong DH, De Paoli E, et al. microRNAs as master regulators of the plant NB-LRR defense gene family via the production of phased, trans-acting siRNAs. Genes Dev, 2011, 25(23): 2540-2553.
- [34] Nowara D, Gay A, Lacomme C, et al. HIGS: host-induced gene silencing in the obligate biotrophic fungal pathogen *Blumeria graminis*. Plant Cell, 2010, 22(9): 3130-3141.
- [35] Cai Q, Qiao LL, Wang M, et al. Plants send small RNAs in extracellular vesicles to fungal pathogen to silence virulence genes. Science, 2018, 360(6393): 1126-1129.
- [36] De Luis A, Markmann K, Cognat V, et al. Two microRNAs linked to nodule infection and nitrogen-fixing ability in the legume *Lotus japonicus*. Plant Physiol, 2012, 160(4): 2137-2154.
- [37] Holt DB, Gupta V, Meyer D, et al. micro RNA 172 (miR172) signals epidermal infection and is expressed in cells primed for bacterial invasion in *Lotus japonicus* roots and nodules. New Phytol, 2015, 208(1): 241-256.
- [38] Gautrat P, Laffont C, Frugier F. Compact root architecture 2 promotes root competence for nodulation through the miR2111 systemic effector. Curr Biol, 2020, 30(7): 1339-1345.e3.
- [39] Combiér JP, Frugier F, De Billy F, et al. MtHAP2-1 is a key transcriptional regulator of symbiotic nodule development regulated by microRNA169 in *Medicago truncatula*. Genes Dev, 2006, 20(22): 3084-3088.
- [40] 李菲, 龚记熠, 张习敏, 等. 促生细菌通过 miRNA 调节拟南芥根部关键基因的表达. 分子植物育种, 2020, 18(17): 5690-5699.
- Li F, Gong JY, Zhang XM, et al. Growth promoting bacteria regulate the expression of key genes in the roots of *Arabidopsis thaliana* through miRNAs. Mol Plant Breed, 2020, 18(17): 5690-5699 (in Chinese).
- [41] Jatan R, Chauhan PS, Lata C. High-throughput sequencing and expression analysis suggest the involvement of *Pseudomonas putida* RA-responsive microRNAs in growth and development of *Arabidopsis*. Int J Mol Sci, 2020, 21(15): 5468.
- [42] Tian WJ, Ge YY, Liu XY, et al. Identification and characterization of *Populus* microRNAs in response to plant growth-promoting endophytic *Streptomyces* sp. SSD49. World J Microbiol Biotechnol, 2019, 35(7): 97.
- [43] Bazin J, Khan GA, Combiér JP, et al. miR396 affects mycorrhization and root meristem activity in the legume *Medicago truncatula*. Plant J, 2013, 74(6): 920-934.
- [44] Pentimone I, Lebrón R, Hackenberg M, et al. Identification of tomato miRNAs responsive to root colonization by endophytic *Pochonia chlamydosporia*. Appl Microbiol Biotechnol, 2018, 102(2): 907-919.
- [45] Wong-Bajracharya J, Singan VR, Monti R, et al. The ectomycorrhizal fungus *Pisolithus microcarpus*

- encodes a microRNA involved in cross-kingdom gene silencing during symbiosis. *PNAS*, 2022, 119(3): e2103527119.
- [46] Devers EA, Branscheid A, May P, et al. Stars and symbiosis: microRNA-and microRNA*-mediated transcript cleavage involved in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Physiol*, 2011, 156(4): 1990-2010.
- [47] Subramanian S, Fu Y, Sunkar R, et al. Novel and nodulation-regulated microRNAs in soybean roots. *BMC Genomics*, 2008, 9: 160.
- [48] Tsikou D, Yan Z, Holt DB, et al. Systemic control of legume susceptibility to rhizobial infection by a mobile microRNA. *Science*, 2018, 362(6411): 233-236.
- [49] Branscheid A, Sieh D, Pant BD, et al. Expression pattern suggests a role of miR399 in the regulation of the cellular response to local Pi increase during arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mol Plant Microbe Interact*, 2010, 23(7): 915-926.
- [50] Mcpherson MR, Wang P, Marsh EL, et al. Isolation and analysis of microbial communities in soil, rhizosphere, and roots in perennial grass experiments. *J Vis Exp*, 2018(137): 57932.
- [51] Couzigou JM, Combier JP. Plant microRNAs: key regulators of root architecture and biotic interactions. *New Phytol*, 2016, 212(1): 22-35.
- [52] Xu XH, Yuan TJ, Dad HA, et al. Plant exosomes as novel nanoplatfoms for microRNA transfer stimulate neural differentiation of stem cells *in vitro* and *in vivo*. *Nano Lett*, 2021, 21(19): 8151-8159.
- [53] He BY, Cai Q, Qiao LL, et al. RNA-binding proteins contribute to small RNA loading in plant extracellular vesicles. *Nat Plants*, 2021, 7(3): 342-352.
- [54] Chen HM, Qi Y, He XY, et al. Endophytic fungus *Mucor circinelloides* DF20 promote tanshinone biosynthesis and accumulation in *Salvia miltiorrhiza* root. *Plant Sci*, 2021, 307: 110898.

(本文责编 郝丽芳)