

EL IMPORTANTE PAPEL DE LOS miRNAs EN PLANTAS DE INTERÉS AGRONÓMICO

FLOR DE FÁTIMA ROSAS-CÁRDENAS^{1*}, SILVIA LUNA-SUÁREZ¹, STEFAN DE FOLTER².

¹Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada del Instituto Politécnico Nacional (CIBA-IPN), Exhacienda San Juan Molino, Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala, México.

²Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (LANGEBIO), CINVESTAV-IPN, Km. 9.6 Libramiento Norte, Carretera Irapuato-León, CP 36821 Irapuato, Guanajuato, México.

FRC: frosasc@ipn.mx

SLS: sluna@ipn.mx

SdF: sdfolter@langebio.cinvestav.mx

*Corresponding autor: Dra Flor de Fátima Rosas Cárdenas, frosasc@ipn.mx

RESUMEN

Los microRNAs (miRNAs) han emergido como importantes reguladores de la expresión génica, permitiendo el estudio de diversos procesos biológicos en plantas. El descubrimiento de la función de estas moléculas en la producción de cereales, el desarrollo y la maduración de frutos, la respuesta a estrés, la producción de pigmentos y otros procesos, abre un nuevo camino para el estudio de plantas de interés agronómico.

Palabras Clave

MicroRNAs, plantas de interés agronómico, regulación génica

ABSTRACT

MicroRNAs (miRNAs) have emerged as important regulators of gene expression, allowing the study of several biological processes. The discovery of the involvement of miRNAs in biomass production in cereals, fruit development and ripening, production of pigments, and other processes, opens numerous opportunities to study agronomically important crops.

Key Words

MicroRNAs, agronomically important crops, gene regulation

RYE

TODO PARA SU LABORATORIO

Estándares de Absorción Atómico - Reactivos Químicos y de Alta Pureza - Balanzas - Papel Filtro - Bombas Peristálticas - Vidriería

SHEL LAB
ATAGO EPPENDORF
CORNING WHATMAN OHAUS
BROOKFIELD BECTON DICKINSON
MERCK MILLIPORE GILSON FERMONT
THERMO SCIENTIFIC THERMO ORION HACH

01 800 7777 RYE (793)
www.reactivosyequipos.com.mx

Monterrey México Chihuahua Torreón Saltillo Aguascalientes S.L.P Guadalajara Mérida Irapuato y muchas ciudades más!

Introducción

Los microRNAs (miRNAs) son RNAs de cadena sencilla de 21-24 nucleótidos y han surgido como importantes reguladores de la expresión génica, a través de la complementariedad perfecta o casi perfecta a secuencias de RNAm (Xie et al. 2010) (Khraiweh et al. 2010). Esta unión conduce a la degradación inducida por el corte del RNAm o bien a la supresión de su traducción. Ambos procesos eventualmente resultan en la disminución del gen blanco (Meyers et al. 2006). El aumento de la evidencia muestra que el inventario de miRNAs de cualquier especie comprende un conjunto de miRNAs antiguos conservados, así como muchos especie-específicos recientemente involucrados (Allen et al. 2004; Carra et al. 2009; Cuperus et al. 2011).

Identificación de los miRNAs

Se ha demostrado que diversas especies de plantas contienen más de 100 miRNAs en su genoma (Axtell et al. 2007; Zhu et al. 2008; Klevebring et al. 2009). El primer miRNA de plantas fue descubierto en el 2002 (Reinhart et al. 2002), a partir de ese momento y hasta junio de este año 7057 miRNAs de 73 especies de plantas se han reportados en la base de datos de miRNAs (miRBase; <http://www.mirbase.org/>). El aumento de la evidencia muestra que

el repertorio de los miRNAs de cualquier especie comprende un conjunto de miRNAs antiguos y conservados, así como un grupo de miRNAs especie-específicos recientemente involucrados (Cuperus et al. 2011; Nozawa et al. 2012; Chávez-Montes et al., 2014). El hecho de que un gran número de miRNAs están conservados evolutivamente en el reino



**INSTRUMENTOS CIENTÍFICOS
PARA UNA VIDA MEJOR**

EQUIPAR, S.A DE C.V. ha sido por más de 70 años un proveedor sólido y confiable de instrumentos científicos y productos técnicos de vanguardia para todo tipo de empresas.

	COLE-PARMER		MASTERFLEX	
	BUCHI		PARR	BELLINGHAM + STANLEY JULABO
	BINDER		NEW BRUNSWICK	
	OHAUS		SARTORIUS	BROOKFIELD OAKTON
	EPPENDORF		EQUIPAR MUEBLES	
	OHAUS		SARTORIUS	LABCONCO THERMO ORION

OFICINA CENTRAL

Juan Sánchez Azcona 1447,
Col. Del Valle, Delegación Benito Juárez, C.P. 03100,
México, D.F.
Tel: 52 (55) 54 20 99 01
equipar@equipar.com.mx

SUCURSAL QUERÉTARO

Calle Palma Cariota No. 2021,
Col. Palmares,
Querétaro, Gro.
Tel: (442) 688 1204
sucursalqueretaro@equipar.com.mx

SUCURSAL GUADALAJARA

Av. Del Parque No. 34,
Col. San Andrés C.P. 44810
Guadalajara, Jalisco.
Tel: (33) 3657 3598
ventasguadalajara@equipar.com.mx

www.equipar.com

vegetal desde plantas basales hasta plantas superiores (Chávez-Montes et al., 2014), se ha utilizado como un indicador práctico para la identificación o la predicción de miRNAs por búsqueda de homología en otras especies basados en las secuencias altamente conservadas de miRNAs maduros (Zhang et al. 2006). Las tecnologías de secuenciación

masiva han facilitado la identificación de miRNAs conservadas o altamente expresados en las plantas así como miRNAs específicos o de baja expresión, mostrando una compleja y diversa población de miRNAs; los cuales, se ha demostrado tienen funciones claves en diferentes especies.

En frutos, la secuenciación "high-throughput" fue utilizada por primera vez para identificar sRNAs de tomate que incluyeron miRNAs de frutos verdes jóvenes (Moxon et al. 2008). Recientemente, se ha utilizado para el análisis de miRNAs en varias etapas de desarrollo del fruto (Mohorianu et al. 2011; Zuo et al. 2012), donde se han encontrado varios miRNAs con diferentes perfiles de expresión durante el desarrollo, sugiriendo la importancia de los miRNAs en este proceso.

El papel regulatorio de los miRNAs

Procesos donde participan los miRNAs

Los estudios funcionales de miRNAs han generado una gran cantidad de información en plantas modelo como Arabidopsis y tomate, mostrando que los miRNAs participan en una amplia variedad de procesos biológicos y metabólicos, desempeñando una función importante en los patrones del desarrollo, la señalización de hormonas (Chen et al. 2012), morfogénesis y polaridad de las

Lab-Tech A la vanguardia de la investigación

CON MAS DE 35 AÑOS DE EXPERIENCIA EN LA DISTRIBUCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE EQUIPO, MATERIAL Y MOBILIARIO PARA LABORATORIO

Protecting your laboratory environment
LABCONCO

Thermo
SCIENTIFIC


MOBILIARIO

MP
MP Biomedicals

ZEISS

www.labtech.com.mx

The advertisement features a collage of laboratory equipment including a centrifuge, a microscope, a biosafety cabinet, and various pipettes and reagents. It also includes a photograph of a scientist in a lab coat and safety glasses working with a pipette. The background is a mix of blue and green gradients with a DNA double helix motif.



hojas (Sieber et al. 2007), la diferenciación y el desarrollo floral (Zhu & Helliwell 2011), la separación de órganos y la formación de su contorno (Nikovics et al. 2006), las respuestas al estrés (Sunkar & Zhu 2004) y la resistencia a los patógenos (Jones-Rhoades et al. 2006). Así mismo, se ha demostrado que inclusive la cantidad y perfil de expresión de estas moléculas varía entre variedades de la misma especie, tal es el caso de *Arabidopsis lyrata* y *Arabidopsis thaliana* (Fahlgren et al. 2010). En plantas de interés agronómico, entre los que se incluyen cereales, leguminosas y especies frutales, recientemente se ha demostrado que éstas moléculas también tienen una importante función (Zhang et al. 2011; Mohorianu et al. 2011; Karlova et al. 2013; Zhu et al. 2009).

Funciones de los miRNAs en plantas de interés agronómico

Para conocer las funciones de los miRNAs en los diversos procesos biológicos, es esencial identificar sus genes blancos y explorar sus interacciones. Los blancos de muchos de estos miRNAs se han validado o predicho incluyendo principalmente factores de transcripción. Por ejemplo, se ha demostrado que miR172 regula a genes tipo *AP2* (*SIAP2a*) en tomate (Chung et al. 2010; Karlova et al. 2011), los cuales se ha confirmado que son reguladores negativos de la maduración en tomate. En este mismo modelo se encontró que miR156/miR157 es complementario al gen *CNR* (*COLORLESS NON-RIPENING*), un gen que codifica una proteína de unión al promotor *SQUAMOSA* (*SBP*) (Manning et al. 2006), un regulador positivo de la maduración de los frutos de tomate (Dalmay 2010). Dicho gen se ha demostrado es un blanco *in vivo* de miR156 en tomate (Moxon et al. 2008). En fresa, al

igual que en otras especies de plantas, se ha demostrado o predicho que varios genes como *SPL*, *SBP*, *NAC*, *AP2*, *MYB*, *F-box*, dedos de zinc (*C2H2*) y de resistencia a enfermedades (*NBS-LRR*), proteínas de unión a RNA, Lacasa y la Sintasa de ent-kaureno son regulados por miRNAs. Por lo tanto, la identificación de los miRNAs que regulan la expresión de factores de transcripción involucrados en el desarrollo de frutos y cereales o de los genes implicados en estos procesos, contribuirá a una mejor comprensión de la regulación del desarrollo de plantas de interés agronómico.

Trabajos de sobreexpresión de estas moléculas han permitido conocer su función en plantas de interés agronómico como arroz, maíz y tomate. Se ha mostrado que miR156 es un miRNA conservado en todo el reino vegetal pero en tomate se ha encontrado entre sus blancos *CNR*, un regulador positivo de la maduración. Además, la sobreexpresión de miR156 en tomate mostró fenotipos similares a los reportados en *Arabidopsis* (Wu & Poethig 2006), arroz (Xie et al. 2006) y maíz (Chuck et al. 2007); como enanismo, una estructura arbustiva, hojas más abundantes y una floración tardía. Lo que ha sugerido una función conservada evolutivamente de miR156 y sus genes blancos de la familia *SBP* en el desarrollo vegetal. Además de estas características, en tomate se mostró que miR156 tiene la capacidad de regular el tamaño y rendimiento de los frutos, mostrando un nuevo camino en el campo de la regulación de la expresión génica durante el desarrollo y maduración de frutos (Zhang et al. 2011). Por otro lado, en el pasto varilla (*Panicum virgatum* L.) la sobreexpresión de este miRNA resultó en varias alteraciones morfológicas y condujo al mejoramiento en la producción de biomasa (Fu et al. 2012). Estos

trabajos demuestran que la conservación y la abundancia de los miRNAs juegan un papel clave en los procesos biológicos donde pueden existir funciones generales y/o especie-específicas.

También se ha observado que existe una variación de estas moléculas entre variedades o plantas mutantes de una especie; por ejemplo, al comparar frutos de fresa de plantas silvestre del cultivar de fresa 'Sachinoka' y de la mutante White-flesh, la cual tiene un contenido significativamente mayor de azúcar total soluble, en el estadio rojo-completo de la fresa, se encontró que cuatro miRNAs fueron sobreexpresados y cinco fueron reprimidos en los frutos de la mutante White-flesh en comparación con los frutos silvestres, donde encontraron que la expresión de miR399α mostró el mayor cambio teniendo una correlación negativa

con el contenido de azúcares (Li et al. 2013). La predicción del gen blanco de miR399 mostró que este miRNA puede desempeñar un papel importante en la homeostasis del fosfato de los frutos de fresa (Li et al. 2013).

Función de los miRNAs en la resistencia de plantas de interés agronómico

En fresa, un estudio de miRNAs y la predicción de sus genes blancos, sugirió que varios genes de resistencia a enfermedades como los tipo *NBS-LRR* (nucleotide binding site-leucine rich repeat) son blancos de miR4374 (Ge et al. 2013). De igual forma, en plantas de manzana un miRNA denominado Md-miRLn11 (*Malus domestica* microRNA Ln11) que se predijo tiene como blanco el gen *Md-NBS* que codifica para una proteína NBS-LRR (Ma et al. 2013α) tuvo mayor expresión en variedades de resistencia baja o susceptibles

SOLUCIONES PARA EL SECTOR BIOFARMACÉUTICO

ZETASIZER NANO



SEC-MALS



ARCHIMEDES



NANO SIGHT




Una amplia gama de instrumentos de alto rendimiento para una variedad de requisitos de aplicaciones biofarmacéuticas.

Malvern Instruments provee instrumentación y tecnología para la caracterización biofísica de partículas y el conocimiento para apoyar a científicos e ingenieros a entender y controlar las propiedades de los sistemas dispersos tales como proteínas y polímeros en solución, partículas y nanopartículas en suspensión o emulsión, sprays, aerosoles, polvos y soluciones industriales.

Los equipos Malvern utilizan tecnología de punta y siempre a la vanguardia. Son utilizados para medir tamaño y forma de partícula; potencial zeta; carga de proteínas; peso, masa, tamaño y conformación molecular; propiedades reológicas e identificación química, en sectores que van desde biofarmacéuticas hasta químicos industriales, cemento, plásticos y polímeros, etc.; en áreas de investigación y desarrollo, control y producción.

Malvern Instruments – México
 Av. Patriotismo 130-102, Col. Escandón, México, D.F. 11800.
 Tel.: (55) 56 79 46 08 y 56 84 65 48



(Ma et al. 2013b), en contraste con el perfil del gen *Md-NBS* el cual fue significativamente más alto en las variedades con alta resistencia que en las variedades susceptibles. Estos trabajos sugieren que la investigación sobre estos miRNAs puede proporcionar una mejor comprensión de sus funciones relacionadas con la resistencia de las especies.

Función de los miRNAs en el estrés de las plantas

Plantas transgénicas de hierba *Creeping Bentgrass* donde se sobreexpresó Osa-miR319a mostraron cambios morfológicos y exhibieron una mayor tolerancia a drogas y salinidad asociada con un mayor contenido de cera en las hojas y retención de agua, pero una reducción en la absorción de sodio. La mayor tolerancia al estrés abiótico en plantas transgénicas se relaciona con una significativa baja de la expresión de los genes blancos de miR319, lo que implica un potencial para su uso en el desarrollo de nuevas estrategias moleculares para modificar genéticamente las especies de cultivo para una mayor resistencia al estrés ambiental (Zuo et al. 2012; Zhou et al. 2013). Además se ha encontrado la participación de miR169 en las respuestas a la carencia de nitrógeno en *Arabidopsis* (Zhao et al. 2011). Otros miRNAs como miR398 y miR408 se sobreexpresan en respuesta al déficit hídrico en *Medicago truncatula* (Trindade et al. 2010). También se han encontrado algunos miRNAs que responden a la respuesta de estrés en leguminosas (Arenas-Huerta et al. 2009). Estos resultados proporcionan evidencia de que los miRNAs tienen papeles funcionales que pueden ayudar a las plantas para hacer frente a las fluctuaciones en la disponibilidad de nutrientes y estrés.

Uso de los miRNAs para producción de pigmentos

Del mismo modo, se ha observado que un incremento en la expresión de algunos miRNAs, puede afectar la concentración de pigmentos en las plantas; por ejemplo, en *Arabidopsis* la sobreexpresión de miR156 promueve la acumulación de antocianinas, esto se debe a que al menos uno de los blancos de miR156 (*SPL9*), regula negativamente la acumulación de este pigmento mediante la prevención directa de la expresión de genes de biosíntesis de antocianinas a través de la desestabilización de un complejo de activación de la transcripción *MYB-bHLH-WD40*. Así mismo, una reducción de la actividad de miR156 resulta en altos niveles de flavonoles. Lo que sugirió que es posible la manipulación del contenido de antocianina y flavonoles en plantas a partir de estas moléculas (Gou et al. 2011).

Conclusiones

Todos estos trabajos demuestran la importante función de los miRNAs en diversos procesos de interés agronómico. Lo que sugiere que aunque los miRNAs pueden estar conservados y tener funciones conservadas, algunos pueden tener funciones adicionales en las diferentes especies. El descubrimiento y estudio de estas moléculas brinda un nuevo camino en la investigación de diversos procesos como la resistencia a enfermedades y estrés y un mejoramiento en la producción de frutos y cereales.

REFERENCIAS

- Allen E, Xie Z, Gustafson AM, Sung GH, Spatafora JW, Carrington JC. 2004.** Evolution of microRNA genes by inverted duplication of target gene sequences in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Genetic*. 36(12):1282–90
- Arenas-Huertero C, Pérez B, Rabanal F, Blanco-Melo D, De la Rosa C, et al. 2009.** Conserved and novel miRNAs in the legume *Phaseolus vulgaris* in response to stress. *Plant Molecular Biology*. 70(4):385–401
- Axtell MJ, Snyder JA, Bartel DP. 2007.** Common functions for diverse small RNAs of land plants. *Plant Cell*. 19(6):1750–69
- Carra A, Mica E, Gambino G, Pindo M, Moser C, et al. 2009.** Cloning and characterization of small non-coding rnas from grape. *Plant Journal*. 59(5):750–63
- Chavez-Montes RA, Rosas-Cárdenas FF, De Paoli E, et al. (2014)** Sample sequencing of vascular plants demonstrates widespread conservation and divergence of microRNAs. *Nature Communications*. 5:3722 1–15
- Chen L, Wang T, Zhao M, Zhang W. 2012.** Ethylene-responsive miRNAs in roots of *Medicago truncatula* identified by high-throughput sequencing at whole genome level. *Plant Science*. 184:14–19
- Chuck G, Meeley R, Irish E, Sakai H, Hake S. 2007.** The maize tasselseed4 microRNA controls sex determination and meristem cell fate by targeting *Tasselseed6/indeterminate spikelet1*. *Nature Genetics*. 39 (12):1517–21
- Chung MY, Vrebalov J, Alba R, Lee J, McQuinn R, et al. 2010.** A tomato (*Solanum lycopersicum*) *APETALA2/ERF* gene, *SLAP2A*, is a negative regulator of fruit ripening. *Plant Journal*. 64(6):936–47
- Cuperus JT, Fahlgren N, Carrington JC. 2011.** Evolution and functional diversification of miRNA genes. *Plant Cell*. 23(2):431–42
- Dalmay T. 2010.** Short RNAs in tomato. *Journal of integrative plant biology*. 52(4):388–92
- Fahlgren N, Jogdeo S, Kasschau KD, Sullivan CM, Chapman EJ, et al. 2010.** MicroRNA gene evolution in *Arabidopsis lyrata* and *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*. 22(4):1074–89
- Fu C, Sunkar R, Zhou C, Shen H, Zhang J-Y, et al. 2012.** Overexpression of miR156 in switchgrass (*Panicum virgatum* L.) results in various morphological alterations and leads to improved biomass production. *Plant Biotechnology Journal*. 10(4):443–52
- Ge A, Shangguan L, Zhang X, Dong Q, Han J, et al. 2013.** Deep sequencing discovery of novel and conserved microRNAs in strawberry (*fragaria×ananassa*). *Physiologia Plantarum*. 148(3):387–96
- Gou JY, Felippes FF, Liu CJ, Weigel D, Wang JW. 2011.** Negative regulation of anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis* by a miR156-targeted SPL transcription factor. *Plant Cell*. 23(4):1512–22
- Jones-Rhoades MW, Bartel DP, Bartel B. 2006.** MicroRNAs and their regulatory roles in plants. *Annual Review of Plant Biology*. 57:19–53
- Karlova R, Rosin FM, Busscher-Lange J, Parapunova V, Do PT, et al. 2011.** Transcriptome and metabolite profiling show that *APETALA2A* is a major regulator of tomato fruit ripening. *Plant Cell*. 23(3):923–41
- Karlova R, van Haarst JC, Maliepaard C, van de Geest H, Bovy AG, et al. 2013.** Identification of microRNA targets in tomato fruit development using high-throughput sequencing and degradome analysis. *Journal of Experimental Botany*. 64(7):1863–78
- Khraiwesh B, Arif MA, Seumel GI, Ossowski S, Weigel D, et al. 2010.** Transcriptional control of gene expression by microRNAs. *Cell*. 140(1):111–22
- Klevebring D, Street NR, Fahlgren N, Kasschau KD, Carrington JC, Lundeberg J, Jansson S. 2009.** Genome-wide profiling of populus small RNAs. *BMC Genomics*. 20 (10):62
- Li H, Mao W, Liu W, Dai H, Liu Y, et al. 2013.** Deep sequencing discovery of novel and conserved microRNAs in wild type and a white-flesh mutant strawberry. *Planta*. 2013 238(4):695–713
- Ma C, Lu Y, Bai S, Zhang W, Duan X, et al. 2013.** Cloning and characterization of miRNAs and their targets, including a novel miRNA-targeted NBS-LRR protein class gene in apple (golden delicious). *Molecular Plant*. 1–14
- Manning K, Tör M, Poole M, Hong Y, Thompson AJ, et al. 2006.** A naturally occurring epigenetic mutation in a gene encoding an SBP-box transcription factor inhibits tomato fruit ripening. *Nature Genetics*. 38(8):948–52
- Meyers BC, Souret FF, Lu C, Green PJ. 2006.** Sweating the small stuff: microRNA discovery in plants. *Current*

Opinion in Biotechnology. 17(2):139–46

Mohorianu I, Schwach F, Jing R, Lopez-Gomollon S, Moxon S, et al. 2011. Profiling of short RNAs during fleshy fruit development reveals stage-specific sRNAome expression patterns. *Plant Journal*. 67(2):232–46

Moxon S, Jing R, Szittyá G, Schwach F, Rusholme Pilcher RL, et al. 2008. Deep sequencing of tomato short RNAs identifies microRNAs targeting genes involved in fruit ripening. *Genome Research*. 18(10):1602–9

Nikovics K, Blein T, Peaucelle A, Ishida T, Morin H, et al. 2006. The balance between the MIR164a and CUC2 genes controls leaf margin serration in Arabidopsis. *Plant Cell*. 18(11):2929–45

Nozawa M, Miura S, Nei M. 2012. Origins and evolution of microRNA genes in plant species. *Genome Biology and Evolution*. 4(3):230–39

Reinhart BJ, Weinstein EG, Rhoades MW, Bartel B, Bartel DP. 2002. MicroRNAs in plants. *Genes & Development*. 16(13):1616–26

Sieber P, Wellmer F, Gheyselinck J, Riechmann JL, Meyerowitz EM. 2007. Redundancy and specialization among plant microRNAs: role of the miR164 family in developmental robustness. *Development*. 134(6):1051–60

Sunkar R, Zhu J. 2004. Novel and stress-regulated microRNAs and other small RNAs from Arabidopsis. *Plant Cell* 16:2001–19

Trindade I, Capitão C, Dalmay T, Fevereiro MP, Santos DM. 2010. MiR398 and miR408 are up-regulated in response to water deficit in *Medicago truncatula*. *Planta*. 231(3):705–16

Wu G, Poethig RS. 2006. Temporal regulation of shoot development in Arabidopsis thaliana by miR156 and its

target SPL3. *Development*. 133(18):3539–47

Xie K, Wu C, Xiong L. 2006. Genomic organization, differential expression, and interaction of SQUAMOSA PROMOTER-BINDING-like transcription factors and microRNA156 in rice. *Plant Physiology*. 142(1):280–93

Xie Z, Khanna K, Ruan S. 2010. Expression of microRNAs and its regulation in plants. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 21(8):790–97

Zhang B, Pan X, Cannon CH, Cobb GP, Anderson TA. 2006. Conservation and divergence of plant microRNA genes. *Plant Journal*. 46(2):243–59

Zhang X, Zou Z, Zhang J, Zhang Y, Han Q, et al. 2011. Over-expression of sly-miR156a in tomato results in multiple vegetative and reproductive trait alterations and partial phenocopy of the sft mutant. *FEBS letters*. 585(2):435–39

Zhao M, Ding H, Zhu J, Zhang F, Li W. 2011. Involvement of miR169 in the nitrogen-starvation responses in Arabidopsis. *New Phytologist*. 190(4):906–15

Zhou M, Li D, Li Z, Hu Q, Yang C, et al. 2013. Constitutive expression of a miR319 gene alters plant development and enhances salt and drought tolerance in transgenic creeping bentgrass. *Plant Physiology*. 161(3):1375–91

Zhu Q-H, Helliwell CA. 2011. Regulation of flowering time and floral patterning by miR172. *Journal of Experimental Botany*. 62(2):487–95

Zhu Q-H, Upadhyaya NM, Gubler F, Helliwell CA. 2009. Over-expression of miR172 causes loss of spikelet determinacy and floral organ abnormalities in rice (*Oryza sativa*). *BMC Plant Biology*. 9:149

Zuo J, Zhu B, Fu D, Zhu Y, Ma Y, et al. 2012. Sculpting the maturation, softening and ethylene pathway: the influences of microRNAs on tomato fruits. *BMC Genomics*. 13(1):7