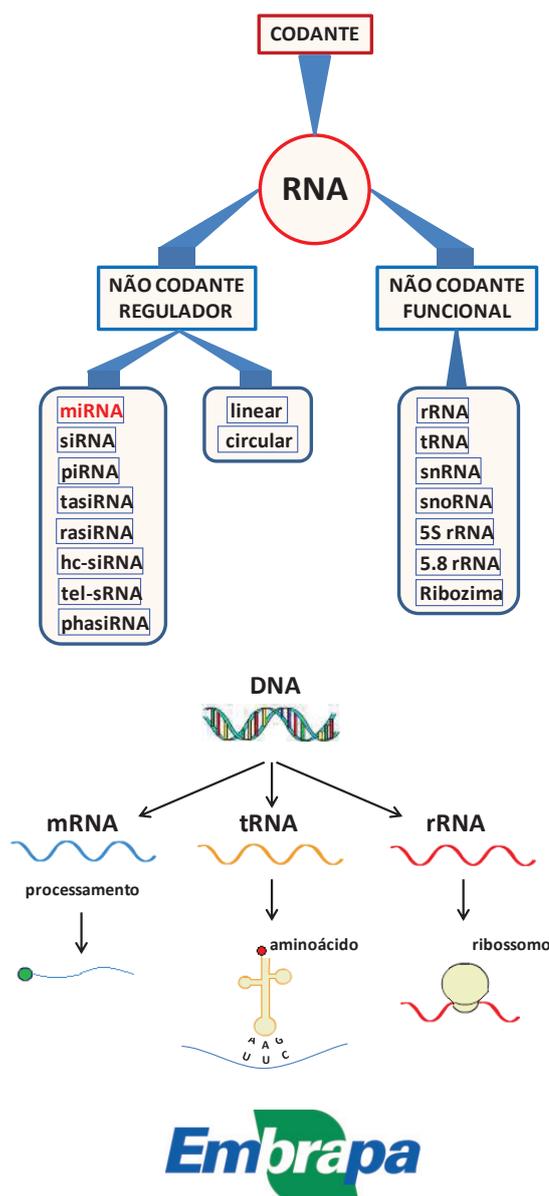


Função dos miRNAs na Regulação Gênica Pós transcricional e Perspectivas para o Melhoramento de Plantas



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Milho e Sorgo
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

DOCUMENTOS 249

Função dos miRNAs na Regulação Gênica Pós transcricional e Perspectivas para o Melhoramento de Plantas

José Edson Fontes Figueiredo
Maria José Vilaça de Vasconcelos

Esta publicação está disponível no endereço:
<https://www.embrapa.br/milho-e-sorgo/publicacoes>

Embrapa Milho e Sorgo
Rod. MG 424 Km 45
Caixa Postal 151
CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG
Fone: (31) 3027-1100
Fax: (31) 3027-1188
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
da Unidade Responsável

Presidente
Maria Marta Pastina

Secretário-Executivo
Elena Charlotte Landau

Membros
*Cláudia Teixeira Guimarães, Mônica Matoso
Campanha, Roberto dos Santos Trindade e Maria
Cristina Dias Paes*

Revisão de texto
Antonio Claudio da Silva Barros

Normalização bibliográfica
Rosângela Lacerda de Castro (CRB 6/2749)

Tratamento das ilustrações
Mônica Aparecida de Castro

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Mônica Aparecida de Castro

Ilustração da capa
José Edson Fontes Figueiredo

1ª edição
Publicação digitalizada (2020)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Milho e Sorgo

Figueiredo, José Edson Fontes.

Função dos miRNAs na regulação gênica pós transcricional e perspectivas
para o melhoramento de plantas / José Edson Fontes Figueiredo, Maria José
Vilaça de Vasconcelos. – Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 2020.

40 p. : il. -- (Documentos / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1518-4277; 249).

1. Genética vegetal. 2. Melhoramento genético. 3. Genética molecular. 4.
Biogênese. I. Vasconcelos, Maria José Vilaça de. II. Série.

CDD 631.523 (21. ed.)

Autores

José Edson Fontes Figueiredo

Biólogo/Bioquímico, DSc em Bioquímica e Imunologia, Pesquisador Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG

Maria José Vilaça de Vasconcelos

Farmacêutica/Bioquímica, DSc em Agroquímica, Pesquisadora Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

Apresentação

Na segunda metade do século XX, grandes descobertas demonstraram a estrutura e função de três tipos de RNA celulares: o RNA mensageiro, o RNA transportador e o RNA ribossômico, todos envolvidos na síntese de proteínas celulares. A partir do final da década de 1980, uma série de moléculas pequenas de RNA não codantes (do inglês, small non coding RNAs, sncRNA), aparentemente sem importância funcional, começou a ser investigada em diversos laboratórios. De modo surpreendente, os estudos revelaram que essas moléculas estavam presentes em diferentes organismos e que elas também desempenhavam funções celulares relevantes.

A descoberta da função de um grupo especial de sncRNAs curtos não codificadores, os microRNAs (miRNAs), gerou novas perspectivas para ampliar o entendimento dos mecanismos envolvidos na regulação da expressão gênica em eucariotos. Os estudos mostraram que essas moléculas desempenham funções específicas nos diferentes tipos de células e são essenciais para o funcionamento normal durante todo ciclo de vida dos organismos eucariotos, desde a fecundação até a fase reprodutiva. Os microRNAs também desempenham papel essencial na adaptação dos organismos aos diferentes tipos de estresses bióticos e abióticos e estão envolvidos em diversos tipos de patologia em animais e plantas. Duas classes distintas de microRNAs, miRNA e siRNA, podem atuar como reguladores negativos pós-transcricionais (miRNAs) ou impedindo a transcrição gênica (siRNAs). Em plantas, os miRNAs desempenham papel central no controle de caracteres agrônômicos importantes como perfilhamento, precocidade, altura de plantas, período de florescimento, determinação do sexo, macho-esterilidade, entre outros. Esse grupo de moléculas atua suprimindo a tradução, reduzindo a meia-vida do mRNA ou degradando o RNA mensageiro. Em razão da grande complexidade e das particularidades quanto a origem e os mecanismos de ação dos miRNAs e siRNAs, neste documento serão abordadas principalmente a biogênese, localização, função e as potencialidades do emprego dos miRNAs no melhoramento de plantas. Os siRNAs serão tema de outro documento.

Frederico Ozanan Machado Durães
Chefe-geral

Sumário

Introdução	11
Tipos de sncRNAs (small non coding RNAs) reguladores da função gênica	13
MicroRNAs (miRNAs)	14
Distribuição dos genes MIRNA nos genomas	15
Biogênese dos miRNAs	16
Descoberta e relevância dos microRNAs.....	19
microRNAs em bactérias.....	21
Função dos sncRNAs (miRNA e siRNA) em eucariotos	22
Perspectivas do emprego do silenciamento gênico por miRNAs e phasiRNAs no melhoramento do milho	23
Referências	29

Introdução

Por longo um período, DNA e proteínas foram considerados os mais importantes componentes dos sistemas biológicos. De modo diferente, os RNAs eram vistos como moléculas secundárias, servindo de ponte entre a informação genética contida no DNA e a síntese das proteínas (mRNA), ou funcionando no processamento e maturação de pré-mRNAs (splicing) e na tradução (tRNAs e rRNAs). Avanços relativamente recentes nas áreas de genética molecular, biotecnologia e bioinformática geraram conhecimento sobre a estrutura e a função dos genomas que desafiaram o paradigma universalmente aceito sobre regulação da expressão gênica baseada em promotores, fatores de transcrição e moléculas repressoras e indutoras da expressão gênica. No modelo genético clássico, a partir de moléculas de DNA codantes são produzidos mRNAs (transcrição), que são decodificados em proteínas (tradução) as quais determinam a estrutura, o funcionamento celular e a expressão dos genes, ligando-se ao promotor, ativando ou reprimindo a transcrição do mRNA. No modelo genético moderno, foi incorporado um grupo particular de moléculas muito pequenas de RNAs não codantes (sncRNAs), que teve suas origens no trabalho de Andrew Fire e Craig Mello (Fire et al., 1998), revelando a existência de um vasto sistema de regulação gênica que tem permitido esclarecer vários aspectos do fenótipo que não se enquadram no modelo da genética tradicional. Atualmente são conhecidas várias classes de RNAs não codantes (ncRNA), cada uma delas desempenhando papel específico na regulação do funcionamento celular (Figura 1). Na classe dos sncRNAs, foram agrupados os microRNAs (miRNA) e os pequenos RNA interferentes em *cis/trans* (siRNA/tasiRNA) que são fundamentais para a regulação tanto da transcrição gênica (SGT = Silenciamento Gênico Transcricional, ou do inglês, TGS= Transcriptional Gene Silencing), impedindo a formação do mRNA, quanto da tradução ou degradação de mRNAs (SGPT = Silenciamento Gênico Pós Transcricional ou do inglês, PTGS= Post Transcriptional Gene Silencing). As demais classes de ncRNAs completam a lista dos ncRNAs reguladores e estão vinculadas à regulação gênica independente de mRNAs. Essas importantes descobertas geraram novas perspectivas para o entendimento dos mecanismos envolvidos na regulação da expressão gênica em eucariotos e no desenvolvimento de novas ferramentas para o melhoramento genético vegetal.

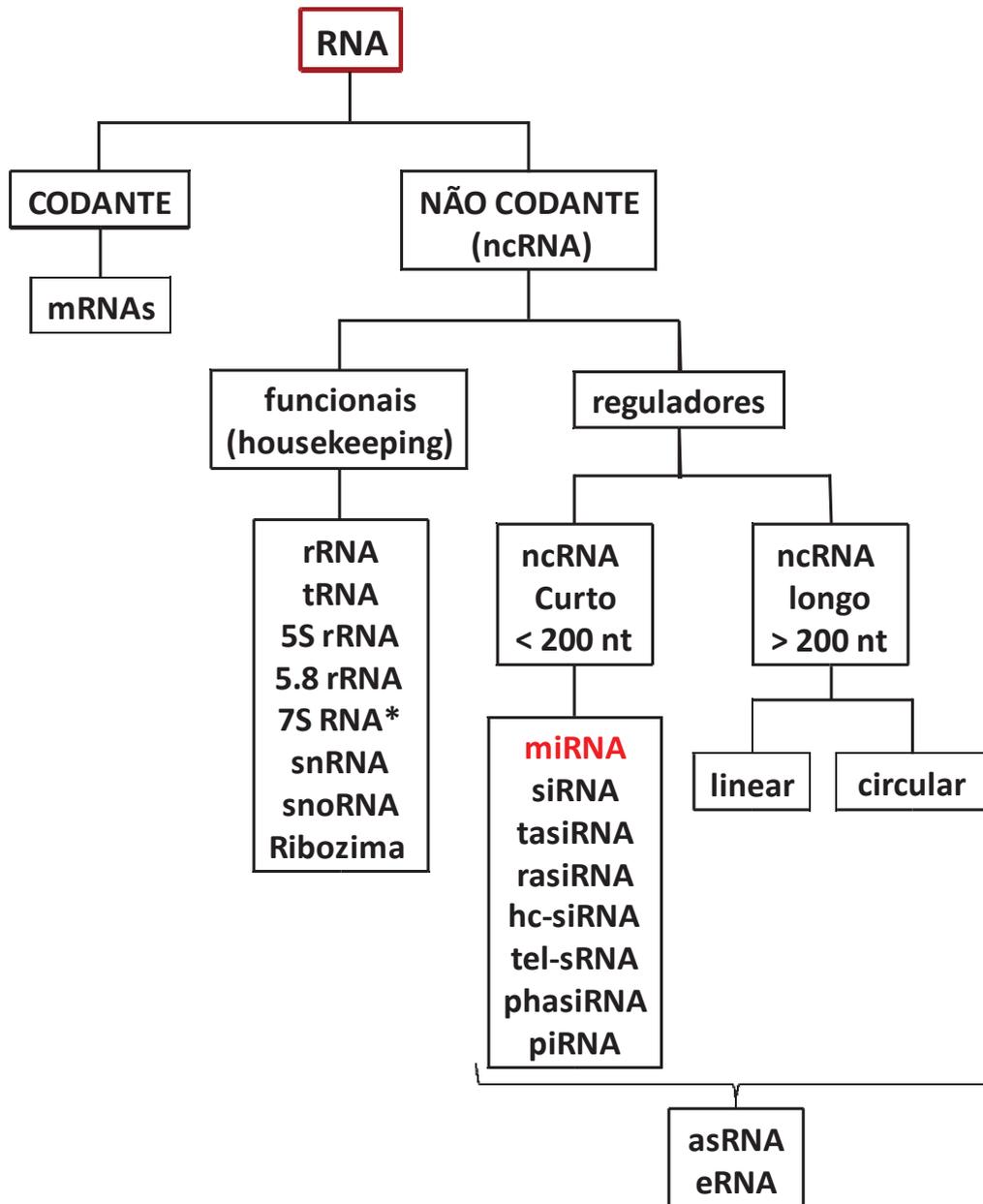


Ilustração: José Edson Fontes Figueiredo.

Figura 1. Diagrama mostrando os principais tipos de RNA encontrados nas células. Os RNAs mensageiros (mRNAs) codificam a formação de cadeias polipeptídicas, e os ncRNAs funcionais desempenham atividades diferentes, regulando outras moléculas de RNA ou participando ativamente da síntese proteica. Os RNAs não codantes reguladores controlam a atividade gênica em diferentes etapas do processo, da transcrição à tradução. Eles são arbitrariamente separados em dois grupos, em função dos seus tamanhos: sncRNA são menores do que 200 nt, e os lncRNA possuem tamanho igual ou superior a 200 nt. Os miRNA e siRNA/tasiRNA, os quais atuam diretamente no mRNA e DNA, respectivamente, estão agrupados na classe de ncRNAs curtos (sncRNAs). As abreviaturas na figura são: tRNA= RNA transferidor; snRNA= sncRNA nuclear pequeno; snoRNA= pequeno sncRNA nucleolar; ribozima= RNA pequeno com atividade catalítica; miRNA= microRNA; siRNA= moléculas pequenas de RNA interferentes; ta-siRNA (siRNA que atua em trans); rasiRNA = siRNA associado a sequências repetitivas; hc-siRNA= sncRNA associado à heterocromatina; tel-sRNA= sRNA telomero-específico; phasiRNA= phased small interfering RNAs em plantas análogo ao piRNA de animais; piRNA= Piwi-interacting RNA em animais; asRNA= RNA antissenso; eRNA= enhancer sncRNA (i.e., transcritos a partir de sequências de DNA que atuam primariamente como potenciadores de promotores gênicos).

Tipos de sncRNAs (small non coding RNAs) reguladores da função gênica

Os sncRNAs que funcionam na regulação da expressão gênica são moléculas de RNA de fita simples, que não codificam proteínas, e com propriedades e funções únicas. Eles são divididos em diferentes categorias, sendo duas classes principais: a dos microRNAs (miRNAs) e RNAs interferentes (siRNAs/ta-siRNA) conforme descrito acima (Figura 1). Na classe dos miRNAs, cujos tamanhos variam entre 18-25 nucleotídeos, as moléculas atuam como potentes reguladores pós-transcricionais, ligando-se aos mRNA-alvos, impedindo a tradução de proteínas, reduzindo a meia vida dos mRNAs por desadenilação (animais, Iwakawa; Tomari, 2013), ou degradando o mRNA (Ambros; Lee, 2003). Por outro lado, os siRNAs/ta-siRNA são moléculas com 22-24 nucleotídeos responsáveis pelo fenômeno de interferência de RNA (RNAi) ou silenciamento gênico transcricional (TGS), participando da metilação do DNA, portanto impedindo a transcrição gênica ou, em alguns casos, degradando moléculas de mRNAs (O'Neill, 2006). Os miRNAs e siRNAs são produzidos pelos mesmos processos bioquímicos e ambas as classes estão envolvidas na inibição da expressão gênica. Contudo, eles diferem quanto à origem e nos complexos proteicos envolvidos no seu processamento e, conseqüentemente, no modo de atuação dessas moléculas. Por exemplo, os siRNAs se originam de RNA exógeno introduzido nas células, e sua ligação com mRNAs alvos é dependente de um pareamento de bases perfeito, ou quase perfeito, enquanto os miRNAs se originam de genes miRNA existentes no genoma do organismo, e sua ligação aos mRNAs alvo é menos específica.

Por outro lado, não existe uma concordância entre diferentes autores sobre o tamanho dos miRNAs/siRNAs, que pode variar entre 18 e 30 nucleotídeos, nem tampouco sobre a nomenclatura em torno das classes que compõem, não somente essas categorias (miRNAs e siRNAs), mas também os outros tipos de sncRNA. Os termos e/ou definições mais comuns encontrados na literatura, muitas vezes contraditórios, foram indicados na Figura 1 e na listagem seguinte:

- RNAs pequenos (Small RNAs = sncRNAs, smRNAs) são moléculas de RNAs não codantes que possuem tamanhos variando entre 18 e 30 nucleotídeos e desempenham funções regulatórias sobre ácidos nucleicos nos organismos eucariotos.
- Em plantas, os sncRNAs são classificados em microRNAs (miRNAs) e RNAs interferentes pequenos (small interfering RNAs = siRNAs) com base em diferenças sobre seus precursores, biogênese e modo de atuação (Guleria et al., 2011).
- microRNAs/miRNAs são gerados por moléculas precursoras que apresentam estrutura em grampo (hairpin) assimétrico e silenciam seus genes alvos no nível pós-transcricional clivando, desestabilizando ou inibindo a tradução do mRNA.
- siRNAs endógenos (endo-siRNAs), algumas vezes mencionados como microRNAs, são processados a partir de longas cadeias de RNA dupla fita que possuem complementariedade perfeita de bases e são classificados como siRNAs heterocromáticos (hc-siRNAs) ou trans acting siRNAs (ta-siRNAs). Endo-siRNAs podem atuar reprimindo a expressão gênica pós transcricionalmente ou afetando a transcrição de loci específicos (transposons) ou alterando a estrutura da cromatina.
- siRNAs heterocromáticos (hc-siRNAs) são siRNAs gerados a partir de transposons ou sequências repetidas e direcionam a metilação de citosina do DNA e, por consequência, induzem a formação de heterocromatina que impede a transcrição gênica (silenciamento gênico).

- *Trans-acting* siRNAs, (ta-siRNAs) são siRNAs endógenos, originados de RNA não transcritos, cuja biogênese é determinada pela clivagem do mRNA mediada por Argonata guiada por miRNAs específicos, seguido da conversão da fita simples em fita dupla em uma reação controlada pela RNA polimerase VI, dependente de RNA (*RNA-dependent RNA polymerase*) or RDR6. De modo semelhante aos miRNAs, ta-siRNAs reprimem a expressão pós-transcricional de seus mRNA alvos atuando em *trans*. Esse tipo de regulação é muito importante durante o desenvolvimento de plantas.
- siRNAs exógenos são oriundos de plantas transgênicas ou plantas infectadas com vírus.

MicroRNAs (miRNAs)

Considerando a notável complexidade dos sncRNAs, nesse documento iremos focar a discussão nos microRNAs (miRNAs). Conforme foi mencionado, esse grupo de moléculas é representado por RNAs pequenos pertencentes a grande família de RNAs não codificadores (sncRNAs = small non-coding RNAs) (Figura 1, destaque em vermelho). Os miRNAs atuam como reguladores negativos pós-transcricionais, controlando a estabilidade de mRNAs de três modos distintos: 1) por degradação direta, ligando-se à sequência codante do mRNA alvo (pareamento perfeito de bases); 2) em animais também ocorre a desadenilação da cauda poliA localizada na região 3'UTR do mRNA alvo (pareamento incompleto); 3) inibindo a síntese de proteínas ao se ligarem por pareamento incompleto à região 5'UTR/m7G cap do mRNA (Wu et al., 2006; Braun et al., 2012; O'Brien et al., 2018). Em animais, a desadenilação do mRNA por miRNA é mediada por AGO e GW182 que se associa ao complexo miRNP (miRNA/nucleoproteínas) (Wakiyama et al., 2007). A maior categoria de mRNAs alvos para miRNAs corresponde aos genes de fatores de transcrição, proteínas de transdução de sinal, proteínas ligadas ao desenvolvimento, reprodução e resposta aos diferentes tipos de estresses bióticos e abióticos (Abdurakhmonov et al., 2007; Lima et al., 2012; Brant; Budak, 2018; Pegler et al., 2019b; Sanz-Carbonell et al., 2019; Zhu et al., 2019). Embora sejam relativamente conservados entre as diferentes espécies, grande número de miRNAs de plantas tem se mostrado espécie-específico ou grupo-específico (Ehrenreich; Puruggnan, 2008; Zeng et al., 2019), indicando que mutações nos miRNAs em populações naturais podem determinar mudanças no padrão evolutivo das espécies, uma vez que essas moléculas participam ativamente de vários processos celulares relacionados com o controle da expressão gênica e o desenvolvimento dos organismos (Chorostecki et al., 2017; Cui et al., 2017; Moran et al., 2017; Axtell; Meyers, 2018). De fato, estudos visando entender o papel miRNAs na evolução das plantas baseiam-se na análise dos diferentes grupos de miRNAs existentes em diferentes espécies buscando associar as mutações nos miRNAs com as mudanças evolutivas que podem ser observadas entre elas (Jasinski et al., 2010). Do mesmo modo, o grau de complementaridade relativamente elevado entre os miRNAs e as sequências de mRNAs-alvos possibilita o emprego da bioinformática para a predição de sequências gênicas candidatas à regulação por miRNAs e a síntese artificial (artificial miRNA = amiRNA, amiR) dessas moléculas (Chen et al., 2002, 2018; Zhang et al., 2018b). Diferentes estudos, focados na validação de miRNAs naturais e artificiais, têm demonstrado o potencial dessas moléculas para a terapia gênica em humanos e o melhoramento genético em plantas (Kuhn et al., 2008; Eamens et al., 2014; Nagy et al., 2018; Biswas et al., 2019).

Distribuição dos genes MIRNA nos genomas

Nos genomas de animais e plantas, a organização e localização dos genes codantes para miRNAs (genes *MIRNA*) são bastante complexas (Figura 2). Eles estão distribuídos em diferentes cromossomos e são encontrados principalmente nas regiões intergênicas, mas também se localizam nos introns gênicos, tanto na orientação senso como antisenso (Saini et al., 2007; Jiu et al., 2015; Djami-Tchatchou et al., 2017) (Figura 2). A maioria dos genes *MIRNA* é constituída por unidades transcricionais independentes, com promotores e sequências regulatórias próprias. Alguns genes *MIRNA* ocorrem em “clusters” conservados e podem ser coregulados juntamente com outros membros do grupo ou serem transcritos como unidades policistrônicas (Alptekin et al., 2016; Baldrich et al., 2016). Outros genes *MIRNA* perpassam sequências codantes ou localizam-se no interior de exons, orientados em *cis* ou em *trans* (Lau et al., 2001; Mourelatos et al., 2002; Lee et al., 2004; Shapulatov et al., 2018; Wang et al., 2019a). Além desses arranjos, em plantas foram descritas outras formas, tais como: *Mirtron*, em que o miRNA é imediatamente adjacente a dois exons; cluster de miRNAs intrônicos/exônico, em que parte do exon também codifica o miRNA e o Misto (Mixed), em que parte da sequência do miRNA é determinada pelo DNA codante. No que diz respeito à expressão dos genes *MIRNA*, vários transcritos poli-A de sequências de miRNAs, bem como sequências miRNA contendo fragmentos adjacentes de mRNAs, têm sido identificados em ESTs (*expressed sequence tags*) depositadas em bancos de dados de animais e plantas (Tam, 2001; Aukerman; Sakai, 2003; Meyers; Axtell, 2019). Os fatores que determinam o padrão da expressão de genes *MIRNA* e a identificação dos seus genes-alvo (mRNAs) é fundamental para a compreensão do funcionamento das vias e redes regulatórias mediadas por miRNAs.

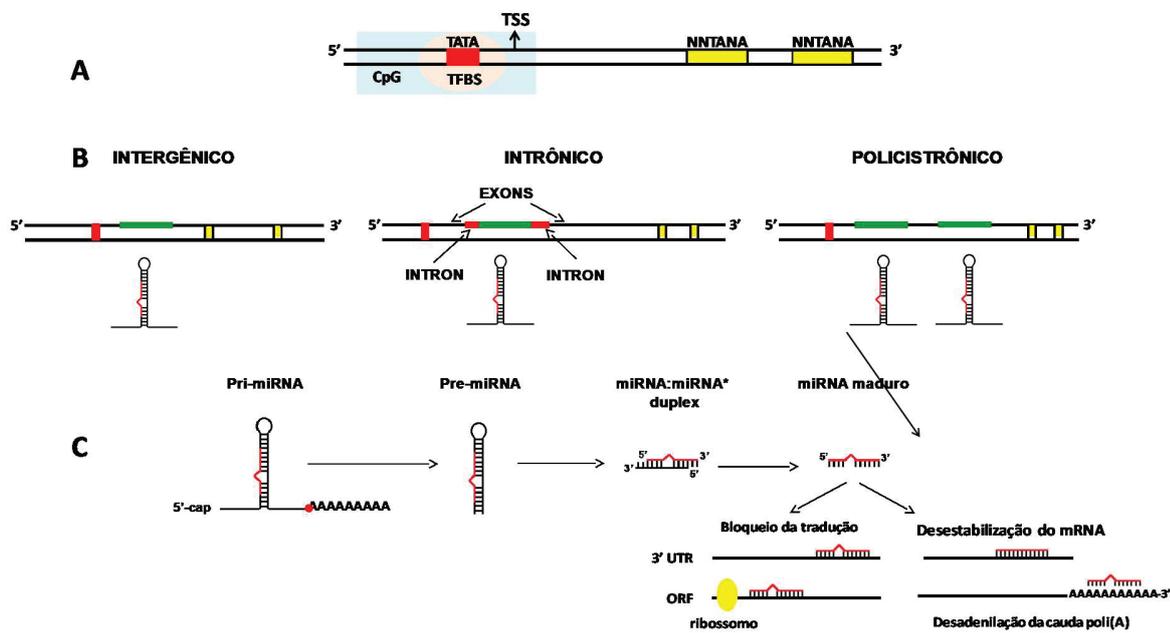


Ilustração: José Edson Fontes Figueiredo.

Figura 2. Estrutura, processamento e funcionamento de miRNAs. (A)- estrutura geral de gene *MIRNA* mostrando as localizações das repetições (CpG)_n em que a citosina encontra-se metilada na repressão e desmetilada na indução da transcrição e a região TATA Box do promotor, o sítio de início da transcrição (TSS), o sítio de ligação de fatores de transcrição (TFBS) e dois sítios de poliadenilação (NNTANA). (B)- tipos de arranjos de localização dos miRNAs nos genomas: intergênica, intrônica e policistrônica. (C)- biogênese do miRNA mostrando a estrutura do pri-miRNA com o 5'-cap ou 7-metil guanosina (Gppp), pré-miRNA, o duplex miRNA:miRNA* e o miRNA maduro e sua forma de atuação, inibindo a tradução por degradação do RNA mensageiro (mRNA), ou bloqueando a tradução ao se ligar à região 5'UTR/5'-CAP. Em animais, mas não em plantas, os miRNAs podem reduzir a meia vida do mRNA por desadenilação (Iwakawa; Tomari, 2013). O asterisco em uma das cadeias do duplex está indicando a sequência passageira que, na maioria dos casos, será degradada nos exomos.

Biogênese dos miRNAs

A biogênese dos miRNAs ocorre no núcleo e tem início com a RNA polimerase II (pol II) ou RNA polimerase III (pol III) produzindo um longo transcrito primário, os pri-miRNAs (Bartel, 2004) (Figura 3). Esses transcritos são protegidos de degradação por ribonucleases por meio da poliadenilação da região 3' e adição de um nucleotídeo modificado na extremidade 5' da molécula, o 5'-CAP, que consiste em um derivado de guanosina metilada, a 7-metilguanossina (7-MegG) (Lee et al., 2004; Szakonyi et al., 2019). Os transcritos primários (pri-miRNAs) podem variar de tamanho, entre centenas (543pb) ou milhares de pares de bases (~10kb) e todos eles caracterizam-se pela formação de estrutura secundária estável em forma de um grampo assimétrico, os “stem-loops” ou “hairpin” (Bartel, 2004; Kurihara; Watanabe, 2004). Em seguida os pri-miRNAs são clivados pelo complexo com atividade RNaseIII-like, DICER/Drosha/Pasha (animais) ou DICER-Like = DCL1 (plantas), em associação com outras três proteínas: Serrate (SE), Hyponastic Leaves 1 (HYL1) e DAWDLE (DDL = forkhead-associated FHA domain), gerando moléculas precursoras dos miRNA (pre-miRNAs) (Yang et al., 2014; Fukudome et al., 2017). O complexo DRB1/DCL1 processa as alças (stem loops) que se originam de pareamentos imperfeitos nos dsRNAs durante o dobramento da molécula precursora do miRNA (Pegler et al., 2019a). Os duplex miRNA:miRNA* são metilados em suas extremidades terminal 3' pela ação da metiltransferase S-adenosil-L-metionina-dependente de RNA que reconhece a ribose terminal em RNAs dupla fita curtos (HUA enhancer 1, HEN1) (Bartel, 2004; Peláez et al., 2012; Sun, 2012). A metilação da ribose do último nucleotídeo dos miRNAs confere estabilidade à molécula, prevenindo o ataque por enzimas como ligases, nucleotidil transferase terminal ou polimerases, cujo alvo é o grupo hidroxil do último nucleotídeo (Ji; Chen, 2012). Na sequência, os duplex são transportados para o citoplasma por proteínas transportadoras HASTY/Exportin1 (em animais = complexo XPO-5/XPORTIN-5, RAN-GTP-Exportin-5) (Park et al., 2005; Peláez et al., 2012; Wang et al., 2019a) e carregados no complexo de silenciamento induzido por RNA (RISC). É importante observar que, em plantas, a etapa de processamento do duplex miRNA:miRNA ocorre no núcleo celular, enquanto em animais há uma rota paralela em que o pré-miRNA pode também ser transportado e processado no citoplasma (Saini et al., 2007; Jiu et al., 2015). A estrutura completa de RISC ainda não foi totalmente esclarecida, mas sabe-se que ele é composto pelas proteínas ribonuclease ARGONAUTA 1 (AGO1) e alguns chaperones moleculares (HSP40, Hsc70 e HSP90). Após o carregamento no RISC, o duplex miRNA:miRNA* é desfeito pela proteína AGO1 (Arribas-Hernández et al., 2016; Iki, 2017) e uma das cadeias (miRNA* = molécula passageira) é endereçada para os exomos onde é degradada por micronucleases. Contudo, em alguns casos, a cadeia passageira também atua na degradação do mRNA (Okamura et al., 2008), a outra cadeia, o miRNA maduro permanece no RISC (Sun et al., 2018c; Dolata et al., 2019). Finalmente, RISC e o miRNA maduro são direcionados para a região 3'-UTR ou para a região codante do mRNA complementar ao miRNA. miRNAs que apresentam alta homologia com o mRNA direcionam a degradação da molécula, enquanto miRNA/mRNA com pareamento imperfeito provoca tanto a repressão da tradução como a desestabilização do mRNA (Sun, 2012).

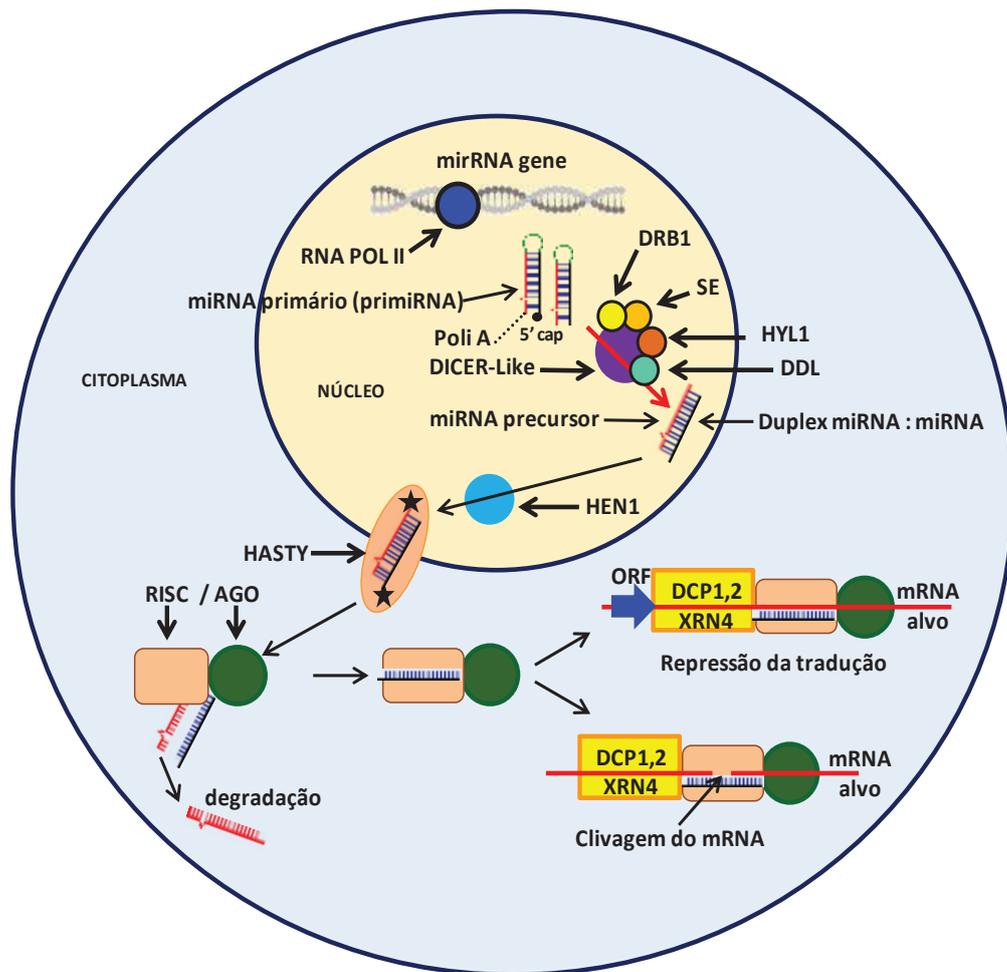


Ilustração: José Edson Fontes Figueiredo.

Figura 3. Biogênese e mecanismo de ação do miRNA em plantas. No núcleo celular, o gene *MIRNA* é transcrito pela RNA polymerase II ou III originando o transcrito primário do miRNA e a clivagem do precursor pre-miRNA pelo complexo microprocessador DICER-like (endoribonuclease dependente de RNA dupla fita, dsRNA ou cadeias de RNA simples apresentando alças) gerando duplex miRNA:miRNA com 21-24 nucleotídeos com dois nucleotídeos livres em cada extremidade 3' da molécula. Em seguida a metiltransferase HEN1 metila as extremidades 3' do duplex de miRNA (estrela) e deixa o núcleo pela atividade de HASTY (ortóloga de exportin Msn5p de leveduras e 5/XPO5 de mamíferos, da família importin/exportin de receptores nucleocitoplasmáticos responsáveis pelo transporte de dsRNA, do núcleo para o citoplasma). No citoplasma, o duplex miRNA é processado pela enzima ribonuclease III (RIII) DICER1, dando origem ao miRNA maduro. Uma das cadeias do miRNA é degradada e a outra é incorporada ao complexo de silenciamento induzido por miRNA (miRISC) que é formado pelas proteínas DCP1,2 (eukaryotic RNA decapping complex), XRN4 (5'-3' exoribonuclease 4), DICER1, Argonata (AGO1) e chaperones moleculares (HSP40, HSP70 e HSP90, não mostrados na figura). A ligação do miRNA ao mRNA-alvo é facilitada pela complementariedade de bases entre o miRNA e mRNA. Os resultados dessas interações podem ser a repressão da tradução do mRNA e/ou a sua degradação. Nos animais também pode ocorrer a redução da meia vida do mRNA por desadenilação (não mostrado) (Iwakawa; Tomari, 2013). Na figura, as abreviações são: DRB1 = DOUBLE-STRANDED RNA-BINDING-LIKE PROTEIN; SE= SERRATE; HYL = HYPOASTIC LEAVES; DDL = DAWDLE; HEN1 = HUA enhancer 1; DCP1,2 = DCP1 (Decapping 1), DCP2 (Decapping 2); XRN4 = EXORIBONUCLEASE4.

Alguns aspectos da biogênese dos miRNAs em animais e plantas são diferentes. A predição *in silico* de estruturas “stem-loop” revelou que, em plantas, os pri-miRNAs são maiores e mais variáveis do que as moléculas precursoras de miRNAs de animais (Reinhart et al., 2002; Miskiewicz et al., 2017; Yu et al., 2017; Wang et al., 2019a). A diferença mais notável entre esses dois grupos reside na ausência, em plantas, do gene *Drosha*, que codifica para a endonuclease da família de proteínas RNase tipo III (*Drosha*) que, juntamente com seu cofator Pasha ou DGCR8 (do inglês, DiGeorge syndrome critical region gene 8), reconhece RNA dupla fita (dsRNA) (Lee et al., 2003; Wang et al., 2019a). De fato, análise *in silico*, realizada em diferentes espécies de plantas cujos genomas foram completamente sequenciados, não encontrou gene ortólogo para codificar *Drosha* (Kurihara; Watanabe, 2004; Meyers; Axtell, 2019). Em humanos, *Drosha* é componente de dois complexos multiproteicos. O complexo maior contém múltiplas classes de proteínas associadas ao RNA, incluindo RNA helicases, proteínas que se ligam à RNA dupla fita, um grupo de ribonucleoproteínas heterogêneas e proteínas da família do sarcoma de Ewing. O complexo menor, denominado multiprocessador, é composto por *Drosha* e DGCR8/Pasha, uma proteína ligadora à RNA dupla fita. Estudos de silenciamento gênico *in vivo* e de reconstituição *in vitro* revelaram que ambos os componentes do complexo multiproteico menor são necessários e suficientes para mediar a conversão dos pri-miRNAs em seus elementos constituintes, originando os pre-miRNAs e miRNAs maduros (Lee et al., 2003). Em plantas, o homólogo de Dicer, Dicer-like 1 (DCL1), exerce a função de *Drosha* (Park et al., 2002; Reinhart et al., 2002; Kurihara; Watanabe, 2004; Xie et al., 2005; Bollmann et al., 2016). No núcleo das células, os pri-miRNAs são clivados, originando pre-miRNAs precursores, de aproximadamente 60-160 nucleotídeos (Denli et al., 2004; Zhang et al., 2006). Todos os pre-miRNAs formam estrutura secundária estável, os “stem-loop”, em forma de grampos longos ou “hairpin”, que é conservado em animais, plantas e vírus (Pfeffer et al., 2004; Akbergenov et al., 2006). Após o processamento, por *Drosha* (animais) ou DCL1 (plantas), o miRNA apresenta um fosfato na posição 5' e dois ou três nucleotídeos livres na posição 3', na base da estrutura “stem-loop” (Bartel, 2004). Em animais, a supressão da expressão de Pasha em *Drosophila* ou *Caenorhabditis elegans* interfere com o processamento de pri-miRNA, gerando seu acúmulo no núcleo e redução de miRNAs maduros no citoplasma (Pelisson et al., 2006). Finalmente, deleção ou mutação de *pash-1* em *C. elegans* causa desrepressão de *let-7* e o surgimento de defeitos fenotípicos semelhantes àqueles observados em vermes com genes Dicer (*dcr-1*) ou *Drosha* (*drsh-1*) defeituosos. Esses resultados evidenciaram o papel de Pasha na maturação de miRNA, e conseqüentemente, na regulação gênica mediada por miRNAs em animais (Denli et al., 2004).

Em *Arabidopsis*, a biogênese de miRNAs requer duas outras proteínas, HYL1 e HEN1 (Park et al., 2002; Han et al., 2004; Yang et al., 2006). HYL1 contém motivos de ligação para RNA dupla fita e é homóloga a RDE-4 de *C. elegans* e R2D2 de *Drosophila*, proteínas que fazem parte de RISC (Tabara et al., 2002). RDE-4 e R2D2 participam do metabolismo de siRNAs, mas são inativas no processamento de miRNAs (Figura 1). Por outro lado, HYL1 é necessária para a biogênese de miRNAs mas não participa da biogênese de siRNAs. HYL1 funciona como um dímero que se liga às alças do pri-miRNAs (Han et al., 2004; Yang et al., 2014). A região N-terminal de HYL1 constitui o domínio de ligação (dsRBDs) de HYL1 ao RNA dupla fita e apresenta a função de processar o pri-miRNA, enquanto que a região C-terminal parece ser dispensável (Wang et al., 2019a). HEN1 possui um motivo para ligação à RNA dupla fita e um domínio metil-transferase na extremidade C-terminal. Em *Arabidopsis*, as mutações *hen-1*, *hen1-2* e *hen1-4* que comprometem o processamento de miRNAs localizam-se na região metil-transferase (Chen et al., 2002; Yang et al., 2006). A proteína HEN1 purificada por cromatografia metila ribose do último nucleotídeo em ambas as cadeias do duplex miRNA/miRNA* e apresenta alta especificidade para o substrato (Yu et al., 2005). Foi observado que miRNA de fita simples, com e sem metilação, pre-miRNA, bem como dsDNA

idênticos em estrutura e sequências aos duplex miRNA/miRNA*, não servem como substrato para HEN1. Apenas miRNA/miRNA* com sequências primárias diferentes são reconhecidos por HEN1. Isso indicou que HEN1 reconhece a estrutura e não a sequência do duplex, originado do processamento do pri-miRNA, realizado por Dicer (Yang et al., 2006).

Em animais, após se ligar ao receptor nuclear de Exportina-5 (Exp5), que utiliza Ran-GTP como cofator, o pre-miRNA é transportado para o citoplasma onde é processado pela RNase III Dicer, gerando um miRNA dupla fita com 18-26 nucleotídios (Bernstein et al., 2001; Denli et al., 2004). Em seguida, a molécula é desnaturada pela ação de helicases originando o miRNA de fita simples que é incorporado ao complexo proteico multimérico RISC (RNA-induced silencing complex). O complexo multimérico (RISC) forma uma ribonucleoproteína e possui a proteína Argonauta (Argo) como principal componente (Fang; Qi, 2016). RISC direciona o miRNA para a molécula alvo de mRNA (Schwarz et al., 2003; Baumberger; Baulcombe, 2005). Embora não tenha sido completamente elucidado o mecanismo de “escolha” da cadeia simples de miRNA que será incorporada em RISC, evidências indicaram que, em animais, ela é determinada pela estabilidade termodinâmica da extremidade 3' do miRNA antisenso (Preall et al., 2006). Essa extremidade da molécula com duas a três bases não pareadas se posiciona de modo que ela entra preferencialmente no complexo RISC. Nesse estágio, o complexo é competente para reprimir a tradução ou degradar moléculas de mRNAs. Geralmente, o pareamento do miRNA ocorre preferencialmente na região 3'-UTR do mRNA alvo (animais) ou na região codante do mRNA (plantas) e pode ser perfeito (siRNA) ou incompleto (miRNA). Análise computacional indicou que o pareamento dos nucleotídios 2 a 8 na região do domínio 5' do miRNA, conhecido como “seed sequence” (sequência *core*) é muito importante para o reconhecimento do mRNA alvo (Lewis et al., 2003, 2005). Assim, dados experimentais revelaram que a interação dos oito primeiros nucleotídios dos miRNAs é crucial para inibição da tradução de mRNAs em células cultivadas *in vitro* (Doench; Sharp, 2004). Ao se ligar ao mRNA alvo, o complexo RISC-miRNA promove a degradação do RNA mensageiro (siRNA), reduz a meia vida do mRNA ou impede a sua tradução, conforme foi mostrado na Figura 2.

Em humanos, o papel dos miRNAs e a expressão alterada de componentes envolvidos na biogênese dos miRNAs como Drosha, Dicer e Argonautas têm sido associados a diferentes tipos de tumores, destacando a importância desta via no funcionamento celular adequado (Calin et al., 2002; Peng; Croce, 2016; Tan et al., 2018; Si et al., 2019).

Descoberta e relevância dos microRNAs

O papel de microRNAs em processos celulares foi observado pela primeira vez em *Caenorhabditis elegans* (Lee et al., 1993). Nesse organismo, o miRNA *lin-4* (small temporal RNA, stRNA) é fundamental para mudança da fase I, para a fase seguinte durante o desenvolvimento do nematóide. A expressão de *lin-4* durante o primeiro estágio de desenvolvimento inibe mRNAs responsáveis pela progressão da diferenciação celular. Os autores demonstraram que o gene *lin-4* não codificava para proteína, por esse motivo o seu modo de atuação no desenvolvimento permaneceu aguardando uma explicação. Em 2000, foi descrito outro gene stRNA em *C. elegans*, denominado *let-7*, com efeito similar a *lin-4* mas que era expresso apenas no estágio IV do desenvolvimento (Reinhart et al., 2000). Estudos posteriores demonstraram a existência de homólogos de *let-7* em outros grupos de animais, tais como Anuros, Poliquetas, moscas, camundongos e humanos. Nesses organismos, as sequências de nucleotídios de *let-7* eram altamente conservadas, em muitos casos, quase idênticas, sugerindo que *let-7* desempenhava função biológica essencial, embora desconhecida (Pasquinelli, 2000). Em seguida diferentes estudos demonstraram as similaridades entre a biogêne-

se e o modo de atuação de *lin-4* e o fenômeno de interferência de RNA (RNAi) em diferentes grupos de animais (Lee; Ambros, 2001; Fischer, 2010; Jiao et al., 2018).

Desde a descoberta de miRNA em 1993 (Lee et al., 1993), até a constatação de sua importância durante o desenvolvimento de *Caenorhabditis elegans* por Reinhart et al. (2000), passaram-se quase dez anos. Essas descobertas, e outras que se seguiram, demonstraram a participação de microRNAs na regulação global da expressão gênica em animais e plantas, em uma gama variada de processos celulares, transformando essas moléculas na principal área de estudos da biologia nos últimos anos (Bove et al., 2006; Dash et al., 2015). Em um número elevado de estudos recentes foram identificadas diferentes classes de sncRNAs, com diferentes funções na regulação da expressão gênica e no desenvolvimento de organismos eucariotos (Mourelatos et al., 2002; Li; Zhang, 2016; D'Ario et al., 2017; Samad et al., 2017; Jangra et al., 2018; Sharma et al., 2019; Song et al., 2019). Em humanos, por exemplo, estudos sobre a participação de miRNAs em diferentes tipos de câncer, destacam a importância desta via, no funcionamento celular adequado (Si et al., 2019).

A importância dos miRNAs na regulação gênica e no controle geral do funcionamento celular de bactérias, protozoários, animais e plantas fica evidente ao considerarmos algumas publicações sobre o assunto. Em 2013, aproximadamente 27.000 publicações sobre miRNAs e 28.645 sequências de mais de 100 espécies foram depositadas no miRBase (miRBase blog: news and views: <http://www.mirbase.org/blog/>). Casey et al. (2015) utilizaram o sítio Web of Science™ (WoS) database para determinar o número de publicações e citações sobre miRNAs e também encontraram 26.177 artigos publicados. Em outro artigo, datado de 2015 (Vergoulis et al., 2015), procederam uma pesquisa em diferentes bancos de miRNAs e identificaram os seguintes valores para o número de artigos publicados sobre miRNAs: 19.839 (mirPub), 407 (miRBase), 1392 (TarBase), 519 (mi2disease) e 573 (miRCancer). Kozomara et al. (2019) encontraram 18.542 referências ao termo microRNA no título ou resumo de artigos científicos. Ao pesquisarem as informações sobre a funcionalidade desses RNAs, os autores conseguiram associar 12.519 deles com registros de microRNA em banco de dados. A última atualização do miRBase (volume 22, outubro de 2018) registrou sequências de microRNA de 271 organismos (protozoários, plantas e animais), 38.589 sequências precursoras (pri-miRNAs) e 48.860 microRNAs maduros. Alles et al. (2019), identificaram 28.866 sequências de RNAs curtos descritos para a espécie humana, após terem descartado os sncRNAs falsos ou de baixa qualidade. Os autores analisaram 363.7 bilhões de sequências e observaram que 65% dos 24.127 miRNAs maduros eram provavelmente falsos. Após estudos aplicando northern blot e superexpressão de sequências candidatas Alles et al. (2019) identificaram novos miRNAs e concluíram que na espécie humana existem 2.300 miRNAs e que 1.115 deles estão registrados no volume 22 do miRBase. Em plantas, também pode ser verificada a existência de elevado número de estudos sobre as a biogênese e função das sequências canônicas de miRNA.

Morin et al. (2008a), estudando microRNAs de arroz (*Oryza sativa*), relataram a ocorrência de divergências nas sequências de um mesmo microRNA e cunharam o termo isomiRs para essas formas variantes (Morin et al., 2008a, 2008b). Até aquela data acreditava-se que um precursor de miRNA gerava apenas uma única sequência de miRNA funcional. Estudos posteriores realizados em vários organismos confirmaram a universalidade dos isomiRNAs em animais e plantas e demonstraram o papel dessas isoformas na regulação pós-transcricional da resposta a diferentes tipos de estresse bióticos e abióticos (Gozmanova et al., 2017). Em função da natureza das alterações de tamanho, os isomiR são agrupados em diferentes classes: 5'- isomiRs, 3'- isomiRs, isomiRs polimórficos, template e non-templated isomiR (Nielsen et al., 2012; Rogans; Rey, 2016; Yang et al., 2019). Verificou-se que as diferenças nas sequências de um mesmo miRNA são de natureza epigenética, pois resultam da edição pós-transcricional do miRNA. Esse processo frequentemente

gera variações nas extremidades 5' e 3' dos miRNAs, e em menor escala produz substituições de nucleotídeos em qualquer ponto da sequência do miRNA (Ebhardt et al., 2009; Iida et al., 2009). Quanto à origem dessas variações ficou demonstrado que elas surgem como decorrência de mudanças no sítio de clivagem de Droscha e Dicer, em animais e DICER-LIKE em plantas (Morin et al., 2008a, 2008b) e a adição de nucleotídios na extremidade 3' dos miRNAs (non-templated isomiRs), parece ser feita por atividade de nucleotidiltransferases do tipo PAPD4 (Lu et al., 2009; Burroughs et al., 2010). Apesar da importância dos isomiRs na regulação gênica pós-traducional em plantas, a biogênese e função desse grupo de moléculas ainda é muito pouco estudada. Visando alterar esse quadro, foi criado recentemente o "Plant IsomiR Atlas", com a identificação de isomiRs de 23 espécies de plantas utilizando dados de 677 sncRNAs (Yang et al., 2019). Essas informações iniciais já possibilitaram a identificação de 98.374 isomiR (template e non-templated) a partir de 6.167 precursores (Yang et al., 2019). Outro estudo gerou o PmiREN: uma enciclopédia de miRNAs de plantas (Guo et al., 2019).

microRNAs em bactérias

A regulação gênica por microRNAs e siRNAs foi descrita em Eukarya, Bacteria e Archaea. Em eucariotos, as únicas exceções foram encontradas em fungos (Flynt; Lai, 2008; Jin et al., 2019), Placozoários (Grimson et al., 2008) e Ctenóforos (Maxwell et al., 2012), Leishmania (Robinson; Beverley, 2003) e *Trypanosoma cruzi* (DaRocha et al., 2004). Em bactérias existem duas classes principais de sncRNAs que atuam em alguns casos, de modo ainda não descrito em animais e plantas e cujos tamanhos variam entre 50 e 500 nucleotídios (Jiang et al., 2010). Em *Escherichia coli* K12, foram identificados mais de 400 sncRNAs ('msRNA', miRNA-like) a partir de 33.2 milhões de leituras de clones de RNA pequenos feitos por deep sequencing (Kang et al., 2013) e a família mais ampla e mais bem estudada possui pelo menos 20 membros que atuam em associação com o chaperone molecular Hfq, regulando a atividade de fatores de transcrição envolvidos em processos celulares vitais (Argaman et al., 2001; Gottesman, 2004; Storz et al., 2011; Waters et al., 2017; Guo et al., 2018).

De modo semelhante ao que ocorre em animais e plantas, vários sncRNAs (msRNAs) bacterianos ligam-se por complementaridade de bases ao mRNA alvo regulando a transcrição e tradução ou modificando sua estabilidade, enquanto outros, como o sncRNA Spot 42, alteram a polaridade do operon gal (Gottesman, 2004). Os miRNAs, DsrA (*Escherichia coli* regulatory sncRNA) e RprA (small regulatory RNA) regulam positivamente a transcrição e tradução do fator de transcrição do gene *RpoS* (codifica o fator sigma-38), ligando-se ao alvo e abrindo um hairpin que impede a tradução do mRNA (Maudet et al., 2014). De modo geral, a regulação pós-transcricional em animais ocorre pela ligação do miRNA à região 3'UTR, e em plantas, pela ligação à região codante. De modo diferente, o microRNA bacteriano DsrA regula negativamente a tradução dos genes *rpoS* e *hns* (*E. coli* 15 kDa DNA-binding protein) ligando-se exatamente na posição adjacente ao primeiro codon de início da tradução do mRNA (Waters; Storz, 2009; Liu et al., 2012), região esta que assume uma estrutura secundária específica para ligação do ribossomo (RBS; ribosome binding sequence) (Shine; Dalgarno, 1975; Ringquist et al., 1992). O miRNA OxyS (Oxidative stress response regulatory protein) regula negativamente a tradução dos fatores de transcrição *rpoS* e *fhIA* (formate hydrogenlyase transcriptional activator), e o miRNA RyhB (bacterial iron-responsive small RNA) regula o aporte de ferro celular reprimindo a tradução dos mRNAs de vários genes que codificam proteínas carreadoras de Fe. Em outra classe, os msRNAs bacterianos ligam-se diretamente às proteínas alterando sua atividade (Massé et al., 2003). Outros exemplos são os miRNAs CsrB (Carbon storage regulator B) e CsrC (Carbon storage regulator C) de *E. Coli* que inibem a atividade da proteína reguladora da

tradução, CsrA (Carbon storage regulator A) e diferentes msRNAs que regulam a gluconeogênese, a formação de biofilmes e a expressão de fatores de virulência em bactérias patogênicas para animais e plantas (Gottesman; Storz, 2011; Adami et al., 2018).

Função dos sncRNAs (miRNA e siRNA) em eucariotos

Nas células dos eucariotos, os sncRNAs desempenham funções regulatórias específicas e fundamentais, participando de processos fisiológicos e vias metabólicas diversas, controlando a estabilidade genômica, a diferenciação de linhagens celulares e o estabelecimento de padrões de desenvolvimento, a morte celular programada (apoptose) e respostas adaptativas contra estresses bióticos e abióticos (Houbaviy et al., 2003; Schwab et al., 2006; Guleria et al., 2011; Pileczki et al., 2016; Slattery et al., 2018). O modo de ação dos sncRNAs pode divergir de um organismo para outro. De modo geral, a regulação feita por sncRNAs é responsável pela mudança de fase entre os estádios de desenvolvimento e pela diferenciação de tecidos e órgãos de animais e plantas (Aravin et al., 2003; Nogueira et al., 2007; 2009; Li; Zhang, 2016; Tang et al., 2016; D'Ario et al., 2017; Liu et al., 2017b; Zhang et al., 2017). Tanto a expressão aumentada quanto o silenciamento de genes *MIRNA* ou a expressão desses genes em locais fora de seus domínios pode ocasionar alterações drásticas no desenvolvimento dos organismos (Aukerman; Sakai, 2003; Palatnik et al., 2003; Juarez et al., 2004; May et al., 2013).

Os microRNAs exercem a função de regulação da expressão gênica em associação com o complexo multiproteico (RISC), ligando-se por complementaridade de bases ao mRNA alvo (Valencia-Sanchez et al., 2006; Liu et al., 2017a) e funcionam de duas maneiras principais: 1- microRNAs podem gerar a degradação de mRNAs, quando existe alta complementaridade de bases entre o miRNA e o RNA mensageiro alvo, nesse caso, o microRNA é denominado siRNA. A clivagem do mRNA ocorre na ligação fosfodiéster oposta às bases 10 e 11 do miRNA e ausência de pareamento nessa região impede a degradação do mRNA (Yoshikawa et al., 2005; Iwakawa; Tomari, 2015; Mott; Mohr, 2015). Enquanto o mRNA está sendo degradado, o miRNA permanece intacto, associado com RISC e pode iniciar a degradação de nova molécula. Nessa situação, os níveis de proteína e de mRNA são reduzidos. Esse mecanismo ocorre com elevada frequência em plantas, mas também foi descrito em mamíferos (Valencia-Sanchez et al., 2006); 2- o pareamento microRNA/mRNA não é perfeito por causa da presença de bases não complementares. Nessas situações, o complexo RISC-miRNA permanece ligado ao mRNA impedindo a tradução, sem, contudo, clivar a molécula (Dalmy, 2013). Análises bioquímicas demonstraram que os polissomos permanecem ligados aos mRNAs, sugerindo que o bloqueio da expressão ocorre após o início da tradução (Aukerman; Sakai, 2003; Ritland-Politz et al., 2006). Neste exemplo apresentado, a repressão traducional pode ser observada pelo decréscimo no nível de proteínas enquanto os níveis de mRNA permanece o mesmo (Aukerman; Sakai, 2003). Contudo, outros estudos demonstraram que os miRNAs podem se ligar na região 5' dos mRNAs impedindo a ligação dos polissomos (Wang et al., 2006; Wakiyama et al., 2007). Em função de possuírem sequências pequenas e agirem sem a necessidade de pareamento completo, um único miRNA pode regular muitos mRNAs, além de cooperarem no controle de um único mRNA (Brennecke, et al., 2005; Subasic et al., 2015).

Alguns estudos indicam que um miRNA pode regular 200 mRNAs com funções totalmente diversas. Para dar um pouco mais de perspectiva, o fator de transcrição *LEAFY*, responsável pelo recrutamento de vários sinalizadores hormonais, bióticos e abióticos que em conjunto definem o meristema floral em plantas, tem pelo menos 13 genes alvos diretos, e o miRNA 166, chave na orientação da lâmina foliar, resposta a stresse abiótico e resposta hormonal em plantas, tem pelo menos 11 ge-

nes alvo diretos e outros 5 indiretos sendo a maioria fatores de transcrição (Chitwood et al., 2007; Moyroud et al., 2011; Xia et al., 2018; Zhang et al., 2018a). Desta forma, os microRNAs constituem uma enorme e complexa rede regulatória da sinalização celular.

Perspectivas do emprego do silenciamento gênico por miRNAs e phasiRNAs no melhoramento do milho

A maioria dos caracteres agronômicos, tais como a arquitetura da planta, precocidade, produtividade, resistência e tolerância a fatores bióticos e abióticos, entre outros, são determinados por caracteres quantitativos controlados por múltiplos loci gênicos e por complexas redes regulatórias. A manipulação da expressão desses importantes componentes do desenvolvimento e reprodução em espécies de interesse comercial contribui para o aumento da produtividade agrícola. Entre os elementos que compõem essa rede regulatória, os pequenos RNAs não codantes: miRNAs e phased miRNAs desempenham papel central na regulação da função gênica, portanto, a manipulação dessas moléculas e dos seus genes alvo são cruciais para o melhoramento de caracteres de plantas com foco agronômicos (Lusser et al., 2011; Jha ; Shankar, 2014; Cortijo et al., 2014; Zhang et al., 2019) (Tabela 1).

O uso de miRNAs tem sido relatado no silenciamento de genes em processos metabólicos, tais como, para redução de amilose em grãos de amido de batata (Heilersig et al., 2006; Kasai et al., 2016), indução de macho-esterilidade em milho (Cigan et al., 2005), cor das flores da petunia (Kapoor et al., 2002), entre outros. Contudo, a manipulação dos miRNAs para o melhoramento de plantas ainda é pouco explorada. Isso provavelmente decorre da complexidade envolvida na manipulação dessas moléculas e de seus genes codificantes associado à dificuldade de transformação de várias espécies (Lusser et al., 2011).

Estudos recentes têm alertado sobre a importância dos microRNAs e as perspectivas de manipulação dessas moléculas para o melhoramento de caracteres de produtividade do milho (Li et al., 2012; Luan et al., 2014; Sun et al., 2018c; Zhang et al., 2019). Entre as diferentes formas de atuação dessas pequenas moléculas de RNA na intrincada rede regulatória, algumas podem ser destacadas como prioritárias para a engenharia genética no melhoramento do milho (Tabela 1). São elas: 1- arquitetura da planta (número de perfilhos e altura de plantas, polaridade adaxial/abaxial e angulação das folhas e arquitetura das inflorescências); 2- resistência ao tombamento e manufatura de bioprodutos por meio da regulação da biossíntese de lignina (Sun et al., 2018c); 3- indução do desenvolvimento de raízes laterais que também contribui para a resistência ao tombamento; 4- o aumento da área radicular e a expressão de alguns microRNAs aumentam a tolerância à seca (Li et al., 2012; Luan et al., 2014; Yang et al., 2018); 5- desenvolvimento da fase adulta com aumento do período vegetativo, que é uma característica interessante para silagem; 6- redução da fase de transição juvenil/adulto, para desenvolvimento de variedades precoces (Zhang et al., 2019); 7- definição da identidade dos órgãos que se originam dos meristemas axilares (Chuck et al., 2009); 8- promoção do florescimento; 9- controle do desenvolvimento da espiga; 10- determinação do sexo e macho esterilidade; 11- tolerância ao encharcamento e à salinidade (Luan et al., 2014); 12- tolerância à baixa disponibilidade de fosfato (Pi) (Pei et al., 2013); 13- ativação de fatores de resposta a auxina e genes envolvidos nos primeiros estádios de desenvolvimento das plântulas, entre outros.

Entre os 367 miRNAs identificados em milho (Xia et al., 2018), destacamos neste trabalho os mais relevantes que estão direta ou indiretamente relacionados com a produtividade do milho (Tabela 1).

A arquitetura da planta é determinada principalmente por perfilhos, tamanho da planta, número e ângulo das folhas e das ramificações dos pendões (Doebley et al., 1997; Zhang et al., 2019). O miRNA 156 (alvo: gene *ZmSPL*) está diretamente relacionado com a arquitetura da planta (Chuck et al., 2009).

O miR528, específico de monocotiledôneas (Zanca et al., 2010), está diretamente envolvido em dois processos vitais para a sobrevivência do milho: regulação do metabolismo de nitrogênio (Sun et al., 2018a) e resistência de plantas ao tombamento por meio da regulação da biossíntese de lignina (Sun, 2012; Sun et al., 2018a). O silenciamento do gene miR528 ou a super expressão de seus genes alvo (domínio F-box, proteínas contendo repetições LRR, MAX2, L-ascorbate oxidase) melhora a resistência ao tombamento em plantas do milho (Sun et al., 2018a, 2018b). Do mesmo modo, o silenciamento de miR164 (alvo: *NAC1*) promove o desenvolvimento de raízes laterais, aumentando a área radicular, o que também melhora a resistência ao tombamento e aumenta a tolerância à seca (Li et al., 2012). A redução da expressão de miR169, ou o aumento da expressão de seus alvos que codificam para proteínas *Zm-YAs*, *NAC* (*NAM*, *ATAF1/2* e *CUC2*), fitosulfocinas (sinalizadores celulares) e subunidade alfa do fator de transcrição nuclear Y (*NF-YA* = Nuclear transcription factor Y subunit alpha), aumenta a tolerância de plantas à salinidade e, juntamente com miRNA 166, confere resistência à seca (Luan et al., 2014; Yang et al., 2006; Zhang et al., 2018a, 2019).

Em plantas, o “timing” no desenvolvimento é regulado de modo coordenado por uma complexa rede que integra muitos sinalizadores extrínsecos e intrínsecos. Nessa rede, o miR172 (alvos: *gl15*, fator de transcrição *Apetala2-like*, fator de resposta a auxina, fatores de transcrição contendo motivos *Helix-loop-helix*) promove o florescimento e, juntamente com miR156 (alvo: *Squamosa-promoter binding protein-like*), regula o desenvolvimento da fase adulta (Kapoor et al., 2002; Zhang et al., 2019). O silenciamento do gene *MiR156* ou a super expressão de miR172 provoca precocidade e o florescimento em plantas (Zhang et al., 2019). Ambos os microRNAs, miR156 e miR172 regulam a transição da fase juvenil para a fase adulta. O nível de expressão do miR156 diminui com a idade das folhas enquanto a expressão de miR172 aumenta (Wu; Poethig, 2006). O papel da interação entre miR156 e miR172 nas etapas de transição entre o desenvolvimento juvenil e adulto tem sido bastante estudado em *Arabidopsis* (Wu; Poethig, 2006; Jung et al., 2011) e empregado para o melhoramento de espécies de interesse agrônomico, como o pinhão-manso (*Jatropha curcas*) (Sánchez-Gutiérrez et al., 2018) e cevada (Tripathi et al., 2018). O aumento da expressão de miR156 aumenta a duração da fase vegetativa constituindo uma importante característica quando o objetivo for a produção de biomassa para produção de silagem (Zhang et al., 2019).

As folhas representam o órgão fotossintético mais importante das plantas. Elas são, em sua maioria, planas para capturar a luz solar de modo mais eficiente e realizar a fotossíntese. Em milho, a transição da fase de folha juvenil para folha adulta é marcada por alterações na forma das células, produção e deposição de cera epidérmica, surgimento de células especializadas como os pelos foliares e mudanças na identidade dos órgãos que se originam dos meristemas axilares (Chuck et al., 2009; Sun et al., 2018a; Zhang et al., 2019). Em milho, a determinação da polaridade foliar (abaxial/adaxial) está associada aos seguintes sncRNAs: miR166 (alvo: fatores de transcrição HD-ZIP III), miR390 (alvos: loci geradores de tasiRNA) e *TAS3* (*TRANS-ACTING SIRNA3* = *tasiRNA*), cujo alvo é o fator de resposta a auxinas. Assim temos que o miR390 direciona a produção de transcritos do locus *Trans-Acting SIRNA3* (*TAS3* = *tasiRNAs* = *tasiARFs*), o qual regula os genes dos fatores de repostas à auxina (*ARF*). A atividade de miR390-*TAS3*-*ARF* representa uma via regulatória altamente conservada em plantas (Xia et al., 2017). Nas plantas adultas, a polaridade abaxial/adaxial da folha está associada com a atividade de miR166, miR390 e *TAS3* (Nogueira et al., 2007).

Em sequência ao desenvolvimento da inflorescência, está a determinação do sexo, outro fator crucial para a produtividade do milho (Zhang et al., 2019). Macho-esterilidade tem sido amplamente estudada, tanto do ponto de vista biológico quanto aplicado por causa da grande importância comercial para produção de sementes híbridas de milho (Shkibbe; Schnable, 2005). A característica macho-fertilidade em milho é determinada por um grande número de genes e sncRNAs, especialmente phasiRNAs de 21nt (miR2118) e phasi de 24nt (miR2275) (Zhai et al., 2015; Yu et al., 2018).

Com relação à resistência por infecção viral, análise de transcriptoma mostrou que 453 genes foram diferencialmente expressos em plantas de milho após a infecção com rice black-streaked dwarf virus (RBSDV) (Lu et al., 2005; Li et al., 2018). Os autores também demonstraram que os genes envolvidos na fotossíntese e metabolismo foram significativamente induzidos após a infecção viral e identificaram doze pares de interações miRNA-mRNA, sendo seis delas responsáveis pela resposta das plantas do milho ao RBSDV.

Estudos adicionais com o miR156 revelaram o gene *teosinte glume architecture1 (TGA1)* como alvo, demonstrando ser o responsável pelas alterações que originaram os grãos sem glumas da espiga do milho, além de também determinar o tamanho dos grãos (Wang et al., 2015a). Esses autores verificaram que a substituição de um aminoácido no fator de transcrição codificado pelo gene *TGA1* foi responsável por essa mudança. Em outro estudo ficou demonstrado que o gene *TGA1*, da família SBP-box e que codifica o fator de transcrição TCP também é alvo do *miR319*. A ligação de miR319 ao mRNA de TCP impede a tradução determinando um profundo aumento da dominância apical no desenvolvimento de plantas com apenas um perfilho (Doebley, 1993; Palatnik et al., 2003).

Pelo que foi exposto depreende-se a necessidade de adoção de estratégias de manipulação de miRNAs para melhorar a adaptabilidade e conseqüentemente a produtividade do milho. Isso poderá ser realizado de duas maneiras principais: 1- pela identificação e manipulação de genes miRNAs existentes no genoma do milho, que já foi completamente sequenciado, visando o silenciamento ou super expressão; 2- síntese química dos miRNAs maduros (amiR) (Schwab et al., 2006; Devers et al., 2013; Grant-Downton et al., 2013; Lafforgue et al., 2013; Gasparis et al., 2017; Petchthai et al., 2018). A Tabela 1 apresenta detalhes sobre algumas classes de miRNAs e seus alvos e auxilia na compreensão do potencial dessas pequenas moléculas de RNA não codantes no melhoramento e na regulação gênica e adaptabilidade de plantas.

Tabela 1. Funções de miRNAs no desenvolvimento de caracteres agrônômicos importantes em milho. (Continua...)

NOME	GENES ALVO	FUNÇÃO	AUTOR
miR156	tga1 Promotor do gene da proteína squamosa-like (SBP-Like). Fator de transcrição Apetala 2 (AP2) UB2/3	<ul style="list-style-type: none"> - Regula o gene TGA1, responsável pela domesticação dos grãos sem glumas do milho e pelo formato e tamanho das espigas - Atraza a transição do desenvolvimento juvenil para o adulto prolongando as características juvenis e atrasando o florescimento - A liberação de SPLs do controle do mi156 provoca a aquisição prematura de folhas adultas e florescimento precoce. - É um dos determinantes da arquitetura da planta - Determina a angulação das folhas e modula a arquitetura das inflorescências - Determina o sexo em plantas - Determina o número de ramificações dos pendões - Níveis baixos de miR156 são sempre detectados em pendões feminilizados de mutantes mop1 e ts1 (tassel-seed1) de milho. Nesses casos não ocorre a ligação de miR156-SPLs (SPL = <i>SQUAMOSA</i> Promoter-Binding Protein-Like gene family) com os alelos mutantes ts1, ts2, ts4, Ts6, e mop1 determinantes do sexo. - Regula a proliferação de meristema e o desenvolvimento de órgãos laterais - Determina o número de fileiras de grãos na espiga 	Kapoor et al. (2002) Wu e Poethig (2006) Shiba e Takayama (2007) Hultquist e Dorweiler (2008) Tripathi et al. (2018) Lima et al. (2012) Zhang et al. (2019)
miR159	fator de transcrição GAMYB MYB genes (MYB33 e MYB65)	<ul style="list-style-type: none"> - Regulados negativamente pela infecção causada pelo vírus do mosaico da cana (SCMV) - Provoca o crescimento indeterminado de meristemas, fasciação e alterações na determinação do sexo com alterações no desenvolvimento dos órgãos reprodutivos. 	Xia et al. (2018) De Luis et al. (2012) Allen et al. (2010) Thompson et al. (2014) Field e Thompson (2016)
miR160	Fator de resposta à auxina Aux/IAA ARF10 ARF16 ARF17	<ul style="list-style-type: none"> - Regula a via de sinalização de sinal - Regula o desenvolvimento floral - Confere tolerância aos estresses bióticos 	Wójcik et al. (2017)
miR161	Proteínas com repetições pentatricopeptídio UDP-D-glucuronato 4-epimerase	<ul style="list-style-type: none"> - Regula a edição de RNA - Regula a síntese de pectina 	Allen et al. (2004)
miR162	DICER-LIKE	<ul style="list-style-type: none"> - Determina o período de florescimento - Regula o silenciamento gênico induzido por vírus - Regula a produção de lsiRNA/ta-siRNAs 	Shao et al. (2015)
miR166 miR390	rolled leaf1, rld1	<ul style="list-style-type: none"> - Ambos regulam o desenvolvimento das plantas - O silenciamento (knockout) de miR166 (STTMmiR166) e a super-expressão do seu gene-alvo (rolled leaf1, rld1) provocam o enrolamento da lâmina foliar para cima causando adaxilação ou reversão parcial da polaridade da folha. 	Juarez et al. (2004) Li e Zhang (2016) Peng et al. (2018)
miR166, miR-390-TAS3	HD-ZIPIII, AS1/AS2 ASYMMETRIC LEAVES1	<ul style="list-style-type: none"> - Ambos controlam a polaridade e forma das folhas. 	Juarez et al. (2004)
miR156, miR160, miR166, miR167, miR169		<ul style="list-style-type: none"> - Envolvidos em diferentes fases do desenvolvimento e crescimento das plantas do milho. - Respostas aos estresses abióticos (seca e salinidade). - Alvos em genes da proteína ligadora ao promotor do gene squamosa (miR156); fator de resposta a auxinas (miR160); fator HD-ZIP (miR166); fator de ligação à CCAAT (miR167); e proteínas HAP-2-like (miR169). 	Mica et al. (2006) Djami-Tchatchou et al. (2017) Ravichandran et al. (2019)
miR164	ZmNAC1 fitosulcinas	<ul style="list-style-type: none"> - Determina folhas com margens serrilhadas em Arabidopsis - Confere tolerância à seca e salinidade - Confere tolerância aos estresses oxidativos - Importante regulador do desenvolvimento de raízes laterais, tendo como alvo o gene ZmNAC1. - Regula a via do desenvolvimento das sementes do milho - Regulação de sinalizadores de sinal 	Nikovics et al. (2006) Hochholdinger et al. (2018) Li et al. (2012) Zheng et al. (2019)
miR165 miR166	Fator de transcrição HD-ZIPIII, NF-YA	<ul style="list-style-type: none"> - É crítico durante a resposta de plantas aos estresses hídricos, salinidade e ABA ligando-se aos genes da subunidade A do fator de transcrição NF-YA. - Desenvolvimento foliar e vascular 	Luan et al. (2014)

Tabela 1. Funções de miRNAs no desenvolvimento de caracteres agrônômicos importantes em milho. (Continua...)

NOME	GENES ALVO	FUNÇÃO	AUTOR
miR166 miR390 TAS3	Polaridade das folhas	- miR390-TAS3 define o lado adaxial da folha restringindo a expressão de miR166, o qual, por sua vez, determina o lado abaxial das folhas ao inibir a expressão dos determinantes adaxial.	Juarez et al. (2004) Nogueira et al. (2007)
miR 167	Fator de resposta à auxina	- Regula o desenvolvimento floral - Regula a via de sinalização	Wang et al. (2015b)
miR168 miR528	AGO1 L-ascorbato oxidase e cobredoxinas	- Resposta a estresse biótico - Regulados positivamente durante a infecção pelo vírus do mosaico da cana (SCMV) - Regula o desenvolvimento da planta	Xia et al. (2018)
miR169	<i>NF-YA</i> Fator de transcrição que se liga à sequências CCAAT (CCAAT-binding transcription factor) Subunidade X do fotosistema ii	- A família de miR169 possui 18 membros que geram 10 miRNAs maduros, sendo que 8 deles se ligam a 7 dos 14 genes <i>ZmNF-YA</i> de milho, regulando suas atividades.	Douglas et al. (2010)
miR172	Promotor do gene proteína squamosa-like (SBP-Like) e o fator de transcrição <i>Apetala 2 (AP2)</i> <i>lds1, sid1, ts6</i>	- Controla o tempo e o padrão de desenvolvimento das inflorescências. - Responsável pela determinação do sexo da planta.	Jung et al. (2007) Jung et al. (2011) Zhu e Helliwell (2011) Wang et al. (2019b)
STTM/miR172 e mutantes <i>ts4</i> (genes <i>tassel-seed1</i> até <i>tasselseed4</i>)	<i>ids1</i> <i>sid1</i>	- Ambos, <i>STTM/172</i> e o mutante <i>ts4</i> , determinam a redução da expressão de miR172 e aumentam a expressão de dois genes alvo do miRNA172: <i>ids1</i> (indeterminate spikelet1) e <i>sid1</i> (sister of indeterminate spikelet1). As plantas mutantes apresentam ramificações irregulares nas inflorescências e feminilização do pendão causado pela ausência de aborto dos pistilos * STTM (short tandem target mimic) são sequências de nucleotídeos adicionadas às construções gênicas e atua bloqueando as funções de microRNAs de plantas e animais.	Aukerman e Sakai (2003) Chuck et al. (2009) Tang et al. (2012)
miR173	Ciclina Locus gerador de tasiRNA	- Regula o desenvolvimento da planta	Montgomery et al. (2008)
miR319	GRFs (growth regulating factors) Ciclina Proteína de transposon	- Interage com miR156 modulando a arquitetura da planta. - Regulação negativa de GRFs (growth regulating factors). - Regula a divisão celular. - Liga-se ao gene teosinte branched1 (<i>tb1</i>) que codifica o fator de transcrição TCP que é o principal responsável pela evolução do milho - Regula transposição	Palatnik et al. (2003) Yang et al. (2018)
miR396	<i>ZmGRF10</i>	- Tem como alvo o gene <i>ZmGRF10</i> (Fator 10 de regulação de crescimento). - Regula o tamanho das folhas e da planta	Wu et al. (2014)
miR390	ARF3 (Auxin Response Factor 3) Locus gerador de tasiRNA	- Induz a biogênese de TAS3-tasiRNA, o qual interage com ARF3 controlando o desenvolvimento das plantas. - Responsável pela polaridade das folhas - Regula o desenvolvimento da planta	Xie et al. (2005) Marin et al. (2010) Felippes et al. (2017)

Tabela 1. Funções de miRNAs no desenvolvimento de caracteres agrônômicos importantes em milho. (Continua...)

NOME	GENES ALVO	FUNÇÃO	AUTOR
miR394	Fator Sigma da RNA polimerase F-BOX	- Regula a transdução de sinal - Regula o Ciclo Celular	Vidal et al. (2010)
miR397	gene lacCase	- Regula a homeostase de cobre e a fixação simbiótica de nitrogênio - Confere tolerância ao estresse de frio - Confere tolerância ao estresse hídrico - Regula a biogênese da parede celular	Pilon (2017)
miR399	Proteína fosfato/E2 conjugada à ubiquitina Proteína induzida por deficiência de fósforo	- Regula a resposta aos baixos níveis de fosfato em milho - Reula a homeostase de fosfato	Du et al. (2018)
miR400	Proteína com repetições de Pentatricopeptídeo	- Regula a edição de RNA	Park et al. (2014)
miR414	Tubulina Proteínas contendo domínios FtsZ Proteína com repetições de Pentatricopeptídeo	- Regula a edição de RNA - Regulação da transcrição - Regula a montagem e desmontagem de microtúbulos	Djami-Tchatchou et al. (2017)
miR428	Transcritos de proteínas contendo cobre	- Regula as respostas a vários tipos de estresse abióticos e à infecção por vírus da ferrugem (stripe rust)	Feng et al. (2013) Ma et al. (2015)
miR474	Cinesina Proteína com repetições de Pentatricopeptídeo	- Regula o ciclo celular (mitose e meiose) - Regula o transporte de moléculas nas plantas - Regula a edição de RNAs	Zhou et al. (2010)
miR528	Proteínas com domínio F-box e LRR L-ascorbato oxidase	- miRNA específico de monocotiledôneas sendo um importante regulador do metabolismo de nitrogênio - Regula a tolerância ao arsenito em arroz (<i>Oryza sativa</i> L.).	Sun et al. (2018c)
miR827	genes SPX-MFS que controlam a homeostase de fósforo, Ubiquitina e Ligase E3	- Regula a resposta à deficiência de fósforo nas plantas	Lin et al. (2010)
miRNA 2118 (phasiRNA 21nt)	Genes determinantes do sexo ocl4	- phasiRNAs de 21 e 24 nt conferem macho-esterilidade quando superexpressado em anteras de milho. - Plantas mutantes para phasiRNA ocl4 (outer cell layer 4) de 21 nt são macho-estéreis, pois apresentam sinalizador epidermal defeituoso.	Zhai et al. (2015)
miR2275 (phasiRNA 24nt)		- Mutantes com deleção de phasiRNA ocl4 (outer cell layer 4) com 24 nt também apresentam macho-esterilidade por causada formação de anteras com subepiderme defectiva. Isso indica que dois tipos de phasiRNAs independentes regulam o desenvolvimento das anteras, sendo um pré-meiótico com 21 nt que regula o desenvolvimento da epiderme e outro phasiRNAs meiótico com 24 nt, que regula a diferenciação das células do tapetum.	

Referências

- ABDURAKHMONOV, I.; DEVOR, E. J.; ABDUKARIMOV, A. Molecular cloning and characterization of tissue expressed microRNAs in cotton, *G. hirsutum* L. In: INTERNATIONAL PLANT & ANIMAL GENOMES CONFERENCE, 15., 2007, San Diego. [Proceedings...]. San Diego: [s.n.], 2007.
- ADAMI, G. R.; TANGNEY, C. C.; TANG, J. L.; ZHOU, Y.; GHAFFARI, S.; NAGIB, A.; SINHA, S.; GREEN, S. J.; SCHWARTZ, J. L. Effects of green tea on miRNA and microbiome of oral epithelium. **Science Report**, v. 8, p. 5873, 2018.
- AKBERGENOV, R.; SI-AMMOUR, A.; BLEVINS, T.; AMIN, I.; KUTTER, C.; VANDERSCHUREM, H.; ZHANG, P.; GRUISSEM, W.; MEINS JR, F.; HOHN, T.; POOGGIN, M. M. Molecular characterization of geminivirus-derived small RNAs in different plant species. **Nucleic Acids Research**, v. 34, p. 462-471, 2006.
- ALLEN, E.; XIE, Z.; GUSTAFSON, A. M.; SUNG, G. H.; SPATAFORA, J. W.; CARRINGTON, J. C. Evolution of microRNA genes by inverted duplication of target gene sequences in *Arabidopsis thaliana*. **Nature Genetics**, v. 36, p. 1282-1290, 2004.
- ALLEN, R. S.; LI, J.; ALONSO-PERAL, M. M.; WHITE, R. G.; GUBLER, F.; MILLAR, A. A. MicroR159 regulation of most conserved targets in Arabidopsis has negligible phenotypic effects. **Silence**, v. 1, n. 1, p. 1-18, 2010.
- ALLES, J.; FEHLMANN, T.; FISCHER, U.; BACKES, C.; GALATA, V.; MINET, M.; HART, M.; HALIMA, M.A.; GRÄSSER, F. A.; LENHOF, H. P. An estimate of the total number of true human miRNAs. **Nucleic Acids Research**, v. 47, n. 7, p. 3353-3364, 2019.
- ALPTEKIN, B.; AKPINAR, B. A.; BUDAK, H. A Comprehensive prescription for plant miRNA identification. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, article 2058, 2016.
- AMBROS, V.; LEE, R. C.; LAVANWAY, A.; WILLIAMS, P. T.; JEWELL, D. MicroRNAs and other tiny endogenous RNAs in *C. elegans*. **Current Biology**, v. 13, p. 807-818, 2003.
- ARAVIN, A.; LAGOS-QUINTANA, M.; YALCIN, A.; ZAVALON, M.; MARKS, D.; SNYDER, B.; GAASTERLAND, T.; MEYER, J.; TUSCHL, T. The small RNA profile during *Drosophila melanogaster* development. **Development Cell**, v. 5, p. 337-350, 2003.
- ARGAMAN, L.; HERSHBERG, R.; VOGEL, J.; BEJERANO, G.; WAGNER, E. G.; MARGALIT, H.; ALTUVIA, S. Novel small RNA-encoding genes in the intergenic regions of *Escherichia coli*. **Current Biology**, v. 11, p. 941-950, 2001.
- ARRIBAS-HERNÁNDEZ, L.; MARCHAIS, A.; POULSEN, C.; HAASE, B.; HAUPTMANN, J.; BENES, V.; MEISTER, G.; BRODERSEN, P. The slicer activity of ARGONAUTE1 is required specifically for the phasing, not production, of trans-acting short interfering RNAs in Arabidopsis. **Plant Cell**, v. 28, p. 1563-1580, 2016.
- AUKERMAN, M. J.; SAKAI, H. Regulation of flowering time and floral organ identity by a microRNA and its *APETALA2*-Like target genes. **Plant Cell**, v. 15, p. 2730-2741, 2003.
- AXTELL, M. J.; MEYERS, B. C. Revisiting criteria for plant microRNA annotation in the era of big data. **The Plant Cell**, v. 30, p. 272-284, 2018.

BALDRICH, P.; HSING, Y. C.; SEGUNDO, B. S. Genome-wide analysis of polycistronic microRNAs in cultivated and wild rice. **Genome, Biology and Evolution**, v. 8, p. 1104-1114, 2016.

BARTEL, D. P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. **Cell**, v. 116, p. 281-297, 2004.

BAUMBERGER, N.; BAULCOMBE, D. C. Arabidopsis ARGONAUTE1 is a RNA slicer that selectively recruits microRNAs and short interfering RNAs. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, p. 11928-11933, 2005.

BERNSTEIN, E.; CAUDY, A. A.; HAMMOND, S. M.; HANNON, G. J. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. **Nature**, v. 409, p. 363-366, 2001.

BISWAS, S.; HALEYURGIRISETTY, M.; LEE, S.; HEWLETT, I.; DEVADAS, K. Development and validation of plasma miRNA biomarker signature panel for the detection of early HIV-1 infection. **EBioMedicine**, v. 43, p. 307-316, 2019.

BOLLMANN, S. R.; FANG, Y.; PRESS, C. M.; TYLER, B. M.; GRÜNWARD, N. J. Diverse evolutionary trajectories for small RNA biogenesis genes in the oomycete genus *Phytophthora*. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, article 284, 2016.

BURROUGHS, A. M.; ANDO, Y.; DE HOON, M. J.; TOMARU, Y.; NISHIBU, T.; UKEKA, W. A. R.; FUNAKOSHI, T.; KUROKAWA, T.; SUZUKI, H.; HAYASHIZAKI, Y.; DAUB, C. O. A comprehensive survey of 3' animal miRNA modification events and a possible role for 3' adenylation in modulating miRNA targeting effectiveness. **Genome Research**, v. 20, p. 1398-1410, 2010.

BOVE, J.; HORD, C. L. H.; MULLEN, M. A. The blossoming of RNA biology: novel insights from plant systems. **RNA**, v. 12, p. 2035-204, 2006.

BRANT, E. J.; BUDAK, H. Plant small non-coding RNAs and their roles in biotic stresses. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, article 1038, 2018.

BRAUN, J. E.; HUNTZINGER, E.; IZAURRALDE, E. A molecular link between miRISCs and deadenylases provides new insight into the mechanism of gene silencing by microRNAs. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 4, article 012328, 2012.

BRENNECKE, J.; STARK, A.; RUSSELL, R. B.; COHEN, S. M. Principles of microRNA-target recognition. **PLoS Biology**, v. 3, article R85, 2005.

CALIN, G. A.; DUMITRU, C. D.; SHIMIZU, M.; BICHI, R.; ZUPO, S.; NOCH, E. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, p. 15524-15529, 2002.

CASEY, M. C.; KERIN, M. J.; BROWN, J. A.; SWEENEY, K. J. Evolution of a research field: a micro (RNA) example. **Peer Journal**, v. 3, article e829, 2015.

CHEN, C.; ZENG, Z.; LIU, Z.; XIA, R. Small RNAs, emerging regulators critical for the development of horticultural traits. **Horticulture Research**, v. 5, article 63, 2018.

CHEN, X.; LIU, J.; CHENG, Y.; JIA, D. *HEN1* functions pleiotropically in Arabidopsis development and acts in C function in the flower. **Development**, v. 129, p. 1085-1094, 2002.

CHITWOOD, D. H.; GUO, M.; NOGUEIRA, F. T. S.; TIMMERMANS, M. C. P. Establishing leaf polarity: the role of small RNAs and positional signals in the shoot apex. **Development**, v. 134, p. 813-823, 2007.

CHOROSTECKI, U.; MORO, B.; ROJAS, A. M. L.; DEBERNARDI, J. M.; SCHAPIRE, A. L.; NOTREDAME, C.; PALATNIK, J. F. Evolutionary footprints reveal insights into plant microRNA biogenesis. **The Plant Cell**, v. 29, p. 1248-1261, 2017.

CHUCK, G.; CANDELA, H.; HAKE, S. Big impacts by small RNAs in plant development. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, p. 81-86, 2009.

CIGAN, A. M.; UNGER-WALLACE, E.; HAUG-COLLET, K. Transcriptional gene silencing as a tool for uncovering gene function in maize. **The Plant Journal**, v. 43, p. 929-940, 2005.

CORTIJO, S.; WARDENAAR, R.; COLOMÉ-TATCHÉ, M.; GILLY, A.; ETCHEVERRY, M.; LABADIE, K.; CAILLIEUX, E.; HOSPITAL, F.; AURY, J. M.; WINCKER, P.; ROUDIER, F.; JANSEN, R. C.; COLOT, V.; JOHANNES, F. Mapping the epigenetic basis of complex traits. **Science**, v. 343, n. 6175, p. 1145-1148, 2014.

CUI, J.; YOU, C.; CHEN X. The evolution of microRNAs in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 35, p. 61-67, 2017.

DALMAY, T. Mechanism of miRNA-mediated repression of mRNA translation. **Biochemical Society Essays Biochemistry**, v. 54, p. 29-38, 2013.

D'ARIO, M.; GRIFFITHS-JONES, S.; KIM, M. Small RNAs: big impact on plant development. **Trends in Plant Science**, v. 22, n. 12, p. 1056-1068, 2017.

DAROCHA, W. D.; OTSU, K.; TEIXEIRA, S. M.; DONELSON, J. E. Tests of cytoplasmic RNA interference (RNAi) and construction of a tetracycline-inducible T7 promoter system in *Trypanosoma cruzi*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 133, p. 175-186, 2004.

DASH, S. K.; MOHAPATRA, S. K.; MALIK, H. N. RNA Interference- a fine tuner of gene regulation: a review. **PLOS**, v. 6, n. 5, p. 35-39, 2015.

DE LUIS, A.; MARKMANN, K.; COGNAT, V.; HOLT, D. B.; CHARPENTIER, M.; PARNISKE, M.; STOUGAARD, J.; VOINNET, O. Two microRNAs linked to nodule infection and nitrogen-fixing ability in the legume *Lotus japonica*. **Plant Physiology**, v. 160, p. 2137-2154, 2012.

DENLI, A. H.; TOPS, B. B. J.; PLASTERK, R. H. A.; KETTING, R. F.; HANNON, G. J. Processing of primary microRNAs by the microprocessor complex. **Nature**, v. 432, p. 231-234, 2004.

DEVERS, E. A.; TEPLY, J.; REINERT, A.; GAUDE, N.; KRAJINSKI, F. An endogenous artificial microRNA system for unraveling the function of root endosymbioses related genes in *Medicago truncatula*. **BMC Plant Biology**, v. 13, article 82, 2013.

DJAMI-TCHATCHOU, A. T.; SANAN-MISHRA, N.; NTUSHELO, K.; DUBERY I. A. Functional roles of microRNAs in agronomically important plants - Potential as targets for crop improvement and protection. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, article 378, 2017.

DOEBLEY, J.; STEC, A.; HUBBARD, L. The evolution of apical dominance in maize. **Nature**, v. 386, p. 485-488, 1993.

- DOENCH, J. G.; SHARP, P. A. Specificity of microRNA target selection in translational repression, **Genes & Development**, v. 18, p. 504-511, 2004.
- DOLATA, J.; TAUBE, M.; BAJCZYK, M.; JARMOLOWSKI, A.; SZWEYKOWSKA-KULINSKA, Z.; BIELEWICZ, D. Regulation of plant microprocessor function in shaping microRNA landscape. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, article 753, 2019.
- DOUGLAS, R. N.; WILEY, D.; SARKAR, A.; SPRINGER, N.; TIMMERMANS, M. C.; SCANLON, M. J. Ragged, seedling2 encodes an ARGONAUTE7-like protein required for mediolateral expansion, but not dorsiventrality of maize leaves. **Plant Cell**, v. 22, p. 441-451, 2010.
- DU, Q.; WANG, K.; ZOU, C.; XU, C.; LI, W. X. The PILNCR1-miR399 regulatory module is important for low phosphate tolerance in maize. **Plant Physiology**, v. 177, p. 1743-1753, 2018.
- EAMENS, A. L.; MCHALE, M.; WATERHOUSE, P. M. The use of artificial microRNA technology to control gene expression in *Arabidopsis thaliana*. **Methods Molecular Biology**, v. 1062, p. 211-224, 2014.
- EBHARDT, H. A.; TSANG, H. H.; DAI, D. C.; LIU, Y.; BOSTAN, B.; FAHLMAN, R. P. Meta-analysis of small RNA-sequencing errors reveals ubiquitous post-transcriptional RNA modifications. **Nucleic Acids Research**, v. 37, n. 8, p. 2461-2470, 2009.
- EHRENREICH, I. M.; PURUGGANAN, M. D. Sequence variation of MicroRNAs and their binding sites in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 146, n. 4, p. 1974-1982, 2008.
- FANG, X.; QI, Y. RNAi in plants: an argonaute-centered view. **Plant Cell**, v. 28, n. 2, p. 272-285, 2016.
- FELIPPES, F. F.; MARCHAIS, A.; SARAZIN, A.; OBERLIN, S.; VOINNET, O. A single miR390 targeting event is sufficient for triggering TAS3-tasiRNA biogenesis in *Arabidopsis*. **Nucleic Acids Research**, v. 45, p. 5539-5554, 2017.
- FENG, H.; ZHANG, Q.; WANG, Q.; WANG, X.; LIU, J.; LI, M.; HUANG, L.; KANG, Z. Target of tae-miR408, a chemocyanin-like protein gene (TaCLP1), plays positive roles in wheat response to high-salinity, heavy cupric stress and stripe rust. **Plant Molecular Biology**, v. 83, p. 433-443, 2013.
- FIELD, S.; THOMPSON, B. Analysis of the maize dicer-like1 mutant, fuzzy tassel, implicates microRNAs in anther maturation and dehiscence. **PLoS ONE**, v. 11, article e0146534, 2016.
- FISCHER, S. E. J. Small RNA-mediated gene silencing pathways in *C. elegans*. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 42, p. 1306-1315, 2010.
- FIRE, A.; XU, S.; MONTGOMERY, M.; KOSTAS, S.; DRIVER, S.; MELLO, C. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. **Nature**, v. 391, n. 6669, p. 806-811, 1998.
- FLYNT, A. S.; LAI, E. C. Biological principles of microRNA-mediated regulation: shared themes amid diversity. **Nature Reviews in Genetics**, v. 9, p. 831-842, 2008.
- FUKUDOME, A.; FUKUHARA, T. Plant dicer-like proteins: double-stranded RNA-cleaving enzymes for small RNA biogenesis. **Journal of Plant Research**, v. 130, n. 1, p. 33-44, 2017.

GASPARIS, S.; KAŁA, M.; PRZYBOROWSKI, M.; ORCZYK, W.; NADOLSKA-ORCZYK, A. Artificial microRNA-based specific gene silencing of grain hardness genes in polyploid cereals appeared to be not stable over transgenic plant generations. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, article 2017, 2017.

GOTTESMAN, S.; STORZ, G. Bacterial small RNA regulators: versatile roles and rapidly evolving variations. **Cold Spring Harbor Perspective Biology**, v. 3, n. 12, article 003798, 2011.

GOTTESMAN, S. The small RNA regulators of *Escherichia coli*: roles and mechanisms. **Annual Review of Microbiology**, v. 58, p. 303-328, 2004.

GOZMANOVA M.; BAEV V.; APOSTOLOVA E.; SABLOK G.; YAHUBYAN G. Growing Diversity of plant microRNAs and *MIR*-Derived small RNAs. In: RAJEWSKY N.; JURGA S.; BARCISZEWSKI J. (Ed.). **Plant epigenetics**. Cham: Springer, 2017. p. 49-67. (RNA Technologies).

GRANT-DOWNTON, R.; KOURMPETLI, S.; HAFIDH, S.; KHATAB, H.; LE TRIONNAIRE, G.; DICKINSON, H.; TWELL, D. Artificial microRNAs reveal cell-specific differences in small RNA activity in pollen. **Current Biology**, v. 23, n. 14, p. R599-R601, 2013.

GRIMSON, A.; SRIVASTAVA, M.; FAHEY, B.; WOODCROFT, B. J.; CHIANG, H. R.; KING, N.; DEGNAN, B. M.; ROKHSAR, D. S.; BARTEL, D. P. Early origins and evolution of microRNAs and Piwi-interacting RNAs in animals. **Nature**, v. 455, p. 1193-1197, 2008.

GROSS, N.; KROPP, J.; KHATIB, H. MicroRNA signaling in embryo development. **Biology (Basel)**, v. 6, n. 3, article 34, 2017.

GULERIA, P.; MAHAJAN, M.; BHARDWAJ, J.; YADAV, S. K. Plant small RNAs: biogenesis, mode of action and their roles in abiotic stresses. **Genomics, Proteomics & Bioinformatics**, v. 9, n. 6, p. 183-199, 2011.

GUO, H. S.; XIE, Q.; FEI, J. F.; CHUA, N. H. MicroRNA directs mRNA cleavage of the transcription factor NAC1 to downregulate auxin signals for Arabidopsis lateral root development, **Plant Cell**, v. 17, p. 1376-1386, 2005.

GUO, Z.; KUANG, Z.; WANG, Y.; ZHAO, Y.; TAO, Y.; CHENG, C.; YANG, J.; LU, X.; HAO, C.; WANG, T.; CAO, X.; WEI, J.; LI, L.; YANG, X. PmiREN: a comprehensive encyclopedia of plant miRNAs. **Nucleic Acids Research**, v. 48, n. 1, p. 1114-1121, 2019.

GUO, Z.; CAI, X.; GUO, X.; XU, Y.; GONG, J.; LI, Y.; ZHU, W. Let-7b ameliorates Crohn's disease-associated adherent-invasive *E coli* induced intestinal inflammation via modulating Toll-Like Receptor 4 expression in intestinal epithelial cells. **Biochemical Pharmacology**, v. 156, p. 196-203, 2018.

HAN, J.; LEE, Y.; YEOM, K. H.; KIM, Y. K.; JIN, H.; KIM, V. N. The Drosha-DGCR8 complex in primary microRNA processing, **Genes & Development**, v. 18, p. 3016-3027, 2004.

HEILERSIG, H. J. B.; LOONEN, A.; BERGERVOET, M.; WOLTERS, A. M. A.; VISSER, R. G. F. Post-transcriptional gene silencing of GBSSI in potato: effects of size and sequence of the inverted repeats. **Plant Molecular Biology**, v. 60, n. 5, p. 647-662, 2006.

HIBARA, K. I.; REZAUL KARIM, M. D.; TAKADA, S.; TAOKA, K. I.; FURUTANI, M.; AINDA, M.; TASAKA, M. *Arabidopsis CUP-SHAPED COTYLEDON3* regulates postembryonic shoot meristem and organ boundary formation. **The Plant Cell**, v. 18, p. 2946-2957, 2006.

HOCHHOLDINGER, F.; YU, P.; MARCON, C. Genetic control of root system development in maize. **Trends Plant Science**, v. 23, p. 79-88, 2018.

- HOUBAVIY, H. B.; MURRAY, M. F.; SHARP, P. A. Embryonic stems cell-specific microRNAs. **Developmental Cell**, v. 5, p. 351-358, 2003.
- HULTQUIST, J. F.; DORWEILER, J. E. Feminized tassels of maize mop1 and ts1 mutants exhibit altered levels of miR156 and specific SBP-box genes. **Planta**, v. 229, p. 99-113, 2008.
- IIDA, K.; JIN, H.; ZHU, J. K. Bioinformatics analysis suggests base modifications of tRNAs and miRNAs in *Arabidopsis thaliana*. **BMC Genomics**, v. 10, article 155, 2009.
- IKI, T. Messages on small RNA duplexes in plants. **Journal of Plant Research**, v. 130, p. 7-16, 2017.
- IWAKAWA, H. O.; TOMARI, Y. The functions of microRNAs: mRNA decay and translational repression. **Trends in Cell Biology**, v. 25, n. 11, p. 651-665, 2015.
- IWAKAWA, H. O.; TOMARI, Y. Molecular insights into microRNA-mediated translational repression in plants. **Molecular Cell**, v. 52, p. 591-601, 2013.
- JANGRA, S.; CHAUDHARY, V.; YADAV, N. R. Transcription factors and microRNA interplay: a new strategy for crop improvement. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, article 1038, 2018.
- JASINSKI, S.; VIALETTE-GUIRAUD, A. C. M.; SCUTT, C. P. The evolutionary-developmental analysis of plant microRNAs. **Philosophical Transactions of Royal Society B**, v. 365, n. 1539, p. 469-476, 2010.
- JHA, A.; SHANKAR, R. miRNAting control of DNA methylation. **Journal of Biosciences**, v. 39, p. 365-380, 2014.
- JI, L.; CHEN, X. Regulation of small RNA stability: methylation and beyond. **Cell Research**, v. 22, p. 624-636, 2012.
- JIANG, R. P.; TANG, D. J.; CHEN, X. L.; HE, Y. Q.; FENG, J. X.; JIANG, B. L.; LU, G. T.; LIN, M.; TANG, J. L. Identification of four novel small non-coding RNAs from *Xanthomonas campestris* pathovar *campestris*. **BMC Genomics**, v. 11, article 316, 2010.
- JIAO, A. L.; FOSTER, D. J.; DIXON, J.; SLACK, F. J. lin-4 and the NRDE pathway are required to activate a transgenic lin-4 reporter but not the endogenous lin-4 locus in *C. elegans*. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 42, p. 1306-1315, 2018.
- JIN, Y.; ZHAO, J. H.; ZHAO, P.; ZHANG, T.; WANG, S.; GUO, H. S. A fungal miRNA mediates epigenetic repression of avirulence gene in *Verticillium dahliae*. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 374, article 20180309, 2019.
- JIU, S.; ZHU, X.; WANG, J.; ZHANG, C.; MU, Q.; WANG, C.; FANG, J. Genome-wide mapping and analysis of grapevine microRNAs and their potential target genes. **The Plant Genome**, v. 8, article 2, 2015.
- JUAREZ, M. T.; KUI, J. S.; THOMAS, J.; HELLER, B. A.; TIMMERMANS, M. C. microRNA-mediated repression of *rolled leaf1* specifies maize leaf polarity. **Nature**, v. 428, p. 84-88, 2004.
- JUNG, J. H.; SEO, P. J.; KANG, S. K.; PARK, C. M. miR172 signals are incorporated into the miR156 signaling pathway at the SPL3/4/5 genes in *Arabidopsis* developmental transitions. **Plant Molecular Biology**, v. 76, n. 1/2, p. 35-45, 2011.

JUNG, J. H.; SEO, Y. H.; SEO, P. J.; REYES, J. L.; YUN, J.; CHUA, N. H.; PARK, C. M. The *GIGANTEA*-regulated microRNA172 mediates photoperiodic flowering independent of *CONSTANS* in *Arabidopsis*. **Plant Cell**, v. 19, p. 2736-2748, 2007.

KANG, S. M.; CHOI, J. W.; LEE, Y.; HONG, S. H.; LEE, H. J. Identification of microRNA-size, small RNAs in *Escherichia coli*. **Current Microbiology**, v. 67, n. 5, p. 609-613, 2013.

KASSCHAU, K.; XIE, Z.; ALLEN, E.; LLAVE, C.; CHAPMAN, E. J.; KRIZAN, K. A.; CARRINGTON, J. C. P1/HC-Pro, a viral suppressor of RNA silencing interferes with *Arabidopsis* development and miRNA function. **Developmental Cell**, v. 4, p. 205-217, 2003.

KASAI, A.; BAI, S.; HOJO, H.; HARADA, T. Epigenome editing of potato by grafting using transgenic tobacco as siRNA donor. **PLOS ONE**, v. 11, n. 8, article e0161729, 2016.

KAPOOR, M.; TSUDA, S.; TANAKA, Y.; MAYAMA, T.; OKUYAMA, Y.; TSUCHIMOTO, S.; TAKATSUJI, H. Role of petunia pMADS3 in determination of floral organ and meristem identity, as revealed by its loss of function. **The Plant Journal of Cell Molecular Biology**, v. 32, p. 115-127, 2002.

KOZOMARA, A.; BIRGAOANU, M.; GRIFFITHS-JONES, M. S. miRBase: from microRNA sequences to function. **Nucleic Acids Research**, v. 47, n. D1, p. D155–D162, 2019.

KUHN, D. E.; MARTIN, M. M.; FELDMAN, D. S.; TERRY, A. V.; NUOVO, G. J.; ELTON, T. S. Experimental validation of miRNA targets. **Methods**, v. 44, n. 1, p. 47-54, 2008.

KURIHARA, Y.; WATANABE, Y. *Arabidopsis* micro-RNA biogenesis through Dicer-like 1 protein functions. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, p. 12753-12758, 2004.

LAFFORGUE, G.; MARTÍNEZ, F.; NIU, Q. W.; CHUA, N. H.; DARÒS, J. A.; ELENA, S. F. Improving the effectiveness of artificial microRNA (amiR)-mediated resistance against Turnip Mosaic Virus by combining two amiRs or by targeting highly conserved viral genomic regions. **Journal of Virology**, v. 87, n. 14, p. 8254-8256, 2013.

LAU, N. C.; LIM, L. P.; WEINSTEIN, E. G.; BARTEL, D. P. An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. **Science**, v. 294, p. 858-862, 2001.

LEE, R. C.; FEINBAUM, R. L.; AMBROS, V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. **Cell**, v. 75, p. 843-854, 1993.

LEE, R. C.; AMBROS, V. An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. **Science**, v. 294, p. 862-864, 2001.

LEE, Y.; AHN, C.; HAN, J.; CHOI, H.; KIM, J.; YIM, J.; LEE, J.; PROVOST, P.; RADMARK, O.; KIM, S.; KIM, V. N. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. **Nature**, v. 425, p. 415-419, 2003.

LEE, Y.; KIM, M.; HAN, J.; YEOM, K. H.; LEE, S.; BAEK, S. H. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. **Embo Journal**, v. 23, p. 4051-4060, 2004.

LEWIS, B. P.; BURGE, C. B.; BARTEL, D. P. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. **Cell**, v. 120, p. 15-20, 2005.

LEWIS, B. P.; SHIH, I. H.; JONES-RHOADES, M. W.; BARTEL, D. P.; BURGE, C. B. Prediction of mammalian microRNA targets. **Cell**, v. 115, p. 787-798, 2003.

LI, A.; LI, G.; ZHAO, Y.; MENG, Z.; ZHAO, M.; LI, C.; ZHANG, Y.; LI, P.; MA, C. L.; XIA, H.; ZHAO, S.; HOU, L.; ZHAO, C.; WANG, X. Combined small RNA and gene expression analysis revealed roles of miRNAs in maize response to rice black-streaked dwarf virus infection. **Scientific Reports**, v. 8, article 13502, 2018.

LI, C.; ZHANG, B. MicroRNAs in control of plant development. **Journal of Cell Physiology**, v. 231, n. 2, p. 303-313, 2016.

LI, J.; GUO, G.; GUO, W.; GUO, G.; TONG, D.; NI, Z.; SUN, Q.; YAO, Y. miRNA164-directed cleavage of ZmNAC1 confers lateral root development in maize (*Zea mays* L.). **BMC Plant Biology**, v. 12, article 220, 2012.

LIMA, J. C.; LOSS-MORAIS G.; MARGIS M. MicroRNAs play critical roles during plant development and in response to abiotic stresses. **Genetics and Molecular Biology**, v. 35, n. 4, p. 1069-1077, 2012. Supplement 1.

LIN, S. I.; SANTI, C.; JOBET, E.; LACUT, E.; EL KHOLTI, N.; KARLOWSKI, W. M.; VERDEIL, J. L.; BREITLER, J. C.; PÉRIN, C.; KO, S. S.; GUIDERDONI, E.; CHIOU, T. J.; ECHEVERRIA, M. Complex regulation of two target genes encoding SPX-MFS proteins by rice miR827 in response to phosphate starvation. **Plant Cell Physiology**, v. 51, p. 2119-2131, 2010.

LIU, W. W.; MENG, J.; CUI, J.; LUAN, Y. S. Characterization and function of microRNAs in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, article 2200, 2017a.

LIU, D.; MEWALAL, R.; HU, R.; TUSKAN, G. A.; YANG, X. New technologies accelerate the exploration of non-coding RNAs in horticultural plants. **Horticultural Research**, v. 4, article 17031, 2017b.

LIU, H.; WANG, X.; WANG, H. D.; WU, J.; REN, J.; MENG, L.; WU, Q.; DONG, H.; WU, J.; KAO, T. Y.; GE, Q.; WU, Z. X.; YUH, C. H.; SHANA, G. *Escherichia coli* noncoding RNAs can affect gene expression and physiology of *Caenorhabditis elegans*. **Nature Communications**, v. 3, article 1073, 2012.

LU, C.; TEJ, S. S.; LUO, S.; HAUDENSCHILD, C. D.; MEYERS, B. C.; GREEN, P. J. Elucidation of the small RNA component of the transcriptome. **Science**, v. 309, n. 5740, p. 1567-1569, 2005.

LU, S.; SUN, Y. H.; CHIANG, V. L. Adenylation of plant miRNAs. **Nucleic Acids Research**, v. 37, n. 6, p. 1878-1885, 2009.

LUAN, M.; XU, M.; LU, Y.; ZHANG, Q.; ZHANG, L.; ZHANG, C.; FAN, Y.; LANG, Z.; WANG, L. Family-wide survey of miR169s and NF-YAs and their expression profiles response to abiotic stress in maize roots. **PLOS-ONE**, v. 9, n. 3, article e91369, 2014.

LUSSER, M.; PARISI, C.; PLAN, D.; CERESO, E. R. **New plant breeding techniques**: state-of-the-art and prospects for commercial development. Luxembourg: European Commission, 2011. Disponível em: <<http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC63971/jrc63971.pdf>>. Acesso em: 18 jan. 2020.

MA, X.; ZHANG, Q.; ZHU, Q.; LIU, W.; CHEN, Y.; QIU, R.; WANG, B.; YANG, Z.; LI, H.; LIN, Y.; XIE, Y.; SHEN, R.; CHEN, S.; WANG, Z.; CHEN, Y.; GUO, J.; CHEN, L.; ZHAO, X.; DONG, Z.; LIU, Y. G. A robust CRISPR/Cas9 system for convenient, high-efficiency multiplex genome editing in monocot and dicot plants. **Molecular Plant**, v. 8, p. 1274-1284, 2015.

MARIN, E.; JOUANNET, V.; HERZ, A.; LOKERSE, A. S.; WEIJERS, D.; VAUCHERET, H.; NUSSAUME, L.; CRESPI, M. D.; MAIZEL, A. miR390, Arabidopsis TAS3 tasiRNAs, and their AUXIN RESPONSE FACTOR targets define an autoregulatory network quantitatively regulating lateral root growth. **Plant Cell**, v. 22, p. 1104-1117, 2010.

MASSÉ, E.; ESCORCIA, F. E.; GOTTESMAN, S. Coupled degradation of a small regulatory RNA and its mRNA targets in *Escherichia coli*. **Genes & Development**, v. 17, n. 19, p. 2374-2383, 2003.

MAUDET, C.; MANO, M.; EULALIO, A. MicroRNAs in the interaction between host and bacterial pathogens. **FEBS Letters**, v. 588, n. 22, p. 4140-4147, 2014.

MAXWELL, E. K.; RYAN, J. F.; SCHNITZLER, C. E.; BROWNE, W. E.; BAXEVANIS, A. D. MicroRNAs and essential components of the microRNA processing machinery are not encoded in the genome of the ctenophore *Mnemiopsis leidyi*. **BMC Genomics**, v. 13, article 714, 2012.

MAY, P.; LIAO, W.; WU, Y.; SHUAI, B.; MCCOMBIE, W. R.; ZHANG, M. Q.; LIU, Q. A. The effects of carbon dioxide and temperature on microRNA expression in Arabidopsis development. **Nature Communications**, v. 4, article 2145, 2013.

MEYERS, B. C.; AXTELL, M. J. MicroRNAs in plants: key findings from the early years. **The Plant Cell**, v. 31, p. 1206-1207, 2019.

MICA, E.; GIANFRANCESCHI, L.; PÈ, M. E. Characterization of five microRNA families in maize. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, p. 2601-2612, 2006.

MISKIEWICZ, J.; TOMCZYK, K.; MICKIEWICZ, A.; SARZYNSKA, J.; SZACHNIUK, M. Bioinformatics study of structural patterns in plant microRNA precursors. **BioMed Research International**, v. 2017, article 6783010, 2017.

MONTGOMERY, T. A.; YOO, S. J.; FAHLGREN, N.; GILBERT, S. D.; HOWELL, M. D.; SULLIVAN, C. M.; ALEXANDER, A.; NGUYEN, G.; ALLEN, E.; AHN, J. H.; CARRINGTON, J. C. AGO1-miR173 complex initiates phased siRNA formation in plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 51, p. 20055-20062, 2008.

MORAN, Y.; AGRON, M.; PRAHER, D.; TECHNAU, U. The evolutionary origin of plant and animal microRNAs. **Nature Ecology and Evolution**, v. 1, article 0027, 2017.

MORIN, R. D.; AKSAY, G.; DOLGOSHEINA, E.; EBHARDT, H. A.; MAGRINI, V.; MARDIS, E. R. Comparative analysis of the small RNA transcriptomes of *Pinus contorta* and *Oryza sativa*. **Genome Research**, v. 18, p. 571-584, 2008a.

MORIN, R. D.; O'CONNOR, M. D.; GRIFFITH, M.; KUCHENBAUER, F.; DELANEY, A.; PRABHU, A. L.; ZHAO, Y.; MCDONALD, H.; ZENG, T.; HIRST, M.; EAVES, C. J.; MARRA, M. A. Application of massively parallel sequencing to microRNA profiling and discovery in human embryonic stem cells. **Genome Research**, v. 18, n. 4, p. 610-621, 2008b.

MOTT, J. L.; MOHR, A. M. Overview of microRNA biology. **Seminar on Liver Disease**, v. 35, n. 1, p. 3-11, 2015.

MOURELATOS, Z.; DOSTIE, J.; PAUSHKIN, S.; SHARMA, A.; CHARROUX, B.; ABEL, L.; RAPPILBER, J.; MANN, M.; DREYFUSS, G. miRNPs: a novel class of ribonucleoproteins containing numerous microRNAs. **Genes & Development**, v. 16, p. 720-728, 2002.

MOYROUD, E.; MINGUET, E. G.; OTT, F.; YANT, L.; POSÉ, D.; MONNIAUX, M.; BLANCHET, S.; BASTIEN, O.; THÉVENON, E.; WEIGEL, D.; SCHMID, M.; PARCYA, F. Prediction of regulatory interactions from genome sequences using a biophysical model for the Arabidopsis LEAFY transcription factor. **Plant Cell**, v. 23, n. 4, p. 1293-1306, 2011.

NAGY, Á.; LÁNCZKY, A.; MENYHÁRT, O.; GYÖRFFY, B. Validation of miRNA prognostic power in hepatocellular carcinoma using expression data of independent datasets. **Scientific Report**, v. 8, article 9227, 2018.

NEILSEN, C. T.; GOODALL, G. J.; BRACKEN, C. P. IsomiRs—the overlooked repertoire in the dynamic microRNAome. **Trends Genetics**, v. 28, p. 544-549, 2012.

NOGUEIRA, F. T. S.; CHITWOOD, D. H.; MADI, S.; OHTSU, K.; SCHNABLE, P. S.; SCANLON, M. J.; TIMMERMANS, M. C. P. Regulation of small RNA accumulation in the maize shoot apex. **Plos Genetics**, v. 5, article e1000320, 2009.

NOGUEIRA, F. T.; MADI, S.; CHITWOOD, D. H.; JUAREZ, M. T.; TIMMERMANS, M. C. Two small regulatory RNAs establish opposing fates of a developmental axis. **Genes & Development**, v. 21, p. 750-755, 2007.

NIKOVICS, K.; BLEIN, T.; PEAUCELLE, A.; ISHIDA, T.; MORIN, H.; AIDA, M.; LAUFS, P. The balance between the MIR164A and CUC2 genes controls leaf margin serration in Arabidopsis. **Plant Cell**, v. 18, p. 2929-2945, 2006.

O'BRIEN, J.; HAYDER, H.; ZAYED, Y.; PENG, C. Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. **Frontiers in Endocrinology**, v. 9, article 402, 2018.

OKAMURA, K.; CHUNG, W. J.; LAI, E. C. The long and short of inverted repeat genes in animals: microRNAs, mirtrons and hairpin RNAs. **Cell Cycle**, v. 7, p. 2840-2845, 2008.

O'NEILL, G. GOBsmacking tales from the RNA world. **Australian Biotechnology News**, v. 14, p. 49-44, 2006.

PALATNIK, J. F.; ALLEN, E.; WU, X.; SCHOMMER, C.; SCHWAB, R.; CARRINGTON, J. C.; WEIGEL, D. Control of leaf morphogenesis by microRNAs. **Nature**, v. 425, n. 257-263, 2003.

PARK, M. Y.; WU, G.; GONZALEZ-SULSER, A.; VAUCHERET, H.; POETHIG, R. S. Nuclear processing and export of microRNAs in Arabidopsis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, n. 10, p. 3691-3696, 2005.

PARK, W.; LI, J.; SONG, R.; MESSING, J.; CHEN, X. Carpel factory, a Dicer homolog, and HEN1, a novel protein, act in microRNA metabolism in *Arabidopsis thaliana*. **Current Biology**, v. 12, p. 1484-1495, 2002.

PARK, Y. J.; LEE, H. J.; KWAK, K. J.; LEE, K.; HONG, S. W.; KANG, H. MicroRNA400-guided cleavage of pentatricopeptide repeat protein mRNAs renders *Arabidopsis thaliana* more susceptible to pathogenic bacteria and fungi. **Plant Cell Physiology**, v. 55, n. 9, p. 1660-1668, 2014.

PASQUINELLI, A. E. Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. **Nature**, v. 408, p. 86-89, 2000.

PEGLER, J. L.; OUTRAM, J. M. J.; GROF, C. P. L.; EAMENS, A. L. DRB1, DRB2 and DRB4 are required for appropriate regulation of the microRNA399/PHOSPHATE2 expression module in *Arabidopsis thaliana*. **Plants**, v. 8, article 124, 2019a.

PEGLER, J. L.; OUTRAM, J. M. J.; GROF, C. P. L.; EAMS, A. L. Profiling the abiotic stress responsive microRNA landscape of *Arabidopsis thaliana*. **Plants**, v. 8, article 58, 2019b.

PEI, L.; JIN, Z.; LI, K.; YIN, H.; WANG, J.; YANG, A. Identification and comparative analysis of low phosphate tolerance-associated microRNAs in two maize genotypes. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 70, p. 221-234, 2013.

PELÁEZ, P.; TREJO, M. S.; IÑIGUEZ, L. P.; ESTRADA-NAVARRETE, G.; COVARRUBIAS, A. A.; REYES, J. L.; SANCHEZ, F. Identification and characterization of microRNAs in *Phaseolus vulgaris* by high-throughput sequencing. **BMC Genomics**, v. 13, article 83, 2012.

PELISSON, A.; SAROT, E.; PAYEN-GROSCHENE, G.; BUCHETON, A. A Novel repeat-associated small interfering RNA-mediated silencing pathway downregulates complementary sense gypsy transcripts in somatic cells of the *Drosophila* ovary. **Journal of Virology**, v. 81, p. 1951-1960, 2006.

PENG, T.; QIAO, M.; LIU, H.; TEOTIA, S.; ZHANG, Z.; ZHAO, Y.; WANG, B.; ZHAO, D.; SHI, L.; ZHANG, C.; LE, B.; ROGERS, K.; GUNASEKARA, C.; DUAN, H.; GU, Y.; TIAN, L.; NIE, J.; QI, J.; TANG, G. A resource for inactivation of microRNAs using Short Tandem Target Mimic technology in model and crop plants. **Molecular Plant**, v. 11, p. 1400-1417, 2018.

PENG, Y.; CROCE, C. M. The role of MicroRNAs in human cancer. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 1, article 15004, 2016.

PETCHTHAI, U.; YEE, C. S. L.; WONG, S. Resistance to CymMV and ORSV in artificial microRNA transgenic *Nicotiana benthamiana* plants. **Scientific Report**, v. 8, article 9958, 2018.

PFEFFER, S.; ZAVOLAN, M.; GRASSER, F. A.; CHIEN, M.; RUSSO, J. J.; JU, J.; JOHN, B.; ENRIGHT, A. J.; MARKS, D.; SANDER, C.; TUSCHL, T. Identification of virus-encoded microRNAs. **Science**, v. 304, p. 734-736, 2004.

PILECZKI, V.; COJOCNEANU-PETRIC, R.; MARALANI, M.; NEAGOE, I. B.; SANDULESCU, R. microRNAs as regulators of apoptosis mechanisms in cancer. **Clujul Medicine**, v. 89, n. 1, p. 50-55, 2016.

PILON, M. The copper microRNAs. **New Phytologist**, v. 213, p. 1030-1035, 2017.

PREALL, J. B.; HE, Z.; GORRA, J. M.; SONTHEIMER, E. J. Short interfering RNA strand selection is independent of dsRNA processing polarity during RNAi in *Drosophila*. **Current Biology**, v. 16, p. 530-535, 2006.

RAVICHANDRAN, S.; RAGUPATHY, R.; EDWARDS, T.; DOMARATZKI, M.; CLOUTIER, S. MicroRNA-guided regulation of heat stress response in wheat. **BMC Genomics**, v. 20, article 488, 2019.

REINHART, B. J.; SLACK, F. J.; BASSON, M.; PASQUINELLI, A. E.; BETTINGER, J. C.; ROUGVIE, A. E.; HORVITZ, H. R.; RUVKUN, G. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. **Nature**, v. 403, p. 901-906, 2000.

REINHART, B. J.; WEINSTEIN, E. G.; JONES-RHOADES, M. W.; BARTEL, B.; BARTEL, D. P. MicroRNAs in plants. **Genes & Development**, v. 16, p. 1616-1626, 2002.

RINGQUIST, S.; SHINEDLING, S.; BARRICK, D.; GREEN, L.; BINKLEY, J.; STORMO, G. D.; GOLD, L. Translation initiation in *Escherichia coli*: sequences within the ribosome-binding site. **Molecular Microbiology**, v. 6, p. 9, p. 1219-1229, 1992.

RITLAND-POLITZ, J. C.; ZHANG, F.; PEDERSON, T. MicroRNA-206 colocalizes with ribosome-rich regions in both the nucleolus and cytoplasm of rat myogenic cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, p. 18957-18962, 2006.

ROBINSON, K. A.; BEVERLEY, S. M. Improvements in transfection efficiency and tests of RNA interference (RNAi) approaches in the protozoan parasite *Leishmania*. **Molecular Biochemistry Parasitology**, v. 128, p. 217-228, 2003.

ROGANS, S. J.; REY, C. Unveiling the micronome of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **PLoS ONE**, v. 11, article e0147251, 2016.

SAINI, H. K.; GRIFFITHS-JONES, S.; ENRIGHT, A. J. Genomic analysis of human microRNA transcripts. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 104, n. 45, p. 17719-17724, 2007.

SAMAD, F. A.; SAJAD, M.; NAZARUDDIN, N.; FAUZI, I. A.; MURAD, A. M. A.; ZAINAL, Z.; ISMAIL, I. MicroRNA and transcription factor: key players in plant regulatory network. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, article 565, 2017.

SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ, A.; OVANDO-MEDINA, I.; ADRIANO-ANAYA, L.; VÁZQUEZ-OVANDO, A.; SALVADOR-FIGUEROA, M. Dynamics of miR156 and miR172 involved in the flowering of *Jatropha curcas* L. **Acta Botanica Brasilica**, v. 32, n. 1, p. 99-106, 2018.

SANZ-CARBONELL, A.; MARQUES, M. C.; BUSTAMANTE, A.; FARES, M. A.; RODRIGO, G.; GOMEZ, G. Inferring the regulatory network of the miRNA-mediated response to biotic and abiotic stress in melon. **BMC Plant Biology**, v. 19, article 78, 2019.

SCHWAB, R.; OSSOWSKI, S.; RIESTER, M.; WARTHMAN, N.; WEIGEL, D. Highly specific gene silencing by artificial microRNAs in Arabidopsis. **Plant Cell**, v. 18, p. 1121-1133, 2006.

SCHWARZ, D. S.; HUTVAGNER, G.; DU, T.; XU, Z.; ARONIN, N.; ZAMORE, P. D. Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex. **Cell**, v. 115, p. 199-208, 2003.

SHAO, F.; QIU, D.; LU, S. Comparative analysis of the Dicer-like gene family reveals loss of miR162 target site in SmDCL1 from *Salvia miltiorrhiza*. **Nature Scientific Reports**, v. 5, article 9891, 2015.

SHAPULATOV, U.; VAN HOOGDALEM, M.; SCHREUDER, M.; BOUWMEESTER, H.; ABDURAKHMONOV, I. Y.; VAN DER KROL, A. R. Functional intron-derived miRNAs and host-gene expression in plants. **Plant Methods**, v. 14, article 83, 2018.

SHARMA, S.; BADOLA, P. K.; BHATIA, C.; SHARMA, D.; TRIVEDI P. K. **miRNA-encoded peptide, miPEP858, regulates plant growth and development in Arabidopsis**. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2019.

SHIBA, H.; TAKAYAMA, S. RNA silencing systems and their relevance to allele-specific DNA methylation in plants. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 71, p. 2632-2646, 2007.

SHINE, J.; DALGARNO, L. Determinant of cistron specificity in bacterial ribosomes. **Nature**, v. 254, n. 5495, p. 34-38, 1975.

SHKIBBE, D. S.; SCHNABLE, P. S. Male sterility in maize. **Maydica**, v. 50, p. 367-376, 2005.

SI, W.; SHEN, J.; ZHENG, H.; FAN, W. The role and mechanisms of action of microRNAs in cancer drug resistance. **Clinical Epigenetics**, v. 11, article 25, 2019.

SLATTERY, M. L.; MULLANY, L. E.; SAKODA, L. C.; WOLFF, R. K.; SAMOWITZ, W. S.; HERRICK, J. S. Dysregulated genes and miRNAs in the apoptosis pathway in colorectal cancer patients. **Apoptosis**, v. 23, n. 3, p. 237-250, 2018.

SONG, X.; LI, Y.; CAO, X.; QI, Y. MicroRNAs and their regulatory roles in plant-environment interactions. **Annual Review of Plant Biology**, v. 70, p. 489-525, 2019.

STORZ, G.; VOGEL, J.; WASSARMAN, K. M. Regulation by small RNAs in bacteria: expanding frontiers. **Molecular Cell**, v. 43, n. 6, p. 880-891, 2011.

SUBASIC, D.; BRÜMMER, A.; WU, Y.; PINTO, S. M.; IMIG, J.; KELLER, M.; JOVANOVIĆ, M.; LIGHTFOOT, H. L.; NASSO, S.; GOETZE, S.; BRUNNER, E.; HALL, J.; AEBERSOLD, R.; ZAVOLAN, M.; HENGARTNER, M. Cooperative target mRNA destabilization and translation inhibition by miR-58 microRNA family in *C. elegans*. **Genome Research**, v. 25, p. 1680-1691, 2015.

SUN, G. MicroRNAs and their diverse functions in plants. **Plant Molecular Biology**, v. 80, p. 17-36, 2012.

SUN, Q.; LIU, X.; YANG, J.; LIU, W.; DU, Q.; WANG, H.; FU, C.; LI, W. X. MicroRNA528 affects lodging resistance of maize by regulating lignin biosynthesis under nitrogen luxury conditions. **Molecular Plant**, v. 11, p. 806-814, 2018a.

SUN, W.; XIANG, X.; ZHAI, L.; ZHANG, D.; CAO, Z.; LIU, L.; ZHANG, Z. AGO18b negatively regulates determinancy of spikelet meristems on the tassel central spike in maize. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 60, p. 65-78, 2018b.

SUN, Z.; LI, M.; ZHOU, Y.; GUO, T.; LIU, Y.; ZHANG, H.; FANG, Y. Coordinated regulation of Arabidopsis microRNA biogenesis and red light signaling through Dicer-like 1 and phytochrome-interacting factor 4. **PLoS Genetics**, v. 14, article e1007247, 2018c.

SZAKONYI, D.; CONFRARIA, A.; VALERIO, C.; DUQUE, P.; STAIGER, D. Plant RNA biology. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, article 887, 2019.

TABARA, H.; YIGIT, E.; SIOMI, H.; MELLO, C. C. The dsRNA binding protein RDE-4 interacts with RDE-1, DCR-1, and a DEXH-box helicase to direct RNAi in *C. elegans*. **Cell**, v. 109, p. 861-871, 2002.

TAM, W. Identification and characterization of human *BIC*, a gene in chromosome 21 that encodes a noncoding RNA. **Gene**, v. 274, p. 157-167, 2001.

TAN, W.; LIU, B.; QU, S.; LIANG, G.; LUO, W.; GONG, C. MicroRNAs and cancer: key paradigms in molecular therapy. **Oncology Letters**, v. 15, n. 3, p. 2735-2742, 2018.

TANG, F.; WEI, H.; ZHAO, S.; WANG, L.; ZHEN, H.; LU, M. Identification of microRNAs involved in regeneration of the secondary vascular system in *Populus tomentosa* Carr. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, article 724, 2016.

TANG, G.; YAN, J.; GU, Y.; QIAO, M.; FAN, R.; MAO, Y.; TANG, X. Construction of short tandem target mimic (STTM) to block the functions of plant and animal microRNAs. **Methods**, v. 58, n. 2, p. 118-125, 2012.

THOMPSON, B. E.; BASHAM, C.; HAMMOND, R.; DING, Q.; KAKRANA, A.; LEE, T. F.; SIMON, S. A.; MEELEY, R.; MEYERS, B. C.; HAKE, S. The dicer-like1 homolog fuzzy tassel is required for the

regulation of meristem determinacy in the inflorescence and vegetative growth in maize. **Plant Cell**, v. 26, p. 4702-4717, 2014.

TRIPATHI, R. K.; BREGITZER, R. P.; SINGH, J. Genome-wide analysis of the SPL/miR156 module and its interaction with the AP2/miR172 unit in barley. **Scientific Reports**, v. 8, article 7085, 2018.

VALENCIA-SANCHEZ, M. A.; LIU, J.; HANNON, G. J.; PARKER, R. Control of translation and mRNA degradation by miRNAs and siRNAs. **Genes & Development**, v. 20, p. 515-524, 2006.

VERGOULIS, T.; KANELLOS, I.; KOSTOULAS, N.; GEORGAKILAS, G.; SELLIS, T.; HARTZIGEORGIOU, A.; DALAMAGAS, D. mirPub: a database for searching microRNA publications. **Bioinformatics**, v. 31, n. 9, p. 1502-1504, 2015.

VIDAL, E. A.; ARAUS, V.; LU, C.; PARRUY, G.; GREEN, P. J.; CORUZZI, G. M.; GUTIÉRREZ, R. A. Nitrate-responsive miR393/AFB3 regulatory module controls root system architecture in *Arabidopsis thaliana*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 9, p. 4477-4482, 2010.

WAKIYAMA, M.; TAKIMOTO, K.; OHARA, O.; YOKOYAMA, S. Let-7 microRNA-mediated mRNA deadenylation and translational repression in a mammalian cell-free system. **Genes Development**, v. 21, p. 1857-1862, 2007.

WANG, B.; LOVE, T. M.; CALL, M. E.; DOENCH, J. G.; NOVINA, C. D. Recapitulation of short RNA-directed translational gene silencing in vitro. **Molecular Cell**, v. 22, p. 553-560, 2006.

WANG, H.; STUDER, A. J.; ZHAO, Q.; MEELEY, R.; DOEBLEY, J. F. Evidence that the origin of naked kernels during maize domestication was caused by a single amino acid substitution in *tga1*. **Genetics**, v. 200, n. 3, p. 965-974, 2015a.

WANG, Y.; LI, K.; CHEN, L.; ZOU, Y.; LIU, H.; TIAN, Y.; LI, D.; WANG, R.; ZHAO, F.; FERGUSON, B. J.; GRESSHOFF, P. M.; LI, X. MicroRNA167-directed regulation of the auxin response factors GmARF8a and GmARF8b is required for soybean nodulation and lateral root development. **Plant Physiology**, v. 168, n. 3, p. 984-999, 2015b.

WANG, J. F.; MEI, J.; REN, G. Plant microRNAs: biogenesis, homeostasis, and degradation. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, article 360, 2019a.

WANG, T.; PING, X.; CAO, Y.; JIAN, H.; GAO, Y.; WANG, J.; TAN, Y.; XU, X.; LU, K.; LI, J.; LIU, L. Genome-wide exploration and characterization of miR172/euAP2 genes in *Brassica napus* L. for likely role in flower organ development. **BMC Plant Biology**, v. 19, article 336, 2019b.

WATERS, L. S.; STORZ, G. Regulatory RNAs in bacteria. **Cell**, v. 136, n. 4, p. 615-628, 2009.

WATERS, S. A.; MCATEER, S. P.; KUDKLA, G.; PANG, I.; DESHPANDE, N. P.; AMOS, T. G.; LEONG, K. W.; WILKINS, M. R.; STRUGNELL, R.; GALLY, D. L.; TOLLERVEY, D.; TREE, J. J. Small RNA interactome of pathogenic *E. coli* revealed through crosslinking of RNase E. **EMBO Journal**, v. 36, p. 374-387, 2017.

WÓJCIK, A. M.; NODINE, M. D.; GAJ, M. D. miR160 and miR166/165 contribute to the LEC2-mediated auxin response involved in the somatic embryogenesis induction in *Arabidopsis*. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, article 2024, 2017.

WU, G.; POETHIG, R. S. Temporal regulation of shoot development in *Arabidopsis thaliana* by miR156 and its target *SPL3*. **Development**, v. 133, p. 3539-3547, 2006.

WU, L.; ZHANG, D.; XUE, M.; QIAN, J.; HE, Y.; WANG, S. Overexpression of the maize GRF10, an endogenous truncated growth-regulating factor protein, leads to reduction in leaf size and plant height. **Journal of Integrated Plant Biology**, v. 56, p. 1053-1063, 2014.

WU, L.; FAN, J.; BELASCO, J. G. MicroRNAs direct rapid deadenylation of mRNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 11, p. 4034-4039, 2006.

XIA, R.; XU, J.; MEYERS, B. C. The emergence, evolution, and diversification of the miR390-TAS-3-ARF pathway in land plants. **The Plant Cell**, v. 29, p. 1232-1247, 2017.

XIA, Z.; ZHAO, Z.; LI, M.; CHEN, L.; JIAO, Z.; WU, Y.; ZHOU, T.; YU, W.; FAN, Z. Identification of miRNAs and their targets in maize in response to sugarcane mosaic virus infection. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 125, p. 143-152, 2018.

XIE, Z.; ALLEN, E.; WILKEN, A.; CARRINGTON, J. C. DICER-LIKE 4 functions in trans-acting small interfering RNA biogenesis and vegetative phase change in *Arabidopsis thaliana*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, p. 12984-12989, 2005.

YANG, K.; WEN, X.; MUDUNURI, S. B.; SABLOK, G. Plant IsomiR Atlas: large scale detection, profiling, and target repertoire of isomiRs in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, article 1881, 2019.

YANG, T.; WANG, Y.; TEOTIA, S.; ZHANG, Z.; TANG, G. The making of leaves: how small RNA networks modulate leaf development. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 170, 2018.

YANG, X.; REN, W. Q.; ZHAO, Q. X.; ZHANG, P.; WU, F. J.; HE, Y. K. Homodimerization of HYL1 ensures the correct selection of cleavage sites in primary miRNA. **Nucleic Acids Research**, v. 42, p. 12224-12236, 2014.

YANG, Z.; EBRIGHT, Y. W.; YU, B.; CHEN, X. HEN1 recognizes 21-24 nt small RNA duplexes and deposits a methyl group onto the 2' OH of the 3' terminal nucleotide. **Nucleic Acids Research**, v. 34, p. 667-675, 2006.

YOSHIKAWA, M.; PERAGINE, A.; PARK, Y.; POETHIG, R. S. A pathway for the biogenesis of trans-acting siRNAs in Arabidopsis. **Genes & Development**, v. 19, p. 2164-2175, 2005.

YU, B.; YANG, Z.; LI, J.; MINAKHINA, S.; YANG, M.; PADGETT, R. W.; STEWARD, R.; CHEN, X. Methylation as a crucial step in plant microRNA biogenesis, **Science**, v. 307, p. 932-935, 2005.

YU, Y.; ZHOU, Y.; ZHANG, Y.; CHEN, Y. Grass phasiRNAs and male fertility. **Scientia China Life Science**, v. 6, p. 148-154, 2018.

YU, Y.; JIA, T.; CHEN, X. The 'how' and 'where' of plant microRNAs. **New Phytologist**, v. 216, n. 4, p. 1002-1017, 2017.

ZANCA, A. S.; VICENTINI, R.; ORTIZ-MOREA, F. A.; DEL BEM, L. E.; SILVA, M. J. da; VINCENTZ, M.; NOGUEIRA, F. T. Identification and expression analysis of microRNAs and targets in the biofuel crop sugarcane. **BMC Plant Biology**, v. 10, article 260, 2010.

ZENG, J.; GUPTA, V. K.; JIANG, Y.; YANG, B.; GONG, L.; ZHU, H. Cross-kingdom small RNAs among animals, plants and microbes. **Cells**, v. 8, n. 4, article 371, 2019.

ZHAI, J.; ZHANG, H.; ARIKIT, S.; HUANG, K.; NAN, G. L.; WALÇBOT, V.; MEYERS, B. C. Spatiotemporally dynamic, cell-type-dependent premeiotic and meiotic phasiRNAs in maize anthers. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, p. 3146-3151, 2015.

ZHANG, B.; PAN, X.; ANDERSON, RSON, T. Identification of 188 conserved maize microRNAs and their targets. **FEBS Letters**, v. 580, p. 3753-3762, 2006.

ZHANG, J.; XUE, B.; GAI, M.; SONG, S.; JIA, N.; SUN, H. Small RNA and transcriptome sequencing reveal a potential miRNA-mediated interaction network that functions during somatic embryogenesis in *Lilium pumilum* DC. Fisch. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, article 566, 2017.

ZHANG, J.; ZHANG, H.; SRIVASTAVA, A. K.; PAN, Y.; BAI, J.; FANG, J.; SHI, H.; ZHU, J. K. Knockdown of rice microRNA166 confers drought resistance by causing leaf rolling and altering stem xylem development. **Plant Physiology**, v. 176, p. 2082-2094, 2018a.

ZHANG, N.; ZHANG, D.; CHEN, S. L.; GONG, B. Q.; GUO, Y.; XU, L.; ZHANG, X. N.; LI, J. F. Engineering artificial microRNAs for multiplex gene silencing and simplified transgenic screen. **Plant Physiology**, v. 178, p. 989-1001, 2018b.

ZHANG, Z.; TEOTIA, S.; TANG, J.; TANG, G. Perspectives on microRNAs and phased small interfering RNAs in maize (*Zea mays* L.): functions and big impact on agronomic traits enhancement. **Plants (Basel)**, v. 8, n. 6, article 170, 2019.

ZHENG, L.; ZHANG, X.; ZHANG, H.; GU, Y.; HUANG, X.; HUANG, H.; LIU, H.; ZHANG, J.; HU, Y.; LI, Y.; YU, G.; LIU, Y.; LAWSON, S. S.; HUANG, Y. The miR164-dependent regulatory pathway in developing maize seed. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 294, n. 2, p. 501-517, 2019.

ZHOU, L.; LIU, Y.; LIU, Z.; KONG, D.; DUAN, M.; LUO, L. Genome-wide identification and analysis of drought-responsive microRNAs in *Oryza sativa*. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, n. 15, p. 4157-4168, 2010.

ZHU, C.; LIU, T.; CHANG, Y. N.; DUAN, C. G. Small RNA functions as a trafficking effector in plant immunity. **International Journal of Molecular Science**, v. 20, n. 11, article 2816, 2019.

ZHU, Q. H.; HELLIWELL, C. A. Regulation of flowering time and floral patterning by miR172. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 62, p. 487-495, 2011.

Embrapa

Milho e Sorgo



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO

