República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 0913657-6 A2

(22) Data do Depósito: 01/07/2009

(43) Data da Publicação Nacional: 04/08/2020

(54) Título: CONSTRUCTOS DE DNA RECOMBINANTE E MÉTODOS PARA A MODULAÇÃO DA EXPRESSÃO DE UM GENE-ALVO

(51) Int. Cl.: C12N 15/11; C12N 5/10.

(30) Prioridade Unionista: 01/07/2008 US 61/077,244.

(71) Depositante(es): MONSANTO TECHNOLOGY LLC.

(72) Inventor(es): BARBARA E. WIGGINS; YUANJI ZHANG; SERGEY I. IVASHUTA.

(86) Pedido PCT: PCT US2009049392 de 01/07/2009

(87) Publicação PCT: WO 2010/002984 de 07/01/2010

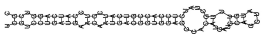
(85) Data da Fase Nacional: 29/12/2010

(57) Resumo: CONSTRUCTOS DE DNA RECOMBINANTE E MÉTODOS PARA A MODULAÇÃO DA EXPRESSÃO DE UM GENE-ALVO. A presente invenção refere-se a constructos de DNA recombinante e métodos para manipular a expressão de um gene-alvo, que é regulado por um RNA pequeno, interferindo com a ligação do RNA pequeno ao seu gene-alvo. Mais especificamente, esta invenção divulga constructos de DNA recombinante que codifica bloqueadores de clivagem de codificação, bloqueadores de clivagem 5-modificados, e inibidores der tradução úteis para modular a expressão de um gene-alvo e seus métodos de utilização. Outros alvos descritos são miRNA úteis para a construção de constructos de DNA recombinante, incluindo transgenes miRNA não-responsivos, protetores de miRNA, bloqueadores de clivagem, bloqueadores de clivagem 5-modificados e inibidores de tradução, bem como seus métodos de utilização, e células eucarióticas transgênicas e organismos que contêm tais constructos.

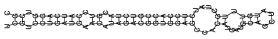
FIGURA 1



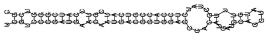
A



B



C



D

'-CTCCACCGTCA**AT**TGTTCATCA-3' (**SEQ ID NO: 2**) (Sítio de reconhecimento de
(RNA GL1)
'-GAGGTGGCAG**TA**ACAAGTAGT-5' (**SEQ ID NO: 6**) (miRGL1 maduro)
'-GAGGTGGCAG**AT**ACAAGTAGT-5' (**SEQ ID NO: 8**) (miRGL1-CB maduro)
'-g**a**CCACCGTC**AT**GTTCATCA-3' (**SEQ ID NO: 10**) (sítio de reconhecimento de
:l artificial no sensor miRGL1)

E

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"CONSTRUCTOS DE DNA RECOMBINANTE E MÉTODOS PARA A MODULAÇÃO DA EXPRESSÃO DE UM GENE-ALVO".**

Referência Cruzada aos Pedidos Relacionados e Incorporação das Listagens de Sequência

Este pedido reivindica o benefício da prioridade do Pedido de Patente Provisório U.S. 61/077.244, depositado no dia 1º de julho de 2008, que será incorporado por referência no presente documento a sua totalidade. A listagem de sequência que está contida no arquivo chamado "38-21_55745_A.txt", que é 2.574 quilobites (medido no sistema operacional MS-Windows), criado no dia 27 de junho de 2008, e depositado, apresentada por submissão eletrônica com o Pedido de Patente Provisório U.S. 61/077.244, no dia 1º de julho de 2008, será incorporada por referência na íntegra no presente documento. A listagem de sequência que está contida no arquivo chamado "38-21_55745_B_replacement.txt", que é 2.611 quilobites (medido no sistema operacional MS-Windows), criado no dia 1º de setembro de 2009, e eletronicamente depositado no dia 10 de setembro de 2009 é incorporada aqui por referência.

Campo da Invenção

São descritos neste documento os constructos de DNA recombinante com DNA que sofrem processamento para um RNA fornecendo de clivagem de RNase III para a transcrição do gene-alvo. Tais RNAs servem como bloqueadores de clivagem e inibidores de tradução úteis para modular a expressão de um gene-alvo. Além disso, são descritas sequências do sítio de reconhecimento de miRNA e seus usos na elaboração de constructos de DNA recombinante, incluindo transgenes não-responsivos ao miRNA, atratores de miRNA, bloqueadores de clivagem, e inibidores de tradução. Também são descritas células vegetais transgênicas, plantas e sementes não-naturais que contêm em seus genomas um constructo de DNA recombinante desta invenção. Além disso, são descritos os métodos de modular a expressão de um gene-alvo, utilizando DNA recombinante construções desta invenção.

Antecedentes da Invenção

Várias vias celulares envolvidas na supressão do gene mediada por RNA têm sido descritos, cada um distinto por uma via característica e componentes específicos. Geralmente, a supressão do gene mediada por RNA envolve um intermediário de RNA de fita dupla (dsRNA) que é formado intramolecularmente em uma molécula de RNA simples ou intermolecularmente entre duas moléculas de RNA. Este intermediário de dsRNA mais longo é processado por uma ribonuclease da família RNase III (ribonuclease Dicer ou tipo Dicer) a um ou mais RNAs de fita dupla pequenos, uma fita do qual sendo incorporada pela ribonuclease no complexo silenciador induzido por RNA ("RISC"). Acredita-se que a dita fita incorporada em RISC depende de certas propriedades termodinâmicas do RNA pequeno de fita dupla, como aquelas descritas por Schwarz et al. (2003) Cell, 115: 199-208, e Khvorova et al. (2003) Cell, 115: 209-216.

A via de siRNA envolve a clivagem não em fase de um intermediário de fita dupla mais longo aos RNAs interferentes pequenos ("siRNAs"). O tamanho dos siRNAs é considerado como variando faixa de cerca de 19 a cerca de 25 pares de base, mas as classes comuns de siRNAs incluem aquelas contendo 21 pares de base ou 24 pares de bases. Ver, por exemplo, Hamilton et al. (2002) EMBO J., 21: 4671-4679.

A via de microRNA envolve microRNAs ("miRNAs"), RNAs de codificação não-proteicos geralmente entre cerca de 19 a cerca de 25 nucleotídeos (comumente cerca de 20 a 24 nucleotídeos nas plantas) que guiam a clivagem guia *in trans* de transcritos alvos, regulando negativamente a expressão dos genes envolvidos nas várias regulações e vias de desenvolvimento; ver Ambros et al. (2003) RNA, 9: 277-279. miRNAs que ocorrem naturalmente são derivados de um transcrito primário ("pri-miRNA") que é naturalmente processado para um transcrito mais curto ("pré-miRNA"), que em si é adicionalmente processado ao miRNA maduro. Para uma revisão recente da biogênese do miRNA tanto em plantas quanto em animais, ver Kim (2005) *Nature Rev. Mol. Cell Biol.,* 6:376-385. A regulação gênica das vias biológicas por miRNAs pode ocorrer em vários níveis e de diferentes manei-

ras, incluindo a regulação de genes únicos ou múltiplos, a regulação dos reguladores da transcrição e regulação da união alternativa, ver Makeyev & Maniatis (2008) Science, 319: 1789-1790. Várias utilidades de miRNAs, seus precursores, seus sítios de reconhecimento e seus promotores são descritos em detalhes na Publicação de Pedido de Patente U.S. 2006/0200878 A1, especificamente incorporados por referência no presente documento, que incluem: (1) a expressão de um miRNA natural ou uma sequência precursora de miRNA para suprimir um gene-alvo; (2) a expressão de um miRNA manipulado (não-natural) ou sequência precursora de miRNA para suprimir um gene-alvo; (3) expressão de um transgene com um sítio de reconhecimento de miRNA, em que o transgene é suprimido quando o miRNA maduro correspondente é expresso, seja endogenamente ou transgenicamente; e (4) expressão de um transgene direcionada por um promotor de miRNA.

Na via de siRNA de atuação *trans* ("ta-siRNA"), miRNAs serve para direcionar o processamento em fase de transcritos primários de siRNA em um processo que requer uma RNA polimerase dependente de RNA para a produção de um precursor de RNA de fita dupla; siRNAs de atuação trans são definidos pela falta de estrutura secundária, um site-alvo do miRNA que inicia a produção de RNA de fita dupla, os requisitos de DCL4 e uma RNA polimerase dependente de RNA (RDR6), e a produção de múltiplos RNAs pequenos de ~ 21 nt perfeitamente em fase com dúplices perfeitamente emparelhados com projeções 3' de 2-nucleotídeos (ver Allen et al (2005) Cell, 121: 207-221; Vazquez et al (2004) Mol. Cell, 16: 69-79).

A via do RNA pequeno em fase ("sRNA em fase") (ver o pedido de patente PCT PCT/US2007/019283, publicado como WO 2008/027592) é baseado em um locus endógeno denominado "locus de RNA pequeno em fase", que transcreve a um transcrito de RNA formando uma estrutura de dobra posterior única que é clivada em fase *in vivo* em vários RNAs de fita dupla pequenos (denominados "RNAs pequenos em fase") capaz de suprimir um gene-alvo. Ao contrário dos siRNAs, um transcrito de RNA pequeno em fase é clivado em fase. Ao contrário dos miRNAs, um transcrito de RNA pequeno em fase é clivado por DCL4 ou ribonuclease ortóloga tipo DCL4

(não DCL1) para vários RNAs pequenos abundantes capazes de silenciar um gene-alvo. Ao contrário da via ta siRNA, o locus do RNA pequeno em fase transcreve a um transcrito de RNA que forma o RNA hibridizado independentemente de uma RNA polimerase dependente de RNA e sem um sítio alvo de miRNA que inicia a produção de RNA de fita dupla.

A supressão de genes mediada por RNAs pequenos de transcritos antissentido naturais foi relatada em pelo menos duas vias. Na via de RNA interferente pequeno de transcrito antissentido natural ("nat-siRNA") (Borsani et al. (2005) Cell, 123: 1279-1291), siRNAs são gerados por clivagem DCL1 de uma RNA de fita dupla formado entre os dois transcritos antissentido de um par de genes (pares de genes cis-antissentido). Uma via de microRNA de transcrito antissentido natural similar ("nat-miRNA") (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA,* 105: 4951-4956) também foi relatada. Em animais metazoários, pequenos RNAs denominados RNAs de interação Piwi ("piRNAs") foram relatados como tendo atividade silenciamento gênico (Lau et al (2006) Science, 313: 363-367;. O' Donnell & Boeke (2007) Cell, 129: 37-44).

Sumário da Invenção

Em um aspecto, esta invenção fornece um constructo de DNA recombinante, incluindo DNA que sofre processamento a um RNA incluindo um RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que confere resistência de clivagem ao transcrito por uma ribonuclease de RNAse III dentro ou na vizinhança do segmento hibridizado.

Outro aspecto da presente invenção fornece um constructo de DNA recombinante que codifica um "bloqueador de clivagem" para inibir a supressão mediada por RNA de fita dupla de pelo menos um gene-alvo, deste modo aumentando a expressão do gene-alvo (em relação à expressão na ausência do bloqueador de clivagem). Uma modalidade é um constructo de DNA recombinante, incluindo DNA, que sofre processamento a um RNA incluindo um RNA de fita simples que se liga com o transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA de fita dupla

pelo menos parcialmente que confere resistência à clivagem ao transcrito por uma ribonuclease RNase III dentro ou na vizinhança do segmento hibridizado, em que a ligação do RNA de fita simples ao transcrito (e a formação resultante do segmento hibridizado) inibe a supressão mediada do RNA de fita dupla de pelo menos um gene-alvo.

Outro aspecto desta invenção fornece um constructo de DNA recombinante codificando um "bloqueador de clivagem 5' modificado". Uma modalidade inclui um constructo de DNA recombinante, incluindo DNA que sofre processamento a um RNA incluindo um RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que confere para resistência à clivagem ao transcrito por uma ribonuclease RNase III dentro ou na vizinhança do segmento hibridizado, em que a ligação do RNA de fita simples com o transcrito (e a formação resultante do segmento hibridizado) inibe a supressão mediada pelo RNA de fita dupla de pelo menos um gene-alvo, onde a clivagem por uma ribonuclease de RNAse III é mediada pela ligação de um miRNA maduro, a ligação é em um sítio de reconhecimento de miRNA (que é reconhecido pelo miRNA maduro) no transcrito, a clivagem do transcrito ocorre no sítio de reconhecimento de miRNA, e o segmento hibridizado é formado pelo menos parcialmente dentro do sítio de reconhecimento de miRNA, e o segmento hibridizado inclui A, G ou C (mas não U) em uma posição correspondente ao terminal 5' do miRNA maduro que se liga naturalmente ao sítio de reconhecimento, mas não requer maus-emparelhamentos entre o RNA de fita simples e o sítio e reconhecimento de miRNA nas posições do sítio de reconhecimento de miRNA correspondentes às posições 9, 10 ou 11 (na direção 3' para 5') do miRNA maduro, ou inserções em uma posição no RNA de fita simples do sítio de reconhecimento de miRNA correspondentes às posições 10 e 11 (na direção 3' para 5') do miRNA maduro.

Outro aspecto desta invenção fornece um constructo de DNA recombinante codificando um "inibidor de tradução" para inibir a tradução do transcrito, diminuindo assim a expressão do gene-alvo (em relação à ex-

pressão na ausência de expressão do constructo). Uma modalidade é um constructo de DNA recombinante, incluindo DNA que sofre processamento a um RNA incluindo um RNA de fita simples que se liga à transcrição de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento pelo menos parcialmente de RNA de fita dupla que confere resistência à clivagem para o transcrito por uma ribonuclease RNase III dentro ou na vizinhança do segmento hibridizado, em que a ligação do RNA de fita simples ao transcrito (e a formação do segmento hibridizado) inibe a tradução do transcrito.

Outros aspectos desta invenção fornecem métodos para modular a expressão de genes-alvo do miRNA de espécies vegetais. Modalidades desta invenção incluem métodos para aumentar ou melhorar o rendimento das plantas de safra expressando em tais plantas constructos de DNA recombinante desta invenção, por exemplo, constructos de DNA recombinante que codificam uma sequência de precursor de miRNA natural ou uma sequência precursora artificial, ou constructos de DNA recombinante que codificam um bloqueador de clivagem ou inibidor de tradução ou atrator.

Outros aspectos desta invenção fornecem células não-naturais de plantas transgênicas tendo em seu genoma um constructo de DNA recombinante desta invenção. Também é fornecido uma planta não-natural transgênica que contém a célula vegetal transgênica desta invenção, uma planta não-natural transgênica crescida a partir da células vegetal transgênica desta invenção, e sementes transgênicas não-naturais produzidas por plantas transgênicas, bem como produtos de consumo produzidos a partir de uma célula vegetal transgênica não-natural, planta ou semente da presente invenção.

Breve Descrição dos Desenhos

Figura 1 mostra as estruturas de dobra posteriores previstas do precursor miRMON1 de miRNA natural (**Figura 1A**), o precursor de miRGL1 miRNA sintético (**Figura 1B**), o bloqueador de clivagem sintético miRGL1-CB (**Figura 1C**), e os bloqueadores de clivagem miRGL1 5'-modificados sintéticos (**Figura 1D**), bem como um alinhamento (**Figura 1E**) do sítio de reconhecimento de miRNA no gene-alvo GL1, o miRGL1 maduro, o miR-

GL1-CB maduro, e o sítio de reconhecimento GL1 artificial no sensor miR-GL1, conforme descrito nos **Exemplos 1** e **2**.

Figura 2 mostra um vetor de base de transformação de milho (pMON93039, **SEQ ID Nº: 2065**) como descrito no Exemplo 5.

Figura 3 mostra um vetor de base de transformação de soja ou de algodão (pMON82053, **SEQ ID Nº: 2066**), como descrito no **Exemplo 5**.

Figura 3 mostra um vetor base de transformação de algodão (pMON99053, **SEQ ID Nº: 2067**), como descrito no **Exemplo 5**.

Descrição Detalhada da Invenção

Salvo disposição em contrário, sequências de ácido nucleico no texto deste relatório descritivo são dadas, quando lidas da esquerda para a direita, na direção 5' a 3'. Sequências de ácido nucleico podem ser fornecidas como DNA ou RNA, conforme especificado; a descoberta de um necessariamente define o outro, como é conhecido por uma pessoa versada na técnica. O termo "precursor de miRNA", como utilizado aqui, refere-se a um transcrito de RNA, que é naturalmente processado para produzir um miRNA maduro. Onde um termo é fornecido no singular, os inventores também contemplam aspectos da invenção descritos no plural daquele termo.

Constructos de DNA Recombinante que são Processados em RNA Fornecendo Resistência à RNASE III a um Transcrito de Gene-Alvo

Em um aspecto, esta invenção fornece um constructo de DNA recombinante, incluindo DNA, que sofre processamento a um RNA, incluindo um RNA de fita simples que se liga com o transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que confere ao transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III dentro ou na vizinhança do segmento híbrido. O constructo de DNA recombinante é feito por meio de técnicas conhecidas na arte, como aquelas descritas com o título "Fazendo e usando Constructos de DNA Recombinante" e ilustradas nos Exemplos de trabalho. O constructo de DNA recombinante é particularmente útil para fazer células vegetais transgênicas, e sementes transgênicas, como discutido abaixo em "Fazendo e Usando Células de Plantas Transgênicas e Plantas Transgênicas". Esta in-

venção inclui, portanto, modalidades em que o DNA recombinante construído está localizado dentro de um vetor para transformar uma célula vegetal (como dentro de um plasmídeo ou vetor viral), ou em uma partícula biolística para transformar uma célula vegetal, ou em um cromossomo ou em um plastídio de uma célula vegetal transgênica não-natural, ou em uma célula transgênica não-natural, um tecido de planta transgênica não-natural, sementes de plantas transgênicas não-naturais, grãos de pólen transgênicos não-naturais, ou uma planta parcialmente transgênica ou transgênica não-natural. Além disso são incluídas as modalidades em que o constructo de DNA recombinante está em um produto de mercadoria produzido a partir de uma célula transgênica não-natural, tecido de planta transgênica não-natural, semente de planta transgênica não-natural, grão de transgênico não-natural ou uma planta transgênica parcialmente transgênica ou transgênica não-natural desta invenção; tais produtos de mercadoria os produtos consumíveis incluem, mas não estão limitados às folhas, raízes, brotos, tubérculos, caules, frutos, sementes ou outras partes de uma planta, farelos, óleos, extratos, produtos de fermentação ou digestão, grãos esmagados ou inteiros ou sementes de uma planta, ou qualquer alimento ou produto não-alimentar incluindo tais produtos consumíveis produzidas a partir de uma célula de planta transgênica, planta ou semente dessa invenção.

O processamento do DNA inclui a transcrição do DNA a um transcrito de RNA primário, que pode sofrer uma ou mais etapas de processamento adicionais naturais que resultam no RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo. Em uma modalidade, o processamento do DNA inclui a transcrição do DNA a um RNA intermediário incluindo um ou mais origens de RNA de fita dupla; a linhagem ou origens de RNA de fita dupla sendo adicionalmente processada ao RNA de fita simples. Um produto final do processamento do DNA é o RNA, incluindo RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo.

Por exemplo, o constructo de DNA recombinante inclui DNA que é transcrito a um transcrito primário com uma sequência derivada de uma sequência de pri-miRNA ou pré-miRNA natural que forma uma estrutura se-

cundária, incluindo uma ou mais linhagens de fita dupla, seguido pelo processamento do transcrito primário a um intermediário mais curto, pelo menos parcialmente de fita dupla (semelhante a um pré-miRNA) que depois é clivado por uma RNase III ribonuclease (ribonuclease III, por exemplo, Drosha DCL1 ou ribonuclease ortóloga tipo DCL-1) a um par de RNA de fita simples (semelhante a um miRNA e um par de miRNA*). Em outro exemplo, o constructo de DNA recombinante inclui DNA que é transcrito para um transcrito primário que forma uma estrutura secundária, incluindo uma ou mais linhagens de fita dupla, seguido pela clivagem da(s) linhagens(s) de RNA de fita dupla por uma ribonuclease Rnase III para um ou mais pares de RNAs pequenos de fita simples (semelhante a um dúplex de siRNA). Em outro exemplo, o constructo de DNA recombinante inclui DNA que é transcrito para um transcrito primário, que inclui um ou mais íntrons divisíveis que são removidos pelo processamento intrônico. Em ainda outro exemplo, o constructo de DNA recombinante inclui DNA que é transcrito a um transcrito primário, incluindo um ou mais ribozimas de autoclivagem (ver, por exemplo, Tang & Breaker (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 97: 5784-5789); a remoção da(s) ribozima(s) resulta no RNA, incluindo RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo.

O RNA resultante do processamento do DNA inclui pelo menos RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo. Em uma modalidade, o RNA resultante do processamento do DNA consiste em uma molécula de RNA de fita simples que se liga ao transcrito de um gene-alvo. Em outra modalidade, o RNA resultante do processamento do DNA consiste em uma molécula de RNA de fita simples que se liga aos transcritos de múltiplos genes-alvo. Em outra modalidade, o RNA resultante do processamento do DNA consiste em múltiplas moléculas de RNA de fita simples que se ligam ao transcrito de pelo menos um gene-alvo; isto pode resultar, por exemplo, do processamento de um transcrito de RNA primário com vários segmentos, cada um incluindo RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo, por exemplo, onde os múltiplos segmentos (que podem ter uma sequência igual ou diferente) são separados

por ribozimas de autoclivagem e clivagem das ribozimas produz os múltiplos RNAs de fita simples. Em outra modalidade, o RNA resultante do processamento do DNA inclui RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo, bem como elementos de RNA adicionais (que pode ser de fita simples ou fita dupla ou ambos) tais como, mas sem se limitar, a um aptâmero de RNA, um *riboswitch* de RNA, uma ribozima, sítios de reconhecimento de recombinase sítio-específicos ou uma sequência de RNA que serve para regular a transcrição do RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo.

Em várias modalidades, pelo menos um gene-alvo inclui: sequência codificadora, sequência não-codificadora, ou ambos as sequências codificadoras e não-codificadoras; um gene-alvo único ou genes-alvo múltiplos (por exemplo, alelos múltiplos de um gene-alvo, ou vários genes-alvo diferentes); ou um ou mais de (a) um gene endógeno de um eucarioto, (b) um transgene de uma planta transgênica, (c) um gene endógeno de uma praga ou patógeno de uma planta, e (d) um gene endógeno de um simbionte procariótico ou eucariótico associado a uma praga ou patógeno de uma planta. Genes-alvo que podem ser regulados por um constructo de DNA recombinante desta invenção são descritos em detalhes abaixo sob o título "Genes-alvo".

O RNA de fita simples se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente (em alguns casos, perfeitamente) de fita dupla. Em algumas modalidades a complementaridade percentual entre o RNA de fita simples e a transcrição de pelo menos um gene-alvo é de 100%. No entanto, fica claro que o pareamento de bases Watson-Crick não precisa ser completo entre o RNA de fita simples e o transcrito de pelo menos um gene-alvo, mas é pelo menos suficiente para que, sob condições fisiológicas, um segmento estavelmente hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla seja formado entre os dois.

O segmento hibridizado de RNA de fita simples confere resistência ao transcrito à clivagem por uma ribonuclease RNase III (por exemplo,

Drosha ou Dicer ou proteínas tipo Dicer incluindo, mas não limitado a proteínas DCL1, DCL2, DCL3, DCL4, tipo DCL1, tipo DCL2, tipo DCL3 ou tipo DCL4), dentro ou na vizinhança do segmento hibridizado. Em muitos casos, a resistência conferida é a resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III no segmento hibridizado. Por exemplo, onde o RNA de fita simples se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo em um sítio de reconhecimento de miRNA no transcrito reconhecido e ligado por um miRNA endógeno, de tal forma que o segmento hibridizado engloba o sítio de reconhecimento de miRNA, o segmento hibridizado de RNA de fita dupla confere resistência ao transcrito à clivagem por uma ribonuclease RNase III no sítio de reconhecimento de miRNA (ou seja, dentro do segmento hibridizado). Em outros casos, a resistência conferida é a resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III na vizinhança do segmento hibridizado. Por exemplo, onde o RNA de fita única se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo imediatamente ou próximo de um sítio de reconhecimento de miRNA no transcrito reconhecido e ligado por um miRNA endógena, de tal forma que o segmento hibridizado não abrange o sitio de reconhecimento de miRNA, mas é suficientemente próximo para impedir a ligação pelo miRNA endógeno ao transcrito, o segmento hibridizado do RNA de fita dupla confere ao transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III no site de reconhecimento de miRNA (ou seja, na vizinhança de, mas não no segmento hibridizado).

O comprimento do RNA de fita simples não é necessariamente igual ao comprimento do segmento hibridizado, já que nem todo o RNA de fita simples, necessariamente, se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo. Em algumas modalidades, o comprimento do RNA de fita simples é aproximadamente igual, ou exatamente igual ao comprimento do segmento hibridizado. Em outras modalidades, o comprimento do RNA de fita simples é maior do que o comprimento do segmento hibridizado. Expresso em termos de números de nucleotídeos contíguos, o comprimento do RNA de fita simples é geralmente de entre cerca de 10 nucleotídeos até cerca de 500 nucleotídeos, ou de entre cerca de 20 nucleotídeos a cerca de 500 nucleotí-

deos, ou de entre cerca de 20 nucleotídeos até cerca de 100 nucleotídeos, por exemplo, cerca de 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, cerca de 30, cerca de 35 , cerca de 40, cerca de 45, cerca de 50, cerca de 60, cerca de 70, cerca de 80, cerca de 90, cerca de 100, cerca de 120, cerca de 140, cerca de 160, cerca de 180, cerca de 200, cerca de 240, cerca de 280, cerca de 320, cerca de 360, cerca de 400, ou cerca de 500 nucleotídeos. Expresso em termos de números de nucleotídeos contíguos (e reconhecendo que o segmento hibridizado pode incluir nucleotídeos que não são pareado em base), o comprimento do segmento hibridizado é geralmente de entre cerca de 10 nucleotídeos para cerca de 100 nucleotídeos, ou de entre cerca de 10 nucleotídeos a cerca de 24 nucleotídeos, ou de entre cerca de 20 nucleotídeos a cerca de 100 nucleotídeos, ou de entre cerca de 26 nucleotídeos a cerca de 100 nucleotídeos, embora possa ser maior do que cerca de 100 nucleotídeos e, em algumas modalidades preferidas ele é de preferência inferior a 100 nucleotídeos (como em algumas modalidades de inibidores de tradução, descritos abaixo com o título "Inibidores de Tradução"). Em modalidades preferidas, o comprimento do segmento hibridizado é de cerca de 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, cerca de 30, cerca de 35, cerca de 40, cerca de 45, cerca de 50, cerca de 60, cerca de 70, cerca de 80, cerca de 90, ou cerca de 100 nucleotídeos. Em uma modalidade particularmente preferida, o comprimento do segmento hibridizado é entre cerca de 10 a cerca de 24 nucleotídeos, por exemplo, cerca de 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 ou 24 nucleotídeos.

Em muitas modalidades, o constructo de DNA recombinante desta invenção inclui outros elementos do DNA além do DNA, que sofre processamento a um RNA, incluindo um RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que transmite ao transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III dentro ou na vizinhança do segmento hibridizado. Estes elementos de DNA adicionais incluem pelo menos um elemento selecionado do grupo constituído por:

(a) um promotor funcional em uma eucarioto (plantas, animais, fungos ou protistas), como qualquer um dos promotores descritos sob o título "Promotores";

(b) um promotor Pol III (ver "promotores", abaixo) operativamente ligado ao DNA, que sofre processamento a um RNA, incluindo um RNA de fita simples;

(c) DNA que é processado a um aptâmero de RNA (como descrito sob o título "Aptâmeros")

(d) uma unidade de transcrição do transgene (como descrito sob o título "Unidades de Transcrição de Transgene");

(e) DNA que codifica um íntron que se pode unir (como descrito sob o título "íntrons");

(f) DNA que codifica uma ribozima que se pode unir sozinha (como descrito sob o título "Ribozimas");

(g) DNA que codifica um sítio de reconhecimento de recombinase sítio-específico (como descrito sob o título "Recombinases");

(h) DNA que codifica um elemento de supressão de gene (como descrito sob o título "elemento de Supressão de Gene"); e

(i) DNA que codifica um elemento de regulação da transcrição (como descrito sob o título "Elementos Reguladores de Transcrição").

O constructo de DNA recombinante desta invenção é particularmente útil para fornecer uma RNA que funciona como um "bloqueador de clivagem" ou um "inibidor de tradução", de acordo com a interação do RNA com o transcrito do(s) gene(s) alvo(s). Bloqueadores de clivagem e inibidores de tradução são descritos em mais detalhes abaixo.

Bloqueadores de Clivagem

Um aspecto da presente invenção é um constructo de DNA recombinante incluindo DNA, que sofre processamento a um RNA, incluindo um RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que confere resistência do transcrito à clivagem por uma ribonuclease Rnase III dentro ou na vizinhança do segmento hibridizado, em

que a ligação do RNA de fita simples com o transcrito (e a formação resultante do segmento hibridizados) inibe a supressão mediada pelo RN de fita dupla de pelo menos um gene-alvo. Neste contexto, o termo "bloqueador de clivagem" geralmente refere-se ao RNA, incluindo RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo e, mais especificamente, se refere à(s) parte(s) do RNA de fita simples que forma um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla com o transcrito. Bloqueadores de clivagem inibem a supressão mediada pelo RNA de fita dupla de pelo menos um gene-alvo, aumentando assim a expressão do gene-alvo (em relação à expressão na ausência do bloqueador de clivagem).

Em geral, a clivagem por uma ribonuclease RNase III é mediada pela ligação de um RNA pequeno (mais preferivelmente um RNA que está associado com um complexo de silenciamento) ao transcrito. Em modalidades preferidas, o RNA pequeno é selecionado do grupo que consiste em um miRNA, um siRNA, uma siRNA transatuante, um RNA pequeno de fase, um siRNA de transcrito antissentido natural, e um miRNA de transcrito antissentido natural; no entanto, o RNA pequeno pode ser qualquer RNA pequeno associado a um complexo de silenciamento como RISC ou um Argonaute ou proteína tipo Argonaute. Em algumas modalidades, o RNA pequeno é um RNA pequeno endógeno (por exemplo, um miRNA endógeno); em outras modalidades, o RNA pequeno é um RNA pequeno transgênico (por exemplo, um miRNA manipulado expresso).

Em várias modalidades, o comprimento do segmento hibridizado inclui entre cerca de 10 pares de base a cerca de 100 pares de bases, embora possa ser maior do que cerca de 100 pares de bases. Em modalidades preferidas (e reconhecendo que o segmento hibridizado pode incluir nucleotídeos que não possuem bases pareadas), o comprimento do segmento hibridizado inclui entre cerca de 10 pares de bases a cerca de 100 pares de bases, como de entre cerca de 10 a cerca de 20, ou entre cerca de 10 a cerca de 24, ou entre cerca de 10 a cerca de 30, ou entre cerca de 10 a cerca de 40, ou entre cerca de 10 a cerca de 50, ou entre cerca de 18 a cerca de 28, ou entre cerca de 18 a cerca de 25, ou entre cerca de 18 a

cerca de 24 ou entre cerca de 20 a cerca de 30, ou entre cerca de 20 a cerca de 40, ou entre cerca de 20 a cerca de 50 pares de bases. Em modalidades preferidas, o comprimento do segmento hibridizado é de cerca de 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, cerca de 30, cerca de 34, cerca de 40, cerca de 45, cerca de 50, cerca de 60, cerca de 70, cerca de 80, cerca de 90 ou cerca de 100 pares de bases, onde o segmento hibridizado inclui opcionalmente nucleotídeos adicionais que não possuem as bases pareadas e que não são contabilizados no comprimento do segmento hibridizados quando está expresso em termos de pares de bases. Em modalidades particularmente preferidas, o comprimento do segmento hibridizado está entre cerca de 18 a cerca de 28 pares de base (isto é, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 ou 28 pares de base), ou entre cerca de 10 a cerca de 24 pares de bases (ou seja, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 ou 24 pares de base), ou entre cerca de 18 a cerca de 24 pares de bases (ou seja, 18, 19, 20, 21, 22, 23 ou 24 pares de bases) em que o segmento hibridizado inclui opcionalmente nucleotídeos adicionais que não tem as bases pareadas e que não são contabilizados no comprimento do segmento hibridizado quando este está expresso em termos de pares de bases. Uma das pessoas versadas na técnica é capaz de determinar que número de nucleotídeos não-pareados é aceitável para um determinado segmento hibridizado, isto é, que ainda irá permitir a formação de segmento hibridizado que é estável sob condições fisiológicas e é resistente à clivagem pela ribonuclease RNase III.

Em alguns casos, o segmento hibridizado é totalmente com bases pareadas, isto é, contém uma sequência de ribonucleotídeos contígua que tem o mesmo comprimento, e é perfeitamente complementar a uma sequência de ribonucleotídeo contígua do transcrito de gene-alvo.

Em modalidades particularmente preferidas, no entanto, o segmento hibridizado não está completamente com bases pareadas, e inclui pelo menos um mau-emparelhamento ou pelo menos uma inserção no segmento hibridizado em uma posição que resulta na inibição da clivagem do transcrito pela ribonuclease Rnase III.

Um aspecto da presente invenção fornece um "bloqueador de clivagem de miRNA". Uma modalidade preferida é um constructo de DNA recombinante, incluindo DNA, que sofre processamento a um RNA, incluindo um RNA de fita simples que se liga com o transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que confere ao transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease de RNase III dentro ou na vizinhança do segmento hibridizado, em que a ligação do RNA de fita simples ao transcrito (e a formação resultante do segmento hibridizado) inibe a supressão mediada pelo RNA de fita dupla de pelo menos um gene-alvo, em que a clivagem por uma ribonuclease RNase III é mediada pela ligação de um miRNA maduro, a ligação é em um sítio de reconhecimento de miRNA (que é reconhecido pelo miRNA maduro) no transcrito, a clivagem do transcrito ocorre no sítio de reconhecimento de miRNA, e o segmento hibridizado é formado pelo menos parcialmente no sítio de reconhecimento de miRNA. Nesta modalidade, o constructo de DNA recombinante produz um RNA bloqueador de clivagem de miRNA que se liga à (ou na vizinhança de) um sítio de reconhecimento de miRNA em um transcrito de gene-alvo, formando um segmento hibridizado que é em si resistente à clivagem da ribonuclease RNase III (ou que evita a clivagem da ribonuclease RNAse III do transcrito na vizinhança do segmento hibridizado), impedindo assim que o miRNA maduro que, normalmente, reconhece o sítio de reconhecimento de miRNA se ligue ao sítio de reconhecimento de miRNA e medeie a clivagem da ribonuclease Rnase III do transcrito do gene-alvo. Em modalidades particularmente preferidas, o segmento hibridizado inclui: (a) pelo menos um mau-emparelhamento entre o RNA de fita simples e o sítio de reconhecimento de miRNA em posições do sítio de reconhecimento de miRNA correspondentes às posições 9, 10 ou 11 (na direção 3' a 5') do miRNA maduro, ou (b) pelo menos uma inserção em uma posição no RNA de fita simples, em posições do sítio de reconhecimento de miRNA correspondentes às posições 10 e 11 (n direção 3' a 5'), do miRNA maduro. Em algumas modalidades preferidas, o RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo tem uma sequência de nucle-

otídeos para permitir que um segmento estavelmente hibridizado seja formado entre ele e o transcrito do gene-alvo, mas que inibe a ligação de um ou Argonaute ou uma proteína tipo Argonaute ao segmento hibridizado, como descrito por Mi et al. (2008) Cell, 133:1-12; por exemplo, o RNA de fita simples tem uma sequência de nucleotídeos, que inclui um A, G ou C (mas não um U) em uma posição correspondente aos terminal 5' do miRNA maduro que naturalmente se liga ao sítio de reconhecimento. Mais preferivelmente, a ligação de um bloqueador de clivagem de miRNA ao transcrito do gene-alvo resulta na inibição da supressão mediada pelo miRNA de pelo menos um gene-alvo, assim aumentando a expressão do gene-alvo (em relação à expressão na ausência do bloqueador de clivagem de miRNA).

Um outro aspecto da presente invenção inclui um "bloqueador de clivagem 5'-modificado". Uma modalidade preferida inclui um constructo de DNA recombinante, incluindo DNA, que sofre processamento para um RNA, incluindo RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que confere ao transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III dentro ou na vizinhança do segmento hibridizado, em que a ligação do RNA de fita simples com o transcrito (e a formação resultante do segmento hibridizado) inibe a supressão mediada pelo RNA de fita dupla de pelo menos um gene-alvo, onde a clivagem por uma ribonuclease RNase III é mediada pela ligação de um miRNA maduro, a ligação é em um sítio de reconhecimento de miRNA (que é reconhecido pelo miRNA maduro) no transcrito, a clivagem do transcrito ocorre no sítio de reconhecimento de miRNA, e o segmento hibridizado é formado pelo menos parcialmente dentro do sítio de reconhecimento de miRNA, e o segmento hibridizado inclui uma A, G ou C (mas não uma U) em uma posição correspondente aos terminal 5' do miRNA maduro que naturalmente se liga ao sítio de reconhecimento, mas não inclui os maus-emparelhamentos entre o RNA de fita simples e o sítio de reconhecimento do miRNA nas posições do sítio de reconhecimento de miRNA correspondentes às posições 9, 10 ou 11 (na direção 3' a 5') do miRNA maduro, ou inserções em uma posição no RNA de

fita simples, em posições do sítio de reconhecimento de miRNA correspondentes às posições 10 e 11 (na direção 3' a 5') do miRNA maduro. A ligação de tal bloqueador de clivagem 5'-modificado ao transcrito do gene-alvo resulta na inibição da supressão de pelo menos um gene-alvo mediada por miRNA, aumentando assim a expressão do gene-alvo (em relação à expressão, na ausência do bloqueador de clivagem).

Uma pessoa versada na técnica facilmente reconhece que vários aspectos da presente invenção incluem constructos de DNA recombinante análogos que são processados para fornecer RNA incluindo RNA de fita simples que serve como um "bloqueador de clivagem de siRNA", um "bloqueador de clivagem de siRNA transatuante", um "bloqueador de clivagem de RNA pequeno em fase", um "bloqueador de clivagem de siRNA de transcrito antissentido natural" ou um "bloqueador de clivagem de miRNA de transcrito antissentido natural" (ou, em termos gerais, um "bloqueador de clivagem de RNA pequeno"), de acordo com se a clivagem da ribonuclease Rnase III que é inibida é mediada por, respectivamente, um siRNA, um siRNA transatuante, um RNA pequeno em fase, um siRNA de transcrito antissentido natural ou um miRNA de transcrito antissentido natural (ou, em termos gerais, qualquer RNA pequeno associado a um complexo de silenciamento como RISC ou um Argonaute ou proteína tipo Argonaute). Nestes casos, a formação do segmento hibridizado resistente à clivagem por ribonuclease RNase III geralmente evita que o respectivo RNA pequeno se ligue ao transcrito de gene-alvo e medeie a clivagem pela ribonuclease RNAse III do transcrito. Mais preferivelmente, a ligação de tal bloqueador de clivagem de RNA pequeno ao transcrito do gene-alvo resulta na inibição da supressão mediada por RNA de fita dupla de pelo menos um gene-alvo, assim aumentando a expressão do gene-alvo (em relação à expressão na ausência do bloqueador de clivagem de RNA pequeno). Uma pessoa versada na técnica é capaz de conceber uma sequência de nucleotídeos para um tal RNA, incluindo um RNA de fita simples que, ao se ligar ao transcrito de pelo menos um gene-alvo, forma um segmento hibridizado que é estável sob condições fisiológicas e é resistente à clivagem pela ribonuclease RNase III, por exem-

plo, (1), selecionando uma sequência de nucleotídeos que inibe a ligação de Argonaute uma proteína tipo Argonaute ao segmento hibridizado, como descrito por Mi et al. (2008) Cell, doi: 10.1016/j.cell.2008.02.034; (2), selecionando uma sequência de nucleotídeos de tal forma que a diferença de energia livre ("ΔΔG", ver Khvorova et al (2003) Cell, 115, 209-216), entre as porções do RNA de fita simples e o transcrito do gene-alvo que formam o segmento hibridizado inibem a associação com um complexo de silenciamento como RISC ou um Argonaute ou proteína tipo Argonaute; ou (3) selecionando uma sequência de nucleotídeos, de tal forma que os maus-emparelhamentos ou inserções em um sítio de clivagem de ribonuclease de RNAse III mediado por RMA pequeno potencial evita a clivagem do transcrito. O conhecimento do gene-alvo em si não é necessário, apenas a sequência da sequência de miRNA maduro ou de um precursor de miRNA é processada no miRNA maduro - ou, alternativamente, o conhecimento da sequência do sítio de reconhecimento de miRNA - em combinação com os ensinamentos deste pedido, a fim de identificar ou criar um bloqueador de clivagem (ou bloqueador de clivagem 5'-modificado) para inibição dos efeitos silenciadores do gene-alvo de um dado miRNA.

Uma abordagem para manipular uma via regulada por miRNA foi descrita (veja o Pedido de Patente U.S. co-atribuído 11/974.469, publicado como a Publicação do Pedido de Patente U.S. 2009-0070898 A1, cuja descrição inclui regras para prever ou projetar uma sequência miRNA atratora é especificamente incorporada aqui por referência) como um "atrator" de miRNA novo, uma sequência que pode ser reconhecida e ligada por um miRNA maduro endógeno resultando no pareamento de base entre a sequência atratora de miRNA e o miRNA maduro endógeno, formando assim um duplex de RNA estável que não é clivado por causa da presença de maus-emparelhamentos entre a sequência atratora de miRNA e o miRNA maduro.

Os exemplos do presente pedido especificamente identificam alvos de miRNA reconhecidos por miRNAs particulares. Fornecido com estas informações e os ensinamentos dos Requerentes, uma pessoa versada

na técnica seria capaz de projetar e utilizar várias modalidades adicionais desta invenção, incluindo um constructo de DNA recombinante transcrevível em uma célula vegetal, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal e operativamente ligado a pelo menos um polinucleotídeo selecionado a partir de: (a) DNA que codifica um bloqueador de clivagem para evitar ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo de miRNA; (b) DNA que codifica um bloqueador de clivagem 5'-modificado para evitar ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo do miRNA; (c) DNA que codifica um inibidor de tradução para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo do miRNA; (d) DNA que codifica um atrator para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo de miRNA; (e) DNA que codifica um transgene não-responsivo ao miRNA com uma sequência de nucleotídeos derivada da sequência de nucleotídeos natural de pelo menos um alvo do miRNA, em que um sítio de reconhecimento do miRNA na sequência de nucleotídeos natural é eliminado ou, de outro modo, modificado para evitar a clivagem mediada por miRNA; (f) DNA que codifica um precursor do miRNA que é processado em um miRNA para supressão da expressão de pelo menos um alvo do miRNA, (g) DNA que codifica RNA de fita dupla que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de pelo menos um alvo do miRNA; e (h) DNA que codifica um ta-siRNA, que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de pelo menos um alvo do miRNA.

Inibidores de Tradução

Outro aspecto desta invenção é um constructo de DNA recombinante, incluindo DNA, que sofre processamento a um RNA, incluindo um RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que confere ao transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease de RNAse III dentro ou na vizinhança do segmento hibridizado, em que a ligação do RNA de fita simples ao transcrito (e a formação do segmento hibridizado) inibe a tradução do transcrito. Neste contexto, o termo

"inibidor de tradução" geralmente refere-se ao RNA, incluindo RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo e, mais especificamente, se refere à(s) parte(s) do RNA de fita simples que forma um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla com o transcrito. Inibidores de tradução inibem a tradução do transcrito, deste modo reduzindo a expressão do gene-alvo (em relação à expressão na ausência de expressão do constructo).

A ligação do inibidor de tradução é em um local do mRNA que está totalmente ou pelo menos parcialmente na sequência de codificação ou em um local tal que a formação do segmento hibridizado interfere com a tradução. Em uma modalidade, a ligação do RNA de fita simples ao transcrito (e a formação do segmento hibridizado) ocorre pelo menos parcialmente na região 5' não-traduzida do transcrito; esta modalidade é frequentemente preferível onde o transcrito é de um gene-alvo vegetal. Em outra modalidade, a ligação do RNA de fita simples com o transcrito (e a formação do segmento hibridizado) ocorre pelo menos parcialmente na região 3' não-traduzida do transcrito; esta modalidade é preferível onde o transcrito é de um gene-alvo animal. Em ainda outra modalidade, a ligação do RNA de fita simples ao transcrito ocorre em ou na vizinhança do códon de início ou de cap 5', de preferência, evitando a iniciação da tradução.

Em modalidades preferidas, o segmento hibridizado é resistente à clivagem pela ribonuclease RNAse III. Em modalidades preferidas, o comprimento do segmento hibridizado inclui entre cerca de 10 pares de base a cerca de 50 pares de bases, embora possa ser maior do que cerca de 50 pares de bases. Em modalidades preferidas (e reconhecendo que o segmento hibridizado pode incluir nucleotídeos que não tem bases pareadas), o comprimento do segmento hibridizado inclui entre cerca de 10 pares de base a cerca de 50 pares de bases, como de entre cerca de 10 a cerca de 20, ou entre cerca de 10 a cerca de 30, ou entre cerca de 10 a cerca de 40, ou entre cerca de 10 a cerca de 50, ou entre cerca de 18 a cerca de 28, ou entre cerca de 18 a cerca de 25, ou entre cerca de 18 a cerca de 23, ou entre cerca de 20 a cerca de 30 ou entre 20 a cerca de 40 ou entre 20 a cerca de

50 pares de bases. Em modalidades preferidas, o comprimento do segmento hibridizado é de cerca de 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, cerca de 30, cerca de 34, cerca de 40, cerca de 45, ou cerca de 50 pares de bases, onde o segmento hibridizado inclui opcionalmente nucleotídeos adicionais que não são de bases pareadas e que não são contados no comprimento do segmento hibridizado quando ele é expresso em termos de pares de bases. Em modalidades particularmente preferidas, o comprimento do segmento hibridizado está entre cerca de 18 a cerca de 28 pares de bases, ou seja, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 ou 28 pares de base, onde o segmento hibridizado inclui opcionalmente nucleotídeos adicionais que não são de bases pareadas e que não são contados no comprimento do segmento hibridizado quando são expressos em termos de pares de bases. Um pessoa versada na técnica é capaz de determinar que número de nucleotídeos não-pareados é aceitável para um determinado segmento hibridizado, isto é, que ainda irá permitir a formação de segmento hibridizado que é estável sob condições fisiológicas e é resistente à clivagem por ribonuclease RNase III.

Uma pessoa versada na técnica é capaz de conceber uma sequência de nucleotídeos para tal RNA, incluindo um RNA de fita simples que, ao se ligar ao transcrito de pelo menos um gene-alvo, forma um segmento hibridizado que é estável sob condições fisiológicas e é resistente à clivagem pela ribonuclease RNase III, por exemplo, (1), selecionando uma sequência de nucleotídeos que inibe a ligação de Agronaute ou uma proteína tipo Argonaute ao segmento hibridizado, como descrito por Mi et al. (2008) Cell,doi:10.1016/j.cell.2008.02.034; (2), selecionando uma sequência de nucleotídeos de tal forma que a diferença na energia livre ("ΔΔG", ver Khvorova et al (2003) Cell, 115, 209-216), entre as porções do RNA de fita simples e o transcrito de gene-alvo que forma o segmento hibridizado inibe a associação com um complexo de silenciamento como RISC ou um Argonaute ou proteína tipo Argonaute; ou (3), selecionando uma sequência de nucleotídeos, de modo que maus-emparelhamentos ou inserções em um potencial sítio de clivagem de ribonuclease RNAse III mediado por RNA pe-

queno evita a clivagem do transcrito. Em uma modalidade particularmente preferida, o comprimento do segmento hibridizado inclui entre cerca de 19 a cerca de 50 pares de base, o segmento hibridizado inclui segmentos menores de 9 ou menos pares de base perfeitamente complementares contíguos, e pelo menos um mau emparelhamento ou inserção está entre cada par dos segmentos menores.

Métodos de Modulação da Expressão de um Gene-Alvo

Em outro aspecto, esta invenção fornece um método de modulação da expressão de um gene-alvo, incluindo a expressão em uma célula de um constructo de DNA recombinante desta invenção, ou seja, um constructo de DNA recombinante, incluindo DNA que sofre processamento a um RNA incluindo um RNA de fita única que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que confere ao transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNAse III em ou nas vizinhanças do segmento hibridizado. A expressão *in vivo* em uma célula de um constructo de DNA recombinante desta invenção proporciona um RNA que funciona como um "bloqueador de clivagem" ou um "inibidor de tradução".

Por "modulando a expressão de um gene-alvo" significa: (a) aumentar a expressão de gene-alvo, por exemplo, onde o constructo de DNA recombinante expresso na célula fornece um bloqueador de clivagem, ou (b) diminuir a expressão do gene-alvo, por exemplo, onde o constructo de DNA recombinante expresso na célula fornece um inibidor de tradução. Por "expressão em uma célula" se entende realizar *in* vivo o processo de transcrição, bem como quaisquer etapas de processamento naturais adicionais necessárias para fornecer o RNA incluindo o RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo.

A célula em que o constructo de DNA recombinante é expressa é em muitas modalidades uma célula eucariótica (tal como célula vegetal, animal, fúngica ou protista) e, em outras modalidades, é uma célula procariótica (como uma célula bacteriana). O gene-alvo que tem sua expressão modulada pelo método da presente invenção não é necessariamente um

gene endógeno da célula em que o constructo de DNA recombinante é expresso. Por exemplo, esta invenção engloba um método incluindo a expressão nas células de uma planta de um constructo de DNA recombinante, incluindo DNA que sofre processamento a um RNA, incluindo um RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo de uma praga ou patógeno da planta para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que confere ao transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III em ou na vizinhança do segmento hibridizado, assim (a) aumentando a expressão do gene-alvo da paste ou patógeno, quando o constructo de DNA recombinante oferece um bloqueador de clivagem, ou (b) diminuindo a expressão do gene-alvo da praga ou patógeno, quando o constructo de DNA recombinante fornece um inibidor de tradução. Onde o gene-alvo não é um gene endógeno da célula em que o constructo de DNA recombinante é transcrito (como em células de uma planta), as etapas de processamento adicional podem ocorrer tanto na cela onde ocorreu a transcrição, ou em outras células (como no células de uma praga ou patógeno da planta).

Em uma modalidade do método, o constructo de DNA recombinante é expresso em uma célula para fornecer um RNA bloqueador de clivagem. Nesta modalidade, a ligação do RNA de fita simples com o transcrito (e a formação do segmento hibridizado) inibe a supressão mediada por RNA de fita dupla de pelo menos um gene-alvo, assim aumentando a expressão do gene-alvo, em relação à expressão na ausência de expressão do constructo.

Em uma modalidade do método, o constructo de DNA recombinante é expresso em uma célula para fornecer um RNA bloqueador de tradução. Nesta modalidade, a ligação do RNA de fita simples com o transcrito (e a formação do segmento hibridizado) inibe a tradução do transcrito, deste modo reduzindo a expressão do gene-alvo, em relação à expressão na ausência de expressão do constructo.

Acredita-se que microRNAs (miRNAs) geralmente regulam a expressão gênica pós-tradução em plantas, direcionando a clivagem específica

de sequências dos RNAs mensageiros ("RNAms"). Um aspecto da presente invenção é um método para controlar a taxa de supressão pós-transcrição de um gene vegetal que transcreve a um RNAm contendo um sítio de reconhecimento de miRNA que é normalmente reconhecido e ligado por um microRNA específico no complexo com Argonaute (Ago), seguido pela clivagem do segmento hibridizado miRNA/RNAm resultante por uma ribonuclease RNase III como uma ribonuclease tipo Dicer. Este método usa um constructo "bloqueador de clivagem" para expressar transgenicamente na planta um RNA incluindo RNA de fita única que se liga ao transcrito de RNAm do gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que confere ao transcrito transcrição à clivagem por uma ribonuclease RNase III em ou na vizinhança do segmento hibridizado, em que a ligação do RNA de fita simples ao transcrito (e da formação resultante do segmento hibridizados) inibe a supressão medida pelo RNA de fita dupla de pelo menos um gene-alvo. O RNA "bloqueador de clivagem" geralmente compete com miRNAs maduros endógenos, para ligação com um RNAm que é normalmente regulado por aquele miRNA; o bloqueador de clivagem protege o RNAm da clivagem pelo complexo miRNA-Ago pela ligação ao sítio alvo de miRNA no RNAm para formar um segmento não-clivável hibridizado. Deste modo, um bloqueador de clivagem protege o sítio de clivagem do RNAm-alvo (sítio de reconhecimento de miRNA) de ser clivado por miRNA e impede a infrarregulação daquele gene-alvo particular. De preferência, um bloqueador de clivagem aumenta a expressão do gene-alvo (em relação à sua expressão, na ausência do bloqueador de clivagem). Este método permite a regulação da expressão do gene de maneira específica e é uma alternativa útil para suprarregular o nível de transcrição de um gene, ou sua proteína codificada pela superexpressão do gene.

Um aspecto da presente invenção é um método para fornecer um bloqueador de clivagem gerando o RNA de fita simples bloqueador de clivagem *in planta* de um "constructo bloqueador de clivagem" com base em uma sequência tipo precursor de miRNA recombinante. Uma sequência tipo precursor de miRNA é criada colocando a sequência bloqueadora de cliva-

gem na estrutura de um transcrito primário de miRNA, mantendo a estrutura secundária prevista na dobra posterior de tal forma que o transcrito resultante é processado por ribonucleases tipo Dicer ao RNA de fita simples, que é então capaz de se associar com o sítio de reconhecimento de miRNA no mRNA alvo e evitar que o mRNA seja clivado por um miRNA maduro. A sequência bloqueadora de clivagem é selecionada de modo que, após a hibridização do bloqueador de clivagem ao RNAm-alvo, um segmento hibridizado é formado, que inclui: (a) pelo menos um mau emparelhamento entre o RNA de fita simples e o sítio de reconhecimento do miRNA em posições do sítio de reconhecimento de miRNA correspondentes às posições 9, 10 ou 11 do miRNA maduro, ou (b) pelo menos uma inserção em uma posição no RNA de fita simples, em posições do sítio de reconhecimento de miRNA correspondentes às posições 10-11 do miRNA maduro. Em modalidades particularmente preferidas, o RNA e fita simples que se liga com o transcrito de pelo menos um gene-alvo tem uma sequência de nucleotídeos para permitir que um segmento estavelmente hibridizado seja formado entre ele e o transcrito do gene-alvo, mas que inibe a ligação de um Argonaute ou proteína tipo Argonaute ao segmento hibridizado, como descrito por Mi et al. (2008) Cell, doi: 10.1016/j.cell.2008.02.034; por exemplo, o RNA de fita simples tem uma sequência de nucleotídeos que inclui uma A, G ou C (mas não uma U) em uma posição correspondente ao terminal 5' do miRNA maduro que se liga naturalmente ao sítio de reconhecimento. Para os bloqueadores de clivagem expressos em plantas transgênicas, existe também em muitas modalidades um mau emparelhamento entre o RNA de fita simples e o sítio de reconhecimento de miRNA na posição do sítio de reconhecimento de miRNA correspondente às posições 1 do miRNA maduro para evitar a transitividade do efeito de supressão.

Um método alternativo para a geração de um bloqueador de clivagem *in vivo* ou *in planta* é a expressão de RNA de fita simples curto de um promotor forte, como os promotores Pol II ou Pol III. Este RNA de fita simples de preferência inclui sequência que é complementar ao mRNA apenas no sítio de reconhecimento de miRNA. Devido à produção de um bloqueador

de clivagem utilizando este método não requerer a associação do RNA com um Argonaute ou proteína Ago, maus-emparelhamentos nas posições 10 e 11 não são necessários.

Genes-alvo

O constructo de DNA recombinante desta invenção pode ser projetado para modular a expressão de qualquer gene ou genes-alvo. O gene-alvo pode ser uma sequência (codificadora) traduzível, ou pode ser uma sequência não-codificadora (como uma sequência regulatória não-codificadora), ou ambas, e pode incluir pelo menos um gene selecionado do grupo que consiste em um gene-alvo eucariótico, um gene-alvo não-eucariótico, uma sequência de DNA precursora de microRNA e um promotor de microRNA. O gene-alvo pode ser natural (endógeno) à célula (por exemplo, uma célula de uma planta ou animal) em que o constructo de DNA recombinante constructo é transcrito, ou pode ser natural para uma praga ou patógeno (ou um simbionte da praga ou patógeno) da planta ou animal em que o constructo de DNA é transcrito. O gene-alvo pode ser um gene exógeno, como um transgene em uma planta. Um gene-alvo pode ser um gene natural alvejado para a supressão, com ou sem a expressão simultânea de um transgene exógeno, por exemplo, incluindo um elemento de expressão do gene no constructo de DNA recombinante, ou em um constructo de DNA recombinante separado. Por exemplo, pode ser desejável substituir um gene natural com um homólogo de transgene exógeno.

O gene-alvo pode incluir um único gene ou parte de um único gene que é alvo de supressão, ou pode incluir, por exemplo, vários segmentos consecutivos de um gene-alvo, vários segmentos não-consecutivos de um gene-alvo, alelos múltiplos de um gene-alvo, ou genes-alvos múltiplos a partir de uma ou mais espécies. Um gene-alvo pode incluir qualquer sequência de quaisquer espécies (incluindo mas sem se limitar, a não-eucariontes, tais como bactérias, vírus, fungos, plantas, incluindo monocotiledôneas e dicotiledôneas, como plantas de safra, plantas ornamentais e plantas não-domesticadas ou plantas selvagens; invertebrados, como artrópodes, anelídeos, nematoides e moluscos; e vertebrados, como anfíbios,

peixes, aves, pássaros, mamíferos domésticos ou selvagens, e até mesmo seres humanos.

Em uma modalidade, o gene-alvo é exógeno à planta em que o constructo de DNA recombinante deve ser transcrito, mas endógeno a uma praga ou patógeno (por exemplo, vírus, bactérias, fungos, oomicetos e invertebrados, como insetos, nematoides e moluscos), ou a um simbionte da praga ou patógeno da planta. O gene-alvo pode incluir múltiplos genes-alvo, ou vários segmentos de uma ou mais genes. Em uma modalidade, o gene ou os genes-alvos é/são um gene ou genes de uma praga invertebrada ou patógeno da planta. Assim, um constructo de DNA recombinante desta invenção pode ser transcrito em uma planta e usado para modular a expressão de um gene de um patógeno ou praga que pode infestar a planta. Estas modalidades são especialmente úteis no fornecimento de plantas transgênicas não-naturais com resistência a uma ou mais pragas ou patógenos, por exemplo, resistência a nematoide tal como, nematoide de cisto da soja ou do nematoide do nódulo de raiz ou a uma praga de inseto.

Onde o gene-alvo é o de uma praga invertebrada, a praga invertebrada é pelo menos um ou mais invertebrados selecionados do grupo que consiste em insetos, aracnídeos (por exemplo, ácaros), nematoides, moluscos (por exemplo, lesmas e caracóis) e anelídeos, e pode incluir um invertebrado associado a uma praga de invertebrado em uma relação simbiótica (por exemplo, a relação de mutualismo entre algumas formigas e espécies de afídeos). O termo relação "simbiótica" usado aqui engloba tanto simbioses facultativas (não-obrigatórias) e obrigatórias em que pelo menos uma das duas ou mais espécies associadas se beneficiam, e ainda inclui relações mutualistas, comensais e parasíticas. Simbiontes também incluem simbiontes não-invertebrados, como procariotos e protistas eucarióticos. Uma praga invertebrada pode ser controlada indiretamente por alvo de um simbionte que está associado, interna ou externamente, com a praga invertebrada. Por exemplo, simbiontes procarióticos são conhecidos por ocorrer no intestino ou outros tecidos de muitos invertebrados, incluindo pragas de invertebrados de interesse. Exemplos de um simbionte alvo associado a uma praga de inver-

tebrados incluem as bactérias endossimbióticas de afídeos *Buchnera*; bactéria *Wolbachia* que infecta muitos insetos; *Baumannia cicadellinicola* e *Sulcia muelleri*, as bactérias co-simbióticas da cigarrinha (*Homalodisca coagulata*), que transmite o patógeno da doença de Pierce *Xylella fastidiosa*; e protistas eucarióticos (flagelados) endossimbiontes em cupins. Em uma abordagem alternativa, a expressão de um gene-alvo endógeno da praga invertebrada pode ser modificado de forma a controlar um simbionte do invertebrado, que por sua vez afeta o hospedeiro invertebrado.

O gene-alvo pode ser uma sequência traduzível (codificante) ou pode ser uma sequência não-codificante (como uma sequência regulatória não-codificante), ou ambos. Exemplos de um gene-alvo incluem sequências não-traduzíveis (não-codificantes), tais como, mas sem se limitar, às regiões 5' não-traduzidas, promotores, intensificadores ou outras regiões de transcrição não-codificantes, regiões 3' não-traduzidas, terminadores e íntrons. Genes-alvo incluem genes que codificam microRNAs, pequenos RNAs de interferentes, e outros pequenos RNAs associados com um complexo de silenciamento (RISC), ou uma proteína Argonaute; componentes de RNA dos ribossomos ou ribozimas; RNAs nucleolares pequenos; e outros RNAs não-codificantes. Genes-alvo também podem incluir genes codificando fatores de transcrição e genes que codificam enzimas envolvidas na biossíntese ou catabolismo de moléculas de interesse (tais como, mas sem se limitar, aos aminoácidos, ácidos graxos e outros lipídios, açúcares e outros carboidratos, polímeros biológicos e metabólitos secundários, incluindo alcaloides, terpenoides, policetídeos, peptídeos não-ribossômicos e metabólitos secundários de origem biossintética mista).

Em muitas modalidades, o gene-alvo é um gene essencial de uma praga vegetal ou agente patogênico (ou de um simbionte da praga ou patógeno). Genes essenciais incluem genes que são necessários para o desenvolvimento da praga ou agente patogênico para um adulto fértil reprodutivo. Genes essenciais incluem genes que, quando silenciados ou suprimidos, resultam na morte do organismo (como um adulto ou em qualquer estágio de desenvolvimento, incluindo gametas) ou na incapacidade do or-

ganismo para se reproduzir com sucesso (por exemplo, a esterilidade em um progenitor macho ou fêmea ou letalidade ao zigoto, embrião ou larva). Uma descrição dos genes essenciais nematoide é encontrada, por exemplo, em Kemphues, K. "Essential Genes" (24 de dezembro de 2005), WormBook, ed. The *C. elegans* Research Community, WormBook, doi/10.1895/wormbook.1.57.1, disponível *on-line* em www.wormbook.org. Uma descrição dos genes do inseto está publicamente disponível na base de dados do genoma de *Drosophila* (disponível *on-line* em flybase.bio.indiana.edu/), e 438 genes essenciais foram identificados para *Drosophila* como um inseto representante; ver Boutros et al. (2004) *Science*, 303: 832-835, e material de apoio disponível *on line* em www.sciencemag.org/cgi/content/full/303/5659/832/DC1. Uma descrição dos genes essenciais de bactérias e fungos é fornecida na Base de Dados de Genes Essenciais ("DEG", disponível *on-line* em tubic.tju.edu.cn/deg/). Genes essenciais incluem aqueles que influenciam outros genes, onde o efeito global é a morte da perda invertebrada ou da incapacidade de pragas invertebradas de se reproduzir com sucesso. Em um exemplo, a supressão do gene *homeobox* de *Drosophila Caudal* leva eventualmente à mortalidade do hospedeiro causada por um desequilíbrio da população bacteriana do inseto comensal de inseto (Ryu et al. (2008) *Science*, 319: 777-782) e, portanto, *Caudal*, bem como os genes peptídicos antimicrobianos diretamente controlados pelo *Caudal* são ambos considerados genes essenciais.

Invertebrados de pragas vegetais incluem, mas não estão limitados, a nematoides de pragas, moluscos de pragas (lesmas e caracóis), anelídeos de pragas e insetos de praga. Patógenos vegetais de interesse incluem fungos, oomicetos bactérias (por exemplo, as bactérias que causam manchas foliares, *fireblight*, galha da coroa, e murcha bacteriana), *mollicutes* e vírus (por exemplo, o vírus que causa mosaicos, colabagem de veias, manchas, marcações ou crescimento anormal). Ver também G. N. Agrios, "Plant Pathology" (Quarta Edição), Academic Press, São Diego, 1997, 635 pp. para descrições de fungos, bactérias, *mollicutes* (incluindo micoplasmas e espiroplasmas), vírus, nematoides, parasitas das plantas superiores e

protozoários flagelados, que são parasitas vegetais ou patógenos de interesse. Ver também a compilação atualizada de pragas e patógenos e as doenças causadas por "Common Names of Plant Diseases" da Sociedade Fitopatológica Americana, disponível *online* em www.apsnet.org/online/top.asp/.

Os exemplos de patógenos vegetais fúngicos de interesse particular incluem, por exemplo, os fungos que causam o míldio pulverulento, ferrugem, manchas e ferrugem foliares, apodrecimento por umidade, podridão das raízes, podridão da coroa, podridão por bicudo do algodoeiro, cancro da haste, cancro do galho, murcha vascular, fuligem ou molde incluindo, mas sem se limitar, a *Fusarium* spp., *Phakospora* spp., *Rhizoctonia* spp., *Aspergillus* spp., *Gibberella* spp., *Pyricularia* spp., e *Alternaria* spp. e as numerosas espécies de fungos fornecidas nas Tabelas 4 e 5 da Patente U.S. Nº 6.194.636, que é especificamente incorporada na sua totalidade por referência na presente invenção. Exemplos de patógenos vegetais incluem patógenos anteriormente classificados como fungos, mas mais recentemente classificado como oomicetes. Exemplos específicos de patógenos de plantas oomicetes de interesse particular incluem membros do gênero *Pythium* (por exemplo, *Pythium aphanidermatum*) e *Phytophthora* (por exemplo, *Phytophthora infestans, Phytophthora sojae*) e organismos que causam míldio penugento (por exemplo, *Peronospora farinosa*).

Exemplos de pragas de invertebrados incluem nematoides do cisto *Heterodera spp.*, especialmente de nematoide de cisto da soja *Heterodera glycines*, nematoides de nódulo de raiz *Meloidogyne spp.*, bicheira da raiz do milho (*Diabrotica spp.*) Lygus spp., afídeos e insetos sugadores de seiva semelhantes, como a filoxera (*Daktulosphaira vitifoliae*), brocas do milho, bichas amarelas, lagarta de cereais, cigarrinhas, besouros japoneses, gafanhotos e outras pragas coleópteras, dípteras e lepidópteras.

Exemplos específicos de genes-alvo adequados também incluem genes envolvidos na síntese de aminoácidos ou ácidos graxos, armazenamento ou catabolismo, genes envolvidos nas vias de biossíntese de várias etapas, em que pode ser de interesse regular o nível de um ou mais inter-

mediários; e os genes que codificam proteínas de controle do ciclo celular. Genes-alvo podem incluir genes que codificam proteínas indesejáveis (por exemplo, alérgenos ou toxinas) ou as enzimas para a biossíntese de compostos indesejáveis (por exemplo, componentes de flavor ou odor indesejáveis).

O constructo de DNA recombinante pode ser projetado para mais especificamente modular a expressão do gene-alvo, por exemplo, projetando o constructo de DNA recombinante para incluir DNA que sofre processamento a um RNA incluindo RNA de fita simples que se liga ao gene-alvo transcrito, em que o RNA de fita simples inclui uma sequência de nucleotídeos substancialmente não-idêntica (ou não-complementar) a uma sequência de gene não-alvo (e é assim menos provável de se ligar a um transcrito de gene não-alvo). Em um exemplo, o constructo de DNA recombinante é projetado para suprimir um gene-alvo que é um gene endógeno a uma espécie única (por exemplo, bicheira da raiz ocidental, *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte), mas não para suprimir um gene não-alvo, tal como genes de espécies relacionados, até mesmo intimamente relacionadas (por exemplo, bicheira da raiz do milho Setentrional, *Diabrotica barberi* Smith e Lawrence, ou bicheira da raiz do milho meridional, *Diabrotica undecimpunctata*). Em outras modalidades, o constructo de DNA recombinante é projetado para modular a expressão de uma sequência de gene-alvo comum a várias espécies em que o gene-alvo deve ser silenciado. Por exemplo, um constructo de DNA recombinante para modular um gene-alvo em bicheira da raiz do milho pode ser selecionado para ser específico a todos os membros do gênero *Diabrotica*. Em mais um exemplo desta modalidade, tal constructo de DNA recombinante direcionado a Diabrotica pode ser selecionado de modo a não atingir qualquer sequência gênica de espécies de insetos benéficas.

Promotores

Em geral, o constructo de DNA recombinante desta invenção inclui um promotor funcional na célula em que o constructo se destina a ser transcrito, e operativamente ligado ao DNA que sofre processamento a um

RNA, incluindo um RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo. Em várias modalidades, o promotor é selecionado do grupo que consiste em um promotor constitutivo, um promotor específico espacialmente, um promotor específico temporalmente, um promotor específico em desenvolvimento e um promotor induzível.

Os promotores não-constitutivos adequados para uso com os constructos de DNA recombinante da invenção incluem promotores específicos espacialmente, promotores específicos temporalmente e os promotores induzíveis. Promotores específicos espacialmente podem incluir promotores específicos de organela, célula, tecido ou órgão (por exemplo, um específico de plastídio, uma específico de raiz, um específico de pólen ou um promotor específico de semente para suprimir a expressão do primeiro RNA alvo em plastídeos, raízes, pólen ou sementes, respectivamente). Em muitos casos, um promotor específico de semente, específico de embrião, específico de aleurona ou específico de endosperma é especialmente útil. Promotores temporalmente específicos podem incluir promotores que tendem a promover a expressão durante determinados estágios de desenvolvimento em um ciclo de crescimento da planta, ou durante diferentes tempos de dia ou de noite, ou em estações diferentes em um ano. Promotores induzíveis incluem promotores induzidos por substâncias químicas ou por condições ambientais tais como, mas sem se limitar, a estresses bióticos ou abióticos (por exemplo, déficit de água ou seca, calor, frio, níveis altos ou baixo de nutrientes ou sais, níveis de luz altos ou baixos ou infecção por praga ou patógeno). São de particular interesse promotores de microRNA, especialmente aqueles que têm um padrão de expressão temporalmente específico, espacialmente específico, ou induzível; exemplos de promotores de miRNA, bem como métodos para a identificação de promotores de miRNA com padrões de expressão específicos são fornecidos nas Publicações de Pedido de Patente U.S. Nº 2006/0200878 , 2007/0199095 e 2007/0300329, que são especificamente incorporadas aqui por referência. Um promotor de expressão específico também pode incluir promotores que geralmente são expressos constitutivamente, mas em graus diferentes ou "forças" de expressão, incluindo

promotores comumente considerados como "promotores fortes" ou como "promotores fracos".

Os promotores de particular interesse incluem os seguintes exemplos: um promotor da opalina sintase isolado de T-DNA de *Agrobacterium*, um promotor 35S do vírus mosaico do couve-flor; elementos promotores melhorados ou elementos promotores quiméricos, como um promotor 35S do vírus mosaico da couve-flor melhorado (CaMV) ligado a um elemento intensificador (um íntron da proteínas de choque térmico 70 de *Zea mays*); promotores específicos de raiz, tais como aqueles revelados nas Patentes U.S. N°s 5.837.848; 6.437.217 e 6.426.446; um promotor da oleosina do milho L3 descrito na Patente U.S. Nº 6.433.252; um promotor para um gene nuclear vegetal que codifica uma aldolase localizada no plastídio descrita na Publicação do Pedido de Patente U.S. 2004/0216189; promotores induzíveis por frio descritos na Patente U.S. Nº 6.084.089; promotores induzíveis por sal descritos na Patente U.S. Nº 6.140.078; promotores induzíveis por luz descritos na Patente U.S. Nº 6.294.714; promotores induzíveis por patógenos descritos na Patente U.S. Nº 6.252.138; e promotores induzíveis por déficit hídrico descritos na Publicação do Pedido de Patente U.S. Nº 2004/0123347 A1. Todas as patentes e publicações de patentes acima descritas divulgando promotores e seus usos, especialmente em constructos de DNA recombinante funcionais em plantas são aqui incorporados por referência.

Promotores específicos de floema ou vasculares vegetais de interesse incluem um promotor rolC ou rolA de *Agrobacterium rhizogenes*, um promotor de um gene T-DNA 5 de *Agrobacterium tumefaciens*, o promotor do gene do arroz da sacarose sintase RSs1, um promotor do badnavírus mosqueado amarelo de Commelina, um promotor de vírus de deterioração foliar de coco, um promotor do vírus baciliforme de tungro de arroz, o promotor de um gene da glutamina sintetase de ervilha GS3A, promotores invCD111 e invCD141 de genes da invertase da batata, um promotor isolado de *Arabidopsis* mostrado como tendo expressão específica de floema em tabaco por Kertbundit et al. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 88:

5212-5216, uma região promotora VAHOX1, um promotor do gene invertase da parede celular de ervilha, um promotor do gene da invertase ácida de cenoura, um promotor do gene transportador de sulfato Sultr1,3, um promotor de um gene sacarose sintase de planta, e um promotor de um gene transportador de sacarose de planta.

Os promotores adequados para uso com um constructo de DNA recombinante da presente invenção incluem promotores da polimerase II ("Pol II") e os promotores da polimerase III ("pol III"). RNA polimerase II transcreve RNAs estruturais ou catalíticos que são normalmente mais curtos do que 400 nucleotídeos de comprimento, e reconhece uma corrida simples de resíduos T como um sinal de término; ele tem sido usado para transcrever dúplices de siRNA (ver, por exemplo, Lu et al (2004) *Nucleic Acids Res.,* 32:e171). Promotores Pol II são, portanto, preferidos em certas modalidades onde um transcrito de RNA curto deve ser produzido a partir de um constructo de DNA recombinante da presente invenção. Em uma modalidade, o constructo de DNA recombinante inclui um promotor pol II para expressar um transcrito de RNA flanqueado por sequências de ribozima de autoclivagem (por exemplo, ribozimas de tubarão-martelo de autoclivagem), resultando em um RNA processado, incluindo RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo, com extremidades 5' e 3' definidas, livres de sequências flanqueadoras potencialmente interferentes. Uma abordagem alternativa utiliza promotores pol III para gerar transcritos com extremidades 5' e 3' relativamente definidas, isto é, para transcrever um RNA com sequências flanqueadoras 5' e 3' mínimas. Em algumas modalidades, os promotores Pol III (por exemplo, promotores U6 ou H1) são preferidos para adicionar um sítio de terminação de transcrição rico em AT curto que resulta em 2 projeções de pares de bases (UU) no RNA transcrito; isto é útil, por exemplo, para a expressão de constructo tipo siRNA. O uso de promotores pol III para efetuar a expressão dos constructos siRNA foi reportada; ver van de Wetering et al. (2003) EMBO Rep., 4: 609-615, e Tuschl (2002) Nature Biotechnol., 20: 446-448.

O elemento promotor pode incluir sequências de ácidos nuclei-

cos que não são promotores que ocorrem naturalmente ou elementos promotores ou homólogos do mesmo, mas que podem regular a expressão de um gene. Exemplos de sequências regulatórias "independentes de gene" incluem sequências de RNA de ocorrência natural ou que foram manipuladas artificialmente que incluem uma região de fixação ao ligante ou aptâmero (ver "Aptâmeros", abaixo) e uma região reguladora (que pode ser *cis*-atuante). Ver, por exemplo, Isaacs et al. (2004) Nat. Biotechnol., 22: 841-847, Bayer e Smolke (2005) Nature Biotechnol., 23: 337-343, Mandal e Breaker (2004) *Nature Rev. Mol. Cell Biol.,* 5: 451-463, Davidson e Ellington (2005) *Trends Biotechnol.,* 23: 109-112, Winkler *et al.* (2002) *Nature,* 419: 952-956, Sudarsan *et al.* (2003) *RNA,* 9: 644-647 e Mandal e Breaker (2004) *Nature Struct. Mol. Biol.,* 11: 29-35. Tais "riborreguladores" poderiam ser selecionados ou manipulados para especificidade espacial ou temporal específica, por exemplo, para regular a tradução do DNA que sofre processamento de RNA, incluindo um RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo apenas na presença (ou ausência) de uma dada concentração do ligante apropriado. Um exemplo é um riborregulador que responde a um ligante endógeno (por exemplo, ácido jasmônico e ácido salicílico), produzido pela planta quando está sob estresse (por exemplo, estresses abióticos, como água, temperatura ou estresse nutricional, ou estresse biótico, como ligação por pragas ou patógenos); sob estresse, o nível de ligante endógeno aumenta até um nível suficiente para o riborregulador para começar a transcrição do DNA que sofre processamento a um RNA, incluindo um RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo.

Aptâmeros

Em algumas modalidades, o constructo de DNA recombinante desta invenção inclui DNA que é processado em um aptâmero de RNA, ou seja, um RNA que se liga a um ligante através do mecanismo de ligação que não se baseia principalmente no pareamento de bases Watson-Crick (ao contrário, por exemplo, no pareamento de bases que ocorre entre as fitas de ácido nucleico complementares, antiparalelas para formar uma estrutura de

ácido nucleico de fita dupla). Ver, por exemplo, Ellington e Szostak (1990) Nature, 346: 818-822. Exemplos de aptâmeros podem ser encontrados, por exemplo, no banco de dados de aptâmeros público, disponível *on line* em aptamer.icmb.utexas.edu (Lee et al (2004) Nucleic Acids Res., 32(1):D95-100). Aptâmeros úteis na invenção podem, contudo, ser monovalentes (ligação de um ligante único) ou multivalentes (ligação de mais de um ligante individual, por exemplo, ligação de uma unidade de dois ou mais ligantes diferentes).

Ligantes úteis na invenção incluem qualquer molécula (ou parte de uma molécula) que pode ser reconhecida e ligada por uma estrutura secundária de ácidos nucleicos por um mecanismo não baseado primariamente no pareamento de bases de Watson-Crick. Desta forma, o reconhecimento e a ligação do ligante e aptâmero é análoga à do antígeno e anticorpo, ou de um efetor e receptor biológico. Ligantes podem incluir moléculas únicas (ou parte de uma molécula), ou uma combinação de duas ou mais moléculas (ou partes de uma molécula), e pode incluir um ou mais complexos macromoleculares (por exemplo, polímeros, bicamadas lipídicas, lipossomas, membranas celulares ou outras estruturas celulares, ou superfícies celulares). Exemplos de ligantes específicos incluem vitaminas, como a coenzima B_{12} e tiamina pirofosfato, flavina mononucleotídeo, guanina, adenosina, S-adenosilmetionina, S-adenosilomocisteína, coenzima A, lisina, tirosina, dopamina, glicosamina-6-fosfato, cafeína, teofilina, antibióticos como cloranfenicol e neomicina, herbicidas como glifosato e dicamba, proteínas incluindo as proteínas de revestimento virais ou fago e proteínas de superfície do trato digestivo ou epiderme de invertebrado, e RNAs incluindo RNA viral, RNAs de transferência (t-RNAs), RNA ribossômicos (RNAr), e RNA polimerase como RNA polimerase dependente de RNA (RdRP). Uma classe de aptâmeros de RNA útil na invenção são "termostatos" que não se ligam a um ligante, mas são termicamente responsivos, em outras palavras, a conformação do aptâmero é determinada pela temperatura; ver, por exemplo, Box 3 em Mandal e Breaker (2004) *Nature Rev. Mol. Cell Biol.*, 5:451-463.

Unidades de Transcrição de Transgene

Em algumas modalidades, o constructo de DNA recombinante desta invenção inclui uma unidade de transcrição de transgene. Uma unidade de transcrição do transgene inclui sequência de DNA que codifica um gene de interesse, por exemplo, uma proteína natural ou uma proteína heteróloga. Um gene de interesse pode ser qualquer sequência codificante ou não-codificante de qualquer espécie (incluindo, mas sem se limitar, a não-eucariotos, como bactérias e vírus; fungos, protistas, plantas, invertebrados e vertebrados. Genes de interesse incluem aqueles genes também descritos acima como genes-alvo, sob o título "Genes-alvo". A unidade de transcrição do transgene pode ainda incluir sequência 5' ou 3' ou ambas, conforme necessário para a transcrição do transgene.

Íntrons

Em algumas modalidades, o constructo de DNA recombinante desta invenção inclui DNA que codifica um íntron que se pode unir. Por "intron" se entende geralmente um segmento de DNA (ou o RNA transcrito de tal segmento) que está localizado entre os éxons (segmentos que codificam proteínas do DNA ou RNA transcrito correspondente), em que, durante a maturação do RNA mensageiro, o íntron presente é enzimaticamente removido ou removido da fita de RNA por um processo de clivagem/ligação que ocorre no núcleo em eucariotos. O termo "íntron" também é aplicado às sequências de DNA não-codificantes que são transcritas para segmentos de RNA que podem ser removidos de um transcrito de RNA em maturação, mas não são íntrons encontrados entre éxons que codificam proteínas. Um exemplo desses são sequências uníveis que têm a capacidade de aumentar a expressão em plantas (em alguns casos, especialmente em monocotiledôneas) à jusante de uma sequência de codificação; essas sequências uníveis são naturalmente localizadas na região 5' não-traduzida de alguns genes vegetais, assim como em alguns genes virais (por exemplo, a sequência líder do vírus do mosaico do tabaco 5' ou o líder "ômega" descrito como um intensificador da expressão em genes vegetais por Gallie e Walbot (1992) Nucleic Acid Res., 20: 4631-4638). Essas sequências uníveis ou "íntrons

intensificadores de expressão" podem ser inseridos artificialmente na região 5' não-traduzida do gene vegetal entre o promotor, mas antes de quaisquer éxons que codificam proteínas. Exemplos de tais íntrons intensificadores de expressão incluem, mas não estão limitados, a álcool desidrogenase do milho (ZM-*Adh1*), um íntron intensificador de expressão Bronze-1 do milho, um de actina de arroz 1 (*OS-Act1*), um íntron Shrunken-1 (*Sh-1*) intron, um íntron da sacarose sintase de milho, um íntron da proteína de choque térmico 18 (*hsp18*), e um íntron da proteína de choque térmico (hsp82) de 82 quilodaltons. As Patentes U.S. N°s 5.593.874 e 5.859.347, especificamente incorporadas por referência no presente documento, descrevem os métodos de melhoramento de constructos de DNA recombinante para uso em plantas pela inclusão de um íntron intensificador de expressão derivado da proteína de choque térmico do milho de 70 quilodaltons (hsp70) no líder não-traduzido posicionado 3' do promotor do gene e 5' do primeiro éxon codificador de proteína.

Ribozimas

Em algumas modalidades, o constructo de DNA recombinante desta invenção inclui DNA que codifica de um ou mais ribozimas. Ribozimas de interesse particular incluem uma ribozima auto-clivável, uma ribozima *hammerhead* , ou uma ribozima de grampo de cabelo (**hairpin**). Em uma modalidade, o constructo de DNA recombinante inclui DNA que codifica uma ou mais ribozimas que servem para unir o RNA transcrito para fornecer segmentos definidos de RNA, como o RNA de fita simples que se liga ao transcrito de gene-alvo.

Recombinases

Em algumas modalidades, o constructo de DNA recombinante desta invenção inclui DNA que codifica um ou mais sítios de reconhecimento de recombinase sítio-específicos. Em uma modalidade, o constructo de DNA recombinante compreende pelo menos um par de sítios loxP, em que a recombinação sítio-específica de DNA entre os sítios loxP é mediada por uma Cre recombinase. A posição e orientação relativas dos sítio loxP é selecionada para obter a recombinação desejada; por exemplo, quando os sítios

loxP estão na mesma orientação, o DNA entre os sítios loxP é cortado na forma circular. Em outra modalidade, o constructo de DNA recombinante inclui DNA que codifica um sítio loxP; na presença de Cre recombinase e outro DNA com um sítio loxP, os dois DNAs são recombinados.

Elementos de Supressão de Gene

Em algumas modalidades, o constructo de DNA recombinante desta invenção inclui ainda um DNA que codifica um elemento de supressão do gene. Elementos de supressão do gene incluem qualquer sequência de DNA (ou sequência de RNA ali codificada) projetada para especificamente suprimir um gene ou genes de interesse, que pode ser um gene endógeno para a célula em que o constructo de DNA recombinante é transcrito, ou um gene exógeno àquela célula. O gene a ser suprimido pode ser qualquer um daqueles descritos como genes-alvo sob o título "Genes-alvo".

Elementos de supressão de gene adequados são descritos em detalhes na Publicação do Pedido de Patente U.S. 2006/0200878, cuja descrição é especificamente incorporada aqui por referência, e inclui um ou mais dentre:

(a) DNA que inclui pelo menos um segmento de DNA antissentido que é antissentido a pelo menos um segmento do gene a ser suprimido;

(b) DNA que inclui múltiplas cópias de pelo menos um segmento de DNA antissentido que é antissentido a pelo menos um segmento do gene a ser suprimido; e

(c) DNA que inclui pelo menos um segmento de DNA sentido que é pelo menos um segmento do gene a ser suprimido;

(d) DNA que inclui múltiplas cópias de pelo menos um segmento de DNA sentido que é pelo menos um segmento do gene a ser suprimido;

(e) DNA que transcreve para o RNA para suprimir o gene a ser suprimido pela formação de RNA de dupla fita e inclui pelo menos um segmento de DNA antissentido que é antissentido a pelo menos um segmento do gene a ser suprimido e pelo menos um segmento de DNA sentido que é pelo menos um segmento do gene a ser suprimido;

(f) DNA que transcreve para o RNA para suprimir o gene a ser

suprimido pela formação de um único RNA de fita dupla e inclui vários segmentos de DNA antissentido em série que são antissentido a pelo menos um segmento do gene a ser suprimido e múltiplos segmentos de DNA de sentido de série que são, pelo menos, um segmento do gene a ser suprimido;

(g) DNA que transcreve para o RNA para suprimir o gene a ser suprimido pela formação de múltiplas fitas duplas de RNA e inclui vários segmentos de DNA antissentido que são antissentido a, pelo menos, um segmento do gene a ser suprimido e segmentos de DNA de sentido múltiplo que são pelo menos um segmento do gene a ser suprimido, e em que os segmentos de DNA antissentido múltiplos e os segmentos de DNA de sentidos múltiplos são dispostos em uma série de repetições invertidas;

(h) DNA que inclui nucleotídeos derivados de um miRNA vegetal;

(i) DNA que inclui os nucleotídeos de um siRNA;

(j) DNA que transcreve para um aptâmero de RNA capaz de se ligar a um ligante; e

(k) DNA que transcreve para um aptâmero de RNA capaz de se ligar a um ligante, e DNA que transcreve para um RNA regulatório capaz de regular a expressão do gene a ser suprimido, em que a regulação é dependente da conformação do RNA regulatório, e a conformação do RNA regulador é alostericamente afetada pelo estado de ligação do aptâmero de RNA.

Em algumas modalidades, um intron é usado para fornecer um elemento de supressão do gene, na ausência de quaisquer éxons codificadores de proteínas (sequência de codificação). Em um exemplo, um intron, como um intron que intensifica a expressão (preferido em certas modalidades), é interrompido encaixe em um íntron de um elemento de supressão do gene, em que, após a transcrição, o elemento de supressão do gene é retirado do intron. Deste modo, éxons que codificam proteínas não são necessários para fornecer a função supressora do gene dos constructos de DNA recombinante aqui descritos.

Elementos Regulatórios de Transcrição

Em algumas modalidades, o constructo de DNA recombinante

desta invenção inclui DNA que codifica um elemento de regulação da transcrição. Elementos de regulação da transcrição incluem elementos que regulam o nível de expressão do constructo de DNA recombinante da presente invenção (em relação à sua expressão, na ausência de tais elementos regulatórios). Exemplos de elementos regulatórios de transcrição adequados incluem *riboswitches* (*cis* ou *trans* atuantes), sequências de estabilização de transcrito, e sítios de reconhecimento de miRNA, conforme descrito em detalhes na Publicação do Pedido de Patente U.S. 2006/0200878, especificamente aqui incorporado por referência.

Fazendo e Usando Constructos de DNA Recombinantes

Os constructos de DNA recombinante desta invenção são feitos por qualquer método adequado para a aplicação pretendida, levando em consideração, por exemplo, o tipo de expressão desejada e conveniência do uso na planta em que o constructo deve ser transcrito. Métodos gerais para fazer e usar constructos de DNA e vetores são bem conhecidos na técnica e descritos em detalhes, por exemplo, nos guias e manuais de laboratório, incluindo Sambrook e Russell, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual" (terceira edição), Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY, 2001. Um exemplo de tecnologia útil para a constructo de constructos de DNA e vetores para a transformação é descrito na Publicação do Pedido de Patente U.S. 2004/0115642 A1, especificamente aqui incorporada por referência. Constructos de DNA também podem ser criados usando a tecnologia de clonagem GATEWAY™ (disponível junto à Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA), que usa a reação de clonagem LR de recombinase sítio-específica do sistema Integrase/att da constructo do vetor lambda bacteriófago, ao invés de endonucleases de restrição e ligases. A reação de clonagem LR é descrita nas Patentes U.S. 5.888.732 e 6.277.608, e nas Publicações de Pedido de Patente U.S. 2001/283529, 2001/282319 e 2002/0007051, todas as quais sendo especificamente incorporadas por referência na presente invenção. Outro método alternativo de fabricação de vetores emprega clonagem independente de ligação, conforme descrito por Aslandis *et al.* (1990) *Nucleic Acids Res.,* 18: 6069-6074 e Rashtchian *et al.* (1992) *Biochem.,* 206: 91-97,

onde um fragmento de DNA com extremidades de fita simples 5 'e 3' é ligado em um vetor desejado, que pode então ser amplificado *in vivo*.

Em certas modalidades, a sequência de DNA do constructo de DNA recombinante inclui sequência que foi códon-otimizada para a planta em que o constructo de DNA recombinante deve ser expresso. Por exemplo, um constructo de DNA recombinante para ser expresso em uma planta pode ter toda ou parte de sua sequência (por exemplo, o primeiro elemento de supressão de gene ou o elemento de expressão de gene) códon-otimizada para a expressão em uma planta por métodos conhecidos na técnica. Ver, por exemplo, a Patente U.S. Nº 5.500.365, incorporada por referência, para uma descrição da metodologia de otimização de códon para as plantas; ver também De Amicis e Marchetti (2000) Nucleic Acid Res., 28: 3339-3346.

Células, Plantas e Sementes Transgênicas Não-Naturais

Em outro aspecto, esta invenção fornece uma célula de planta transgênica não-natural tendo em seu genoma um constructo de DNA recombinante desta invenção, incluindo DNA que sofre processamento para um RNA incluindo RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que confere ao transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III em ou na vizinhança do segmento hibridizado. Esta invenção também fornece uma planta transgênica não-natural, incluindo a célula de planta transgênica não-natural. Em uma modalidade, a planta transgênica não-natural é totalmente composta de tecido transgênico; em um exemplo, a planta transgência parcialmente não-natural inclui a muda não-transgênica e um rizoma transgênico, incluindo a célula vegetal transgênica não-natural. É ainda fornecido por esta invenção uma semente transgênica não-natural, incluindo a célula vegetal transgênica não-natural.

Uma planta transgênica não-natural desta invenção inclui plantas de qualquer estágio de desenvolvimento, e inclui uma planta não-natural regenerada preparada a partir de células vegetais transgênicas não-naturais aqui descritas, ou uma planta de progenia não-natural (que pode ser uma planta de progenia congênita ou híbrida) da planta regenerada, ou sementes

de tais plantas transgênicas não-naturais. Também é fornecida uma semente transgênica não-natural tendo em seu genoma um constructo de DNA recombinante desta invenção. As células de plantas transgênicas não-naturais, plantas transgênicas e sementes transgênicas desta invenção são feitas por métodos bem conhecidos na técnica, como descrito abaixo sob o título "Fazendo e Usando Células Vegetais Transgênicas e Plantas Transgênicas".

A célula vegetal transgênica não-natural pode incluir uma célula de planta isolada (por exemplo, células vegetais individuais ou células cultivadas em ou sobre um meio de cultura artificial), ou pode incluir uma célula vegetal em tecido não-diferenciado (por exemplo, calos ou qualquer agregação de células vegetais). A célula vegetal transgênica não-natural pode incluir uma célula vegetal em pelo menos um tecido diferenciado, selecionado do grupo constituído por folha (por exemplo, pecíolo e lâmina), raiz, caule (por exemplo, tubérculos, rizomas, estolhos, bulbo, e cormo) caules (por exemplo, xilema, floema), madeira, sementes, frutas e flores (por exemplo, os estames, filamentos, anteras, pólen, microsporos, carpelo, pistilo, ovário, óvulos). A célula vegetal transgênica não-natural ou planta transgênica não-natural da invenção pode ser estavelmente transformada, por exemplo, plantas transgênicas férteis e suas sementes transgênicas não-naturais que contêm também o constructo recombinante da presente invenção.

Em algumas modalidades desta invenção, a planta não-natural é uma planta transgênica não-natural. Em tais modalidades, todas as células (com a possível exceção de células haploides) e os tecidos da planta não-natural contêm o constructo de DNA recombinante desta invenção. Em outras modalidades, a planta não-natural é parcialmente transgênica, e inclui o tecido não-transgênico natural (por exemplo, tecido transgênico não-natural enxertado em tecido não-transgênico natural). Em uma modalidade, a planta não-natural inclui uma amida não-transgênica natural e um rizoma transgênico não-natural incluindo a célula vegetal transgênica, em que a muda não-transgênica e o rizoma transgênico são enxertados em conjunto. Tais modalidades são particularmente úteis onde a planta é aquela

que é comumente cultivada vegetativamente como uma muda enxertada em um rizoma (onde a amida e o rizoma podem ser da mesma espécie ou variedade ou de diferentes espécies ou variedades); exemplos incluem árvores de uvas, maçãs, peras, marmelo, abacate, frutas cítricas, drupa, kiwi, rosa e outras plantas de importância agrícola e ornamental. Modalidades especificamente reivindicadas incluem modalidades onde (a) a planta transgênica parcialmente não-natural inclui uma muda de videira não-transgênica natural e um rizoma de videira transgênico não-natural; e (b) a planta parcialmente transgênica não-natural inclui uma muda de árvore de fruta não transgênica natural (por exemplo, pereira) e um árvore de fruta não- transgênica natural (por exemplo, marmeleiro).

Fazendo e usando Células Vegetais Transgênicas e Plantas Transgênicas

Onde um constructo de DNA recombinante desta invenção é utilizado para produzir uma célula vegetal, planta ou semente transgênica não-natural, a transformação pode incluir qualquer um dos métodos e composições bem conhecidas e demonstradas. Os métodos adequados para a transformação vegetal inclui praticamente qualquer método pelo qual o DNA pode ser introduzido em uma célula. Um método de transformação vegetal é bombardeio com microprojéteis, por exemplo, conforme ilustrado nas Patentes U.S. N°s 5.015.580 (soja), 5.538.880 (milho), 5.550.318 (milho), 5.914.451 (soja), 6.153.812 (trigo), 6.160.208 (milho), 6.288.312 (arroz), 6.365.807 (arroz) e 6.399.861 (milho) e 6.403.865 (milho), os quais são incorporados por referência para permitir a produção de plantas transgênicas.

Outro método útil de transformação vegetal é a transformação mediada por *Agrobacterium* contendo um sistema de plasmídeo Ti binário, onde *Agrobacterium* carrega um primeiro plasmídeo Ti e um segundo plasmídeo quimérico contendo pelo menos uma borda de T-DNA de um plasmídeo Ti tipo selvagem, um promotor funcional na célula vegetal transformada e operativamente ligado a um constructo de supressão de gene da invenção. Ver, por exemplo, o sistema binário descrito na Patente U.S. 5.159.135, incorporada por referência. Ver também De Framond (1983) *Biotechnology*, 1: 262-269; e Hoekema et al., *Nature* (1983), 303: 179. Em tal sistema binário,

o menor plasmídeo, contendo a borda ou bordas de T-DNA, pode ser convenientemente construído e manipulado em um hospedeiro alternativo adequado, tal como *E. Coli*, e depois transferido para *Agrobacterium*.

Os procedimentos detalhados para a transformação mediada por *Agrobacterium* de plantas, especialmente plantas de colheita, inclui procedimentos descritos nas Patentes U.S. N°s 5.004.863, 5.159.135 e 5.518.908 (algodão); 5.416.011, 5.569.834, 5.824.877 e 6.384.301 (soja); 5.591.616 e 5.981.840 (milho); 5.463.174 (brássicas, incluindo canola); 7.026.528 (trigo) e 6.329.571 (arroz), e nas Publicações de Pedido de Patente U.S. 2004/0244075 (milho) e 2001/0042257 A1 (beterraba), que são todos especificamente incorporados por referência para permitir a produção de plantas transgênicas. Métodos similares foram relatados para muitas espécies de plantas, tanto monocotiledôneas quanto dicotiledôneas, incluindo, dentre outras, árvores do amendoim (Cheng et al (1996) Plant Cell Rep., 15: 653); aspargo (Bytebier et al (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84:5345), cevada (Wan e Lemaux (1994) Plant Physiol., 104:37); arroz (Toriyama et al. (1988) Bio/Technology, 6:10; Zhang et al. (1988) Plant Cell Rep., 7:379; trigo (Vasil et al (1992) Bio/Technology, 10: 667; Becker et al (1994) Plant J., 5: 299), alfafa (Masoud et al. (1996) Transgen. Res., 5:313); e tomate (Sun et al (2006) *Plant Cell Physiol*, 47: 426-431). Ver também uma descrição dos vetores, métodos de transformação e produção de plantas de *Arabidopsis thaliana* transformadas, onde os fatores de transcrição são constitutivamente expressos por um promotor CaMV35S, na Publicação do Pedido de Patente 2003/0167537 A1, incorporada por referência. Vários métodos de transformação de outras espécies vegetais são bem conhecidos na técnica, ver, por exemplo, a referência enciclopédica, "Compendium of Transgenic Crop Plants", editada por Chittaranjan Kole e Timothy C. Hall, Blackwell Publishing Ltd., 2008; ISBN 978-1-405-16924-0 (disponível eletronicamente em mrw.interscience.wiley.com/emrw/9781405181099/hpt/toc), que descreve os procedimentos de transformação para cereais e gramíneas (arroz, milho, trigo, cevada, aveia, sorgo, milheto, capim pé-de-galinha, gramíneas forrageiras de estação fria, e grama-batatais), culturas de sementes oleaginosas

(soja, brássicas de sementes oleaginosas, girassol, amendoim, linho, sésamo e cártamo), grãos de leguminosas e forrageiras (feijão comum, feijão-de-vaca, ervilha, fava, lentilha, *Phaseolus acutifolius* (tepary bean), feijão asiático, guandu, ervilhaca, grão de bico, tremoço, alfafa e trevos), frutas de temperatura e nozes (árvores de maçã, pêra, pêssego, ameixas, culturas de baga, cerejas, uvas, azeitonas, amêndoas e noz persa), frutas tropicais e subtropicais e nozes (árvores de frutas cítricas, toranja, banana e bananeira, abacaxi, mamão, manga, abacate, kiwi, maracujá e caqui), safras de hortaliças (plantas de tomate, berinjela, pimentões, brássicas vegetais, rabanete, cenoura, cucurbitáceas, alho, aspargo e vegetais folhosos), safras de açúcar, tubérculos, e fibras (cana-de-açúcar, beterraba, stévia, batata, batata doce, mandioca e algodão), safras de plantação, ornamentais e gramados (árvores de tabaco, café, cacau, chá, seringueiras, plantas medicinais, plantas ornamentais e gramados), e as espécies de árvores de floresta. Uma pessoa versada na técnica tem várias metodologias de transformação para a produção de plantas transgênicas estáveis.

Métodos de transformação para fornecer células vegetais transgênicas e plantas transgênicas contendo DNA recombinante estavelmente integrado são preferencialmente praticados em cultura tecidual em meio e em um ambiente controlado. "Meio" refere-se às numerosas misturas de nutrientes que são utilizadas para cultivar células *in vitro*, isto é, fora do organismo vivo intacto. Alvos celulares receptores incluem, mas não estão limitados, às células do meristema, calos, embriões imaturos ou partes de embriões e células gaméticas, como microsporos, pólen, esperma ou óvulos. Qualquer célula de que uma planta fértil pode ser regenerada é contemplada como uma célula receptora útil para a prática da invenção. Calo pode ser iniciado a partir de várias fontes teciduais incluindo, mas sem se limitar, aos embriões imaturos ou partes de embriões, meristemas apicais de mudas, microsporos e similares. Aquelas células que são capazes de proliferar como calos podem servir como células receptoras para transformação genética. Métodos de transformação prática e materiais para fazer plantas transgênicas desta invenção (por exemplo, vários meios e células-alvo receptoras,

transformação de embriões imaturos e subsequente regeneração de plantas transgênicas férteis) são descritos, por exemplo, nas Patentes U.S. Nos. 6.194.636 e 6.232.526 e na Publicação do Pedido de Patente U.S. 2004/0216189, que são especificamente incorporados por referência.

Na prática de transformação geral, o DNA é introduzido apenas em uma pequena porcentagem de células-alvo, em qualquer experimento de transformação. Os genes marcadores são geralmente usados para fornecer um sistema eficaz para a identificação das células que são estavelmente transformadas recebendo e integrando um constructo de DNA transgênico em seus genomas. Genes marcadores preferidos fornecem marcadores seletivos que conferem resistência a um agente seletivo, como um antibiótico ou herbicida. Qualquer um dos antibióticos ou herbicidas em que uma célula vegetal pode ser resistente pode ser um agente útil para a seleção. Células potencialmente transformadas são expostas ao agente seletivo. A população de células sobreviventes serão aquelas células onde, em geral, o gene que confere resistência é integrado e expresso em níveis suficientes para permitir a sobrevivência da célula. As células podem ser ainda testadas para confirmar a integração estável do DNA recombinante. Genes marcadores seletivos comumente utilizados incluem aqueles que conferem resistência aos antibióticos como canamicina ou paromomicina (nptII), higromicina B (*aph IV*) e gentamicina (*aac3* e *aacC4*) ou resistência a herbicidas como glufosinato (*bar* ou *pat*) e glifosato (EPSPS). Exemplos de genes marcadores seletivos úteis e agentes de seleção são ilustrados nas Patentes U.S. 5.550.318, 5.633.435, 5.780.708 e 6.118.047, todas as quais sendo especificamente incorporadas por referência. Marcadores testáveis ou repórteres, como marcadores que proporcionam uma capacidade de identificar visualmente transformantes também podem ser empregados. Exemplos de marcadores testáveis úteis incluem, por exemplo, um gene que expressa uma proteína que produz uma cor detectável, agindo em um substrato cromogênico (por exemplo, beta-glucuronidase (GUS) (*uidA*) ou luciferase (*luc*)) ou que em si mesma é detectável, como uma proteína fluorescente verde (GFP) (*gfp*) ou uma molécula imunogênica. As pessoas versadas na técnica reconhecerão

que muitos outros marcadores ou repórteres úteis estão disponíveis para uso.

Detecção ou medição de transcrição do constructo de DNA recombinante na célula vegetal transgênica da invenção pode ser alcançada por qualquer método adequado, incluindo métodos de detecção de proteínas (por exemplo, *Western blots*, ELISAs e outros métodos imunoquímicos), medidas da atividade enzimática, ou métodos de detecção de ácido nucleico (por exemplo, *Southern blots*, *Northern blots*, PCR, RT-PCR, hibridização *in situ* fluorescente).

Outros métodos adequados para detectar ou medir a transcrição do constructo de DNA recombinante na célula vegetal transgênica da invenção incluem medição de qualquer outra característica que é uma indicação direta ou representante do nível de expressão do gene-alvo na célula vegetal transgênica em que o constructo de DNA recombinante é transcrito, em relação ao nível de expressão em um em que o DNA recombinante não é transcrito, por exemplo, características morfológicas grandes ou microscópicas, taxas de crescimento, produtividade, taxas de reprodução ou recrutamento, resistência a pragas e patógenos, ou resistência a estresses bióticos ou abióticos (por exemplo, estresse por déficit de água, estresse salino, estresse de nutrientes, estresse causado pelo calor ou frio). Tais métodos podem utilizar medidas diretas de uma característica fenotípica ou ensaios de representatividade (por exemplo, em plantas, estes ensaios incluem testes de partes vegetais, como ensaios de folhas e raízes para determinar a tolerância de estresse abiótico). Tais métodos incluem medidas diretas de resistência a uma praga ou patógeno invertebrado (por exemplo, danos aos tecidos vegetais) ou ensaios de representatividade (por exemplo, ensaios de rendimento de planta, ou bioensaios, como o bioensaio de larva da bicheira da raiz do milho (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte) descrito na Publicação de Pedido de Patente Internacional WO2005/110068 A2 e na Publicação do Pedido de Patente U.S. US 2006/0021087 A1, especificamente incorporada por referência, ou o bioensaio nematoide de vesícula de soja, descritos por Steeves et al. (2006) Funct. Plant Biol., 33: 991-999, onde vesículas

por planta, vesículas por grama de raiz, óvulos por planta, óvulos por grama de raiz, e ovos por vesícula são medidos.

Os constructos de DNA recombinante da invenção podem ser empilhados com outros DNAs recombinantes para conferir características adicionais (por exemplo, no caso de plantas transformadas, características incluindo resistência a herbicidas, resistência a pragas, tolerância a germinação à frio, tolerância ao déficit de água e semelhantes) por exemplo, expressando ou suprimindo outros genes. Constructos para o decréscimo e acréscimo coordenado da expressão do gene são descritos na Publicação do Pedido de Patente U.S. 2004/0126845 A1, especificamente incorporada por referência.

As sementes de plantas transgênicas férteis podem ser colhidas e utilizadas para cultivar as gerações descendentes, incluindo as gerações híbridas das plantas transgênicas desta invenção que incluem o constructo de DNA recombinante em seus genomas. Deste modo, além da transformação direta de uma planta com um constructo de DNA recombinante desta invenção, as plantas transgênicas da invenção podem ser preparadas por cruzar uma primeira planta com o DNA recombinante com uma segunda planta que não tem o constructo. Por exemplo, o DNA recombinante pode ser introduzido em uma linhagem vegetal que é passível de transformação para produzir uma planta transgênica, que pode ser cruzada com uma segunda linhagem vegetal para introgredir o DNA recombinante na progenia resultante. Uma planta transgênica da invenção pode ser cruzada com uma linhagem vegetal com outro DNA recombinante que confere uma ou mais característica(s) adicional/adicionais (tais como, mas sem se limitar, a resistência aos herbicidas, resistência a pragas ou doenças, resistência ao estresse ambiental, conteúdo de nutrientes modificado e melhoria de rendimento) para produzir plantas de progenia com DNA recombinante que confere tanto o comportamento desejado de expressão de sequência-alvo e a(s) característica(s) adicional/adicionais.

Em tal produção para combinar características da planta transgênica doando a característica adicional pode ser uma linhagem masculina

(polinizadora) e plantas transgênicas carregando as características básicas podem ser a linhagem feminina. Os descendentes desse cruzamento se segregam, de modo que algumas das plantas irão carregar o DNA para ambas as características parenterais e algumas irão carregar DNA para uma das características originais; de modo que essas plantas possam ser identificadas por meio de marcadores associados com DNA recombinante de origem. Planta de progenia carregando DNA para ambas as características originais pode ser retrocruzada na linhagem de origem fêmea várias vezes, por exemplo, geralmente de 6 a 8 gerações, para produzir uma planta de progenia homozigota com substancialmente o mesmo genótipo que a linhagem original transgênica de origem, bem como o DNA recombinante da outra linhagem original transgênica.

Ainda um outro aspecto da invenção é uma planta transgênica cultivada a partir das sementes transgênicas da invenção. Esta invenção contempla plantas transgênicas cultivadas diretamente a partir de sementes transgênicas contendo o DNA recombinante, assim como as gerações descendentes das plantas, incluindo as linhagens de planta pura ou híbrida, feitas pelo cruzamento de uma planta transgênica cultivada diretamente a partir de sementes transgênicas a uma segunda planta não crescida a partir da mesma semente transgênica. O cruzamento pode incluir, por exemplo, as seguintes etapas:

(a) plantar sementes da primeira planta de origem (por exemplo, não-transgênica ou transgênica) e uma segunda planta de origem que é transgênica de acordo com a invenção;

(b) crescer as sementes da primeira e da segunda planta de origem que carregam flores;

(c) polinizar uma flor da primeira origem com pólen da segunda origem; e

(d) coletar as sementes produzidas na planta de origem com a flor fertilizada.

É frequentemente desejável introgredir DNA recombinante em variedades de elite, por exemplo, através de retrocruzamento, para transferir

uma característica desejável específica de uma fonte para uma planta pura ou outra que não tenha essa característica. Isto pode ser conseguido, por exemplo, com um primeiro cruzamento de um congênito superior ("A") (original recorrente) a um doador congênito ("B") (origem não-recorrentes), que carrega o(s) gene(s) apropriado(s) para a característica em questão, por exemplo, um constructo preparado de acordo com a invenção atual. A progenia deste primeiro cruzamento é selecionada na progenia resultante para a característica desejada a ser transferidos a partir da origem não-recorrente "B", e depois a progenia selecionadas é unida de volta à origem recorrente superior "A". Depois de cinco ou mais gerações de retrocruzamento com seleção para a característica desejada, os descendentes podem ser essencialmente hemizigotos para os *loci* que controlam a característica sendo transferida, mas são como a origem superior para a maioria ou quase todos os outros genes. A última geração de retrocruzamento seria auto-fecundadas para fornecer a progenia, que seria de raça pura para o(s) gene(s) a ser transferido(s), isto é, um ou mais eventos de transformação.

Através de uma série de manipulações de melhoramento, um constructo de DNA selecionado pode se mover de uma linha em uma linhagem totalmente diferente, sem necessidade de manipulação recombinante adicional. Pode-se, assim, produzir plantas puras que são verdadeira reprodução de um ou mais constructos de DNA. Ao cruzar diferentes plantas puras, pode-se produzir um grande número de diferentes híbridos com diferentes combinações de constructos de DNA construções. Desta forma, as plantas podem ser produzidas, que têm as propriedades agronômicas desejáveis frequentemente associadas com híbridos ("vigor híbrido"), bem como as características desejáveis transmitidas por um ou mais constructos de DNA.

Em certas células de plantas transgênicas e plantas transgênicas da invenção, pode ser desejável, em simultâneo, expressar um gene de interesse, enquanto também se modula a expressão de um gene-alvo. Assim, em algumas modalidades, a planta transgênica contém DNA recombinante, ainda incluindo um elemento de expressão do gene para expressar

pelo menos um gene de interesse, e transcrição do constructo de DNA recombinante desta invenção é preferencialmente efetuada com a simultânea transcrição do elemento de expressão do gene.

Os constructos de DNA recombinante desta invenção podem ser transcritos em qualquer célula ou tecido vegetal ou em plantas inteiras de qualquer fase de desenvolvimento. As plantas transgênicas podem ser derivadas de qualquer planta monocotiledônea ou dicotiledônea, tais como, mas sem se limitar, às plantas de interesse comercial ou agrícola, tais como plantas de cultivo (especialmente plantas de safras utilizadas para alimentação humana ou ração animal), árvores produtoras de madeira ou polpa, plantas vegetais, plantas de frutas e plantas ornamentais. Exemplos de plantas de interesse incluem plantas de safra de grãos (como trigo, aveia, cevada, milho, centeio, triticale, arroz, milho, sorgo, quinoa, amaranto e trigo mouro); plantas de safras forrageiras (como gramíneas forrageiras e dicotiledôneas forrageiras incluindo alfafa, ervilhaca, trevo e semelhantes); plantas de safras de sementes oleaginosas (como o algodão, cártamo, girassol, soja, canola, colza, linho, amendoim e óleo de palma); castanheiras (tais como árvores de noz, castanha de caju, avelã, nogueira-pecã, amêndoas e semelhantes); cana-de-açúcar, coqueiros, tamareiras, oliveiras, beterrabeiras, arbustos de chá e café; árvores produtoras de madeira ou polpa; plantas de safras vegetais como legumes (por exemplo, feijoeiros, ervilha, lentilhas, alfafa, amendoim), alface, aspargo, alcachofra, aipo, cenoura, rabanete, as brássicas (por exemplo, repolhos, couves galegas, mostardas e outras brássicas folhosas, brócolis, couve-flor, couve de Bruxelas, nabo, couve-rábano), cucurbitáceas comestíveis (por exemplo, pepinos, melões, abóboras, abóboras de Inverno), *alliums* comestíveis (por exemplo, cebola, alho, alho-poró, chalota, cebolinha), os membros comestíveis das solanáceas (por exemplo, tomates, berinjelas, batatas, pimentões, *tomatillo*), e membros comestíveis das Chenopodiaceae (por exemplo, beterraba, acelga, espinafre, quinoa, amaranto); culturas fruteiras, tais como maçã, pêra, frutas cítricas (por exemplo, laranja, limão-galego, limão, toranja, e outros), drupas (por exemplo, damasco, pêssego, ameixa, nectarina), banana, abacaxi, uva, kiwi, mamão,

abacate e bagas; plantas cultivadas por biomassa ou biocombustível (por exemplo, gramíneas *Miscanthus*, ***Panicum virgatum***, pinhão manso, palma de óleo, microalgas eucarióticas, tais como *Botryococcus braunii, Chlorella spp e Dunaliella spp* e macroalgas eucarióticas, como *Gracilaria spp* e *Sargassum spp*); e plantas ornamentais, incluindo plantas de flores ornamentais, árvores ornamentais e arbustos, plantas pequenas ornamentais e gramíneas ornamentais.

Esta invenção também fornece produtos de consumo produzidos a partir de uma célula vegetal não-transgênica, planta ou semente desta invenção incluindo, mas sem se limitar, às folhas colhidas, raízes, brotos, tubérculos, caules, frutos, sementes ou outras partes de uma planta, farelos, óleos, extratos, produtos de fermentação ou digestão, grãos triturados ou sementes de uma planta, ou qualquer produto alimentício ou não-alimentício incluindo produtos de mercadorias produzidos a partir de uma célula de planta transgênica, planta ou sementes desta invenção. A detecção de uma ou mais sequências de ácidos nucleicos dos constructos de DNA recombinante desta invenção em um ou mais produtos de mercadoria ou mercadoria contemplados neste documento é, de fato, evidência de que a mercadoria ou produto de mercadoria contém ou é derivado de uma célula vegetal transgênica não-natural, planta ou semente dessa invenção.

Em várias incorporações, a planta transgênica não-natural tendo em seu genoma um constructo de DNA recombinante tem pelo menos uma característica alterada adicional, em relação a uma planta sem o constructo de DNA recombinante, selecionado do grupo de características que consiste em:

(a) tolerância ao estresse abiótico melhorada;

(b) tolerância ao estresse biótico melhorada;

(c) composição metabólica primária modificada;

(d) composição metabólica secundária modificada;

(e) composição de elemento traço, carotenoide ou vitamina melhorado;

(f) rendimento melhorado;

(g) capacidade melhorada do uso de nitrogênio, fósforo ou outros nutrientes;

(h) características agronômicas modificadas;

(i) crescimento ou características reprodutivas modificadas; e

(j) qualidade de colheita, armazenamento ou processamento melhorados.

Em algumas modalidades, a planta transgênica não-natural é caracterizada por: tolerância melhorada ao estresse abiótico (por exemplo, a tolerância de déficit de água ou seca, calor, frio, níveis de nutrientes ou sal não-ótimos, níveis de luz não-ótimos) ou de estresse biótico (por exemplo, aglomeração, alelopatia ou ferimento); por uma composição de metabólito primário modificado (por exemplo, ácidos graxos, óleo, aminoácidos, proteínas, açúcares ou carboidratos); um composições de metabólito secundário modificado (por exemplo, alcaloides, terpenoides, policetídeos, peptídeos não-ribossomais e metabólitos secundários de origem biossintética mista); um elemento traço modificado (por exemplo, ferro, zinco), carotenoides (por exemplo, beta-caroteno, licopeno, luteína, a zeaxantina ou outros carotenoides e xantofilas), ou composição de vitamina (por exemplo, tocoferóis); rendimento melhorado (por exemplo, rendimento melhorado sob condições não-estressantes ou rendimento melhorado sob estresse biótico ou abiótico); capacidade melhorada de uso de nitrogênio, fosfato ou outros nutrientes; características agronômicas modificadas (por exemplo, maturação retardada; senescência retardada; maturidade adiantada ou atrasada; melhor tolerância à penumbra; resistência melhorada ao alojamento de raiz ou caule; maior resistência à "ruptura verde" das hastes; resposta ao fotoperíodo modificada); características de crescimento ou reprodutivas modificadas (por exemplo, nanismo intencional; esterilidade masculina intencional, úteis, por exemplo, nos processos de hibridação melhorados; melhor taxa de crescimento vegetativo; germinação melhorada; fertilidade masculina ou feminina melhorada); colheita armazenamento ou qualidade de processamento melhorados (por exemplo, melhor resistência a pragas durante o armazenamento, maior resistência à quebra, melhor apelo aos consumidores); ou

qualquer combinação dessas características.

Em outra modalidade, as sementes transgênicas não-naturais, ou sementes produzidas pelas plantas transgênicas não-naturais tem composição de metabólito primário modificada (por exemplo, ácido graxo, óleo, aminoácidos, proteínas, açúcares ou carboidratos), uma composição de metabólito secundário modificada, uma composição de elemento traço, carotenoides ou vitamina modificada, uma qualidade de safra, armazenamento ou processamento melhorados, ou uma combinação destes. Em outra modalidade, pode ser desejável alterar os níveis dos componentes naturais da planta transgênica ou de semente de planta transgênica, por exemplo, para diminuir os níveis de uma proteína alergênica ou glicoproteína ou de um metabólito tóxico.

De modo geral, a varredura de uma população de plantas transgênicas cada uma regenerada de uma célula vegetal transgênica é realizada para identificar as células vegetais transgênicas que se desenvolvem em plantas transgênicas tendo a característica desejada. As plantas transgênicas são analisadas para detectar uma característica melhorada, por exemplo, eficiência de uso da água melhorada, tolerância ao frio melhorada, maior produtividade, eficiência de uso de nitrogênio melhorado, proteína de semente melhorada, e óleo de semente melhorado. Métodos de seleção incluem a seleção direta para a característica em um ensaio em estufa ou campo ou seleção para uma característica substituta. Essas análises são direcionadas para detectar mudanças na composição química, biomassa, propriedades fisiológicas ou morfologia da planta. Alterações nas composições químicas, tal como na composição nutricional dos grãos, são detectadas pela análise da composição da semente e teor de proteínas, aminoácidos livres, óleo, ácidos graxos livres, amido, tocoferóis ou outros nutrientes. Alterações no crescimento ou características de biomassa são detectadas através da medição da altura da planta, diâmetro do caule, comprimento interno, pesos secos da raiz e broto, e comprimento e diâmetro de cabeça de semente ou espiga (para as plantas produtoras de grãos como milho, arroz ou trigo). Alterações nas propriedades fisiológicas são identificadas através

da avaliação de respostas às condições de estresse, por exemplo, ensaios sob condições de estresse imposto, tais como déficit de água, deficiência de nitrogênio ou fosfato, condições de crescimento frio ou quente, ataque por patógenos ou insetos, deficiência de luz ou aumento da densidade vegetal. Outras propriedades de seleção incluem dias para espalhar pólen, dias para espigamento no milho, taxa de alongamento foliar, teor de clorofila, temperatura foliar, resistência, vigor das mudas, comprimento dos entrenós, altura da planta, número de folhas, área foliar, brotação, raízes adventícias, sustentação do verde, alojamento da haste, saúde da planta, fertilidade, ruptura verde e resistência a pragas. Além disso, as características fenotípicas das sementes colhidas podem ser avaliadas, por exemplo, no milho, isso pode incluir o número de grãos por fileira na espiga, número de fileiras de grãos na espiga, o abortamento de grãos, peso de grãos, tamanho dos grãos, densidade dos grãos e qualidade física dos grãos. A seguir exemplos de testes de rastreio úteis para identificar características desejadas em plantas de milho são ilustrados. Estes podem ser facilmente adaptados para seleção de outras plantas, como canola, algodão e soja, quer como híbridos ou linhagens.

Plantas de milho transgênicas com eficiência de uso de nitrogênio são identificadas por varredura em campos com três níveis de fertilizante nitrogenado sendo aplicado, por exemplo, nível baixo (0 libras/acre), nível médio (80 libras/acre) e nível elevado (180 libras/acre). Plantas com maior eficiência de utilização de nitrogênio proporcionam maior rendimento em relação às plantas de controle.

Plantas de milho transgênicas com maior rendimento são identificadas pela varredura das plantas transgênicas em vários locais com plantas cultivadas com práticas de gerenciamento de produção ótimas e máximo controle de pragas e ervas daninhas. Um destino útil para uma o rendimento melhorado é um aumento de 5% a 10% no rendimento em comparação ao rendimento produzido pelas plantas cultivadas a partir de sementes para uma planta de controle. Os métodos de seleção podem ser aplicados em múltiplas e diversas localizações geográficas e em uma ou mais épocas de

plantio para distinguir estatisticamente o rendimento melhorado dos efeitos ambientais naturais.

Plantas de milho transgênicas com eficiência de uso da água melhorada são identificadas pela seleção de plantas em um ensaio onde a água é retida por um período para induzir o estresse seguido de irrigação para avivar as plantas. Por exemplo, um processo de seleção útil impõe 3 ciclos de seca/reirrigação nas plantas durante um período total de 15 dias após um período inicial de crescimento sem stress de 11 dias. Cada ciclo consiste em 5 dias, sem água sendo aplicada durante os primeiros quatro dias e uma supressão de água no 5º dia do ciclo. Os fenótipos primários analisados pelo método de seleção são as mudanças na taxa de crescimento da planta, determinado pela altura e biomassa durante um tratamento de secura vegetativo.

Plantas de milho transgênicas com maior tolerância ao frio são identificadas através de seleção de plantas em um ensaio de germinação frio e/ou teste de campo de tolerância ao frio. Em ensaio de germinação frio bandejas de sementes transgênicas e controle são colocadas em uma câmara escura de crescimento a 9,7 graus Celsius por 24 dias. Sementes com maiores taxas de germinação em comparação com o controle são identificadas como tendo maior tolerância ao frio. Em um teste de campo de tolerância ao frio plantas com tolerância ao frio aumentada são identificadas a partir de plantio no campo em uma data anterior à plantação da primavera convencional para a localização do campo. Por exemplo, as sementes são plantadas no solo em cerca de duas semanas antes de os agricultores locais começarem a plantar milho, de modo que um estresse ao frio significativo é exercido na safra. Como controle, as sementes também são plantadas sob as condições locais de plantio ideais, de modo que a cultura tem pouca ou nenhuma exposição às condições frias. Em cada local, as sementes são plantadas sob condições tanto frias quanto normais, de preferência com múltiplas repetições por tratamento.

A descrição acima e os exemplos apresentados nesta descrição descrevem o assunto da presente invenção, que inclui o seguinte: (I) um constructo de

DNA recombinante que compreende DNA que sofre processamento a um RNA que compreende RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que transmite ao dito transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III em ou na vizinhança do dito segmento hibridizado; (**II**) um constructo de DNA recombinante compreendendo DNA que sofre processamento a um RNA que compreende RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que transmite ao dito transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III em ou na vizinhança do dito segmento hibridizado, em que o dito processamento de DNA a um RNA compreendendo um RNA de fita simples compreende a transcrição do dito DNA a um intermediário de RNA compreendendo uma ou mais origens de RNA de fita dupla; (**III**) um constructo de DNA recombinante compreendendo DNA que sofre processamento a um RNA que compreende RNA de fita única que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de cadeia dupla que transmite ao transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III em ou na vizinhança do dito segmento hibridizado, em que o comprimento do dito RNA de fita simples compreende entre cerca de 10 a cerca de 100 nucleotídeos; (**IV**) um constructo de DNA recombinante compreendendo DNA que sofre processamento para um RNA compreendendo RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA de fita dupla pelo menos parcialmente que confere ao dito transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III em ou na vizinhança do dito segmento hibridizado, que compreende ainda pelo menos um elemento selecionado a partir do grupo que consiste em: (A) promotor funcional em uma célula eucariótica; (B) um promotor Pol III operativamente ligado ao dito DNA que sofre processamento a um RNA compreendendo RNA de fita simples; (C) DNA que é processado a um aptâmero de RNA; (D) uma unidade de transcrição do transgene; (E) DNA que codifica um intron unível; (F) DNA

que codifica uma ribozima auto-nível; (G) DNA que codifica um sítio de reconhecimento recombinase sítio-específico; (H) DNA que codifica um elemento de supressão gênico; e (I) DNA que codifica um elemento regulador de transcrição; (**V**) um constructo de DNA recombinante que compreende DNA que sofre processamento a um RNA que compreende RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que transmite ao dito transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III em ou na vizinhança do referido segmento hibridizado, em que o dito pelo menos um gene-alvo compreende: (A) sequência codificadora, sequência não-codificante ou sequências tanto codificadora quanto não-codificadora; ou (B) um gene-alvo único, ou genes-alvo múltiplos; ou (C) um ou mais do grupo que consiste em: (1) um gene endógeno de um eucarioto, (2) uma transgene de uma planta transgênica, (3) um gene endógeno de uma praga ou patógeno de uma planta, e (4) um gene endógeno de um simbionte associado a uma praga ou patógeno de uma planta; (**VI**), um constructo de DNA recombinante compreendendo DNA que sofre processamento a um RNA que compreende RNA de fita única que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que transmite ao dito transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III em ou na vizinhança do referido segmento hibridizado, em que a dita ligação do dito RNA de fita simples ao dito transcrito: (A) inibe a supressão mediada por RNA de fita dupla do referido pelo menos um gene-alvo; ou (B) inibe a tradução do dito transcrito; (**VII**) um constructo de DNA recombinante que compreende DNA que sofre processamento a um RNA que compreende RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de FITA dupla que confere ao dito transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III em ou na vizinhança do dito segmento hibridizado, em que a dita ligação do dito RNA de fita simples ao dito transcrito: (A) inibe a supressão mediada por RNA de fita dupla do dito pelo menos um gene-alvo; ou (B) inibe a tradução da dita

transcrição; e em que: (1) a dita ligação do dito RNA de fita simples ao dito transcrito inibe a supressão mediada por RNA de fita dupla do dito pelo menos um gene-alvo e o comprimento do dito segmento hibridizado compreende entre cerca de 10 a cerca de 100 pares de base; (2) a dita ligação do dito RNA de fita simples ao dito transcrito inibe a tradução do dito transcrito e o comprimento do dito segmento hibridizado compreende entre cerca de 10 a cerca de 50 pares de bases; ou (3), a dita ligação do dito RNA de fita simples ao dito transcrito inibe a tradução do dito transcrito e o comprimento do dito segmento hibridizado compreende entre cerca de 19 a cerca de 50 pares de bases, o dito segmento hibridizados compreende segmentos menores de 9 ou menos pares de bases perfeitamente complementares contíguos, e pelo menos uma incompatibilidade ou inserção está entre cada par de tais segmentos menores; (**VIII**) um constructo de DNA recombinante compreendendo DNA que sofre processamento a um RNA que compreende RNA de fita única que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente fita dupla confere ao dito transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNAse III em ou na vizinhança do dito segmento hibridizado, em que a dita ligação do dito RNA de fita simples ao dito transcrito: (A) inibe a supressão mediada por RNA de fita dupla do dito pelo menos um gene-alvo; ou (B) inibe a tradução do dito transcrito; e em que a dita ligação do dito RNA de fita simples ao dito transcrito inibe a supressão mediada por RNA de fita dupla do dito pelo menos um gene-alvo e o comprimento do dito segmento hibridizado compreende entre cerca de 10 a cerca de 100 pares de bases, e a dita supressão mediada por RNA de fita dupla inclui a clivagem do dito transcrito por ribonu-clease RNAse III, e a dita clivagem é mediada pela ligação de um RNA pequeno ao dito transcrito; (**IX**) constructo de DNA recombinante compreendendo DNA que sofre processamento a um RNA que compreende RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que confere ao dito transcrito resistência à clivagem pela ribonuclease RNase III em ou na vizinhança do dito segmento hibridizado, em que a dita

ligação do dito RNA de fita simples ao dito transcrito: (A) inibe a supressão mediada por RNA de fita dupla do dito pelo menos um gene-alvo; ou (B) inibe a tradução do dito transcrito; e em que o dito RNA pequeno é: (1) uma RNA pequeno endógeno ou um RNA pequeno transgênico; ou (2) selecionado do grupo constituído por um miRNA, um siRNA, uma siRNA transatuante, um RNA pequeno em fase, um siRNA de transcrito antissentido natural, e um miRNA de transcrito antissentido natural; (**X**) um constructo de DNA recombinante que compreende DNA que sofre processamento a um RNA que compreende RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que transmite ao dito transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III em ou na vizinhança do dito segmento hibridizado, em que a dita ligação do dito RNA de fita simples ao dito transcrito: (A) inibe a supressão mediada por RNA de fita dupla do dito pelo menos um gene-alvo; ou (B) inibe a tradução do dito transcrito; e em que a dita ligação do dito RNA de fita simples ao dito transcrito inibe a supressão mediada por RNA de fita dupla do dito pelo menos um gene-alvo e o comprimento do dito segmento hibridizado compreende entre cerca de 10 a cerca de 100 pares de bases, e a dita supressão mediada por RNA de fita dupla compreende a clivagem do dito transcrito por ribonuclease RNase III, e a dita clivagem é mediada pela ligação de um RNA pequeno ao dito transcrito; e em que o dito segmento hibridizado compreende pelo menos um mau-emparelhamento ou pelo menos uma inserção no dito segmento em uma posição que resulta em inibição da clivagem do dito transcrito pela dita ribonuclease RNAse III; (**XI**) um constructo de DNA recombinante que compreende DNA que sofre processamento a um RNA que compreende RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que transmite ao dito transcrito resistência à clivagem pela ribonuclease RNase III, em ou na vizinhança do dito segmento hibridizado, em que a dita ligação do dito RNA de fita simples ao dito transcrito: (A) inibe a supressão mediada por RNA de fita dupla do dito pelo menos um gene-alvo; ou (B) ini-

be a tradução do dito transcrito; e em que a dita ligação do dito RNA de fita simples ao dito transcrito inibe a supressão mediada por RNA de fita dupla do dito pelo menos um gene-alvo e o comprimento do dito segmento hibridizado compreende entre cerca de 10 a cerca de 100 pares de bases, e a dita supressão mediada por RNA de fita dupla compreende a clivagem do dito transcrito pela dita ribonuclease RNase III, e a dita clivagem é mediada pela ligação de um RNA pequeno ao dito transcrito; e em que o dito RNA pequeno é um miRNA maduro, a dita ligação é um sítio de reconhecimento de miRNA no dito transcrito, a dita clivagem do dito transcrito ocorre no dito sítio de reconhecimento de miRNA, e o dito segmento hibridizado é formado pelo menos parcialmente no dito sítio de reconhecimento de miRNA; (**XII**), um constructo de DNA recombinante que compreende DNA que sofre processamento para um RNA que compreende RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que transmite ao dito transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III em ou na vizinhança do dito segmento hibridizado, em que a dito ligação do dito RNA de fita simples ao dito transcrito: (A) inibe a supressão mediada por RNA de fita dupla do dito pelo menos um gene-alvo; ou (B) inibe a tradução do dito transcrito; e em que a dita ligação do dito RNA de fita simples ao dito transcrito inibe a supressão mediada por RNA de fita dupla do dito pelo menos um gene-alvo e o comprimento do dito segmento hibridizado compreende entre cerca de 10 a cerca de 100 pares de bases, e a dita supressão mediada por RNA de fita dupla compreende a clivagem do dito transcrito pela dita ribonuclease RNase III, e a dita clivagem é mediada pela ligação de um RNA pequeno ao dito transcrito; e em que o dito RNA pequeno é um miRNA maduro; a dita ligação é em um sítio de reconhecimento de miRNA no dito transcrito, a dita clivagem do dito transcrito ocorre no dito sítio de reconhecimento de miRNA, e o dito segmento hibridizado é formado pelo menos parcialmente no dito sítio de reconhecimento de miRNA; e em que o dito segmento hibridizado compreende: (1) pelo menos um mau-emparelhamento entre o dito RNA de fita simples e o dito sítio de reco-

nhecimento de miRNA em posições correspondentes às posições 9, 10 ou 11 do dito miRNA maduro, ou (2) pelo menos uma inserção em uma posição no dito RNA de fita simples nas posições correspondentes às posições de 10-11 do dito miRNA maduro, ou (3) uma A , G ou C (mas não uma U) em uma posição correspondente ao terminal 5' do dito miRNA maduro, mas não inclui (a) maus emparelhamentos entre o dito RNA de fita simples e o dito sítio de reconhecimento de miRNA nas posições do dito sítio de reconhecimento de miRNA correspondente às posições 9, 10 ou 11 (na direção 3' a 5') do dito miRNA maduro, ou (b) inserções em uma posição no dito RNA de fita simples nas posições do dito sítio de reconhecimento de miRNA correspondente às posições 10 e 11 (na direção 3' a 5') do dito miRNA maduro; (**XIII**) um constructo de DNA recombinante compreendendo DNA que sofre processamento a um RNA compreendendo RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que transmite ao dito transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III em ou na vizinhança do dito segmento hibridizado, em que a dita ligação do dito RNA de fita simples: (A) inibe a supressão mediada por RNA de fita dupla do dito pelo menos um gene-alvo; ou (B) inibe a tradução do dito transcrito; e em que a dita ligação do dito RNA de fita simples inibe a tradução da dita transcrição, e a dita ligação do dito RNA de fita única ao dito transcrito ocorre: (i) pelo menos parcialmente na região não-traduzida 5' ou na 3' não-traduzida do dito transcrito; ou (ii) em ou na vizinhança do códon de início ou do cap 5'; (**XIV**) um constructo de DNA recombinante compreendendo DNA que sofre o processamento a um RNA que compreende RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que confere ao dito transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III em ou nas vizinhança do dito segmento hibridizado, em que a dita ligação do dito RNA de fita simples ao dito transcrito: (A) inibe a supressão mediada por RNA de fita dupla do dito pelo menos um gene-alvo; ou (B) inibe a tradução do dito transcrito; e em que a dita ligação do dito RNA de fita simples ao dito

transcrito inibe a tradução do dito transcrito, e o dito segmento hibridizado é resistente à clivagem pela dita ribonuclease RNAse III; (**XV**) um método de modulação da expressão de um gene-alvo, compreendendo a expressão em uma célula de um constructo de DNA recombinante compreendendo DNA que sofre processamento a um RNA que compreende RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que transmite ao dito transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III em ou na vizinhança do dito segmento hibridizado; (**XVI**), um método de modulação da expressão de um gene-alvo, que compreende expressão em uma célula de um constructo de DNA recombinante que compreende DNA que sofre processamento a um RNA que compreende RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que confere ao dito transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III em ou nas vizinhança do dito segmento hibridizado; e em que a dita ligação do dito RNA de fita simples ao dito transcrito: (A) inibe a supressão mediada por RNA de fita dupla do dito menos um gene-alvo, aumentando assim a expressão do dito gene-alvo; ou (B) inibe a tradução do dito transcrito, deste modo diminuindo a expressão do dito gene-alvo; (**XVII**) um cromossomo de planta não-natural ou plastídio que compreende um constructo de DNA recombinante compreendendo DNA que sofre processamento para um RNA que compreende RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que transmite ao dito transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III em ou na vizinhança do dito segmento hibridizado; (**XVIII**) uma célula vegetal transgênica não-natural tendo em seu genoma um constructo de RNA recombinante que compreende DNA que sofre processamento a um RNA que compreende RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla hibridizado, que confere ao dito transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease

RNase III em ou na vizinhança do dito segmento hibridizado, ou uma planta transgênica não-natural ou uma sementes de plantas transgênica não-natural ou um grão de pólen transgênico não-natural compreendendo a dita células vegetal transgênica não-natural; (**XIX**), uma planta transgênica parcialmente não-natural compreendendo: (A) uma célula vegetal transgênica não-natural tendo em seu genoma um constructo de DNA recombinante compreendendo DNA que sofre processamento a um RNA que compreende RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que confere ao dito transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III em ou na vizinhança do dito segmento hibridizado e ainda compreende tecido não-transgênico: ou (B) um rizoma transgênico compreendendo uma célula de planta transgênica não-natural tendo em seu genoma um constructo de DNA recombinante que compreende DNA que sofre processamento para um RNA que compreende um RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que confere ao dito transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III em ou na vizinhança do dito segmento hibridizado e compreende ainda uma muda não-transgênica; (**XX**) um constructo de DNA recombinante transcrevível em uma célula vegetal, compreendendo um promotor que é funcional na dita célula vegetal e operativamente ligado a pelo menos um polinucleotídeo selecionado de: (A) DNA que codifica um bloqueador de clivagem para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (B) DNA que codifica um bloqueador de clivagem 5'-modificado para evitar ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (C) DNA que codifica um inibidor de tradução para evitar ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (D) DNA que codifica um atrator para evitar ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo miRNA identificado

nas **Tabelas 2 ou 3**; (E) DNA que codifica um transgene não-responsivo de miRNA com uma sequência de nucleotídeos derivada da sequência de nucleotídeos natural de pelo menos um alvo de miRNA identificados nas **Tabelas 2 e 3**, em que um sítio de reconhecimento de miRNA na dita sequência de nucleotídeos é eliminado ou, de outro modo, modificado para evitar a clivagem mediada por miRNA; (F) DNA que codifica um precursor de miRNA que é processado em um miRNA para suprimir a expressão de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (G) DNA codificando RNA de fita dupla que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de pelo menos um alvo miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; e (H) DNA que codifica um ta-siRNA que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de pelo menos um alvo miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (**XXI**), um constructo de DNA recombinante transcrevível em uma célula vegetal, compreendendo um promotor que é funcional na dita célula vegetal e operativamente ligado a pelo menos um polinucleotídeo selecionado a partir de: (A) DNA que codifica um bloqueador de clivagem para evitar ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (B) DNA que codifica um bloqueador de clivagem 5' modificado para evitar ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (C) DNA que codifica um inibidor de tradução para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (D) DNA que codifica um atrator para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrição de pelo menos um alvo de miRNA identificados nas **Tabelas 2 ou 3**; (E) DNA que codifica um transgene não-responsivo ao miRNA com uma sequência de nucleotídeos derivada da sequência de nucleotídeos natural de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**, em que um sitio de reconhecimento de miRNA na dita sequência de nucleotídeos natural é suprimido ou, de outro modo, modificado para evitar a clivagem mediada por miRNA; (F) DNA que codifica um precursor de miRNA que é processado em um miRNA para supressão da expressão de

pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (G) DNA que codifica um RNA de fita dupla que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**, e (H) DNA que codifica um ta-siRNA que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3;** e em que o dito pelo menos um alvo miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3** é pelo menos selecionado do grupo que consiste em um alvo miR156, um alvo miR160, um alvo miR164, um alvo iR166, um alvo miR167, um alvo miR169, um alvo miR171, um alvo miR172, um alvo miR319, um alvo miR395, um alvo miR396, um alvo miR398, um alvo miR399, um alvo miR408, um alvo miR444, um alvo miR528, um alvo miR167g, um alvo miR169g, COP1 (fotomorfogênese constitutiva 1), GA2ox (ácido giberélico 2 oxidase), GA20ox (ácido giberélico 20 oxidase), HB2 (homeobox 2), HB2-4 (homeobox 2 e homeobox 4), HB4 (homeobox 4), LG1 (*liguleless*1), SPX (domínio SYG1, PHO81 e XPR1; entrada PFAM PF03105 em www.sanger.ac.uk), VIM1a (variante na metilação 1a), DHS1 (sintase desoxiupsina), DHS2 (sintase desoxiupsina), DHS3 (sintase desoxiupsina), DHS4 (sintase desoxiupsina), DHS5 (sintase desoxiupsina), DHS6 (sintase desoxiupsina), DHS7 (sintase desoxiupsina), DHS8 (sintase desoxiupsina), CRF (dedo RING de milho; RNF169), G1543a (ortólogo de milho de homeobox de *Arabidopsis thaliana* 17), G1543b (ortólogo de milho de homeobox 17 de *Arabidopsis thaliana*), GS3 (tamanho de grão 3), e GW2 (peso de grãos 2); (**XXII**) um constructo de DNA recombinante transcrevível em uma célula vegetal, compreendendo um promotor que é funcional na dita célula vegetal e operativamente ligado a pelo menos um polinucleotídeo selecionado a partir de: (A) DNA que codifica um bloqueador de clivagem para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo do miRNA identificados nas **Tabelas 2 ou 3**, (B) que codifica um bloqueador de clivagem 5'-modificado para evitar ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (C) DNA que codifica um inibidor de tradução para evitar ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do

transcrito de pelo menos um alvo miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (D) DNA que codifica um atrator para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (E) DNA que codifica um transgene não-responsivo ao miRNA com uma sequência de nucleotídeos derivada da sequência de nucleotídeos natural de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**, onde um sítio de reconhecimento de miRNA na dita sequência de nucleotídeos natural é eliminada ou, de outro modo, modificada para evitar a clivagem mediada por miRNA; (F) DNA que codifica um precursor de miRNA que é processado em um miRNA para suprimir a expressão de pelo menos um alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (G) DNA que codifica RNA de fita dupla que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de pelo menos um alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3;** e (H) DNA que codifica um ta-siRNA, que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de pelo menos um alvo miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3;** e em que o dito pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3** é pelo menos um selecionado do grupo que consiste em um alvo miR156, um alvo miR160, um alvo miR164, um alvo miR166, um alvo miR167, um alvo miR169, um alvo miR171, um alvo miR172, um alvo miR319, um alvo miR395, um alvo miR396, um alvo miR398, um alvo miR399, um alvo miR408, um alvo miR444, um alvo miR528, um alvo miR167g, um alvo miR169g, COP1 (fotomorfogênese 1 constitutiva), GA2ox (ácido giberélico 2 oxidase), GA20ox (ácido giberélico 20 oxidase), HB2 (homeobox 2), HB2-4 (homeobox 2 e homeobox 4), HB4 (homeobox 4), LG1 (*liguleless*1), SPX (domínio SYG1, PHO81 e XPR1; entrada PFAM PF03105 em www.sanger.ac.uk), VIM1a (variante na metilação 1a), DHS1 (desoxiipusina sintase), DHS2 (desoxiipusina sintase), DHS3 (desoxiipusina sintase), DHS4 (desoxiipusina sintase), DHS5 (desoxiipusina sintase), DHS6 (desoxiipusina sintase), DHS7 (desoxiipusina sintase), DHS8 (desoxiipusina sintase), CRF (dedo RING de milho; RNF169), G1543a (ortólogo de milho de homeobox 17 de *Arabidopsis thaliana*), G1543b (ortólogo de milho de homeobox 17 de *Arabidopsis thaliana*), GS3 (tamanho de grão

3), e GW2 (peso de grãos 2); e em que o dito pelo menos um polinucleotídeo é pelo menos um selecionado do grupo que consiste em DNA que codifica uma sequência de nucleotídeos selecionada dentre as: **SEQ ID Nos: 1120, 1121, 1122, 1248, 1257, 1313, 1314, 1364, 1387, 1478, 1489, 1490, 1491, 1492, 1493, 1585, 1597, 1598, 1599, 1713, 1752, 1753, 1801, 1802, 1820, 1927, 1929, 1931, 1971, 2006, 2007, 2008, 2010, 2012, 2014, 2016, 2018, 2022, 2023, 2025, 2027, 2029, 2031, 2033, 2035, 2037, 2039, 2041, 2043, 2045, 2047, 2049, 2051, 2053, 2055, 2056, 2057, 2059, 2060, 2061** e **2063**; e (**XXIII**) um constructo de DNA recombinante transcrevível em uma célula vegetal, compreendendo um promotor que é funcional na dita célula vegetal e operativamente ligado a pelo menos um polinucleotídeo selecionado a partir de: (A) DNA que codifica um bloqueador de clivagem para evitar ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (B) DNA que codifica um bloqueador de clivagem 5'-modificado para evitar ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (C) DNA que codifica um inibidor de tradução para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (D) DNA que codifica um atrator para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (E) DNA que codifica um transgene não-responsivo ao miRNA que tem uma sequência de nucleotídeos derivada de nucleotídeos natural de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; em que um sítio de reconhecimento de miRNA na dita sequência de nucleotídeos natural é eliminado ou, de outro modo, modificado para evitar a clivagem mediada por miRNA; (F) DNA que codifica um precursor de miRNA que é processado em um miRNA para suprimir a expressão de pelo menos um alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (G) DNA que codifica RNA fita dupla que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; e (H) DNA que codifica um ta-siRNA, que é processado em siRNAs

para suprimir a expressão de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; e em que o dito constructo de DNA recombinante é estavelmente integrado em um plastídio ou um cromossomo da dita célula vegetal.

Exemplos

Exemplo 1

Este exemplo ilustra o fabrico e uso de um constructo de DNA recombinante "bloqueador de clivagem" incluindo DNA que sofre processamento a um RNA incluindo RNA de fita simples que se liga ao transcrito de pelo menos um gene-alvo para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que confere ao transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III em ou na vizinhança do segmento hibridizado, em que a ligação do RNA de fita simples ao transcrito (e a formação resultante do segmento hibridizado) inibe a supressão mediada por RNA de fita dupla do gene-alvo. Mais especificamente, este exemplo descreve constructos para produzir na planta um miRNA artificial ou manipulado ou um bloqueador de clivagem e uso do bloqueador de clivagem para inibir a supressão mediada por miRNA de uma gene GL1 de *Arabidopsis* gene nas células vegetais transformadas.

Gene-alvo: O gene GLABROUS1 (GL1) de *Arabidopsis* é necessário para a síntese de tricomas; mutantes GL1 não têm tricomas. GL1 é codificado pela sequência de DNA

ATGAGAATAAGGAGAAGAGATGAAAAAGAGAATCAAGAATACAAGAAA
GGTTTATGGACAGTTGAAGAAGACAACATCCTTATGGACTATGTTCTT
AATCATGGCACTGGCCAATGGAACCGCATCGTCAGAAAAACTGGGCT
AAAGAGATGTGGGAAAAGTTGTAGACTGAGATGGATGAATTATTTGAG
CCCTAATGTGAACAAAGGCAATTTCACTGAACAAGAAGAAGACCTCATT
ATTCGTCTCCACAAGCTCCTCGGCAATAGATGGTCTTTGATAGCTAAAA
GAGTACCGGGAAGAACAGATAACCAAGTCAAGAACTACTGGAACACTC
ATCTCAGCAAAAAACTCGTCGGAGATTACTCCTCCGCCGTCAAAACCA
CCGGAGAAGACGACGACTCTCCACCGTCATTGTTCATCACTGCCGCC
ACACCTTCTTCTTGTCATCATCAACAAGAAAATATCTACGAGAATATAG

CCAAGAGCTTTAACGGCGTCGTATCAGCTTCGTACGAGGATAAACCAA
AACAAGAACTGGCTCAAAAAGATGTCCTAATGGCAACTACTAATGATCC
AAGTCACTATTATGGCAATAACGCTTTATGGGTTCATGACGACGATTTT
GAGCTTAGTTCACTCGTAATGATGAATTTTGCTTCTGGTGATGTTGAG
TACTGCCTTTAG (**SEQ ID Nº: 1**), inclui um sítio de reconhecimento de miRNA, que tem a sequência CTCCACCGTCATTGTTCATCA (**SEQ ID Nº: 2**), e que também é indicado pelo teto sublinhado nas posições de nucleotídeo 404 a 424 da **SEQ ID Nº: 1**.

Micro RNA: Selecionado como uma estrutura ou sequência inicial para manipular um miRNA artificial foi derivado de DNA a partir de um precursor "miRMON1" com a sequência AATTCATTACATTGATAAAACA
CAATTCAAAAGATCAATGTTCCACTTCATGCAAAGACATTTCCAAAATAT
GTGTAGGTAGAGGGGTTTTACAGGATCGTCCTGAGACCAAATGAGCAG
CTGACCACATGATGCAGCTATGTTTGCTATTCAGCTGCTCATCTGTTCT
CAGGTCGCCCTTGTTGGACTGTCCAACTCCTACTGATTGCGGATGCAC
TTGCCACAAATGAAAATCAAAGCGAGGGGAAAAGAATGTAGAGTGTGAC
TACGATTGCATGCATGTGATTTAGGTAATTAAGTTACATGATTGTCTAA
TTGTGTTTATGGAATTGTATA (**SEQ ID Nº: 3**), onde os nucleotídeos do miRNA maduro ("miRMON1") são indicados pelo texto sublinhado nas posições de nucleotídeos 104 a 124 da **SEQ ID Nº: 3**. O transcrito codificado foi previsto como tendo a estrutura dobrada posterior demonstrada na **Figura 1A**, e é um segmento de um precursor miRMON1 mais longo com a sequência AAAATTCATTACATTGATAAAACACAATTCAAAAGATCAA
TGTTCCACTTCATGCAAAGACATTTCCAAAATATGTGTAGGTAGAGGGG
TTTTACAGGATCGTCCTGAGACCAAATGAGCAGCTGACCACATGATGCA
GCTATGTTTGCTATTCAGCTGCTCATCTGTTCTCAGGTCGCCCTTGTT
GGACTGTC CAACTCCTACTGATTGCGGATGCACTTGCCACAAATGAAAA
TCAAAGCGAGGGGAAAAGAATGTAGAGTGTGACTACGATTGCATGCAT
GTGATTTAGGTAATTAAGTTACATGATTGTCTAATTGTGTTTATGGAATT
GTATATTTTCAGACCAGGCACCTGTAACTAATTATAGGTACCATACCTT
AAAATAAGTCCAACTAAGTCCATGTCTGTGATTTTTTAGTGTCACAAA
TCACAATCCATTGCCATTGGTTTTTTAATTTTTCATTGTCTGTTGTTTAA

CTAACTCTAGCTTTTTAGCTGCTTCAAGTACAGATTCCTCAAAGTGGAA
AATGTTCTTTGAAGTCAATAAAAAGAGCTTTGATGATCATCTGCATTGT
CTAAGTTGGATAAACTAATTAGAGAGAACTTTTGAACTTTGTCTACCAAA
TATCTGTCAGTGTCATCTGTCAGTTCTGCAAGCTGAAGTGTTGAATCCA
CGAGGTGCTTGTTGCAAAGTTGTGATATTAAAAGACATCT ACGAAGAAG
TTCAAGCAAAAC TCTTTTTGGC (**SEQ ID Nº: 4**), onde os nucleotídeos do miRMON1 maduro são indicados por um texto sublinhado em posições de nucleotídeos 106 a 126 da **SEQ ID Nº: 4**; este precursor miRMON1 mais longo foi anteriormente descrito como SEQ ID Nº: 38 no Pedido de Patente U.S. nº 11/303.745, publicado como Publicação do Pedido de Patente U.S. Nº 2006/200878, e é especificamente incorporada aqui por referência). O precursor mais longo (**SEQ ID Nº: 4**) também é adequado como uma estrutura.

DNA que codifica um precursor de miRNA "niRGL1" manipulado derivado da **SEQ ID Nº: 3** foi projetado para produzir um transcrito do precursor de miRGL1 manipulado que é processado a uma miRNA maduro artificial "miRGL1" para suprimir o gene endógeno da *Arabidopsis*, GL1. O precursor miRGL1 tinha a sequência AATTCATTACATTGATAAAACACAA
TTCAAAAGATCAATGTTCCACTTCATGCAAAGACATTTCCAAAATATGTG
TAGGTAGAGGGGTTTTACAGGATCGTCCTGATGAACAATGACGGTGGAG
CCACATGATGCAGCTATGTTTGCTAT*CTCCACCGTCATCGTCCATCA*GG
TCGCCCTTGTTGGACTGTCCAACTCCTACTGATTGCGGATGCACTTGC
CACAAATGAAAATCAAAGCGAGGGGAAAAGAATGTAGAGTGTGACTACG
ATTGCATGCATGTGATTTAGGTAATTAAGTTACATGATTGTCTAATTGT
GTTTATGGAATTGTATA (**SEQ ID Nº: 5**), onde os nucleotídeos do miRNA maduro ("miRGL1") são indicados pelo texto sublinhado nas posições de nucleotídeos 104 a 124 da **SEQ ID Nº: 5** e nucleotídeos da fita oposta correspondente designada miRNA* ("miRGL1") são indicados pelo texto em itálico nas posições de nucleotídeos 151 a 171 da **SEQ ID Nº: 5**. Este precursor miRGL1 foi previsto como tendo uma estrutura dobrável posterior representada na **Figura 1B** e é processado na planta no miRGL1 maduro, que tem a sequência (na direção 5' a 3') TGATGAACAATGACGGTGGAG (**SEQ**

ID Nº: 6, alternativamente escrito na direção 3' a 5' como GAGGTGGCAG-TAACAAGTAGT).

Bloqueador de Clivagem: DNA que codifica um precursor do bloqueador de clivagem ("miRGL1-CB') derivado da **SEQ ID Nº: 3** foi projetado para transcrever a um precursor de miRNA tipo "bloqueador de clivagem" manipulado que é processado a uma RNA, incluindo RNA de fita simples que se liga ao transcrição do gene-alvo GL1 para formar um segmento hibridizado de RNA pelo menos parcialmente de fita dupla que confere ao transcrito de GL1 resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III em ou na vizinhança do segmento hibridizado, em que a ligação do único RNA de fita simples (e a formação resultante do segmento hibridizado) inibe a supressão mediada por RNA de fita dupla de pelo menos um gene-alvo, em que a supressão é mediada por miRGL1. O precursor miRGL1-CB tinha a sequência AATTCATTACATTGATAAAACACAATT CAAAAGATCAATGTTCCACTTCATGCAAAGACATTTCCAAAATATGTGTAG GTAGAGGGGTTTTACAGGATCGTCCTGATGAACA**TA**GACGGTGGAGCCA CATGATGCAGCTATGTTTGCTAT*CTCCACCGTCTACGTCCATCA*GGTCG CCCTTGTTGGACTGTCCAACTCCTACTGATTGCGGATGCACTTGCCAC AAATGAAAATCAAAGCGAGGGGAAAAGAATGTAGAGTGTGACTACGAT TGCATGCATGTGATTTAGGTAATTAAGTTACATGATTGTCTAATTGTG TTTATGGAATTGTATA (**SEQ ID Nº: 7**), onde os nucleotídeos do bloqueador de clivagem maduro ("miRGL1-CB") são indicados pelo texto sublinhado nas posições dos nucleotídeos 104 a 124 da **SEQ ID Nº: 7** e os nucleotídeos do miRNA* de fita oposta correspondente ("miRGL1-CB*") são indicados por texto em itálico nas posições de nucleotídeos 151 a 171 da **SEQ ID Nº: 7**. Nucleotídeos nas posições 113 e 114 da **SEQ ID Nº: 7** são indicados pelo texto em negrito e sublinhado correspondente às posições 10 e 11 (na direção 3' a 5'), do miRGL1-CBL maduro; esses dois nucleotídeos foram selecionados para serem intencionalmente mau-emparelhados com os nucleotídeos do sítio de reconhecimento de miRNA **(SEQ ID Nº: 2)** de GL1 **(SEQ ID Nº: 1)** para evitar a clivagem pela ribonuclease RNase III. O precursor de RNA miRGL1-CB codificado foi previsto como tendo a estrutura dobrável

posterior representada na **Figura 1C** e é processado na planta no miRGL1-CB maduro, que tem a sequência (na direção 5' a 3') TGATGAACATAGACGGTGGAG (**SEQ ID Nº: 8**, alternativamente escrito na direção 3' a 5' como GAGGTGGCAGATACAAGTAGT). A **Figura 1E** mostra um alinhamento do sítio de reconhecimento de miRNA GL1 **(SEQ ID Nº: 2)**, o miRGL1 maduro na direção 3' a 5' **(SEQ ID Nº: 6)**, e o miRGL1-CB maduro a direção 5' a 3' **(SEQ ID Nº: 8)**.

Sensor miRGL1: DNA que codifica um "sensor miRGL1" com a sequência TccagctgctcatttggtctcaTGATCACTGCGGCCGCAATACAgccataga tcacttgatgtcaC**GA**ccaccgtcattgttcatcagatttctctctgcaagcg (**SEQ ID Nº: 9**) foi projetado para incluir um sítio de reconhecimento miRGL1 artificial possuindo a sequência **GA**CCACCGTCATTGTTCATCA (**SEQ ID Nº: 10**), que também é indicada pela texto sublinhado nas posições de nucleotídeos 67 e 87 da **SEQ ID Nº: 9**. Os nucleotídeos nas posições 67 e 68 da **SEQ ID Nº: 9** (ou os nucleotídeos nas posições 1 e 2 da **SEQ ID Nº: 10**) são indicadas pelo texto sublinhado e em negrito e correspondem às posições 1 e 2 (na direção 3' para 5') do miRGL1 maduro; esses dois nucleotídeos foram selecionados para serem intencionalmente mau-emparelhados com pelo menos os dois nucleotídeos na extremidade 3' do miRGL1 maduro (**SEQ ID Nº: 6**) para evitar a transitividade.

Três plasmídeos para a transformação mediada por *Agrobacterium* foram construídos:

(1) "35S/miRGL1/Term" – esse plasmídeo incluiu um constructo contendo, na direção 5' para a 3', (a) um promotor 35S direcionando a expressão de (b) um precursor miRGL1 **(SEQ ID Nº: 5)**, e (c) um terminador nos;

(2) "35S/GFP/miRGL1-sensor/Term" – esse plasmídeo incluiu um constructo contendo, em 5' para 3', (a) um promotor 35S operativamente ligado a (b) uma proteína verde fluorescente (GFP) que codifica a sequência, (c) uma sequência de sensor miRGL1 **(SEQ ID Nº: 9)**, e (d) um terminador nos;

(3) "35S/miRGL1-CB" – esse plasmídeo incluía um constructo

contendo, na direção 5' para 3', (a) um promotor 35S direcionando a expressão de (b) um precursor miRGL1-CB **(SEQ ID Nº: 7)**.

Um aspecto da presente invenção foi demonstrado utilizando protocolos descritos em Kościańska et al. (2005) Plant Mol. Biol., 59: 647-661). Plantas *Nicotiana benthamiana* foram transitoriamente transformadas usando *Agrobacterium* com várias combinações destes plasmídeos e, se necessário, *Agrobacterium* de "enchimento" (plasmídeo nulo) para garantir a infiltração de quantidades iguais de *Agrobacterium*.

Plantas *Nicotiana benthamiana* transformadas com plasmídeo (2) exibiram fluorescência GFP (verde) quando visualizadas sob luz UV. Nas plantas transformadas com os plasmídeos (1) e (2), a fluorescência GFP foi abolida apenas com fluorescência de clorofila (vermelho) observada sob luz UV, indicando que o microRNA miRGL1 maduro suprimiu a expressão de GFP. Nas plantas transformadas com os plasmídeos (1), (2) e (3), a fluorescência GFP foi restaurada, indicando que o bloqueador de clivagem miRGL1-CB inibiu a supressão mediada por RNA de fita dupla (isto é, mediada por mRGL1) do gene-alvo GFP protegendo o sítio de reconhecimento de miRGL1 de ser clivado pela miRGL1 madura, resultando na expressão aumentada (fluorescência) do gene-alvo GFP em relação à sua expressão, na ausência do bloqueador de clivagem.

Em outra demonstração desta invenção, as plantas *Arabidopsis thaliana* estavelmente transformadas foram produzidas por transformação mediada por *Agrobacterium* com um plasmídeo que expressa um precursor miRGL1 **(SEQ ID Nº: 5)**, que é processado na planta a um miRNA maduro "miRGL1" para suprimir o gene endógeno da *Arabidopsis*, GL1. As plantas de *Arabidopsis* transformadas resultantes exibiram folhas sem tricomas, indicando a supressão do gene-alvo GLABROUS1. Plantas de Arabidopsis homozigóticas para miRGL1 são ainda transformadas com um plasmídeo expressando um precursor miRGL1-CB **(SEQ ID Nº: 7)** e selecionadas usando resistência à canamicina. Nestas plantas com duplo transformante, a expressão *in planta* do bloqueador de clivagem maduro miRGL1-CB (na direção 3' para 5', **SEQ ID Nº: 8**) inibe a supressão mediada por RNA de fita

dupla (isto é, mediada por mRGL1) do gene-alvo GLABROUS1 (GL1), protegendo o sítio de reconhecimento miRGL1 de ser clivado pela miRGL1 madura, resultando na restauração da produção de tricoma (indicando a expressão aumentada do gene-alvo GL1 em relação à sua expressão, na ausência do bloqueador de clivagem).

Exemplo 2

Este exemplo ilustra um constructo de DNA recombinante do "bloqueador de clivagem" alternativo que tem modificação em uma posição correspondente ao terminal 5' do miRNA maduro que originalmente se liga ao sítio de reconhecimento do gene-alvo, isto é, um "bloqueador de clivagem 5'-modificado", que é produzido transgenicamente na planta e um método de utilização deste bloqueador de clivagem para inibir a supressão mediada por miRNA de um gene-alvo nas células vegetais transformadas.

Em um exemplo, o DNA que codifica um precursor de miRNA artificial (miRGL1) (**SEQ ID Nº: 6**) foi modificado por uma mudança de nucleotídeo única (alterando o terminal 5' do miRGL1 maduro de uma U para uma C) para produzir a sequência precursora do bloqueador de clivagem 5' modificada AATTCATTACATTGATAAAACACAATTCAAAAGATCAATGTTCCAC TTCATGCAAAGACATTTCCAAAATATGTGTAGGTAGAGGGGTTTTACAG GATCGTCCCGATGAACAATGACGGTGGAGCCACATGATGCAGCTATGT TTGCTAT*CTCCACCGTCATCGTCCATCG*GGTCGCCCTTGTTGGACTGT CCAACTCCTACTGATTGCGGATGCACTTGCCACAAATGAAAATCAAAGC GAGGGGAAAAGAATGTAGAGTGTGACTACGATTGCATGCATGTGATTT AGGTAATTAAGTTACATGATTGTCTAATTGTGTTTATGGAATTGTATA (**SEQ ID Nº: 11**), onde os nucleotídeos do bloqueador de clivagem modificado 5' maduro são indicados por texto sublinhado nas posições de nucleotídeos 104 a 124 da **SEQ ID Nº: 11** (para fins de comparação, os nucleotídeos da **SEQ ID Nº: 11** que correspondem aos nucleotídeos* miRGL1 na **SEQ ID Nº: 6** são indicados por texto em itálico, nas posições dos nucleotídeos 151 a 171 da **SEQ ID Nº: 11**). Este percurso de RNA bloqueador de clivagem 5'-modificado foi previsto como tendo a estrutura dobrável posterior representada na **Figura 1D** e é processado na planta com o bloqueador de

clivagem 5'-modificado maduro, que tem a sequência (na direção 5' para 3') CGATGAACAATGACGGTGGAG (**SEQ ID Nº: 12**, alternativamente escrita na direção 3' para 5' como GAGGTGGCAGTAACAAGTAGC). *Nicotiana benthaminiana* foi transfectadas transitoriamente com procedimentos semelhantes àqueles descritos no Exemplo 2. O RNA pequeno maduro resultante processado a partir de seu precursor de RNA bloqueador de clivagem 5' modificado foi inesperadamente observado como funcionando como um bloqueador de clivagem, inibindo a supressão mediada por miRGL1 do gene-alvo GFP.

Duas variantes 5'-modificadas do precursor miRGL1-CB (**SEQ ID Nº: 7**) foram feitas, onde a posição correspondente ao terminal 5' do miRGL1-CB maduro foi alterada a partir de uma T para uma A ou de uma T para uma C, respectivamente, mas em que os maus emparelhamentos correspondentes às posições 10 e 11 (na direção 3' para 5') do miRGL1 maduro foram preservadas. Ambas as variantes foram previstas como tendo uma estrutura dobrável posterior (não mostrada) semelhante à mostrada na **Figuras 1A** até **1D**. A "variante 5'-A tinha a sequência de nucleotídeos AATTCATTACATTGATAAAACACAATTCAAAAGATCAATGTTCCACTTCAT GCAAAGACATTTCCAAAATATGTGTAGGTAGAGGGGTTTTACAGGATCG TCCAGATGAACATAGACGGTGGAGCCACATGATGCAGCTATGTTTGCTA T*CTCCACCGTCTACGTCCATCT*GGTCGCCCTTGTTGGACTGTCCAACTC CTACTGATTGCGGATGCACTTGCCACAAATGAAAATCAAAGCGAGGGG AAAAGAATGTAGAGTGTGACTACGATTGCATGCATGTGATTTAGGTAAT TAAGTTACATGATTGTCTAATTGTGTTTATGGAATTGTATA (**SEQ ID Nº: 13**) e a "variante 5'-C" tinha a sequência de nucleotídeos AATTCATTACATT GATAAAACACAATTCAAAAGATCAATGTTCCACTTCATGCAAAGACATTT CCAAAATATGTGTAGGTAGAGGGGTTTTACAGGATCGTCCCGATGAACA TAGACGGTGGAGCCACATGATGCAGCTATGTTTGCTAT*CTCCACCGTCT ACGTCCATCT*GGTCGCCCTTGTTGGACTGTCCAACTCCTACTGATTGCG GATGCACTTGCCACAAATGAAAATCAAAGCGAGGGGAAAAGAATGTAGA GTGTGACTACGATTGCATGCATGTGATTTAGGTAATTAAGTTACATGAT TGTCTAATTGTGTTTATGGAATTGTATA (**SEQ ID Nº: 14**), onde os nucleo-

tídeos do bloqueador de clivagem maduro são indicados por um texto sublinhado nas posições dos nucleotídeos 104 a 124 da **SEQ ID Nº: 13** ou da **SEQ ID Nº: 14** (para fins de comparação, os nucleotídeos da **SEQ ID Nº: 13** ou da **SEQ ID Nº: 14** que correspondem aos nucleotídeos miRGL1* na **SEQ ID Nº: 6** são indicados por texto em itálico, nas posições dos nucleotídeos 151 a 171 da **SEQ ID Nº: 13** ou da **SEQ ID Nº: 14**).

A "variante C-5'" **(SEQ ID Nº: 14)** foi transfectada transitoriamente em *Nicotiana benthaminiana* (usando procedimentos semelhantes aos do Exemplo 2); co-inoculação da variante "5'-C" variante e 35S/miRGL1-sensor/Term (sem miRGL1) resultou na fluorescência de GFP, indicando que a "variante 5'-C" não foi capaz de clivar o sítio de reconhecimento miRGL1 e não tem atividade tipo miRNA.

Tanto a "variante 5'-A" **(SEQ ID Nº: 13)** (plasmídeo pMON115363) quanto a "variante C-5'" (**SEQ ID Nº: 14**) (plasmídeo pMON115349) foram testados utilizando a transfecção transitória de *Nicotiana benthaminiana* (semelhante ao experimento descrito no Exemplo 2), e descoberto como tanto inibindo a supressão mediada por miRGL1 do gene GFP alvo, embora em extensão não tão grande extensão quanto o bloqueador de clivagem original miRGL1-CB (**SEQ ID Nº: 7**).

O exemplo acima serve como orientação para fazer e usar um bloqueador de clivagem (ou bloqueador de clivagem 5'-modificado) útil para inibir a supressão mediada por miRNA de um gene-alvo. É evidente para uma pessoa normalmente versada na técnica que o conhecimento do gene-alvo em si não é necessário, apenas a sequência da sequência de miRNA madura ou de um precursor de miRNA que é processado no miRNA maduro - ou, alternativamente, o conhecimento da sequência de sítio de reconhecimento de miRNA - em combinação com os ensinamentos deste pedido, a fim de elaborar um bloqueador de clivagem (ou bloqueador de clivagem 5'-modificado) para inibir os efeitos de silenciamento do gene-alvo de um dado miRNA.

Deste modo, este pedido ainda oferece e reivindica novos bloqueadores de clivagem e bloqueadores de clivagem 5' modificados para to-

das as sequências de miRNA que têm sido descritas publicamente incluindo, mas sem se limitar, aos miRNAs disponíveis em miRBase (microrna.sanger.ac.uk), e os miRNAs maduros e precursores de miRNA descritos nos Pedidos de Patente U.S. Nº 11/303.745 (publicado como Publicação de Pedido de Patente U.S. Nº 2006/0200878), 11/974.469 (publicado como Publicação de Pedido de Patente U.S. Nº 2009-0070898 A1), 11/868.081 (Publicação de Pedido de Patente U.S. Nº 2008/0115240), 10/884.374 (Publicação de Pedido de Patente U.S. Nº 2005/0144669) e 10/490. 955 (agora Patente U.S. Nº 7.232.806), cujas divulgações do pedido de patente incluindo as respectivas listagens de sequências são especificamente incorporadas por referência neste documento.

Exemplo 3

Este exemplo fornece modalidades de genes-alvos identificados como "alvo de miRNA validados" (isto é, contendo um sítio de reconhecimento de miRNA validado). Constructos de DNA recombinante desta invenção são úteis para a modulação da expressão de tais genes-alvo, e para fazer células de plantas transgênicas não-naturais, tecidos vegetais e plantas (especialmente plantas de safras transgênicas não-naturais) que tem rendimento melhorado ou outras características desejáveis.

A previsão de um sítio de reconhecimento é conseguida usando os métodos conhecidos na técnica, como as regras de complementaridade de sequência, como descrito por Zhang (2005) Nucleic Acids Res., 33: W701-704 e por Rhoades et al. (2002) Cell, 110: 513-520. Um método para validação experimental dos sítios de reconhecimento de miRNA previstos é a técnica conhecida como amplificação rápida mediada por ligase de RNA das extremidades cDNA 5' ("5' RLM-RACE" ou "5' RACE"), que identifica padrões de clivagem de miRNA; ver, por exemplo, Kasschau et al. (2003) Dev. Cell, 4:205-217, e Llave et al. (2002) Science, 297: 2053-2056. Essa abordagem se baseia na ligação de uma molécula adaptadora de RNA na extremidade 5' do sítio de clivagem e é dependente da 5' fosfato deixada por enzimas RNase III incluindo Ago1. Os produtos de PCR resultantes são sequenciados e o número relativo de clones que se alinham ao sítio de cliva-

gem de miRNA previsto entre os nucleotídeos 10 e 11 em relação à extremidade miRNA 5' fornece uma estimativa da atividade de miRNA.

Embora o padrão para a validação de um alvo de miRNA previsto seja a verificação experimental da clivagem prevista, a validação computacional também é extremamente útil para fornecer um conjunto de genes-alvo em potencial, que é de tamanho gerenciável ou prático. Pelo menos duas abordagens de validação computacional baseadas na homologia de miRNAs e alvos de miRNA previstos podem ser usados. Uma abordagem compara os alvos previstos com alvos experimentalmente verificados; o alvo previsto é computacionalmente validado se ele for homólogo a um alvo experimentalmente validado. Espera-se que esta abordagem identifique alvos de miRNA com alto grau de confiabilidade e se tornem cada vez mais importantes conforme alvos experimentalmente validados se tornem disponíveis. A segunda abordagem compara as sequências das duas espécies quando não há informação de alvo de miRNA conhecida disponível. Se ambos os miRNAs e alvos miRNA previstos são conservados em ambas as espécies, então os alvos previstos em ambas as espécies são considerados validados.

Neste exemplo, a primeira abordagem foi utilizada, onde a validação computacional dos alvos de miRNA previstos foi baseada na homologia dos alvos previstas e dos alvos conhecidos. Uma lista dos genes-alvo de miRNA vegetais experimentalmente verificados foi criada através da busca na literatura sobre alvos de miRNA de arroz (Sunkar et al (2005) Plant Cell, 17:1397-1411; Luo et al. (2006) FEBS Lett., 580: 5111-5116), musgo (*Physcomitrella patens*) (Axtell et al (2007). Plant Cell, 19: 1750-1769; Fattash et al (2007) BMC Plant Biol., 7:13), álamo (Lu et al. (2005) Plant Cell, 17: 2186-2203), algas verdes (Molnár et al. (2007). Nature, 447: 1126-1130) e milho (Lauter et al. (2005) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 102: 9412-9417). A essa lista foram adicionados 203 loci de *Arabidopsis thaliana* do projeto de RNA pequeno de *Arabidopsis* publicamente acessível (disponível *on line* em asrp.cgrb.oregonstate.edu/db/microRNAfamily.html). A partir desta lista, uma função de um gene chave "dicionário" a partir da anotação funcional dispo-

nível foi elaborada, incluindo as variantes de palavras-chaves conhecidas (Tabela 1).

Qualquer anotação funcional de um determinado alvo de miRNA previsto foi procurada para emparelhar com as palavras-chaves do dicionário. Um algoritmo computacional foi desenvolvido para combinar a primeira palavra-chave mais longa, a segunda palavra-chave mais longa, e assim por diante, para reduzir os falsos positivos no emparelhamento de palavras-chave. Quando um emparelhamento foi encontrado, o alvo previsto foi considerado validado. Esta abordagem foi aplicada aos alvos de miRNA que foram previstos a partir de bases de dados de sequências proprietárias de várias espécies vegetais; os alvos de miRNA computacionalmente validados assim identificados são apresentados na Tabela 2.

Identificação de alvos miRNA validados permite a manipulação da interação entre um dado miRNA e seu gene-alvo (se um gene natural ou um transgene que contém um sítio de reconhecimento de miRNA validado). Por exemplo, espera-se que a superexpressão de um gene-alvo contendo um alvo de miRNA validado (sítio de reconhecimento de miRNA validado) reduza o efeito daquele miRNA particular na rede ou nas redes bioquímicas envolvendo o miRNA.

Alternativamente, um transcrito artificial que inclui a mesma sequência-alvo de miRNA (ou uma modificada para evitar a clivagem por uma ribonuclease RNase II) pode ser usado como um "atrator" de miRNA (como descrito no Pedido de Patente U.S. co-atribuído Nº 11/974.469, publicado como Publicação do Pedido de Patente 2009-0070898 A1, cuja descoberta é especificamente incorporada por referência no presente documento), competindo com o gene-alvo endógeno para vincular com aquele miRNA particular e, deste modo, reduzindo o efeito do miRNA (por exemplo, a supressão do gene-alvo e redução do efeito do miRNA nos outros genes à jusante do gene-alvo) na rede ou em redes bioquímicas envolvendo o miRNA. O conhecimento dos alvos de miRNA validados descritos aqui permite que uma pessoa versada na técnica na use as sequências alvos do miRNA como estruturas para a concepção de sequências artificiais úteis como atratores de

miRNA transgênicos para reduzir o efeito do miRNA no(s) seu(s) gene(s) alvo(s), ou para identificar sequências endógenas que são igualmente úteis como atratores de miRNA. Assim, este pedido oferece ainda e reivindica atratores de miRNA para os alvos de miRNA validados aqui revelados, bem como atratores de miRNA para todas as sequências de miRNA que foram descritas publicamente, incluindo, mas sem se limitar, aos miRNAs disponíveis em miRBase (microrna.sanger.ac.uk), e os miRNAs maduros e precursores de miRNA descritos nos Pedidos de Patente U.S. 11/303.745 (publicado como Publicação do Pedido de Patente U.S. Nº 2006/0200878), 11/974. 469 (publicado como Publicação do Pedido de Patente U.S. Nº 2009-0070898 A1), 11/868.081 (publicado como Publicação do Pedido de Patente U.S. Nº 2008/0115240), 10/884.374 (publicado como Publicação do Pedido de Patente U.S. Nº 2005/0144669) e 10/490.955 (atualmente Patente U.S. Nº 7.232.806), cujos relatórios descritivos são especificamente incorporados por referência, nas suas totalidades no presente documento.

Em ainda outra modalidade, esta invenção fornece ainda um transgene não-responsivo ao miRNA, pela modificação da sequência de um sítio de reconhecimento de miRNA validado para evitar a ligação e/ou clivagem por aquele miRNA particular. Em um exemplo, a expressão aumentada de um gene que normalmente é modulado por um miRNA endógeno podem ser alcançada expressando um constructo de DNA recombinante que codifica um transgene não-responsivo de miRNA que tem uma sequência de nucleotídeos derivada da sequência de nucleotídeos natural do gene, mas em que um sítio de reconhecimento de miRNA na sequência de nucleotídeos natural é eliminado ou, de outro modo, modificado para evitar a clivagem mediada por miRNA. Em ainda outra modalidade, esta invenção fornece uma sequência de transgene que é modificada pela adição de um sítio de reconhecimento de miRNA validado, a fim de colocar aquele transgene sob o controle daquele miRNA particular; em uma variação disto, uma planta transgênica é feita introduzindo em seu genoma tanto o transgene, bem como um precursor exógeno do miRNA particular que deve regular o transgene.

Tabela 1: Dicionário de palavras-chave de alvo de miRNA

miR156	Proteína de Ligação de Promotor Escamoso, Ligação de Promotor Escamoo, Ligação de Promotor Escamoso, tipo SBP, SPL, SPL2, SPL15, SPL9, SPL13, SPL4, SPL10, SPL6, SPL11, Proteína contendo domínio SBP, domínio SBP, domínio-SBP, arquitetura de gluma teosinto, tga1
miR157	Proteína de Ligação de Promotor Escamoso, Ligação de Promotor Escamoo, Ligação de Promotor Escamoso, tipo SBP, SPL, SPL2, SPL15, SPL9, SPL13, SPL4, SPL10, SPL6, SPL11, Proteína contendo domínio SBP, domínio SBP, domínio-SBP, arquitetura de gluma teosinto, tga1
miR158	Repetição pentatricopeptídeo, pentatricopeptídeo (PPR), PPR, repetição PPR, pentatricopeptídeo
miR159	MYB, AtMYB65, AtMYB101, AtMYB104, GAMyB, proteína de domínio myb, domínio myb, proteína myb, DUO1, MYB120, MYB97, MYB65, MYB33, domínio de ligação ao DNA tipo myb, tipo myb, ligação ao DNA tipo myb
miR160	Fator de resposta à auxina, ARF, ARF10, ARF16, ARF17, proteína contendo o domínio de ligação ao DNA B3, domínio B3, domínio de ligação ao DNA B3, Contendo o domínio B3
miR161	Repetição de pentatricopeptídeo, pentatricopeptídeo (PPR), PPR, repetição PPR EMB2654, EMBRIÃO DEFEITUOSO 2654, pentatricopeptídeo
miR162	Tipo Dicer 1, Tipo Dicer 1, Tipo Dicer 1, DCL, DCL1, CAF, SUS1, SIN1, ASU1, EMB76, EMB60, Dicer
miR163	Metiltransferase dependente de S-adenosilmetionina, SAMT, S-adenosil-L-metionina:carboxilmetiltansferase, metiltransferase
miR164	Cotilédone em forma de copo, Cotilédone em forma de copo, CUC, NAM, NAC, CUC2, CUC1, tipo NAM, NAC1, Sem meristema apical, ATAF, ANAC079/ANAC080, ANAC100, ANAC092, proteína de domínio NAC, domínio NAC, proteína contendo domínio NAC, contendo domínio NAC

miR165	Phavoluta, Phabulosa, Revoluta, Corona, PHB, PFV, CNA, HD-ZIPIII, HD-ZIP, HD ZIP, REV, PHV, AtHB8, AtHB15, ICU4, A-THB-15, INCURVATA 4, IFL, IFL1, HD-ZIP classe III HD-Proteína Zip, HD-ZIP classe III, HD-Proteína Zip, classe III HD-Proteína Zip, classe III HD-Zip, homeodomínio/zíper leucina, folha enrolada (rld1), folha enrolada 1, folha enrolada, rld1, gene HB1, HB1, HD-ZIP III
miR166	Phavoluta, Phabulosa, Revoluta, Corona, PHB, PFV, CNA, HD-ZIPIII, HD-ZIP, HD ZIP, REV, PHV, AtHB8, AtHB15, ICU4, ATHB-15, IN-CURVATA 4, IFL, IFL1, HD-ZIP classe III HD-Proteína Zip, HD-ZIP classe III, HD-Proteína Zip, classe III HD-Proteína Zip, classe III HD-Zip, homeodomínio/zíper de leucina, folha enrolada 1 (rld1), folha enrolada 1, folha enrolada, rld1, gene HB1, HB1, HD-ZIP III
miR167	Fator de Resposta à Auxina, ARF, ARF6, ARF8
miR168	Argonauta, AGO, AGO1, PINHEAD, ZWILLE, ZLL, AGO2, AGO3, AGO4, AGO5, AGO6, AGO7, AGO8, AGO9, AGO10, PNH/ZLL
miR169	Fator de transcrição nuclear Y, HAP2, CCAAT, ligação de CCAAT, NFYa, HAP2b, tipo HAP2b, tipo HAP2ab, tipo HAP2c, HAP2c, HAP2a, tipo HAP2a
miR170	Tipo Scarecrow, Scarecrow, SCL, regulador do gene SCARECROW, gene SCARECROW, fatores de transcrição Scarecrow/GRAS, GRAS, Scarecrow/GRAS, proteína 2 da via de sinalização de nodulação, via de sinalização de nodulação 2, Via de Sinalização de Nodulação 2, NSP2, via de sinalização de nodulação, Via de sinalização de nodulação, NSP1
miR171	Tipo Scarecrow, Scarecrow, SCL, regulador do gene SCARECROW, gene SCARECROW, fatores de transcrição Scarecrow/GRAS, GRAS, Scarecrow/GRAS, proteína 2 da via de sinalização de nodulação, via de sinalização de nodulação 2, Via de Sinalização de Nodulação 2, NSP2, via de sinalização de nodulação, Via de sinalização de nodulação, NSP1
miR172	Apetala, AP2, TOE1, TOE2, TOE3, SMZ, SNZ, Alvo de EAT, TOE, Schnarchzapfen, SCHLAFMUTZE, Glossy15, Glossy-15, Glossy 15, proteína contendo o domínio AP2, proteína de domínio AP2, domínio AP2, proteína homeótica floral Apetala APETALA2, proteína homeótica floral Apetala, proteína Apetala, APETALA2

miR173	TAS
miR319	Teosinto Ramificado, Cicloideia, PCF, TCP, TCP2, TCP3, TCP4, TCP10, TCP24, fator de transcrição da família TCP, família TCP, proteína de domínio TCP, proteína de domínio TCP, interrupção do embrião de efeito maternal, ciclina, CyCA, CyCB, CyCC, CyCD, CyCH, CyCT, CyCU
miR390	TAS3, TAS, proteína Ser/Thr/Tyr quinase, Ser/Thr/Tyr
miR393	Resposta do inibidor de transporte, TIR, TIR1, F-box, F box, proteína da família F-box, proteína da família F box, família F-box, família F box, IPS1, GRH1, tipo GRR1, ubiquitina-proteína ligase, ubiquitina proteína ligase, proteína da família hélice básica-alça-hélice (bHLH), bHLH, hélice básica-alça-hélice, proteína contendo o domínio F-box, proteína de domínio F-box, domínio F-box
miR394	F-box, F box, Proteína da família F-box, proteína da família F box, família F-box, família F box, proteína contendo o domínio F-box, proteína do domínio F-box, domínio F-box
miR395	APS, AST, ATP-sulfurilase, transportador de sulfato, transportador de sulfato, AST68, APS1, APS3, APS4, ATP sulfurilase, sulfato adenililtransferase, transportador de sulfato
miR396	Fator de regulação de crescimento, GRL, GRF, FATOR DE REGULAÇÃO DE CRESCIMENTO, FATOR DE REGULAÇÃO DE CRESCIMENTO, AtGRF3, AtGRF4, AtGRF8, AtGRF7, AtGRF1, AtGRF2, AtGRF
miR397	Lacase, LAC, PCL, plantacianina, plastacianina, proteína de ligação ao cobre azul, IRX12, ligação ao íon cobre
miR398	Cobre superóxido desmutase, superóxido desmutase 2, CSD, CSD2, COBRE/ZINCO SUPERÓXIDO DESMUTASE, COBRE/ZINCO SUPERÓXIDO DESMUTASE, COBRE/ZINCO SUPERÓXIDO DESMUTASE, citocromo c oxidase, citocromo c oxidase, citocromo c oxidase
miR399	Enzima conjugadora de ubiquitina E2, PHO2, ubiquitina-proteína ligase, ubiquitina-proteína ligase, UBC24, enzima conjugadora de ubiquitina, conjugadora de ubiquitina

miR400	Repetição de pentatricopeptídeo, pentatricopeptídeo (PPR), PPR, EMB2745, EMBRIO DEFEITUOSO 2745, pentatricopeptídeo
miR402	DML3, PROTEÍNA TIPO DEMETER 3, PROTEÍNA TIPO DEMETER, PROTEÍNA TIPO DEMETER
miR403	AGO, Argonaute, AGO2
miR408	Lacase, LAC, LAC3, PCL, plantacianina, plastacianina, proteína de ligação de cobre azul, ligação de cobre azul, ARPN, ligação de íon cobre, proteína de cobre azul
miR444	MADS box, MADS-box, MADS
miR447	Relacionado com 2-fosfoglicerato quinase, 2-fosfoglicerato quinase, fosfoglicerato quinase
miR472	RFL1, RPS5, RPS5-TIPO 1, ligação de ATP, RPS5, RESISTENTE À P. SYRINGAE 5, proteína de resistência à doença (CC-NBS-classe LRR), proteína de resistência à doença, CC-NBS-LRR, proteína de resistência à doença NBS-LRR, proteína de resistência à doença tipo NBS-LRR
miR473	Proteína contendo o domínio GRAS, AtGAI, AtLAS, AtPAT1, AtRGA, AtRGL1, AtRGL2, AtRGL3, AtSCL1, AtSCL11, AtSCL13, AtSCL14, AtSCL15, AtSCL16, AtSCL18, AtSCL21, AtSCL22, AtSCL23, AtSCL26, AtSCL27, AtSCL28, AtSCL29, AtSCL3, AtSCL30, AtSCL31, AtSCL32, AtSCL33, AtSCL4, AtSCL5, AtSCL6, AtSCL7, AtSCL8, AtSCL9, AtSCR, AtSHR, REPRESSOR, RGA2, RGA-TIPO 1, RGL, RGL1, SGR7, VHS4, VHS5
miR474	Repetição de pentatricopeptídeo, pentatricopeptídeo (PPR), PPR, repetição PPR,EMB2654,EMBRIO DEFEITUOSO 2654, pentatricopeptídeo
miR475	Repetição de pentatricopeptídeo, pentatricopeptídeo (PPR), PPR, repetição PPR,EMB2654,EMBRIO DEFEITUOSO 2654, pentatricopeptídeo
miR476	Repetição de pentatricopeptideo,pentatricopeptídeo (PPR), PPR,repetição PPR,EMB2654,EMBRIO DEFEITUOSO 2654, pentatricopeptídeo

miR477	Fator de transcrição de hélice básica-hélice em alça (bHLH), fator de transcrição/tipo CONSTANS de ligação de íon zinco, proteína contendo o domínio GRAS, bHLH, GRAS, tipo CONSTANS, CONSTANS
miR478	Proteína tipo transportador de ânion orgânico, transportador de ânion orgânico
miR480	Proteína da família de transportador de oligopeptídeo dependente de próton, transportador de oligopeptídeo dependente de próton, transportador de oligopeptídeo dependente de próton
miR482	Proteína de resistência à doença putativa, proteína de resistência à doença, resistência à doença
miR529	Fator de resposta ao etileno/fator de transcrição do domínio AP2, erf/ap2, fator de resposta ao etileno/AP2
miR534	Proteínas de repetição anquirina, Proteínas de repetição anquirina, Proteína de repetição anquirina, Repetição anquirina, Repetição anquirina
miR536	F-box, F box, Proteína da família F-box, Proteína da família F-box, Família F-box, família F-box, Proteína F-box
miR538	MADS-box, MADS
miR771	Proteína da família de iniciação de tradução eucariótica 2, Proteína da família eIF-2, eIF-2, eIF2
miR773	DMT02, DMT2, MET02, MET2, DNA metiltransferase 2, DNA (citosina-5-)-metiltransferase
miR774	Família F-box, F-box, F box, Proteína contendo o domínio F-box, Proteína do domínio F-box, Domínio F-box
miR775	Proteína da família de galactosiltransferase, família galactosiltransferase, galactosiltransferase
miR776	IRE, ALONGAMENTO DE PELO DA RAIZ INCOMPLETO
miR777	Relacionado à proteína de interação COP1, proteína de interação COP1, interação COP1, interação COP1
miR778	Domínio SET, SET, SUVH6, SUVH5, homólogo SU(VAR)3-9

miR779	Proteína quinase transmembranar de repetição rica em leucina, repetição rica em leucina, repetição rica em leucina, proteína quinase transmembranar, transmembrana
miR780	CHX18, ATCHX18, trocador de cátion/hidrogênio 18, anti-portador de cátion monovalente:próton, anti-portador de próton
miR781	InterPro:IPR003169, proteína contendo o domínio BAF60b do complexo SWIB, domínio BAF60b do complexo SWIB, SWIB, BAF60b, proteína contendo o domínio mais-3, domínio mais-3, mais-3, proteína contendo o domínio GYF, domínio GYF
miR809	Gene da proteína resistente ao Mlo, Tipo Mlo, Mlo
miR818	Gene da proteína do domínio ENT, domínio ENT, domínio ENT
miR820	DNA citosina metiltransferase, citosina metiltransferase
miR823	CMT3, CROMOMETILASE 3, CROMOMETILASE
miR824	MADS-box, MADS, AGL16, TIPO AGAMOUS, AGAMOUS
miR827	SPX, NLA, SYG1/Pho81/XPR1, dedo de zinco, dedo de zinco, dedo RING tipo C3HC4, C3HC4
miR828	MYB, proteína de domínio myb, proteína myb, AtMYB113, MYB113, proteína tipo MYB, tipo myb, ligação ao DNA tipo myb
miR842	JR/MBP, proteína da família de jacalina lectina, família de jacalina lectina, jacalina lectina, jacalina, lectina
miR844	Proteína da família da proteína quinase, família da proteína quinase, proteína quinase
miR846	JR/MBP, InterPro:IPR001229, proteína induzível por jasmonato, proteína da família de jacalina lectina, família de jacalina lectina, jacalina lectina, jacalina, lectina
miR856	Transportador de zinco, Transportador de zinco, ACHX18, ATCHX18 | ATCHX18, trocador de cátion/hidrogênio 18, trocador de cátion/hidrogênio, anti-portador de cátion monovalente:próton, anti-portador de próton, anti-portador
miR857	LAC, LAC7, lacase 7, ligação ao íon cobre, ligação ao íon cobre
miR858	MYB, proteína de domínio myb, proteína myb, MYB12, AtMYB12, AtMYB83, MYB83, proteína tipo MYB, tipo myb, ligação ao DNA tipo myb

miR859	F-box, F box, proteína da família F-box, proteína da família F-box, família F-box, família F box, proteína F-box, InterPro:IPR006527, proteína da família UDP-3-O-acil N-acetilglicosamina desacetilase, família UDP-3-O-acil N-acetilglicosamina desacetilase, UDP-3-O-acil N-acetilglico-samina desacetilase, UDP-3-O-acil N-acetilglicosamina, proteína contendo o domínio F-box, proteína do domínio F-box, domínio F-box
miR902	Fator de transcrição de hélice básica-hélice em alça (bHLH), bHLH
miR904	AGO, Argonaute
miR1029	Fator de resposta ao etileno/fator de transcrição do domínio AP2, Fator de resposta ao etileno, Fator de resposta ao etileno, erf/AP2
miR1219c	Fatores de resposta à auxina, Fatores de resposta à auxina, arf

Tabela 2: Alvos de miRNA computacionalmente validados

miRNA	**Função do Gene**	**SEQ ID Nº:**	**ID do Gene**	**Espécies de Origem***
miR156/157	SPL	**15**	PHE0014564	*Arabidopsis thaliana*
miR156/157	SPL	**16**	PHE0014996	*A. thaliana*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**17**	PHE0004508	*A. thaliana*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**18**	PHE0004925	*A. thaliana*
miR160	ARF	**19**	PHE0003525	*A. thaliana*
miR164	ANAC092	**20**	PHE0013733	*A. thaliana*
miR164	Proteína do domínio NAC	**21**	PHE0001074	*A. thaliana*
miR165/166	Revoluta	**22**	PHE0008129	*A. thaliana*
miR165/166	Revoluta	**23**	PHE0010493	*A. thaliana*
miR165/166	Revoluta	**24**	PHE0012654	*A. thaliana*
miR165/166	Revoluta	**25**	PHE0007271	*A. thaliana*
miR165/166	Revoluta	**26**	PHE0007467	*A. thaliana*
miR165/166	Revoluta	**27**	PHE0007720	*A. thaliana*

miR165/166	Revoluta	**28**	PHE0010355	*A. thaliana*
miR165/166	Revoluta	**29**	PHE0010473	*A. thaliana*
miR165/166	Revoluta	**30**	PHE0010494	*A. thaliana*
miR165/166	Revoluta	**31**	PHE0010495	*A. thaliana*
miR165/166	Revoluta	**32**	PHE0010537	*A. thaliana*
miR166	Revoluta	**33**	PHE0010496	*A. thaliana*
miR166	Revoluta	**34**	PHE0010497	*A. thaliana*
miR166	Revoluta	**35**	PHE0010500	*A. thaliana*
miR167	ARF	**36**	PHE0003428	*A. thaliana*
miR172	AP2	**37**	PHE0003881	*A. thaliana*
miR172	Domínio AP2	**38**	PHE0006606	*A. thaliana*
miR393	F-box	**39**	PHE0007151	*A. thaliana*
miR393	F-box	**40**	PHE0007164	*A. thaliana*
miR393	F-box	**41**	PHE0007167	*A. thaliana*
miR393	Resposta do inibidor de transporte	**42**	PHE0004988	*A. thaliana*
miR396	GRL	**43**	PHE0004617	*A. thaliana*
miR778	Domínio SET	**44**	PHE0006443	*A. thaliana*
miR779	Proteína quinase da transmembrana de repetição rica em leucina	**45**	PHE0002993	*A. thaliana*
miR858	MYB	**46**	PHE0001073	*A. thaliana*
miR858	MYB	**47**	PHE0001093	*A. thaliana*
miR858	MYB	**48**	PHE0002073	*A. thaliana*
miR858	MYB	**49**	PHE0010073	*A. thaliana*
miR858	MyB	**50**	PHE0011722	*A. thaliana*
miR858	MyB	**51**	PHE0015935	*A. thaliana*
miR859	F-box	**52**	PHE0003311	*A. thaliana*
miR859	F-box	**53**	PHE0006468	*A. thaliana*
miR902	bHLH	**54**	PHE0000658	*A. thaliana*
miR902	bHLH	**55**	PHE0006524	*A. thaliana*

miR156	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**56**	MRT3708_37334C.1	Canola (*Brassica napus* ou *Brassica rapa*)
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**57**	MRT3708_10628C.4	Canola
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**58**	MRT3708_22559C.1	Canola
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**59**	MRT3708_30289C.3	Canola
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**60**	MRT3708_39670C.2	Canola
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**61**	MRT3708_53675C.1	Canola
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**62**	MRT3708_58630C.1	Canola
miR159	MYB	**63**	MRT3708_33278C.1	Canola
miR159	MYB	**64**	MRT3708_33279C.1	Canola
miR163	metiltransferase	**65**	MRT3708_16440C.1	Canola
miR163	metiltransferase	**66**	MRT3708_28174C.1	Canola
miR163	metiltransferase	**67**	MRT3708_52155C.2	Canola
miR164	NAM	**68**	MRT3708_39966C.1	Canola
miR164	Sem meristema apical	**69**	MRT3708_51022C.1	Canola
miR164	Sem meristema apical	**70**	MRT3708_7877C.4	Canola
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**71**	MRT3708_45624C.1	Canola
miR165/166	Proteína HD-Zip	**72**	MRT3708_5493C.1	Canola
miR167	Fator de resposta à auxina	**73**	MRT3708_37499C.2	Canola
miR167	Fator de resposta à auxina	**74**	MRT3708_50323C.1	Canola
miR169	Ligação ao CCAAT	**75**	MRT3708_45516C.2	Canola
miR169	Ligação ao CCAAT	**76**	MRT3708_46224C.1	Canola
miR169	Ligação ao CCAAT	**77**	MRT3708_56325C.1	Canola
miR169	fator de transcrição nuclear Y	**78**	MRT3708_42756C.1	Canola
miR170/171	Regulador do gene SCARE-	**79**	MRT3708_34048C.2	Canola

	CROW			
miR172	AP2	**80**	MRT3708_39387C.1	Canola
miR172	Domínio AP2	**81**	MRT3708_36942C.2	Canola
miR393	Resposta do inibidor de transporte	**82**	MRT3708_31301C.1	Canola
miR393	Resposta do inibidor de transporte	**83**	MRT3708_52518C.1	Canola
miR393	Resposta do inibidor de transporte	**84**	MRT3708_55951C.1	Canola
miR394	F-box	**85**	MRT3708_61891C.1	Canola
miR395	ATP sulfurilase	**86**	MRT3708_35187C.3	Canola
miR395	sulfato adenililtransferase	**87**	MRT3708_36129C.1	Canola
miR395	sulfato adenililtransferase	**88**	MRT3708_55043C.1	Canola
miR396	Fator de regulação do crescimento	**89**	MRT3708_29578C.1	Canola
miR396	Fator de regulação do crescimento	**90**	MRT3708_51563C.1	Canola
miR398	citocromo c oxidase	**91**	MRT3708_47361C.2	Canola
miR400	PPR	**92**	MRT3708_57455C.1	Canola
miR408	proteína de cobre azul	**93**	MRT3708_29149C.3	Canola
miR472	Ligação ao ATP	**94**	MRT3708_45273C.1	Canola
miR472	Ligação ao ATP	**95**	MRT3708_55890C.1	Canola
miR472	Ligação ao ATP	**96**	MRT3708_55902C.2	Canola
miR824	MADS-box	**97**	MRT3708_59018C.1	Canola
miR827	dedo de zinco	**98**	MRT3708_29390C.1	Canola
miR828	ligação ao DNA tipo myb	**99**	MRT3708_31708C.1	Canola
miR856	anti-portador	**100**	MRT3708_61144C.1	Canola
miR857	LAC	**101**	MRT3708_24461C.1	Canola
miR858	MYB	**102**	MRT3708_31372C.1	Canola
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**103**	MRT3708_16589C.4	Canola
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**104**	MRT3708_29291C.3	Canola
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**105**	MRT3708_54665C.1	Canola

miR858	ligação ao DNA tipo myb	**106**	MRT3708_61897C.1	Canola
miR859	Domínio F-box	**107**	MRT3708_51653C.1	Canola
miR167	Fator de resposta à auxina	**108**	MRT3711_1592C.1	Mostarda do campo (*Brassica rapa* ou *Brassica campestris*)
miR168	Argonaute	**109**	MRT3711_4500C.2	Mostarda do campo
miR169	fator de transcrição nuclear Y	**110**	MRT3711_4547C.1	Mostarda do campo
miR172	AP2	**111**	MRT3711_6838C.1	Mostarda do campo
miR319	PCF	**112**	MRT3711_7220C.1	Mostarda do campo
miR393	Resposta do inibidor de transporte	**113**	MRT3711_1771C.1	Mostarda do campo
miR395	sulfato adenililtransferase	**114**	MRT3711_3394C.1	Mostarda do campo
miR395	sulfato adenililtransferase	**115**	MRT3711_4165C.1	Mostarda do campo
miR395	sulfato adenililtransferase	**116**	MRT3711_4313C.1	Mostarda do campo
miR472	Ligação ao ATP	**117**	MRT3711_7972C.1	Mostarda do campo
miR827	dedo de zinco	**118**	MRT3711_10064C.1	Mostarda do campo
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**119**	MRT3711_7980C.1	Mostarda do campo
miR156/157	Domínio SBP	**120**	MRT3847_197471C.3	*Glycine max*
miR156/157	Domínio SBP	**121**	MRT3847_202791C.3	*G. Max*
miR156/157	Domínio SBP	**122**	MRT3847_28990C.5	*G. max*
miR156/157	Domínio SBP	**123**	MRT3847_39715C.7	*G. max*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**124**	MRT3847_207934C.2	*G. max*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**125**	MRT3847_257545C.4	*G. max*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**126**	MRT3847_217782C.3	*G. max*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**127**	MRT3847_235081C.4	*G. max*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**128**	MRT3847_235082C.6	*G. max*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promo-	**129**	MRT3847_289291C.3	*G. max*

	tor Escamoso			
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**130**	MRT3847_335568C.1	*G. max*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**131**	MRT3847_350831C.1	*G. max*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**132**	MRT3847_14683C.5	*G. max*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**133**	MRT3847_237444C.4	*G. max*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**134**	MRT3847_329752C.1	*G. max*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**135**	MRT3847_334134C.1	*G. max*
miR156/157	arquitetura teosinto gluma	**136**	MRT3847_338602C.1	*G. max*
miR159	domínio de ligação ao DNA tipo myb	**137**	MRT3847_345009C.1	*G. max*
miR159	domínio de ligação ao DNA tipo myb	**138**	MRT3847_346338C.1	*G. max*
miR160	ARF	**139**	PHE0003526	*G. max*
miR160	Fator de resposta à auxina	**140**	MRT3847_139013C.5	*G. max*
miR160	Fator de resposta à auxina	**141**	MRT3847_197785C.3	*G. max*
miR160	Fator de resposta à auxina	**142**	MRT3847_239685C.2	*G. max*
miR160	Fator de resposta à auxina	**143**	MRT3847_269589C.4	*G. max*
miR160	Fator de resposta à auxina	**144**	MRT3847_28328C.3	*G. max*
miR160	Fator de resposta à auxina	**145**	MRT3847_289982C.2	*G. max*
miR160	Fator de resposta à auxina	**146**	MRT3847_37862C.4	*G. max*
miR160	Fator de resposta à auxina	**147**	MRT3847_41982C.5	*G. max*
miR160	Fator de resposta à auxina	**148**	MRT3847_52071C.7	*G. max*
miR161	pentatricopeptídeo	**149**	MRT3847_4014C.4	*G. max*
miR161	PPR	**150**	MRT3847_20482C.2	*G. max*
miR161	PPR	**151**	MRT3847_227121C.4	*G. max*
miR164	Proteína de domínio NAC	**152**	MRT3847_46332C.2	*G. max*

miR164	Proteína de domínio NAC	**153**	MRT3847_46333C.6	*G. max*
miR164	NAC1	**154**	PHE0001363	*G. max*
miR164	NAM	**155**	MRT3847_244824C.2	*G. max*
miR164	Sem meristema apical	**156**	MRT3847_259513C.2	*G. max*
miR164	Sem meristema apical	**157**	MRT3847_270117C.3	*G. max*
miR164	Sem meristema apical	**158**	MRT3847_48464C.4	*G. max*
miR164	Sem meristema apical	**159**	MRT3847_48465C.6	*G. max*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**160**	MRT3847_209034C.4	*G. max*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**161**	MRT3847_233286C.5	*G. max*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**162**	MRT3847_248020C.5	*G. max*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**163**	MRT3847_288367C.4	*G. max*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**164**	MRT3847_296736C.1	*G. max*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**165**	MRT3847_326691C.1	*G. max*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**166**	MRT3847_345104C.1	*G. max*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**167**	MRT3847_348410C.1	*G. max*
miR166	Homeobox	**168**	PHE0003454	*G. max*
miR167	ARF	**169**	PHE0003655	*G. max*
miR167	Fator de resposta à auxina	**170**	MRT3847_195447C.5	*G. max*
miR167	Fator de resposta à auxina	**171**	MRT3847_263906C.5	*G. max*
miR167	Fator de resposta à auxina	**172**	MRT3847_305421C.4	*G. max*
miR167	Fator de resposta à auxina	**173**	MRT3847_340154C.1	*G. max*
miR167	Fator de resposta à auxina	**174**	MRT3847_41926C.6	*G. max*
miR167	Fator de resposta à auxina	**175**	MRT3847_55334C.5	*G. max*
miR169	Ligação ao CCAAT	**176**	MRT3847_251095C.3	*G. max*
miR169	Ligação ao CCAAT	**177**	MRT3847_259875C.4	*G. max*
miR169	Ligação ao CCAAT	**178**	MRT3847_293871C.3	*G. max*
miR169	Ligação ao CCAAT	**179**	MRT3847_305217C.3	*G. max*
miR169	Ligação ao CCAAT	**180**	MRT3847_347487C.1	*G. max*
miR169	Ligação ao CCAAT	**181**	MRT3847_40604C.6	*G. max*
miR169	Ligação ao CCAAT	**182**	MRT3847_53466C.6	*G. max*
miR169	Ligação ao CCAAT	**183**	MRT3847_53467C.5	*G. max*

miR169	Ligação ao CCAAT	**184**	MRT3847_54675C.6	*G. max*
miR169	NFYa	**185**	PHE0011547	*G. max*
miR169	fator de transcrição nuclear Y	**186**	MRT3847_25786C.5	*G. max*
miR169	fator de transcrição nuclear Y	**187**	MRT3847_289667C.3	*G. max*
miR169	fator de transcrição nuclear Y	**188**	MRT3847_312701C.1	*G. max*
miR169	fator de transcrição nuclear Y	**189**	MRT3847_335193C.1	*G. max*
miR169	fator de transcrição nuclear Y	**190**	MRT3847_51286C.6	*G. max*
miR169	fator de transcrição nuclear Y	**191**	MRT3847_54010C.4	*G. max*
miR170/171	Tipo Scarecrow	**192**	MRT3847_41579C.4	*G. max*
miR171	GRAS	**193**	MRT3847_267119C.3	*G. max*
miR171	GRAS	**194**	MRT3847_270988C.3	*G. max*
miR171	GRAS	**195**	MRT3847_275596C.2	*G. max*
miR171	GRAS	**196**	MRT3847_294457C.2	*G. max*
miR171	GRAS	**197**	MRT3847_344862C.1	*G. max*
miR172	Domínio AP2	**198**	PHE0000638	*G. max*
miR172	Domínio AP2	**199**	MRT3847_202930C.3	*G. max*
miR172	Domínio AP2	**200**	MRT3847_21933C.5	*G. max*
miR172	Domínio AP2	**201**	MRT3847_235857C.3	*G. max*
miR172	Domínio AP2	**202**	MRT3847_257655C.4	*G. max*
miR172	Domínio AP2	**203**	MRT3847_289890C.3	*G. max*
miR172	Domínio AP2	**204**	MRT3847_289891C.3	*G. max*
miR172	Domínio AP2	**205**	MRT3847_295726C.1	*G. max*
miR172	Domínio AP2	**206**	MRT3847_326790C.1	*G. max*
miR172	Domínio AP2	**207**	MRT3847_329301C.1	*G. max*
miR172	Domínio AP2	**208**	MRT3847_43925C.7	*G. max*
miR172	Domínio AP2	**209**	MRT3847_46007C.5	*G. max*
miR172	Domínio AP2	**210**	MRT3847_51633C.3	*G. max*
miR172	Domínio AP2	**211**	MRT3847_59804C.6	*G. max*
miR172	APETALA2	**212**	MRT3847_196945C.3	*G. max*
miR319	Ciclina	**213**	MRT3847_238163C.3	*G. max*

miR319	PCF	**214**	MRT3847_262919C.1	*G. max*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**215**	MRT3847_230131C.1	*G. max*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**216**	MRT3847_304168C.2	*G. max*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**217**	MRT3847_336868C.1	*G. max*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**218**	MRT3847_343365C.1	*G. max*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**219**	MRT3847_38312C.5	*G. max*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**220**	MRT3847_103008C.6	*G. max*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**221**	MRT3847_12165C.5	*G. max*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**222**	MRT3847_247420C.4	*G. max*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**223**	MRT3847_294519C.4	*G. max*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**224**	MRT3847_334277C.1	*G. max*
miR390	TAS	**225**	MRT3847_133706C.5	*G. max*
miR390	TAS	**226**	MRT3847_298568C.2	*G. max*
miR390	TAS	**227**	MRT3847_60306C.8	*G. max*
miR393	TIR1	**228**	MRT3847_238705C.4	*G. max*
miR393	TIR1	**229**	MRT3847_27973C.7	*G. max*
miR393	TIR1	**230**	MRT3847_313402C.3	*G. max*
miR393	Resposta do inibidor de transporte	**231**	MRT3847_329954C.2	*G. max*
miR393	Resposta do inibidor de transporte	**232**	MRT3847_335477C.1	*G. max*
miR393	Resposta do inibidor de transporte	**233**	MRT3847_44371C.6	*G. max*
miR394	Domínio F-box	**234**	MRT3847_249313C.3	*G. max*
miR394	Domínio F-box	**235**	MRT3847_260044C.4	*G. max*
miR395	AST	**236**	MRT3847_118061C.7	*G. max*
miR395	AST	**237**	MRT3847_120571C.4	*G. max*
miR395	AST	**238**	MRT3847_161863C.4	*G. max*
miR395	AST	**239**	MRT3847_233832C.4	*G. max*
miR395	AST	**240**	MRT3847_294717C.3	*G. max*
miR395	AST	**241**	MRT3847_303988C.3	*G. max*
miR395	AST	**242**	MRT3847_336528C.1	*G. max*

miR395	AST	**243**	MRT3847_55707C.5	*G. max*
miR395	ATP sulfurilase	**244**	MRT3847_14792C.7	*G. max*
miR395	sulfato adenililtransferase	**245**	MRT3847_331787C.1	*G. max*
miR395	transportador de sulfato	**246**	MRT3847_10451C.5	*G. max*
miR395	transportador de sulfato	**247**	MRT3847_245035C.3	*G. max*
miR396	GRF	**248**	PHE0001215	*G. max*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**249**	MRT3847_183050C.6	*G. max*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**250**	MRT3847_200704C.5	*G. max*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**251**	MRT3847_21877C.7	*G. max*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**252**	MRT3847_275465C.2	*G. max*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**253**	MRT3847_285089C.5	*G. max*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**254**	MRT3847_307974C.3	*G. max*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**255**	MRT3847_34351C.6	*G. max*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**256**	MRT3847_39577C.5	*G. max*
miR397	Lacase	**257**	MRT3847_148737C.1	*G. max*
miR397	Lacase	**258**	MRT3847_196074C.1	*G. max*
miR397	Lacase	**259**	MRT3847_240006C.2	*G. max*
miR397	Lacase	**260**	MRT3847_256982C.1	*G. max*
miR397	Lacase	**261**	MRT3847_25859C.5	*G. max*
miR397	Lacase	**262**	MRT3847_29767C.4	*G. max*
miR397	Lacase	**263**	MRT3847_297900C.1	*G. max*
miR397	Lacase	**264**	MRT3847_309594C.2	*G. max*
miR397	Lacase	**265**	MRT3847_33656C.5	*G. max*
miR397	Lacase	**266**	MRT3847_347553C.1	*G. max*
miR397	Lacase	**267**	MRT3847_36695C.5	*G. max*
miR397	Lacase	**268**	MRT3847_49069C.6	*G. max*
miR397	Lacase	**269**	MRT3847_7864C.1	*G. max*
miR397	Lacase	**270**	MRT3847_99867C.5	*G. max*
miR398	COBRE/ZINCO SUPERÓXIDO DESMUTASE	**271**	MRT3847_235546C.3	*G. max*
miR400	pentatricopeptídeo	**272**	MRT3847_12750C.4	*G. max*

miR400	pentatricopeptídeo	**273**	MRT3847_17367C.3	*G. max*
miR400	PPR	**274**	MRT3847_10096C.3	*G. max*
miR400	PPR	**275**	MRT3847_139832C.5	*G. max*
miR400	PPR	**276**	MRT3847_141759C.5	*G. max*
miR400	PPR	**277**	MRT3847_218904C.2	*G. max*
miR400	PPR	**278**	MRT3847_267668C.2	*G. max*
miR400	PPR	**279**	MRT3847_57083C.4	*G. max*
miR408	proteína de cobre azul	**280**	PHE0000330	*G. max*
miR408	proteína de cobre azul	**281**	MRT3847_273288C.3	*G. max*
miR408	proteína de cobre azul	**282**	MRT3847_329905C.2	*G. max*
miR408	proteína de cobre azul	**283**	MRT3847_336704C.1	*G. max*
miR408	proteína de cobre azul	**284**	MRT3847_343250C.1	*G. max*
miR408	proteína de cobre azul	**285**	MRT3847_346770C.1	*G. max*
miR408	proteína de cobre azul	**286**	MRT3847_349900C.1	*G. max*
miR408	proteína de cobre azul	**287**	MRT3847_350132C.1	*G. max*
miR408	proteína de cobre azul	**288**	MRT3847_60064C.6	*G. max*
miR408	proteína de cobre azul	**289**	MRT3847_66506C.8	*G. max*
miR408	Lacase	**290**	MRT3847_296270C.2	*G. max*
miR408	Lacase	**291**	MRT3847_31127C.7	*G. max*
miR444	MADS box	**292**	PHE0002647	*G. max*
miR444	MADS box	**293**	PHE0002648	*G. max*
miR444	MADS box	**294**	PHE0015540	*G. max*
miR444	MADS-box	**295**	MRT3847_247970C.2	*G. max*
miR444	MADS-box	**296**	MRT3847_259952C.3	*G. max*
miR472	Ligação ao ATP	**297**	MRT3847_324977C.1	*G. max*
miR472	Ligação ao ATP	**298**	MRT3847_335756C.1	*G. max*
miR472	proteína de resistência à doença	**299**	MRT3847_348618C.1	*G. max*
miR472	Proteína de resistência à doença tipo NBS-LRR	**300**	MRT3847_292513C.3	*G. max*
miR472	Proteína de resistência à doença tipo NBS-LRR	**301**	MRT3847_34971C.6	*G. max*

miR472/482	proteína de resistência à doença	**302**	MRT3847_159134C.1	*G. max*
miR472/482	proteína de resistência à doença	**303**	MRT3847_208382C.4	*G. max*
miR472/482	proteína de resistência à doença	**304**	MRT3847_229943C.2	*G. max*
miR472/482	proteína de resistência à doença	**305**	MRT3847_262606C.4	*G. max*
miR472/482	Proteína de resistência à doença tipo NBS-LRR	**306**	MRT3847_223192C.5	*G. max*
miR472/482	Proteína de resistência à doença tipo NBS-LRR	**307**	MRT3847_264890C.3	*G. max*
miR475	Repetição de pentatricopeptideo	**308**	MRT3847_204627C.1	*G. max*
miR475	Repetição de pentatricopeptideo	**309**	MRT3847_234253C.2	*G. max*
miR475	Repetição de pentatricopeptideo	**310**	MRT3847_289449C.2	*G. max*
miR475	Repetição de pentatricopeptideo	**311**	MRT3847_342062C.1	*G. max*
miR475	PPR	**312**	MRT3847_137370C.4	*G. max*
miR475	PPR	**313**	MRT3847_196480C.3	*G. max*
miR475	PPR	**314**	MRT3847_241148C.2	*G. max*
miR475	PPR	**315**	MRT3847_30662C.4	*G. max*
miR475	PPR	**316**	MRT3847_44502C.5	*G. max*
miR475	Repetição PPR	**317**	MRT3847_235882C.3	*G. max*
miR477	bHLH	**318**	MRT3847_117808C.5	*G. max*
miR477	bHLH	**319**	MRT3847_330789C.2	*G. max*
miR477	GRAS	**320**	MRT3847_161254C.2	*G. max*
miR477	GRAS	**321**	MRT3847_250541C.3	*G. max*
miR482	proteína de resistência à doença	**322**	MRT3847_216742C.1	*G. max*
miR482	proteína de resistência à doença	**323**	MRT3847_221164C.1	*G. max*
miR482	proteína de resistência à doença	**324**	MRT3847_28447C.6	*G. max*
miR482	proteína de resistência à doença	**325**	MRT3847_302802C.3	*G. max*
miR482	proteína de resistência à doença	**326**	MRT3847_146432C.5	*G. max*
miR482	proteína de resistência à doença	**327**	MRT3847_184524C.6	*G. max*
miR482	proteína de resistência à doença	**328**	MRT3847_268743C.4	*G. max*
miR482	proteína de resistência à doença	**329**	MRT3847_272693C.2	*G. max*
miR482	proteína de resistência à doença	**330**	MRT3847_297146C.2	*G. max*

miR482	proteína de resistência à doença	**331**	MRT3847_314629C.2	*G. max*
miR482	proteína de resistência à doença	**332**	MRT3847_335514C.1	*G. max*
miR482	proteína de resistência à doença	**333**	MRT3847_335735C.1	*G. max*
miR482	proteína de resistência à doença	**334**	MRT3847_337518C.1	*G. max*
miR482	proteína de resistência à doença	**335**	MRT3847_340947C.1	*G. max*
miR482	proteína de resistência à doença	**336**	MRT3847_352235C.1	*G. max*
miR482	proteína de resistência à doença	**337**	MRT3847_63055C.5	*G. max*
miR482	proteína de resistência à doença	**338**	MRT3847_66636C.5	*G. max*
miR482	Proteína de resistência à doença putativa	**339**	MRT3847_184595C.4	*G. max*
miR824	MADS box	**340**	PHE0001395	*G. max*
miR824	MADS box	**341**	PHE0003427	*G. max*
miR824	MADS box	**342**	PHE0013854	*G. max*
miR824	MADS-box	**343**	MRT3847_14550C.4	*G. max*
miR824	MADS-box	**344**	MRT3847_39202C.7	*G. max*
miR828	MyB	**345**	PHE0001477	*G. max*
miR828	MYB	**346**	MRT3847_346366C.1	*G. max*
miR828	ligação ao DNA tipo myb	**347**	MRT3847_215219C.3	*G. max*
miR828	ligação ao DNA tipo myb	**348**	MRT3847_215220C.2	*G. max*
miR828/858	ligação ao DNA tipo myb	**349**	MRT3847_22767C.2	*G. max*
miR857	LAC	**350**	MRT3847_13225C.3	*G. max*
miR858	MyB	**351**	PHE0000380	*G. max*
miR858	MYB	**352**	PHE0001408	*G. max*
miR858	MyB	**353**	PHE0004448	*G. max*
miR858	MyB	**354**	PHE0012029	*G. max*
miR858	MyB	**355**	PHE0015929	*G. max*
miR858	MYB	**356**	MRT3847_212141C.3	*G. max*
miR858	MYB	**357**	MRT3847_347736C.1	*G. max*
miR858	MYB	**358**	MRT3847_38379C.5	*G. max*
miR858	MYB	**359**	MRT3847_40737C.7	*G. max*
miR858	MYB	**360**	MRT3847_41334C.3	*G. max*

miR858	MYB12	**361**	MRT3847_51246C.6	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**362**	MRT3847_131164C.6	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**363**	MRT3847_137726C.5	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**364**	MRT3847_228792C.3	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**365**	MRT3847_255360C.1	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**366**	MRT3847_255362C.6	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**367**	MRT3847_260391C.1	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**368**	MRT3847_261508C.2	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**369**	MRT3847_270136C.3	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**370**	MRT3847_290332C.2	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**371**	MRT3847_294239C.3	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**372**	MRT3847_322770C.2	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**373**	MRT3847_32417C.5	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**374**	MRT3847_332192C.1	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**375**	MRT3847_335664C.1	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**376**	MRT3847_34082C.5	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**377**	MRT3847_39825C.5	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**378**	MRT3847_40203C.4	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**379**	MRT3847_41332C.5	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**380**	MRT3847_42168C.6	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**381**	MRT3847_51247C.3	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**382**	MRT3847_52127C.4	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**383**	MRT3847_54395C.5	*G. max*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**384**	MRT3847_55676C.6	*G. max*
miR156	Domínio SBP	**385**	MRT3635_30868C.2	*Gossypium hirsutum*
miR156/157	Domínio SBP	**386**	MRT3635_36657C.2	*G. hirsutum*
miR156/157	Domínio SBP	**387**	MRT3635_65765C.1	*G. hirsutum*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**388**	MRT3635_15791C.2	*G. hirsutum*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor	**389**	MRT3635_48230C.2	*G. hirsutum*

	Escamoso			
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**390**	MRT3635_69088C.1	*G. hirsutum*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**391**	MRT3635_69159C.1	*G. hirsutum*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**392**	MRT3635_30369C.2	*G. hirsutum*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**393**	MRT3635_56290C.1	*G. hirsutum*
miR156/157	arquitetura teosinto gluma	**394**	MRT3635_15393C.1	*G. hirsutum*
miR159	MYB65	**395**	MRT3635_249C.2	*G. hirsutum*
miR159	ligação ao DNA tipo myb	**396**	MRT3635_54684C.2	*G. hirsutum*
miR160	Fator de resposta à auxina	**397**	MRT3635_36222C.2	*G. hirsutum*
miR162	CAF	**398**	MRT3635_16630C.2	*G. hirsutum*
miR164	Proteína de domínio NAC	**399**	MRT3635_24172C.2	*G. hirsutum*
miR164	Sem meristema apical	**400**	MRT3635_48601C.2	*G. hirsutum*
miR164	Sem meristema apical	**401**	MRT3635_64345C.1	*G. hirsutum*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**402**	MRT3635_4809C.2	*G. hirsutum*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**403**	MRT3635_50942C.2	*G. hirsutum*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**404**	MRT3635_72188C.1	*G. hirsutum*
miR166	Proteína HD-Zip classe III	**405**	MRT3635_12880C.2	*G. hirsutum*
miR167	Fator de resposta à auxina	**406**	MRT3635_13510C.2	*G. hirsutum*
miR167	Fator de resposta à auxina	**407**	MRT3635_14893C.2	*G. hirsutum*
miR167	Fator de resposta à auxina	**408**	MRT3635_24556C.2	*G. hirsutum*
miR167	Fator de resposta à auxina	**409**	MRT3635_59443C.1	*G. hirsutum*
miR168	AGO1	**410**	MRT3635_43628C.2	*G. hirsutum*
miR168	Argonaute	**411**	MRT3635_68755C.1	*G. hirsutum*
miR169	Ligação ao CCAAT	**412**	MRT3635_18720C.2	*G. hirsutum*
miR169	Ligação ao CCAAT	**413**	MRT3635_60547C.1	*G. hirsutum*
miR169	Ligação ao CCAAT	**414**	MRT3635_63602C.1	*G. hirsutum*
miR169	Ligação ao CCAAT	**415**	MRT3635_751C.2	*G. hirsutum*

miR169	fator de transcrição nuclear Y	**416**	MRT3635_57584C.1	*G. hirsutum*
miR169	fator de transcrição nuclear Y	**417**	MRT3635_63203C.1	*G. hirsutum*
miR169	fator de transcrição nuclear Y	**418**	MRT3635_67492C.1	*G. hirsutum*
miR171	GRAS	**419**	MRT3635_41132C.2	*G. hirsutum*
miR172	AP2	**420**	MRT3635_50596C.2	*G. hirsutum*
miR172	Domínio AP2	**421**	MRT3635_21738C.2	*G. hirsutum*
miR172	Domínio AP2	**422**	MRT3635_5937C.2	*G. hirsutum*
miR172	Domínio AP2	**423**	MRT3635_64989C.1	*G. hirsutum*
miR172	Domínio AP2	**424**	MRT3635_8244C.2	*G. hirsutum*
miR319	TCP	**425**	MRT3635_31917C.2	*G. hirsutum*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**426**	MRT3635_40862C.2	*G. hirsutum*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**427**	MRT3635_55735C.1	*G. hirsutum*
miR393	TIR1	**428**	MRT3635_18850C.2	*G. hirsutum*
miR393	TIR1	**429**	MRT3635_35639C.2	*G. hirsutum*
miR393	TIR1	**430**	MRT3635_68504C.1	*G. hirsutum*
miR393	Resposta do inibidor de transporte	**431**	MRT3635_18188C.2	*G. hirsutum*
miR393	Resposta do inibidor de transporte	**432**	MRT3635_49076C.2	*G. hirsutum*
miR395	AST	**433**	MRT3635_73824C.1	*G. hirsutum*
miR395	sulfato adenililtransferase	**434**	MRT3635_15903C.2	*G. hirsutum*
miR395	sulfato adenililtransferase	**435**	MRT3635_48567C.2	*G. hirsutum*
miR395	transportador de sulfato	**436**	MRT3635_64866C.1	*G. hirsutum*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**437**	MRT3635_10089C.2	*G. hirsutum*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**438**	MRT3635_18322C.2	*G. hirsutum*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**439**	MRT3635_43733C.2	*G. hirsutum*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**440**	MRT3635_44225C.2	*G. hirsutum*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**441**	MRT3635_67643C.1	*G. hirsutum*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**442**	MRT3635_71085C.1	*G. hirsutum*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**443**	MRT3635_7854C.2	*G. hirsutum*
miR397	Lacase	**444**	MRT3635_2612C.2	*G. hirsutum*
miR397	Lacase	**445**	MRT3635_59330C.1	*G. hirsutum*
miR397	Lacase	**446**	MRT3635_62379C.1	*G. hirsutum*

miR400	PPR	**447**	MRT3635_14024C.2	*G. hirsutum*
miR400	PPR	**448**	MRT3635_24425C.2	*G. hirsutum*
miR400	PPR	**449**	MRT3635_62540C.1	*G. hirsutum*
miR400	PPR	**450**	MRT3635_71976C.1	*G. hirsutum*
miR408	proteína de cobre azul	**451**	MRT3635_25321C.2	*G. hirsutum*
miR408	proteína de cobre azul	**452**	MRT3635_36078C.2	*G. hirsutum*
miR408	proteína de cobre azul	**453**	MRT3635_36080C.2	*G. hirsutum*
miR408	proteína de cobre azul	**454**	MRT3635_54561C.2	*G. hirsutum*
miR408	proteína de cobre azul	**455**	MRT3635_54936C.2	*G. hirsutum*
miR444	MADS-box	**456**	MRT3635_52393C.1	*G. hirsutum*
miR472	Ligação ao ATP	**457**	MRT3635_16581C.2	*G. hirsutum*
miR472/482	Proteína de resistência à doença tipo NBS-LRR	**458**	MRT3635_77272C.1	*G. hirsutum*
miR475	pentatricopeptídeo	**459**	MRT3635_73944C.1	*G. hirsutum*
miR475	Repetição de pentatricopeptideo	**460**	MRT3635_35992C.1	*G. hirsutum*
miR475	Repetição de pentatricopeptideo	**461**	MRT3635_51055C.1	*G. hirsutum*
miR475	PPR	**462**	MRT3635_36232C.2	*G. hirsutum*
miR475	PPR	**463**	MRT3635_65837C.1	*G. hirsutum*
miR475	PPR	**464**	MRT3635_6832C.2	*G. hirsutum*
miR827	SPX	**465**	MRT3635_71336C.1	*G. hirsutum*
miR827	dedo de zinco	**466**	MRT3635_61225C.1	*G. hirsutum*
miR828	MYB	**467**	MRT3635_63902C.1	*G. hirsutum*
miR828	ligação ao DNA tipo myb	**468**	MRT3635_11678C.2	*G. hirsutum*
miR828	ligação ao DNA tipo myb	**469**	MRT3635_23974C.2	*G. hirsutum*
miR828	ligação ao DNA tipo myb	**470**	MRT3635_37632C.1	*G. hirsutum*
miR828	ligação ao DNA tipo myb	**471**	MRT3635_46849C.2	*G. hirsutum*
miR828	ligação ao DNA tipo myb	**472**	MRT3635_75185C.1	*G. hirsutum*
miR828/858	MYB	**473**	MRT3635_12320C.2	*G. hirsutum*
miR828/858	ligação ao DNA tipo myb	**474**	MRT3635_25669C.1	*G. hirsutum*
miR858	MYB	**475**	MRT3635_11888C.1	*G. hirsutum*
miR858	MYB	**476**	MRT3635_17735C.1	*G. hirsutum*

miR858	MYB	**477**	MRT3635_3345C.1	*G. hirsutum*
miR858	MYB	**478**	MRT3635_46789C.1	*G. hirsutum*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**479**	MRT3635_48257C.1	*G. hirsutum*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**480**	MRT3635_53024C.2	*G. hirsutum*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**481**	MRT3635_55977C.1	*G. hirsutum*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**482**	MRT3635_57077C.1	*G. hirsutum*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**483**	MRT3635_66730C.1	*G. hirsutum*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**484**	MRT3635_67640C.1	*G. hirsutum*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**485**	MRT3635_69682C.1	*G. hirsutum*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**486**	MRT3635_74072C.1	*G. hirsutum*
miR156	Domínio SBP	**487**	MRT4513_33353C.1	*Hordeum vulgare*
miR156/157	Domínio SBP	**488**	MRT4513_19757C.1	*H. vulgare*
miR156/157	Domínio SBP, miR157	**489**	MRT4513_52153C.1	*H. vulgare*
miR156/157	Domínio SBP, miR157	**490**	MRT4513_41849C.1	*H. vulgare*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**491**	MRT4513_4449C.1	*H. vulgare*
miR159	domínio de ligação ao DNA tipo myb	**492**	MRT4513_1572C.3	*H. vulgare*
miR159	domínio de ligação ao DNA tipo myb	**493**	MRT4513_55409C.1	*H. vulgare*
miR160	Fator de resposta à auxina	**494**	MRT4513_43004C.1	*H. vulgare*
miR160	Fator de resposta à auxina	**495**	MRT4513_48930C.1	*H. vulgare*
miR160	Fator de resposta à auxina	**496**	MRT4513_51165C.1	*H. vulgare*
miR160	Fator de resposta à auxina	**497**	MRT4513_9322C.2	*H. vulgare*
miR164	Proteína de domínio NAC	**498**	MRT4513_51143C.2	*H. vulgare*
miR164	Proteína de domínio NAC	**499**	MRT4513_7890C.1	*H. vulgare*
miR164	Sem meristema apical	**500**	MRT4513_26199C.1	*H. vulgare*
miR167	Fator de resposta à auxina	**501**	MRT4513_29483C.2	*H. vulgare*
miR167	Fator de resposta à auxina	**502**	MRT4513_29827C.2	*H. vulgare*
miR167	Fator de resposta à auxina	**503**	MRT4513_31779C.1	*H. vulgare*

miR167	Fator de resposta à auxina	**504**	MRT4513_47791C.1	*H. vulgare*
miR168	Argonaute	**505**	MRT4513_31835C.1	*H. vulgare*
miR168	Argonaute	**506**	MRT4513_43289C.1	*H. vulgare*
miR168	PINHEAD	**507**	MRT4513_28709C.1	*H. vulgare*
miR169	Ligação ao CCAAT	**508**	MRT4513_27452C.1	*H. vulgare*
miR169	Ligação ao CCAAT	**509**	MRT4513_38912C.1	*H. vulgare*
miR169	Ligação ao CCAAT	**510**	MRT4513_51394C.1	*H. vulgare*
miR170/171	SCL	**511**	MRT4513_44124C.1	*H. vulgare*
miR172	AP2	**512**	MRT4513_6417C.1	*H. vulgare*
miR172	Domínio AP2	**513**	MRT4513_42015C.1	*H. vulgare*
miR319	PCF	**514**	MRT4513_31590C.1	*H. vulgare*
miR319	PCF	**515**	MRT4513_52459C.1	*H. vulgare*
miR393	Resposta do inibidor de transporte	**516**	MRT4513_12741C.1	*H. vulgare*
miR393	Resposta do inibidor de transporte	**517**	MRT4513_38675C.1	*H. vulgare*
miR394	F-box	**518**	MRT4513_23211C.1	*H. vulgare*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**519**	MRT4513_20166C.2	*H. vulgare*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**520**	MRT4513_26009C.2	*H. vulgare*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**521**	MRT4513_33203C.1	*H. vulgare*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**522**	MRT4513_4600C.1	*H. vulgare*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**523**	MRT4513_50332C.1	*H. vulgare*
miR397	Lacase	**524**	MRT4513_35926C.1	*H. vulgare*
miR397	Lacase	**525**	MRT4513_40609C.1	*H. vulgare*
miR398	Cobre/zinco superóxido desmutase	**526**	MRT4513_43414C.2	*H. vulgare*
miR398	Cobre/zinco superóxido desmutase	**527**	MRT4513_8559C.2	*H. vulgare*
miR408	proteína de cobre azul	**528**	MRT4513_31098C.2	*H. vulgare*
miR472	proteína de resistência à doença NBS-LRR	**529**	MRT4513_5784C.1	*H. vulgare*
miR475	pentatricopeptídeo	**530**	MRT4513_47541C.1	*H. vulgare*
miR475	PPR	**531**	MRT4513_7525C.2	*H. vulgare*
miR482	Resistência à doença	**532**	MRT4513_11673C.1	*H. vulgare*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**533**	MRT4513_11055C.1	*H. vulgare*

miR858	ligação ao DNA tipo myb	**534**	MRT4513_42246C.1	*H. vulgare*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**535**	MRT4513_4767C.1	*H. vulgare*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**536**	MRT4513_5642C.1	*H. vulgare*
miR156/157	Domínio SBP	**537**	MRT3880_19943C.1	*Medicago sativa*
miR156/157	Domínio SBP	**538**	MRT3880_34839C.1	*M. sativa*
miR156/157	Domínio SBP	**539**	MRT3880_54023C.1	*M. sativa*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**540**	MRT3880_59834C.1	*M. sativa*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**541**	MRT3880_62151C.1	*M. sativa*
miR159	Domínio de ligação ao DNA tipo myb	**542**	MRT3880_51095C.1	*M. sativa*
miR160	Fator de resposta à auxina	**543**	MRT3880_22965C.1	*M. sativa*
miR160	Fator de resposta à auxina	**544**	MRT3880_28718C.1	*M. sativa*
miR160	Fator de resposta à auxina	**545**	MRT3880_38543C.1	*M. sativa*
miR160	Fator de resposta à auxina	**546**	MRT3880_44036C.1	*M. sativa*
miR161	PPR	**547**	MRT3880_11000C.1	*M. sativa*
miR161/475	Repetição de pentatricopeptideo	**548**	MRT3880_37878C.1	*M. sativa*
miR162	Dicer	**549**	MRT3880_26893C.1	*M. sativa*
miR164	Proteína de domínio NAC	**550**	MRT3880_18003C.2	*M. sativa*
miR164	Sem meristema apical	**551**	MRT3880_44619C.1	*M. sativa*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**552**	MRT3880_37546C.1	*M. sativa*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**553**	MRT3880_39764C.1	*M. sativa*
miR167	Fator de resposta à auxina	**554**	MRT3880_12926C.1	*M. sativa*
miR167	Fator de resposta à auxina	**555**	MRT3880_17672C.1	*M. sativa*
miR167	Fator de resposta à auxina	**556**	MRT3880_25270C.1	*M. sativa*
miR167	Fator de resposta à auxina	**557**	MRT3880_30476C.1	*M. sativa*
miR167	Fator de resposta à auxina	**558**	MRT3880_36150C.1	*M. sativa*
miR167	Fator de resposta à auxina	**559**	MRT3880_470C.1	*M. sativa*
miR169	fator de transcrição nuclear Y	**560**	MRT3880_16272C.2	*M. sativa*

miR169	fator de transcrição nuclear Y	**561**	MRT3880_21811C.2	*M. sativa*
miR169	fator de transcrição nuclear Y	**562**	MRT3880_59679C.1	*M. sativa*
miR170/171	GRAS	**563**	MRT3880_12452C.1	*M. sativa*
miR170/171	GRAS	**564**	MRT3880_29125C.1	*M. sativa*
miR170/171	GRAS	**565**	MRT3880_31130C.1	*M. sativa*
miR170/171	GRAS	**566**	MRT3880_40896C.1	*M. sativa*
miR170/171	GRAS	**567**	MRT3880_63440C.1	*M. sativa*
miR172	Domínio AP2	**568**	MRT3880_36568C.1	*M. sativa*
miR172	Domínio AP2	**569**	MRT3880_39959C.1	*M. sativa*
miR172	Domínio AP2	**570**	MRT3880_55789C.1	*M. sativa*
miR319	TCP	**571**	MRT3880_2628C.1	*M. sativa*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**572**	MRT3880_44480C.1	*M. sativa*
miR393	Resposta do inibidor de transporte	**573**	MRT3880_18564C.2	*M. sativa*
miR393	Resposta do inibidor de transporte	**574**	MRT3880_38847C.1	*M. sativa*
miR393	Resposta do inibidor de transporte	**575**	MRT3880_67369C.1	*M. sativa*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**576**	MRT3880_18861C.1	*M. sativa*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**577**	MRT3880_22460C.1	*M. sativa*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**578**	MRT3880_41297C.1	*M. sativa*
miR397	Lacase	**579**	MRT3880_43121C.1	*M. sativa*
miR397	Lacase	**580**	MRT3880_56114C.2	*M. sativa*
miR400	pentatricopeptídeo	**581**	MRT3880_53970C.1	*M. sativa*
miR400	PPR	**582**	MRT3880_14263C.1	*M. sativa*
miR400	PPR	**583**	MRT3880_65540C.1	*M. sativa*
miR400/475	Repetição de pentatricopeptideo	**584**	MRT3880_27459C.1	*M. sativa*
miR400/475	Repetição de pentatricopeptideo	**585**	MRT3880_49876C.1	*M. sativa*
miR400/475	PPR	**586**	MRT3880_44329C.1	*M. sativa*
miR408	proteína de cobre azul	**587**	MRT3880_46744C.2	*M. sativa*
miR408	proteína de cobre azul	**588**	MRT3880_53025C.1	*M. sativa*
miR408	proteína de cobre azul	**589**	MRT3880_5838C.1	*M. sativa*
miR472	Ligação ao ATP	**590**	MRT3880_29560C.1	*M. sativa*
miR472	Ligação ao ATP	**591**	MRT3880_30961C.1	*M. sativa*

miR472	Ligação ao ATP	**592**	MRT3880_48315C.1	*M. sativa*
miR472	Ligação ao ATP	**593**	MRT3880_53199C.1	*M. sativa*
miR472	Ligação ao ATP	**594**	MRT3880_54030C.2	*M. sativa*
miR472	Ligação ao ATP	**595**	MRT3880_57442C.1	*M. sativa*
miR472	proteína de resistência à doença	**596**	MRT3880_10080C.1	*M. sativa*
miR472	proteína de resistência à doença	**597**	MRT3880_12559C.2	*M. sativa*
miR472	proteína de resistência à doença	**598**	MRT3880_17698C.1	*M. sativa*
miR472	proteína de resistência à doença	**599**	MRT3880_21650C.1	*M. sativa*
miR472	proteína de resistência à doença	**600**	MRT3880_22933C.1	*M. sativa*
miR472	proteína de resistência à doença	**601**	MRT3880_26007C.1	*M. sativa*
miR472	proteína de resistência à doença	**602**	MRT3880_28379C.1	*M. sativa*
miR472	proteína de resistência à doença	**603**	MRT3880_3002C.1	*M. sativa*
miR472	proteína de resistência à doença	**604**	MRT3880_38354C.1	*M. sativa*
miR472	proteína de resistência à doença	**605**	MRT3880_41496C.1	*M. sativa*
miR472	proteína de resistência à doença	**606**	MRT3880_51100C.1	*M. sativa*
miR472	proteína de resistência à doença	**607**	MRT3880_5498C.1	*M. sativa*
miR472	proteína de resistência à doença	**608**	MRT3880_59891C.1	*M. sativa*
miR472	Proteína de resistência à doença tipo NBS-LRR	**609**	MRT3880_45204C.1	*M. sativa*
miR472	Proteína de resistência à doença tipo NBS-LRR	**610**	MRT3880_52654C.1	*M. sativa*
miR472	Proteína de resistência à doença tipo NBS-LRR	**611**	MRT3880_66600C.1	*M. sativa*
miR472	Proteína de resistência à doença tipo NBS-LRR	**612**	MRT3880_7642C.1	*M. sativa*
miR472/482	proteína de resistência à doença	**613**	MRT3880_19707C.1	*M. sativa*
miR472/482	proteína de resistência à doença	**614**	MRT3880_19814C.1	*M. sativa*
miR472/482	proteína de resistência à doença	**615**	MRT3880_26877C.1	*M. sativa*
miR472/482	proteína de resistência à doença	**616**	MRT3880_2935C.1	*M. sativa*
miR472/482	proteína de resistência à doença	**617**	MRT3880_36417C.1	*M. sativa*
miR472/482	proteína de resistência à doença	**618**	MRT3880_44875C.1	*M. sativa*

miR472/482	proteína de resistência à doença	**619**	MRT3880_5004C.1	*M. sativa*
miR472/482	proteína de resistência à doença	**620**	MRT3880_52723C.1	*M. sativa*
miR472/482	proteína de resistência à doença	**621**	MRT3880_57846C.1	*M. sativa*
miR472/482	proteína de resistência à doença	**622**	MRT3880_63259C.1	*M. sativa*
miR472/482	proteína de resistência à doença	**623**	MRT3880_6363C.1	*M. sativa*
miR472/482	proteína de resistência à doença	**624**	MRT3880_65083C.1	*M. sativa*
miR472/482, miR779	proteína de resistência à doença, repetição rica em leucina	**625**	MRT3880_55187C.1	*M. sativa*
miR475	Repetição de pentatricopeptideo	**626**	MRT3880_13183C.1	*M. sativa*
miR475	Repetição de pentatricopeptideo	**627**	MRT3880_42014C.1	*M. sativa*
miR475	Repetição de pentatricopeptideo	**628**	MRT3880_46171C.1	*M. sativa*
miR475	PPR	**629**	MRT3880_12164C.1	*M. sativa*
miR475	PPR	**630**	MRT3880_12471C.1	*M. sativa*
miR475	PPR	**631**	MRT3880_16503C.1	*M. sativa*
miR475	PPR	**632**	MRT3880_22609C.1	*M. sativa*
miR475	PPR	**633**	MRT3880_35917C.1	*M. sativa*
miR475	PPR	**634**	MRT3880_39210C.1	*M. sativa*
miR475	PPR	**635**	MRT3880_55838C.1	*M. sativa*
miR475	PPR	**636**	MRT3880_56789C.1	*M. sativa*
miR475	PPR	**637**	MRT3880_65802C.1	*M. sativa*
miR475	PPR	**638**	MRT3880_870C.1	*M. sativa*
miR475	PPR	**639**	MRT3880_9632C.1	*M. sativa*
miR476	Repetição de pentatricopeptideo	**640**	MRT3880_13782C.1	*M. sativa*
miR477	GRAS	**641**	MRT3880_1038C.1	*M. sativa*
miR477	GRAS	**642**	MRT3880_14765C.1	*M. sativa*
miR477	GRAS	**643**	MRT3880_28393C.1	*M. sativa*
miR477	GRAS	**644**	MRT3880_31231C.1	*M. sativa*
miR477	GRAS	**645**	MRT3880_42028C.1	*M. sativa*
miR477	GRAS	**646**	MRT3880_51782C.1	*M. sativa*
miR482	proteína de resistência à doença	**647**	MRT3880_12508C.1	*M. sativa*
miR482	proteína de resistência à doença	**648**	MRT3880_16156C.1	*M. sativa*

miR482	proteína de resistência à doença	**649**	MRT3880_22305C.1	*M. sativa*
miR482	proteína de resistência à doença	**650**	MRT3880_30579C.1	*M. sativa*
miR482	proteína de resistência à doença	**651**	MRT3880_38019C.1	*M. sativa*
miR482	proteína de resistência à doença	**652**	MRT3880_4159C.1	*M. sativa*
miR482	proteína de resistência à doença	**653**	MRT3880_49695C.1	*M. sativa*
miR482	proteína de resistência à doença	**654**	MRT3880_54965C.1	*M. sativa*
miR482	proteína de resistência à doença	**655**	MRT3880_56400C.1	*M. sativa*
miR482	proteína de resistência à doença	**656**	MRT3880_56673C.1	*M. sativa*
miR482	proteína de resistência à doença	**657**	MRT3880_58830C.1	*M. sativa*
miR482	proteína de resistência à doença	**658**	MRT3880_58849C.1	*M. sativa*
miR482	proteína de resistência à doença	**659**	MRT3880_59857C.1	*M. sativa*
miR482	proteína de resistência à doença	**660**	MRT3880_60136C.1	*M. sativa*
miR482	proteína de resistência à doença	**661**	MRT3880_65552C.2	*M. sativa*
miR482	proteína de resistência à doença	**662**	MRT3880_8722C.1	*M. sativa*
miR482	proteína de resistência à doença	**663**	MRT3880_9618C.1	*M. sativa*
miR828	ligação ao DNA tipo myb	**664**	MRT3880_19611C.1	*M. sativa*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**665**	MRT3880_10365C.1	*M. sativa*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**666**	MRT3880_12267C.1	*M. sativa*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**667**	MRT3880_19438C.1	*M. sativa*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**668**	MRT3880_23642C.1	*M. sativa*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**669**	MRT3880_33147C.1	*M. sativa*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**670**	MRT3880_34889C.1	*M. sativa*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**671**	MRT3880_39946C.1	*M. sativa*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**672**	MRT3880_55009C.1	*M. sativa*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**673**	MRT3880_56414C.1	*M. sativa*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**674**	MRT3880_62538C.1	*M. sativa*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**675**	MRT3880_801C.1	*M. sativa*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**676**	MRT3880_8393C.1	*M. sativa*
miR859	Proteína F-box	**677**	MRT3880_46176C.1	*M. sativa*
miR859	Proteína F-box	**678**	MRT3880_47002C.1	*M. sativa*
miRMON13	PPR	**679**	MRT3880_52640C.1	*M. sativa*

miRMON13	PPR	**680**	MRT3880_60915C.1	*M. sativa*
miR156	Domínio SBP	**681**	MRT4530_118092C.3	*Oryza sativa*
miR156	Domínio SBP	**682**	MRT4530_135991C.4	*O. sativa*
miR156	Domínio SBP	**683**	MRT4530_257640C.1	*O. sativa*
miR156	Domínio SBP	**684**	MRT4530_142142C.4	*O. sativa*
miR156	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**685**	MRT4530_195506C.2	*O. sativa*
miR156	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**686**	MRT4530_220364C.2	*O. sativa*
miR156	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**687**	MRT4530_236277C.1	*O. sativa*
miR156	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**688**	MRT4530_53217C.5	*O. sativa*
miR156	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**689**	MRT4530_6964C.4	*O. sativa*
miR159	MYB	**690**	MRT4530_103606C.2	*O. sativa*
miR159	Tipo myb	**691**	MRT4530_82994C.2	*O. sativa*
miR159	domínio de ligação ao DNA tipo myb	**692**	MRT4530_103605C.3	*O. sativa*
miR159	domínio de ligação ao DNA tipo myb	**693**	MRT4530_156102C.3	*O. sativa*
miR159	domínio de ligação ao DNA tipo myb	**694**	MRT4530_181046C.3	*O. sativa*
miR159	domínio de ligação ao DNA tipo myb	**695**	MRT4530_42135C.5	*O. sativa*
miR160	ARF	**696**	PHE0003527	*O. sativa*
miR160	ARF	**697**	PHE0003528	*O. sativa*
miR160	Fator de resposta à auxina	**698**	MRT4530_228913C.1	*O. sativa*
miR160	Fator de resposta à auxina	**699**	MRT4530_69952C.4	*O. sativa*
miR160	Fator de resposta à auxina	**700**	MRT4530_71017C.4	*O. sativa*
miR160	Fator de resposta à auxina	**701**	MRT4530_75962C.5	*O. sativa*

miR162	CAF	**702**	MRT4530_212066C.2	*O. sativa*
miR164	NAC	**703**	MRT4530_224181C.2	*O. sativa*
miR164	Proteína de domínio NAC	**704**	MRT4530_178256C.3	*O. sativa*
miR164	Proteína de domínio NAC	**705**	MRT4530_221769C.1	*O. sativa*
miR164	NAC1	**706**	MRT4530_141528C.5	*O. sativa*
miR164	Sem meristema apical	**707**	MRT4530_147737C.4	*O. sativa*
miR164	Sem meristema apical	**708**	MRT4530_157393C.3	*O. sativa*
miR166	HD-ZIP	**709**	MRT4530_253068C.2	*O. sativa*
miR167	ARF	**710**	PHE0003657	*O. sativa*
miR167	Fator de resposta à auxina	**711**	MRT4530_86291C.3	*O. sativa*
miR168	Argonaute	**712**	MRT4530_147864C.3	*O. sativa*
miR169	Ligação ao CCAAT	**713**	MRT4530_156068C.3	*O. sativa*
miR169	Ligação ao CCAAT	**714**	MRT4530_52650C.3	*O. sativa*
miR169	Ligação ao CCAAT	**715**	MRT4530_98042C.6	*O. sativa*
miR171	GRAS	**716**	MRT4530_157676C.3	*O. sativa*
miR171	GRAS	**717**	MRT4530_159257C.2	*O. sativa*
miR171	GRAS	**718**	MRT4530_177712C.1	*O. sativa*
miR171	GRAS	**719**	MRT4530_64038C.2	*O. sativa*
miR171	Tipo Scarecrow	**720**	MRT4530_146050C.4	*O. sativa*
miR171	SCL	**721**	MRT4530_111185C.3	*O. sativa*
miR171	SCL	**722**	MRT4530_12928C.2	*O. sativa*
miR171	SCL	**723**	MRT4530_88963C.6	*O. sativa*
miR172	AP2	**724**	PHE0003882	*O. sativa*
miR172	Domínio AP2	**725**	MRT4530_160275C.3	*O. sativa*
miR172	Domínio AP2	**726**	MRT4530_56773C.3	*O. sativa*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**727**	MRT4530_154891C.2	*O. sativa*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**728**	MRT4530_9431C.5	*O. sativa*
miR319	TCP3	**729**	MRT4530_151800C.2	*O. sativa*
miR393	Resposta do inibidor de transporte	**730**	MRT4530_241313C.2	*O. sativa*
miR395	ATP sulfurilase	**731**	MRT4530_16384C.4	*O. sativa*
miR395	transportador de sulfato	**732**	MRT4530_33633C.6	*O. sativa*

miR396	Fator de regulação do crescimento	**733**	PHE0000026	*O. sativa*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**734**	MRT4530_140789C.3	*O. sativa*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**735**	MRT4530_145151C.4	*O. sativa*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**736**	MRT4530_147352C.3	*O. sativa*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**737**	MRT4530_180707C.1	*O. sativa*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**738**	MRT4530_221461C.1	*O. sativa*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**739**	MRT4530_63308C.3	*O. sativa*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**740**	MRT4530_73195C.3	*O. sativa*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**741**	MRT4530_83576C.4	*O. sativa*
miR397	Lacase	**742**	MRT4530_148379C.4	*O. sativa*
miR397	Lacase	**743**	MRT4530_181828C.1	*O. sativa*
miR397	Lacase	**744**	MRT4530_237569C.1	*O. sativa*
miR397	Lacase	**745**	MRT4530_60143C.3	*O. sativa*
miR408	proteína de cobre azul	**746**	MRT4530_137979C.3	*O. sativa*
miR408	proteína de cobre azul	**747**	MRT4530_260849C.1	*O. sativa*
miR408	proteína de cobre azul	**748**	MRT4530_40477C.6	*O. sativa*
miR408	Lacase	**749**	MRT4530_160612C.2	*O. sativa*
miR408	Lacase	**750**	MRT4530_169405C.1	*O. sativa*
miR444	MADS	**751**	MRT4530_27947C.3	*O. sativa*
miR444	MADS	**752**	MRT4530_78475C.3	*O. sativa*
miR444	MADS box	**753**	PHE0001381	*O. sativa*
miR444	MADS box	**754**	PHE0015548	*O. sativa*
miR444	MADS box	**755**	PHE0015549	*O. sativa*
miR444	MADS-box	**756**	PHE0003829	*O. sativa*
miR444	MADS-box	**757**	MRT4530_196636C.3	*O. sativa*
miR809	Mlo	**758**	MRT4530_59197C.5	*O. sativa*
miR538	MADS-box	**759**	PHE0014613	*Physcomitrella patens*
miR156/157	Domínio SBP	**760**	MRT4558_6587C.1	*Sorghum bicolor*

miR156/157	Domínio SBP	**761**	MRT4558_12680C.1	*S. bicolor*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**762**	MRT4558_8644C.2	*S. bicolor*
miR159	GAMYB	**763**	MRT4558_37619C.1	*S. bicolor*
miR160	Fator de resposta à auxina	**764**	MRT4558_27799C.1	*S. bicolor*
miR164	Proteína de domínio NAC	**765**	MRT4558_43436C.1	*S. bicolor*
miR164	Proteína de domínio NAC	**766**	MRT4558_4564C.2	*S. bicolor*
miR164	NAC1	**767**	MRT4558_43081C.1	*S. bicolor*
miR164	Sem meristema apical	**768**	MRT4558_41467C.1	*S. bicolor*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**769**	MRT4558_27560C.1	*S. bicolor*
miR167	Fator de resposta à auxina	**770**	MRT4558_10718C.3	*S. bicolor*
miR167	Fator de resposta à auxina	**771**	MRT4558_1659C.2	*S. bicolor*
miR167	Fator de resposta à auxina	**772**	MRT4558_37108C.1	*S. bicolor*
miR169	Ligação ao CCAAT	**773**	MRT4558_11671C.2	*S. bicolor*
miR169	Ligação ao CCAAT	**774**	MRT4558_13240C.2	*S. bicolor*
miR169	Ligação ao CCAAT	**775**	MRT4558_19368C.2	*S. bicolor*
miR169	Ligação ao CCAAT	**776**	MRT4558_8287C.2	*S. bicolor*
miR170/171	SCL	**777**	MRT4558_7655C.1	*S. bicolor*
miR172	Domínio AP2	**778**	MRT4558_25704C.2	*S. bicolor*
miR393	Resposta do inibidor de transporte	**779**	MRT4558_1226C.2	*S. bicolor*
miR393	Resposta do inibidor de transporte	**780**	MRT4558_20000C.2	*S. bicolor*
miR394	Domínio F-box	**781**	MRT4558_11973C.2	*S. bicolor*
miR395	sulfato adenililtransferase	**782**	MRT4558_11861C.1	*S. bicolor*
miR395	Transportador de sulfato	**783**	MRT4558_24400C.2	*S. bicolor*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**784**	MRT4558_13321C.2	*S. bicolor*
miR400	Repetição de pentatricopeptideo	**785**	MRT4558_43831C.1	*S. bicolor*
miR408	proteína de cobre azul	**786**	MRT4558_16166C.2	*S. bicolor*
miR408	proteína de cobre azul	**787**	MRT4558_8981C.2	*S. bicolor*
miR408	Lacase	**788**	MRT4558_40844C.1	*S. bicolor*
miR444	MADS-box	**789**	MRT4558_11440C.2	*S. bicolor*
miR472	Ligação ao ATP	**790**	MRT4558_33723C.1	*S. bicolor*

miR475	PPR	**791**	MRT4558_5261C.2	*S. bicolor*
miR536	Proteína F-box	**792**	MRT4558_34710C.1	*S. bicolor*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**793**	MRT4558_5881C.2	*S. bicolor*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**794**	MRT4558_642C.1	*S. bicolor*
miR159	Proteína myb	**795**	MRT4565_281735C.1	*Triticum aestivum*
miR169	CCAAT	**796**	MRT4565_240119C.2	*T. aestivum*
miR169	CCAAT	**797**	MRT4565_270644C.2	*T. aestivum*
miR172	AP2	**798**	MRT4565_247090C.1	*T. aestivum*
miR394	F-box	**799**	MRT4565_259298C.2	*T. aestivum*
miR444	MADS box	**800**	PHE0002649	*T. aestivum*
miR444	MADS-box	**801**	MRT4565_247066C.1	*T. aestivum*
miR444	MADS-box	**802**	MRT4565_258649C.1	*T. aestivum*
miR529	AP2	**803**	MRT4565_278632C.2	*T. aestivum*
miR858	MYB	**804**	MRT4565_223049C.1	*T. aestivum*
miR165/166	REV	**805**	PHE0012638	*não-identificado*
miR824	MADS box	**806**	PHE0015528	*não-identificado*
miR824	MADS box	**807**	PHE0015545	*não-identificado*
miR1029	erf	**808**	MRT4577_148956C.8	*Zea mays*
miR1029	erf	**809**	MRT4577_267494C.5	*Z. mays*
miR1029	erf	**810**	MRT4577_389477C.2	*Z. mays*
miR1029	erf	**811**	MRT4577_48700C.7	*Z. mays*
miR1029	erf	**812**	MRT4577_565542C.1	*Z. mays*
miR1029	erf	**813**	MRT4577_600239C.1	*Z. mays*
miR156	Ligação do Promotor Escamoso	**814**	MRT4577_396357C.4	*Z. mays*
miR156/157	Domínio SBP	**815**	MRT4577_122478C.6	*Z. mays*
miR156/157	Domínio SBP	**816**	MRT4577_270892C.4	*Z. mays*
miR156/157	Domínio SBP	**817**	MRT4577_334372C.5	*Z. mays*

miR156/157	Domínio SBP	**818**	MRT4577_532824C.3	*Z. mays*
miR156/157	Domínio SBP	**819**	MRT4577_535297C.2	*Z. mays*
miR156/157	Domínio SBP	**820**	MRT4577_537670C.2	*Z. mays*
miR156/157	Domínio SBP	**821**	MRT4577_565057C.1	*Z. mays*
miR156/157	Domínio SBP	**822**	MRT4577_568647C.1	*Z. mays*
miR156/157	Domínio SBP	**823**	MRT4577_571545C.1	*Z. mays*
miR156/157	Domínio SBP	**824**	MRT4577_644419C.1	*Z. mays*
miR156/157	Domínio SBP	**825**	MRT4577_23629C.7	*Z. mays*
miR156/157	Domínio SBP	**826**	MRT4577_295538C.7	*Z. mays*
miR156/157	Domínio SBP	**827**	MRT4577_31704C.9	*Z. mays*
miR156/157	Ligação do Promotor Escamoso	**828**	MRT4577_427964C.4	*Z. mays*
miR156/157	Ligação do Promotor Escamoso	**829**	MRT4577_461098C.3	*Z. mays*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**830**	MRT4577_137984C.6	*Z. mays*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**831**	MRT4577_188360C.6	*Z. mays*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**832**	MRT4577_205098C.7	*Z. mays*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**833**	MRT4577_26483C.7	*Z. mays*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**834**	MRT4577_341149C.6	*Z. mays*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**835**	MRT4577_383301C.4	*Z. mays*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**836**	MRT4577_42534C.9	*Z. mays*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**837**	MRT4577_564644C.1	*Z. mays*
miR156/157	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**838**	MRT4577_619443C.1	*Z. mays*
miR156/157	Ligação do Promotor Escamoso	**839**	MRT4577_333683C.4	*Z. mays*
miR156/157	Ligação do Promotor Escamoso	**840**	MRT4577_38044C.8	*Z. mays*

miR156/157	arquitetura teosinto gluma	**841**	MRT4577_181019C.5	*Z. mays*
miR156/157	arquitetura teosinto gluma	**842**	MRT4577_78773C.8	*Z. mays*
miR159	GAMYB	**843**	MRT4577_481577C.2	*Z. mays*
miR159	MYB	**844**	MRT4577_210747C.5	*Z. mays*
miR159	MYB	**845**	MRT4577_542744C.2	*Z. mays*
miR159	tipo myb	**846**	MRT4577_298452C.5	*Z. mays*
miR159	ligação ao DNA tipo myb	**847**	MRT4577_565447C.1	*Z. mays*
miR159	ligação ao DNA tipo myb	**848**	MRT4577_565456C.1	*Z. mays*
miR159	domínio de ligação ao DNA tipo myb	**849**	MRT4577_30813C.8	*Z. mays*
miR159	domínio de ligação ao DNA tipo myb	**850**	MRT4577_390477C.4	*Z. mays*
miR159	domínio de ligação ao DNA tipo myb	**851**	MRT4577_391124C.5	*Z. mays*
miR159	domínio de ligação ao DNA tipo myb	**852**	MRT4577_416957C.3	*Z. mays*
miR159	domínio de ligação ao DNA tipo myb	**853**	MRT4577_545477C.2	*Z. mays*
miR159	domínio de ligação ao DNA tipo myb	**854**	MRT4577_582653C.1	*Z. mays*
miR159	domínio de ligação ao DNA tipo myb	**855**	MRT4577_598088C.1	*Z. mays*
miR159	domínio de ligação ao DNA tipo myb	**856**	MRT4577_605039C.1	*Z. mays*
miR159	domínio de ligação ao DNA tipo myb	**857**	MRT4577_613992C.1	*Z. mays*
miR159	domínio de ligação ao DNA tipo myb	**858**	MRT4577_622542C.1	*Z. mays*
miR159	domínio de ligação ao DNA tipo myb	**859**	MRT4577_709777C.1	*Z. mays*
miR159	domínio de ligação ao DNA tipo myb	**860**	MRT4577_77765C.6	*Z. mays*

miR160	Fator de resposta à auxina	**861**	MRT4577_256734C.4	*Z. mays*
miR160	Fator de resposta à auxina	**862**	MRT4577_258637C.3	*Z. mays*
miR160	Fator de resposta à auxina	**863**	MRT4577_385317C.4	*Z. mays*
miR160	Fator de resposta à auxina	**864**	MRT4577_400043C.5	*Z. mays*
miR160	Fator de resposta à auxina	**865**	MRT4577_41620C.7	*Z. mays*
miR160	Fator de resposta à auxina	**866**	MRT4577_429671C.4	*Z. mays*
miR160	Fator de resposta à auxina	**867**	MRT4577_430512C.4	*Z. mays*
miR160	Fator de resposta à auxina	**868**	MRT4577_448022C.1	*Z. mays*
miR160	Fator de resposta à auxina	**869**	MRT4577_503622C.2	*Z. mays*
miR160	Fator de resposta à auxina	**870**	MRT4577_569655C.1	*Z. mays*
miR160	Fator de resposta à auxina	**871**	MRT4577_605037C.1	*Z. mays*
miR161	PPR	**872**	MRT4577_219343C.5	*Z. mays*
miR161	PPR	**873**	MRT4577_338127C.1	*Z. mays*
miR161	PPR	**874**	MRT4577_381918C.5	*Z. mays*
miR161	PPR	**875**	MRT4577_549370C.2	*Z. mays*
miR161	PPR	**876**	MRT4577_653452C.1	*Z. mays*
miR162	Dicer	**877**	MRT4577_226226C.4	*Z. mays*
miR162	Dicer	**878**	MRT4577_50615C.6	*Z. mays*
miR162	Dicer	**879**	MRT4577_592675C.1	*Z. mays*
miR164	Proteína de domínio NAC	**880**	MRT4577_686098C.1	*Z. mays*
miR164	Proteína de domínio NAC	**881**	MRT4577_98755C.5	*Z. mays*
miR164	NAC1	**882**	PHE0003788	*Z. mays*
miR164	Sem meristema apical	**883**	MRT4577_105083C.9	*Z. mays*
miR164	Sem meristema apical	**884**	MRT4577_16045C.7	*Z. mays*
miR164	Sem meristema apical	**885**	MRT4577_256695C.4	*Z. mays*
miR164	Sem meristema apical	**886**	MRT4577_29326C.8	*Z. mays*
miR164	Sem meristema apical	**887**	MRT4577_317955C.5	*Z. mays*
miR164	Sem meristema apical	**888**	MRT4577_370828C.5	*Z. mays*
miR164	Sem meristema apical	**889**	MRT4577_394716C.4	*Z. mays*
miR164	Sem meristema apical	**890**	MRT4577_586054C.1	*Z. mays*
miR164	Sem meristema apical	**891**	MRT4577_625707C.1	*Z. mays*

miR164	Sem meristema apical	**892**	MRT4577_629408C.1	*Z. mays*
miR164	Sem meristema apical	**893**	MRT4577_705865C.1	*Z. mays*
miR164	Sem meristema apical	**894**	MRT4577_9951C.8	*Z. mays*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**895**	MRT4577_197925C.4	*Z. mays*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**896**	MRT4577_200605C.3	*Z. mays*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**897**	MRT4577_320718C.6	*Z. mays*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**898**	MRT4577_43102C.9	*Z. mays*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**899**	MRT4577_535928C.2	*Z. mays*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**900**	MRT4577_568616C.1	*Z. mays*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**901**	MRT4577_613062C.1	*Z. mays*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**902**	MRT4577_659410C.1	*Z. mays*
miR165/166	Proteína HD-Zip classe III	**903**	MRT4577_673351C.1	*Z. mays*
miR165/166	HD-ZIP	**904**	PHE0008043	*Z. mays*
miR165/166	Rev	**905**	PHE0007773	*Z. mays*
miR165/166	Rev	**906**	PHE0012657	*Z. mays*
miR165/166	folha enrolada	**907**	MRT4577_229497C.6	*Z. mays*
miR165/166	folha enrolada	**908**	MRT4577_312384C.3	*Z. mays*
miR165/166	folha enrolada	**909**	MRT4577_342259C.4	*Z. mays*
miR165/166	folha enrolada	**910**	MRT4577_442838C.4	*Z. mays*
miR165/166	folha enrolada	**911**	MRT4577_535676C.2	*Z. mays*
miR165/166	folha enrolada	**912**	MRT4577_566770C.1	*Z. mays*
miR165/166	folha enrolada	**913**	MRT4577_586718C.1	*Z. mays*
miR167	ARF	**914**	PHE0003656	*Z. mays*
miR167	Fator de resposta à auxina	**915**	MRT4577_267543C.4	*Z. mays*
miR167	Fator de resposta à auxina	**916**	MRT4577_267545C.6	*Z. mays*
miR167	Fator de resposta à auxina	**917**	MRT4577_306050C.5	*Z. mays*
miR167	Fator de resposta à auxina	**918**	MRT4577_310720C.4	*Z. mays*
miR167	Fator de resposta à auxina	**919**	MRT4577_339989C.4	*Z. mays*
miR167	Fator de resposta à auxina	**920**	MRT4577_35746C.4	*Z. mays*
miR167	Fator de resposta à auxina	**921**	MRT4577_360403C.2	*Z. mays*
miR167	Fator de resposta à auxina	**922**	MRT4577_377896C.4	*Z. mays*

miR167	Fator de resposta à auxina	**923**	MRT4577_45522C.9	*Z. mays*
miR167	Fator de resposta à auxina	**924**	MRT4577_509023C.3	*Z. mays*
miR167	Fator de resposta à auxina	**925**	MRT4577_521851C.2	*Z. mays*
miR167	Fator de resposta à auxina	**926**	MRT4577_536912C.2	*Z. mays*
miR167	Fator de resposta à auxina	**927**	MRT4577_569979C.1	*Z. mays*
miR167	Fator de resposta à auxina	**928**	MRT4577_650810C.1	*Z. mays*
miR167	Fator de resposta à auxina	**929**	MRT4577_676039C.1	*Z. mays*
miR167	Fator de resposta à auxina	**930**	MRT4577_680014C.1	*Z. mays*
miR167	Fator de resposta à auxina	**931**	MRT4577_681088C.1	*Z. mays*
miR167	Fator de resposta à auxina	**932**	MRT4577_681995C.1	*Z. mays*
miR167	Fator de resposta à auxina	**933**	MRT4577_683953C.1	*Z. mays*
miR167	Fator de resposta à auxina	**934**	MRT4577_684325C.1	*Z. mays*
miR167	Fator de resposta à auxina	**935**	MRT4577_8821C.7	*Z. mays*
miR168	Argonaute	**936**	MRT4577_247045C.8	*Z. mays*
miR168	Argonaute	**937**	MRT4577_29086C.7	*Z. mays*
miR168	Argonaute	**938**	MRT4577_418712C.5	*Z. mays*
miR168	Argonaute	**939**	MRT4577_57570C.9	*Z. mays*
miR168	Argonaute	**940**	MRT4577_577443C.1	*Z. mays*
miR169	Ligação ao CCAAT	**941**	MRT4577_40749C.8	*Z. mays*
miR169	Ligação ao CCAAT	**942**	MRT4577_428392C.4	*Z. mays*
miR169	Ligação ao CCAAT	**943**	MRT4577_434247C.4	*Z. mays*
miR169	Ligação ao CCAAT	**944**	MRT4577_536961C.2	*Z. mays*
miR169	Ligação ao CCAAT	**945**	MRT4577_536962C.2	*Z. mays*
miR169	Ligação ao CCAAT	**946**	MRT4577_540147C.2	*Z. mays*
miR169	Ligação ao CCAAT	**947**	MRT4577_556372C.2	*Z. mays*
miR169	Ligação ao CCAAT	**948**	MRT4577_570254C.1	*Z. mays*
miR169	Ligação ao CCAAT	**949**	MRT4577_668660C.1	*Z. mays*
miR169	Ligação ao CCAAT	**950**	MRT4577_693949C.1	*Z. mays*
miR169	Ligação ao CCAAT	**951**	MRT4577_701125C.1	*Z. mays*
miR170/171	SCL	**952**	PHE0006551	*Z. mays*
miR170/171	SCL	**953**	MRT4577_140896C.6	*Z. mays*

miR170/171	SCL	**954**	MRT4577_234039C.6	*Z. mays*
miR170/171	SCL	**955**	MRT4577_269667C.5	*Z. mays*
miR170/171	SCL	**956**	MRT4577_520619C.2	*Z. mays*
miR170/171	SCL	**957**	MRT4577_617401C.1	*Z. mays*
miR170/171	SCL	**958**	MRT4577_75777C.8	*Z. mays*
miR171	GRAS	**959**	MRT4577_26778C.8	*Z. mays*
miR171	GRAS	**960**	MRT4577_30852C.6	*Z. mays*
miR171	GRAS	**961**	MRT4577_683754C.1	*Z. mays*
miR171	GRAS	**962**	MRT4577_687943C.1	*Z. mays*
miR171	Scarecrow	**963**	MRT4577_569322C.1	*Z. mays*
miR172	AP2	**964**	PHE0006602	*Z. mays*
miR172	Domínio AP2	**965**	MRT4577_12523C.7	*Z. mays*
miR172	Domínio AP2	**966**	MRT4577_27478C.9	*Z. mays*
miR172	Domínio AP2	**967**	MRT4577_304712C.4	*Z. mays*
miR172	Domínio AP2	**968**	MRT4577_307553C.7	*Z. mays*
miR172	Domínio AP2	**969**	MRT4577_431122C.3	*Z. mays*
miR172	Domínio AP2	**970**	MRT4577_455774C.3	*Z. mays*
miR172	Domínio AP2	**971**	MRT4577_468762C.3	*Z. mays*
miR172	Domínio AP2	**972**	MRT4577_548310C.2	*Z. mays*
miR172	Domínio AP2	**973**	MRT4577_556612C.2	*Z. mays*
miR172	Domínio AP2	**974**	MRT4577_597136C.1	*Z. mays*
miR172	Domínio AP2	**975**	MRT4577_669210C.1	*Z. mays*
miR172	Domínio AP2	**976**	MRT4577_676464C.1	*Z. mays*
miR172	Domínio AP2	**977**	MRT4577_708079C.1	*Z. mays*
miR172	APETALA2	**978**	MRT4577_49517C.8	*Z. mays*
miR172	APETALA2	**979**	MRT4577_700043C.1	*Z. mays*
miR172	Glossy15	**980**	PHE0000011	*Z. mays*
miR319	Ciclina	**981**	PHE0001434	*Z. mays*
miR319	PCF	**982**	MRT4577_427906C.4	*Z. mays*
miR319	PCF	**983**	MRT4577_480991C.1	*Z. mays*
miR319	PCF	**984**	MRT4577_568064C.1	*Z. mays*

miR319	PCF	**985**	MRT4577_590917C.1	*Z. mays*
miR319	PCF	**986**	MRT4577_679533C.1	*Z. mays*
miR319	PCF	**987**	MRT4577_680167C.1	*Z. mays*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**988**	MRT4577_147719C.7	*Z. mays*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**989**	MRT4577_221733C.7	*Z. mays*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**990**	MRT4577_275063C.6	*Z. mays*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**991**	MRT4577_30525C.6	*Z. mays*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**992**	MRT4577_340633C.4	*Z. mays*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**993**	MRT4577_557860C.2	*Z. mays*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**994**	MRT4577_558102C.2	*Z. mays*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**995**	MRT4577_568063C.1	*Z. mays*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**996**	MRT4577_571095C.1	*Z. mays*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**997**	MRT4577_590269C.1	*Z. mays*
miR319	Fator de transcrição da família TCP	**998**	MRT4577_686625C.1	*Z. mays*
miR390	TAS	**999**	MRT4577_306288C.5	*Z. mays*
miR390	TAS	**1000**	MRT4577_325578C.3	*Z. mays*
miR390	TAS	**1001**	MRT4577_687438C.1	*Z. mays*
miR390	TAS	**1002**	MRT4577_72903C.4	*Z. mays*
miR393	F-box	**1003**	PHE0000546	*Z. mays*
miR393	F-box	**1004**	PHE0000912	*Z. mays*
miR393	Resposta do inibidor de	**1005**	MRT4577_39097C.9	*Z. mays*

	transporte			
miR393	Resposta do inibidor de transporte	**1006**	MRT4577_546333C.2	*Z. mays*
miR393	Resposta do inibidor de transporte	**1007**	MRT4577_560980C.2	*Z. mays*
miR393	Resposta do inibidor de transporte	**1008**	MRT4577_656737C.1	*Z. mays*
miR393	Resposta do inibidor de transporte	**1009**	MRT4577_688815C.1	*Z. mays*
miR394	Domínio F-box	**1010**	MRT4577_56429C.8	*Z. mays*
miR394	Domínio F-box	**1011**	MRT4577_613832C.1	*Z. mays*
miR395	AST	**1012**	MRT4577_293072C.7	*Z. mays*
miR395	AST	**1013**	MRT4577_57393C.8	*Z. mays*
miR395	AST	**1014**	MRT4577_594643C.1	*Z. mays*
miR395	AST	**1015**	MRT4577_655078C.1	*Z. mays*
miR395	AST	**1016**	MRT4577_681126C.1	*Z. mays*
miR395	ATP sulfurilase	**1017**	MRT4577_118322C.5	*Z. mays*
miR395	ATP sulfurilase	**1018**	MRT4577_453989C.4	*Z. mays*
miR395	sulfato adenililtransferase	**1019**	MRT4577_386324C.4	*Z. mays*
miR395	sulfato adenililtransferase	**1020**	MRT4577_57434C.9	*Z. mays*
miR395	sulfato adenililtransferase	**1021**	MRT4577_694623C.1	*Z. mays*
miR395	sulfato adenililtransferase	**1022**	MRT4577_709359C.1	*Z. mays*
miR395	transportador de sulfato	**1023**	MRT4577_644561C.1	*Z. mays*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**1024**	PHE0000025	*Z. mays*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**1025**	PHE0000289	*Z. mays*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**1026**	PHE0001216	*Z. mays*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**1027**	MRT4577_215581C.4	*Z. mays*
miR396	Fator de regulação do cres-	**1028**	MRT4577_215583C.5	*Z. mays*

	cimento			
miR396	Fator de regulação do crescimento	**1029**	MRT4577_232004C.7	*Z. mays*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**1030**	MRT4577_24924C.7	*Z. mays*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**1031**	MRT4577_266456C.6	*Z. mays*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**1032**	MRT4577_278593C.3	*Z. mays*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**1033**	MRT4577_29961C.8	*Z. mays*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**1034**	MRT4577_356670C.6	*Z. mays*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**1035**	MRT4577_359461C.1	*Z. mays*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**1036**	MRT4577_372672C.5	*Z. mays*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**1037**	MRT4577_410501C.4	*Z. mays*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**1038**	MRT4577_432229C.3	*Z. mays*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**1039**	MRT4577_534804C.2	*Z. mays*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**1040**	MRT4577_551090C.1	*Z. mays*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**1041**	MRT4577_563407C.1	*Z. mays*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**1042**	MRT4577_569284C.1	*Z. mays*
miR396	Fator de regulação do crescimento	**1043**	MRT4577_597418C.1	*Z. mays*
miR396	Fator de regulação do cres-	**1044**	MRT4577_618948C.1	*Z. mays*

	cimento			
miR396	Fator de regulação do crescimento	**1045**	MRT4577_635741C.1	*Z. mays*
miR397	Lacase	**1046**	MRT4577_233334C.7	*Z. mays*
miR397	Lacase	**1047**	MRT4577_26704C.2	*Z. mays*
miR397	Lacase	**1048**	MRT4577_293572C.3	*Z. mays*
miR397	Lacase	**1049**	MRT4577_602028C.1	*Z. mays*
miR398	citocromo c oxidase	**1050**	MRT4577_434356C.4	*Z. mays*
miR398	citocromo c oxidase	**1051**	MRT4577_547404C.2	*Z. mays*
miR399	Ciclina	**1052**	PHE0002694	*Z. mays*
miR400	PPR	**1053**	MRT4577_480700C.2	*Z. mays*
miR400	PPR	**1054**	MRT4577_593504C.1	*Z. mays*
miR408	proteína de cobre azul	**1055**	MRT4577_325458C.1	*Z. mays*
miR408	proteína de cobre azul	**1056**	MRT4577_37590C.9	*Z. mays*
miR408	proteína de cobre azul	**1057**	MRT4577_47069C.8	*Z. mays*
miR408	proteína de cobre azul	**1058**	MRT4577_528699C.2	*Z. mays*
miR408	proteína de cobre azul	**1059**	MRT4577_550892C.1	*Z. mays*
miR408	Lacase	**1060**	PHE0003380	*Z. mays*
miR408	Lacase	**1061**	MRT4577_245033C.8	*Z. mays*
miR408	Lacase	**1062**	MRT4577_380413C.6	*Z. mays*
miR408	Lacase	**1063**	MRT4577_388860C.4	*Z. mays*
miR408	Lacase	**1064**	MRT4577_461451C.3	*Z. mays*
miR408	Lacase	**1065**	MRT4577_625157C.1	*Z. mays*
miR408	Lacase	**1066**	MRT4577_629379C.1	*Z. mays*
miR408	plantacianina	**1067**	PHE0000329	*Z. mays*
miR444	MADS	**1068**	PHE0013719	*Z. mays*
miR444	MADS box	**1069**	PHE0002650	*Z. mays*
miR444	MADS box	**1070**	MRT4577_321664C.4	*Z. mays*
miR444	MADS-box	**1071**	MRT4577_204116C.4	*Z. mays*
miR444	MADS-box	**1072**	MRT4577_537511C.2	*Z. mays*
miR444	MADS-box	**1073**	MRT4577_553467C.1	*Z. mays*

miR444	MADS-box	**1074**	MRT4577_613242C.1	*Z. mays*
miR444	MADS-box	**1075**	MRT4577_695496C.1	*Z. mays*
miR472	Ligação ao ATP	**1076**	MRT4577_110498C.5	*Z. mays*
miR472	Ligação ao ATP	**1077**	MRT4577_251486C.3	*Z. mays*
miR472	Proteína de resistência à doença tipo NBS-LRR	**1078**	MRT4577_320221C.4	*Z. mays*
miR475	PPR	**1079**	MRT4577_110120C.3	*Z. mays*
miR475	PPR	**1080**	MRT4577_205728C.3	*Z. mays*
miR475	PPR	**1081**	MRT4577_664698C.1	*Z. mays*
miR477	GRAS	**1082**	MRT4577_278714C.7	*Z. mays*
miR477	GRAS	**1083**	MRT4577_401721C.2	*Z. mays*
miR477	GRAS	**1084**	MRT4577_463199C.2	*Z. mays*
miR477	GRAS	**1085**	MRT4577_526548C.1	*Z. mays*
miR477	GRAS	**1086**	MRT4577_569010C.1	*Z. mays*
miR482	Resistência à doença	**1087**	MRT4577_204880C.4	*Z. mays*
miR482	Resistência à doença	**1088**	MRT4577_285745C.3	*Z. mays*
miR482	Resistência à doença	**1089**	MRT4577_537326C.2	*Z. mays*
miR482	Resistência à doença	**1090**	MRT4577_642390C.1	*Z. mays*
miR482	Resistência à doença	**1091**	MRT4577_647253C.1	*Z. mays*
miR482	Resistência à doença	**1092**	MRT4577_700169C.1	*Z. mays*
miR776	IRE	**1093**	MRT4577_475418C.2	*Z. mays*
miR776	IRE	**1094**	MRT4577_569446C.1	*Z. mays*
miR776	IRE	**1095**	MRT4577_668929C.1	*Z. mays*
miR827	SYG1/Pho81/XPR1	**1096**	MRT4577_565044C.1	*Z. mays*
miR844	proteína quinase	**1097**	MRT4577_34878C.9	*Z. mays*
miR844	proteína quinase	**1098**	MRT4577_469768C.2	*Z. mays*
miR857	LAC	**1099**	MRT4577_447458C.4	*Z. mays*
miR858	MYB	**1100**	MRT4577_230084C.4	*Z. mays*
miR858	MYB	**1101**	MRT4577_28298C.7	*Z. mays*
miR858	MYB	**1102**	MRT4577_365133C.3	*Z. mays*
miR858	MYB	**1103**	MRT4577_691552C.1	*Z. mays*

miR858	tipo myb	**1104**	MRT4577_237723C.3	*Z. mays*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**1105**	MRT4577_204899C.4	*Z. mays*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**1106**	MRT4577_229676C.2	*Z. mays*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**1107**	MRT4577_303539C.6	*Z. mays*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**1108**	MRT4577_330816C.1	*Z. mays*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**1109**	MRT4577_340919C.6	*Z. mays*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**1110**	MRT4577_549954C.1	*Z. mays*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**1111**	MRT4577_585620C.1	*Z. mays*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**1112**	MRT4577_665482C.1	*Z. mays*
miR858	ligação ao DNA tipo myb	**1113**	MRT4577_704749C.1	*Z. mays*
miR904	AGO	**1114**	MRT4577_374929C.6	*Z. mays*

Exemplo 4

Este exemplo fornece modalidades adicionais dos genes-alvo identificados como "alvos de miRNA validados" (isto é, contendo um sítio de reconhecimento miRNA validado) e usos representativos dos sítios de reconhecimento de miRNA validados, por exemplo, para o design de sequências artificiais úteis para fazer constructos de DNA recombinantes incluindo, mas sem se limitar, aos transgenes com um sítio de reconhecimento de miRNA exógeno adicionado, transgenes com um site de reconhecimento de miRNA natural modificado ou excluído, atratores, bloqueadores de clivagem ou de inibidores de tradução como ensinado e reivindicado pelos Requerentes. Constructos de DNA recombinante desta invenção são úteis para a modulação da expressão de tais genes-alvo e para fazer células de plantas transgênicas não-naturais, tecidos vegetais e plantas (especialmente plantas de safras transgênicas não-naturais) tendo rendimento melhorado ou outras características desejáveis.

Tabela 3 fornece uma lista de miRNAs e alvos de miRNA contendo sítios de reconhecimento de miRNA que foram identificados em diversas plantas, utilizando técnicas semelhantes às descritas no Exemplo 2. Os alvos de miRNA foram identificados pelo nome do gene, o domínio da proteína, função, localização ou simplesmente como um gene com um sítio

de reconhecimento miRNA; essa informação é suficiente para projetar sequências artificiais, incluindo transgenes não-responsivos ao miRNA, bloqueadores de clivagem, bloqueadores de clivagem 5'-modificados, inibidores de tradução e atratores de miRNA. Tabela 3 ainda fornece uma lista de precursores de miRNA (projetados para serem processados em um miRNA maduro natural), bem como sequências artificiais, incluindo precursores de miRNA projetados para serem processados em um miRNA maduro sintético, atratores de miRNA, transgenes de miRNA não-responsivos e bloqueadores de clivagem miRNA, que são todos especialmente úteis para fazer constructos de DNA recombinante desta invenção. Uma pessoa versada na técnica, informada pelos ensinamentos do presente pedido e provida com a sequência de nucleotídeos de um miRNA ou sítio de reconhecimento de miRNA em um gene-alvo, seria facilmente capaz de criar tais sequências artificiais. Tal pessoa normalmente versada poderia ainda reconhecer que o conhecimento do gene-alvo em si não é necessário, apenas a sequência da sequência de miRNA maduro ou de um precursor de miRNA que é processado para o miRNA maduro - ou, alternativamente, o conhecimento da sequência do sítio de reconhecimento de miRNA - em combinação com os ensinamentos deste pedido, a fim de projetar um bloqueador de clivagem (ou bloqueador de clivagem 5'-modificado) para inibir os efeitos silenciadores do gene-alvo de um dado miRNA. A **Tabela 3** também apresenta exemplos de constructos de DNA recombinante que, quando transgenicamente expressos em uma planta de safra (de preferência, mas sem se limitar ao milho (**maize**) ou o milho (**corn**), soja, canola, algodão, alfafa, beterraba, cana-de-açúcar, sorgo e arroz), os resultados na produtividade melhorada por aquela planta de safra, quando comparado com a plantas de colheita em que o constructo não é expresso. Técnicas para fazer plantas transgênicas são descritas sob o título "Fazendo e Usando Células de Planta Transgênica e Plantas Transgênicas". "Rendimento melhorado" pode ser rendimento intrínseco melhorado"; em outras modalidades, rendimento melhorado é o rendimento melhorado sob uma condição de crescimento particular, tais como condições de estresse biótico ou abiótico (por exemplo, estresse por calor ou frio, estresse

por secura ou estresse de nutrientes), quando comparado a uma cultura sem expressão do constructo de DNA recombinante da presente invenção.

Com a informação acima a respeito dos alvos de miRNA, um pessoa normalmente versada na técnica é capaz de fazer e usar várias modalidades adicionais de aspectos desta invenção, incluindo um constructo de DNA recombinante em uma célula vegetal, incluindo um promotor que é funcional em uma célula vegetal e operativamente ligado a pelo menos um polinucleotídeo selecionada a partir de: (a) DNA que codifica um bloqueador de clivagem para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (b) DNA que codifica um bloqueador de clivagem 5'-modificado para evitar ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**, (c) DNA que codifica um inibidor de tradução para prevenir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (d) DNA que codifica um atrator para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo de miRNA identificados nas **Tabelas 2 ou 3**; (e) DNA que codifica um transgene não-responsivo ao miRNA com uma sequência de nucleotídeos derivada da sequência de nucleotídeos natural de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**, em que um sítio de reconhecimento de miRNA na sequência de nucleotídeos natural é eliminado ou, de outro modo, modificado para evitar a clivagem mediada por miRNA; (f) DNA que codifica o precursor de miRNA é processado em um miRNA para a supressão da expressão de pelo menos um alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (g) DNA que codifica RNA de fita dupla que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**, e (h) DNA que codifica um ta-siRNA que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**. São especificamente reivindicadas as modalidades em que o constructo de DNA recombinante é estavelmente integrado em um plastídio ou um cromossomo da célula vegetal. Também são especifi-

camente reivindicados os métodos para melhorar o rendimento em uma planta, em que o constructo de DNA recombinante é transgenicamente expresso em uma planta de safra (de preferência, mas sem se limitar, ao milho, soja, canola, algodão, alfafa, beterraba, cana-de-açúcar, sorgo e arroz), resultando em rendimento melhorado por aquela planta de safra, em comparação com a planta de safra em que o constructo não é expresso.

Modalidades no escopo da presente invenção incluem um constructo de DNA recombinante transcrevível em uma célula vegetal, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal e operativamente ligado a pelo menos um polinucleotídeo selecionado a partir de: (a) DNA que codifica um bloqueador de clivagem para evitar ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo de miRNA, (b) DNA que codifica um bloqueador de clivagem 5'-modificado para evitar ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo de miRNA; (c) DNA que codifica um inibidor de tradução para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo do miRNA, (d) DNA que codifica um atrator para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um miRNA alvo; (e) DNA que codifica um transgene não-responsivo ao miRNA com uma sequência de nucleotídeos derivada da sequência de nucleotídeos natural de pelo menos um alvo de miRNA, onde um sítio de reconhecimento de miRNA na sequência de nucleotídeos nativa é eliminado ou, de outro modo, modificado para evitar a clivagem mediada por miRNA; (f) DNA que codifica um precursor de miRNA que é processado em um miRNA para suprimir a expressão de pelo menos um alvo de miRNA, (g) DNA que codifica um RNA de fita dupla que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de pelo menos um alvo do miRNA; e (h) DNA que codifica um ta siRNA, que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de pelo menos um alvo de miRNA – em que pelo menos um alvo de miRNA é pelo menos um selecionado do grupo que consiste em um alvo miR156, um alvo miR160, um alvo miR164, um alvo miR166, um alvo miR167, um alvo miR169, um alvo miR171, um alvo miR172, um alvo miR319, um alvo miR395, um alvo

miR396, um alvo miR398, um alvo miR399, um alvo miR408, um alvo miR444, um alvo miR528, um alvo miR167g, um alvo miR169g, COP1 (fotomorfogênese1 constitutiva), GA2ox (ácido giberélico 2 oxidase), GA20ox (ácido giberélico 20 oxidase), HB2 (homeobox 2), HB2-4 (homeobox 2 e homeobox 4) , HB4 (homeobox 4), LG1 (liguleless1), SPX (domínio SYG1, PHO81 e XPR1; entrada PFAM PF03105 em www.sanger.ac.uk), VIM1a (variante na metilação 1a), DHS1 (desoxiipusina sintase) DHS2 (desoxiipusina sintase), DHS3 (desoxiipusina sintase), DHS4 (desoxiipusina sintase), DHS5 (desoxiipusina sintase), DHS6 (desoxiipusina sintase), DHS7 (desoxiipusina sintase), DHS8 (desoxiipusina sintase), CRF (dedo RING de milho; RNF169), G1543a (ortólogo de milho de *Arabidopsis thaliana* homeobox 17), G1543b (ortólogo de milho de *Arabidopsis thaliana* homeobox 17), GS3 (tamanho de grão 3) e GW2 (peso do grão 2). Modalidades particulares que são especificamente reivindicadas por esta invenção incluem um constructo de DNA recombinante transcrevível em uma célula vegetal, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal e operativamente ligado a pelo menos um polinucleotídeo selecionado do grupo consistindo em DNA que codifica uma sequência de nucleotídeos selecionada das **SEQ ID N^{os}: 1120, 1121, 1122, 1248, 1257, 1313, 1314, 1364, 1387, 1478, 1489, 1490, 1491, 1492, 1493, 1585, 1597, 1598, 1599, 1713, 1752, 1753, 1801 , 1802, 1820, 1927, 1929, 1931, 1971, 2006, 2007, 2008, 2010, 2012, 2014, 2016, 2018, 2022, 2023, 2025, 2027, 2029, 2031, 2033, 2035, 2037, 2039, 2041 , 2043, 2045, 2047, 2049, 2051, 2053, 2055, 2056, 2057, 2059, 2060, 2061 e 2063;** são também especificamente reivindicadas as modalidades em que o constructo de DNA recombinante é estavelmente integrado em um plastídio ou um cromossomo da célula vegetal.

Outras modalidades são métodos para melhorar o rendimento em uma planta, em que um constructo de DNA recombinante transcrevível em uma célula vegetal, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal e operativamente ligado a pelo menos um polinucleotídeo selecionado a partir de: (a) DNA que codifica um bloqueador de clivagem para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo me-

nos um alvo do miRNA; (b) um DNA que codifica um bloqueador de clivagem 5'-modificado para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo de miRNA; (c) um DNA que codifica um inibidor de tradução para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um miRNA alvo, (d) DNA que codifica um atrator para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo de miRNA, (e) DNA que codifica um transgene não-responsivo ao miRNA com uma sequência de nucleotídeos derivada da sequência de nucleotídeos natural de pelo menos um alvo de miRNA, onde um sítio de reconhecimento de miRNA na sequência de nucleotídeos natural é suprimido ou modificado para evitar a clivagem mediada por miRNA; (f) DNA que codifica um precursor de miRNA que é processado em um miRNA para supressão da expressão de pelo menos um alvo do miRNA; (g) DNA que codifica um RNA fita dupla que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de pelo menos um alvo de miRNA; e (h) DNA que codifica um ta-siRNA que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de pelo menos um alvo de miRNA – em que pelo menos um alvo de miRNA é pelo menos um selecionado do grupo que consiste em um alvo miR156, um alvo miR160, um alvo miR164, um alvo miR166, um alvo miR167, um alvo miR169, um alvo miR171, um alvo miR172, um alvo miR319, um alvo miR395 alvo, um alvo miR396, um alvo miR398, um alvo miR399, um alvo miR408, um alvo miR444, um alvo miR528, um alvo miR167g, um alvo miR169g, COP1 (fotomorfogênese1 constitutivo), GA2ox (ácido giberélico 2 oxidase), HB2 GA20ox (ácido giberélico 20 oxidase), (homeobox 2), HB2-4 homeobox (homeobox 2 e homeobox 4), HB4 (homeobox 4), LG1 (liguleless1), SPX (domínio SYG1, PHO81 e XPR1; entrada PF03105 PFAM em www.sanger.ac.uk), VIM1a (variante na metilação 1a), DHS1 (desoxiipusina sintase), DHS2 (desoxiipusina sintase), DHS3 (desoxiipusina sintase), DHS4 (desoxiipusina sintase), DHS5 (desoxiipusina sintase), DHS6 (desoxiipusina sintase), DHS7 (desoxiipusina sintase), DHS8 (desoxiipusina sintase), CRF (dedo RING de milho; RNF169), G1543a (ortólogo de milho de homeobox 17 de *Arabidopsis thaliana*), G1543b (ortólogo

de milho de homeobox 17 de *Arabidopsis thaliana*), GS3 (tamanho de grão 3), e GW2 (peso de grãos 2) – é transgenicamente expresso em uma planta de safra (preferivelmente, mas sem se limitar, a milho, soja, canola, algodão, alfafa, beterraba, cana-de-açúcar, sorgo e arroz), resultando em maior produtividade por essa planta de colheita, quando comparado com a planta de cultivo em que o constructo não é expresso. Especificamente reivindicados são os métodos para melhorar o rendimento em uma planta, em que um constructo de DNA recombinante transcrevível em uma célula vegetal, incluindo um promotor que é funcional na célula e operativamente ligado a pelo menos um polinucleotídeo selecionado do grupo que consiste em DNA que codifica uma sequência de nucleotídeos selecionada das **SEQ ID Nos: 1120, 1121, 1122, 1248, 1257, 1313, 1314, 1364, 1387, 1478, 1489, 1490, 1491, 1492, 1493, 1585, 1597, 1598, 1599, 1713, 1752, 1753 , 1801, 1802, 1820, 1927, 1929, 1931, 1971, 2006, 2007, 2008, 2010, 2012, 2014, 2016, 2018, 2022, 2023, 2025, 2027, 2029, 2031, 2033, 2035, 2037, 2039 , 2041, 2043, 2045, 2047, 2049, 2051, 2053, 2055, 2056, 2057, 2059, 2060, 2061 e 2063;** é transgenicamente expresso em uma planta de colheita (de preferência, mas sem se limitar, ao milho, soja, canola, algodão, alfafa, beterraba, cana-de-açúcar, sorgo e arroz), resultando em maior rendimento por aquela planta de safra, em comparação com a planta de cultivo em que o constructo não é expresso.

Outros aspectos desta invenção incluem uma célula vegetal transgênica não-natural, incluindo um constructo de DNA recombinante estavelmente integrado transcrevível na célula vegetal transgênica não-natural, onde o constructo de DNA recombinante inclui um promotor funcional na célula vegetal transgênica não-natural e operativamente ligado a pelo menos um polinucleotídeo selecionado a partir de DNA que codifica pelo menos um alvo do miRNA identificados nas **Tabelas 2 ou 3**; o constructo de DNA recombinante pode ser estavelmente integrado em um plastídio, um cromossomo ou o genoma da célula vegetal. Modalidades incluem uma célula vegetal transgênica não-natural, incluindo um constructo de DNA recombinante estavelmente integrado transcrevível na célula vegetal transgênica não-natural, em que o constructo de DNA recombinante inclui um promotor

funcional na célula vegetal transgênica não-natural e operativamente ligado a pelo menos um polinucleotídeo incluindo uma sequência de DNA selecionada dentre as SEQ ID N^{os}: 15-2064.

Tabela 3

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
miRNA	miR156	**1115**			*Zea mays*	
miRNA	miR156	**1116**			*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**1117**			*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**1118**			*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso	**1119**			*Zea mays*	
Atrator (sequência artificial)	atrator de miR156	**1120**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Atrator (sequência artificial)	atrator de miR156	**1121**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
não-responsivo ao miRNA	Proteína de Ligação ao Promotor Escamoso (não-responsivo ao miR156)	**1122**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1123**	MRT4577_564644C.1	478 - 497	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1124**	MRT4577_23629C.7	1001 - 1020	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1125**	MRT457 7_18836 0C.6	1571 - 1590	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1126**	MRT457 7_20509 8C.7	1658 - 1677	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1127**	MRT457 7_56505 7C.1	980 - 999	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1128**	MRT457 7_13798 4C.6	2097 - 2116	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1129**	MRT457 7_53282 4C.3	1136 - 1155	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1130**	MRT457 7_12247 8C.6	767 - 786	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1131**	MRT457 7_31704 C.9	1125 - 1144	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1132**	MRT457 7_26483 C.7	1503 - 1522	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1133**	MRT457 7_29553 8C.7	1433 - 1452	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1134**	MRT4577_644419C.1	962 - 981	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1135**	MRT4577_619443C.1	914 - 933	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1136**	MRT4577_341149C.6	1807 - 1826	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1137**	MRT4577_78773C.8	1202 - 1221	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1138**	MRT4577_42534C.9	1935 - 1954	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1139**	MRT4577_270892C.4	978 - 997	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1140**	MRT4577_571545C.1	623 - 642	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1141**	MRT4577_181019C.5	788 - 807	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1142**	MRT4577_537670C.2	575 - 594	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1143**	MRT4577_535297C.2	1840 - 1859	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1144**	MRT4577_334372C.5	477 - 496	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1145**	MRT4577_568647C.1	1004 - 1023	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1146**	MRT4577_383301C.4	896 - 915	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1147**	MRT4577_427964C.4	991 - 1010	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1148**	MRT4577_240798C.6	769 - 788	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1149**	MRT4577_38044C.8	951 - 970	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1150**	MRT4577_461098C.3	469 - 488	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1151**	MRT4577_333683C.4	643 - 662	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1152**	MRT4577_396357C.4	647 - 666	*Zea mays*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1153**	MRT3635_15393C.1	98 - 117	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1154**	MRT3635_15791C.2	990 - 1009	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR156	alvo miR156	**1155**	MRT3635_23851C.2	233 - 252	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1156**	MRT3635_28051C.1	213 - 232	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1157**	MRT3635_30369C.2	1511 - 1530	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1158**	MRT3635_30868C.2	652 - 671	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1159**	MRT3635_36657C.2	555 - 574	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1160**	MRT3635_48230C.2	857 - 876	*Gossypium hirsutum*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1161**	MRT3635_54380C.2	21 - 40	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1162**	MRT3635_59825C.1	50 - 69	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1163**	MRT3635_65765C.1	709 - 728	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR156	alvo miR156	**1164**	MRT3635_69088C.1	1238 - 1257	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1165**	MRT3635_69159C.1	892 - 911	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR156	alvo miR156	**1166**	MRT3635_71102C.1	294 - 313	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1167**	MRT3635_72531C.1	612 - 631	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1168**	MRT3702_110108C.4	1253 - 1272	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1169**	MRT3702_113039C.2	757 - 776	*Arabidopsis thaliana*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1170**	MRT3702_115945C.3	2609 - 2628	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1171**	MRT3702_11947C.6	680 - 699	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1172**	MRT3702_120785C.3	1157 - 1176	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1173**	MRT3702_141151C.3	1073 - 1092	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1174**	MRT3702_141152C.2	1172 - 1191	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR156	alvo miR156	**1175**	MRT3702_147696C.3	1186 - 1205	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1176**	MRT3702_147811C.3	1446 - 1465	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1177**	MRT3702_148347C.1	1118 - 1137	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1178**	MRT3702_148348C.3	1121 - 1140	*Arabidopsis thaliana*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1179**	MRT3702_15197C.5	785 - 804	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1180**	MRT3702_177137C.1	2477 - 2496	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1181**	MRT3702_179579C.1	1149 - 1168	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1182**	MRT3702_23035C.6	1358 - 1377	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1183**	MRT3702_23765C.7	1036 - 1055	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1184**	MRT3702_4036C.6	804 - 823	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1185**	MRT3702_5396C.6	1297 - 1316	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1186**	MRT3702_9141C.7	829 - 848	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1187**	MRT3702_94277C.3	781 - 800	*Arabidopsis thaliana*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1188**	MRT3702_9951C.4	781 - 800	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR156	alvo miR156	**1189**	MRT3708_10628C.4	459 - 478	*Brassica napus*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1190**	MRT3708_22559C.1	330 - 349	*Brassica napus*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1191**	MRT3708_53675C.1	290 - 309	*Brassica napus*	
alvo miR156	alvo miR156	**1192**	MRT3708_58630C.1	407 - 426	*Brassica napus*	
alvo miR156	alvo miR156	**1193**	MRT3847_14683C.5	1677 - 1696	*Glycine max*	
alvo miR156	alvo miR156	**1194**	MRT3847_167543C.1	486 - 505	*Glycine max*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1195**	MRT3847_197471C.3	295 - 314	*Glycine max*	
alvo miR156	alvo miR156	**1196**	MRT3847_206274C.4	117 - 136	*Glycine max*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1197**	MRT3847_207934C.2	547 - 566	*Glycine max*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR156	alvo miR156	**1198**	MRT3847_213855C.7	701 - 720	*Glycine max*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1199**	MRT3847_217782C.3	851 - 870	*Glycine max*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1200**	MRT3847_218322C.4	109 - 128	*Glycine max*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1201**	MRT3847_235081C.4	1980 - 1999	*Glycine max*	
alvo miR156	alvo miR156	**1202**	MRT3847_235082C.6	915 - 934	*Glycine max*	
alvo miR156	alvo miR156	**1203**	MRT3847_237444C.4	582 - 601	*Glycine max*	
alvo miR156	alvo miR156	**1204**	MRT3847_252038C.4	515 - 534	*Glycine max*	
alvo miR156	alvo miR156	**1205**	MRT3847_268305C.4	396 - 415	*Glycine max*	
alvo miR156	alvo miR156	**1206**	MRT3847_289291C.3	961 - 980	*Glycine max*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1207**	MRT3847_329752C.1	933 - 952	*Glycine max*	
alvo miR156	alvo miR156	**1208**	MRT3847_33413	1239 - 1258	*Glycine max*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
			4C.1			
alvo miR156	alvo miR156	**1209**	MRT3847_335568C.1	1747 - 1766	*Glycine max*	
alvo miR156	alvo miR156	**1210**	MRT3847_338602C.1	1070 - 1089	*Glycine max*	
alvo miR156	alvo miR156	**1211**	MRT3847_341315C.1	47 - 66	*Glycine max*	
alvo miR156	alvo miR156	**1212**	MRT3847_341402C.1	978 - 997	*Glycine max*	
alvo miR156	alvo miR156	**1213**	MRT3847_350831C.1	1280 - 1299	*Glycine max*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1214**	MRT3880_19943C.1	633 - 652	*Medicago truncatula*	
alvo miR156	alvo miR156	**1215**	MRT3880_49046C.1	98 - 117	*Medicago truncatula*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1216**	MRT3880_54023C.1	527 - 546	*Medicago truncatula*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1217**	MRT3880_59834C.1	726 - 745	*Medicago truncatula*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1218**	MRT3880_62151C.1	1070 - 1089	*Medicago truncatula*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1219**	MRT4513_19757C.1	529 - 548	*Hordeum vulgare*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1220**	MRT4513_41849C.1	439 - 458	*Hordeum vulgare*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1221**	MRT4513_4449C.1	221 - 240	*Hordeum vulgare*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1222**	MRT4513_52153C.1	523 - 542	*Hordeum vulgare*	
alvo miR156	alvo miR156	**1223**	MRT4530_11398C.3	696 - 715	*Oryza sativa*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1224**	MRT4530_118092C.3	821 - 840	*Oryza sativa*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1225**	MRT4530_135991C.4	710 - 729	*Oryza sativa*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1226**	MRT4530_142142C.4	1074 - 1093	*Oryza sativa*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1227**	MRT4530_195506C.2	981 - 1000	*Oryza sativa*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1228**	MRT4530_199837C.4	2401 - 2420	*Oryza sativa*	
alvo miR156	alvo miR156	**1229**	MRT4530_219862C.2	146 - 165	*Oryza sativa*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1230**	MRT4530_220364C.2	1764 - 1783	*Oryza sativa*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1231**	MRT4530_230201C.3	265 - 284	*Oryza sativa*	
alvo miR156	alvo miR156	**1232**	MRT4530_230404C.3	2222 - 2241	*Oryza sativa*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1233**	MRT4530_236277C.1	728 - 747	*Oryza sativa*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1234**	MRT4530_257640C.1	956 - 975	*Oryza sativa*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1235**	MRT4530_446055C.5	1148 - 1167	*Oryza sativa*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1236**	MRT4530_532175C.5	858 - 877	*Oryza sativa*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1237**	MRT4530_6964C.4	2113 - 2132	*Oryza sativa*	
alvo miR156	alvo miR156	**1238**	MRT4530_95203C.4	994 - 1013	*Oryza sativa*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1239**	MRT4558_12680C.1	78 - 97	*Sorghum bicolor*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1240**	MRT4558_27285C.1	130 - 149	*Sorghum bicolor*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1241**	MRT4558_6587C.1	516 - 535	*Sorghum bicolor*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1242**	MRT4558_8644C.2	866 - 885	*Sorghum bicolor*	
alvo miR156	alvo miR156	**1243**	MRT4565_169464C.2	296 - 315	*Triticum aestivum*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1244**	MRT4565_212647C.1	523 - 542	*Triticum aestivum*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1245**	MRT4565_239085C.1	1565 - 1584	*Triticum aestivum*	
alvo miR156	Proteína do domí-	**1246**	MRT456	339 - 358	*Triticum*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
	nio de ligação ao promotor escamoso		5_259386C.1		*aestivum*	
alvo miR156	Proteína do domínio de ligação ao promotor escamoso	**1247**	MRT4565_272025C.1	954 - 973	*Triticum aestivum*	
Atrator (sequência artificial)	atrator de miR160	**1248**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
alvo miR160	Proteína tipo fator de resposta da auxina 10	**1249**	MRT4577_429671C.3	1429 - 1449	*Zea mays*	
alvo miR160	Proteína tipo fator de resposta da auxina 10	**1250**	MRT4577_400043C.4	1894 - 1914	*Zea mays*	
alvo miR160	Proteína tipo fator de resposta da auxina 10	**1251**	MRT4577_385317C.3	863 - 883	*Zea mays*	
alvo miR160	Proteína tipo fator de resposta da auxina 10	**1252**	MRT4577_41620C.6	756 - 776	*Zea mays*	
alvo miR160	Proteína tipo fator de resposta da auxina 10	**1253**	MRT4577_258637C.2	1353 - 1373	*Zea mays*	
alvo miR160	Proteína tipo fator de resposta da auxina 10	**1254**	MRT4577_448022C.1	421 - 442	*Zea mays*	
miRNA	miR164	**1255**			*Zea mays*	
alvo miR164	NAC1; sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio e cotilédone em forma de copo (NAC)	**1256**			*Zea mays*	
não-responsi	NAC1	**1257**			Sequência	Rendimento

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
vo ao miRNA	(não-responsivo ao miR164)				artificial	melhorado*
alvo miR164	alvo miR164	**1258**	MRT3635_6393C.2	135 - 155	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR164	alvo miR164	**1259**	MRT3635_64345C.1	925 - 945	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1260**	MRT3702_105151C.5	843 - 863	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR164	CUC1; Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1261**	MRT3702_11937C.6	651 - 671	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR164	NAC1; sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio e cotilédone em forma de copo (NAC)	**1262**	MRT3702_180541C.1	762 - 782	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR164	NAC1; sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio e cotilédone em forma de copo (NAC)	**1263**	MRT3702_180670C.1	785 - 805	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo	**1264**	MRT3702_20256C.5	651 - 671	*Arabidopsis thaliana*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
	(NAC)					
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1265**	MRT3702_22669C.4	765 - 785	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR164	CUC2; Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1266**	MRT3702_24103C.6	856 - 876	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1267**	MRT3702_24851C.6	809 - 829	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1268**	MRT3708_39966C.1	192 - 212	*Brassica napus*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1269**	MRT3708_51022C.1	803 - 823	*Brassica napus*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1270**	MRT3712_8777C.1	316 - 336	*Brassica oleracea*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1271**	MRT3847_244824C.2	290 - 310	*Glycine max*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1272**	MRT3847_259513C.2	719 - 739	*Glycine max*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1273**	MRT3847_270117C.3	784 - 804	*Glycine max*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1274**	MRT3847_46332C.2	714 - 734	*Glycine max*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1275**	MRT3847_46333C.6	731 - 751	*Glycine max*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1276**	MRT3847_48464C.4	1140 - 1160	*Glycine max*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1277**	MRT3847_48465C.6	777 - 797	*Glycine max*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1278**	MRT3880_18003C.2	705 - 725	*Medicago truncatula*	
alvo miR164	alvo miR164	**1279**	MRT3880_33685C.1	278 - 298	*Medicago truncatula*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1280**	MRT3880_44619C.1	781 - 801	*Medicago truncatula*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1281**	MRT4513_26199C.1	809 - 829	*Hordeum vulgare*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1282**	MRT4513_37185C.1	17 - 37	*Hordeum vulgare*	
alvo miR164	Proteína induzida por ácido salicílico 19	**1283**	MRT4513_4722C.1	251 - 271	*Hordeum vulgare*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1284**	MRT4513_7890C.1	687 - 707	*Hordeum vulgare*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1285**	MRT4530_141528C.5	890 - 910	*Oryza sativa*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1286**	MRT4530_147737C.4	912 - 932	*Oryza sativa*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1287**	MRT4530_157393C.3	923 - 943	*Oryza sativa*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domí-	**1288**	MRT4530_178256C.3	954 - 974	*Oryza sativa*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
	nio de cotilédone em forma de copo (NAC)					
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1289**	MRT4530_211705C.4	1929 - 1949	*Oryza sativa*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1290**	MRT4530_221769C.1	159 - 179	*Oryza sativa*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1291**	MRT4530_224181C.2	790 - 810	*Oryza sativa*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1292**	MRT4558_11465C.1	13 - 33	*Sorghum bicolor*	
alvo miR164	Proteína induzida por ácido salicílico 19, regulação da transcrição, ligação ao DNA	**1293**	MRT4558_31046C.1	256 - 276	*Sorghum bicolor*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1294**	MRT4558_41467C.1	1230 - 1250	*Sorghum bicolor*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1295**	MRT4558_43081C.1	344 - 364	*Sorghum bicolor*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1296**	MRT4558_43436C.1	853 - 873	*Sorghum bicolor*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1297**	MRT4558_4564C.2	691 - 711	*Sorghum bicolor*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1298**	MRT4565_235741C.1	849 - 869	*Triticum aestivum*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1299**	MRT4565_241295C.1	1062 - 1082	*Triticum aestivum*	
alvo miR164	Proteína tipo SIAH1, catabolismo de proteína dependente de ubiquitina, núcleo, ligação ao íon de zinco	**1300**	MRT4565_246008C.1	696 - 716	*Triticum aestivum*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1301**	MRT4565_250946C.1	675 - 695	*Triticum aestivum*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1302**	MRT4565_269060C.1	730 - 750	*Triticum aestivum*	
alvo miR164	Proteína induzida por ácido salicílico 19, regulação da transcrição, ligação ao DNA	**1303**	MRT4565_272391C.1	765 - 785	*Triticum aestivum*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1304**	MRT4565_279043C.1	945 - 965	*Triticum aestivum*	
alvo miR164	Sem meristema apical, ATAF, proteína de domínio de cotilédone em forma de copo (NAC)	**1305**	MRT4577_16045C.7	927 - 947	*Zea mays*	
alvo miR164	alvo miR164	**1306**	MRT4577_205444C.5	524 - 544	*Zea mays*	
alvo miR164	proteína hipotética; papel putativo na especificação limite; nam 2	**1307**	MRT4577_325166C.3	868 - 888	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR164	*proteína hipotética; papel putativo na iniciação SAM e especificação limite; nam 1*	**1308**	MRT4577_78918C.6	893 - 913	*Zea mays*	
alvo miR164	alvo miR164	**1309**	MRT4577_98755C.5	942 - 962	*Zea mays*	
alvo miR164	alvo miR164	**1310**	MRT4577_9951C.8	930 - 950	*Zea mays*	
miRNA	miR166	**1311**			*Zea mays*	
alvo miR166	Revoluta	**1312**			*Zea mays*	
não-responsivo ao miRNA	Revoluta (não-responsivo ao miR166)	**1313**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
não-responsivo ao miRNA	Revoluta (não-responsivo ao miR166)	**1314**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
alvo miR166	alvo miR166	**1315**	MRT3635_23433C.2	197 - 217	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR166	alvo miR166	**1316**	MRT3635_50942C.2	298 - 318	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR166	sem fibra interfascicular 1; IFL1; proteína do domínio HDZIPIII	**1317**	MRT3702_104431C.5	1262 - 1282	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR166	proteína zíper homeodomínio-leucina	**1318**	MRT3702_104605C.6	915 - 935	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR166	proteína zíper homeodomínio-leucina; ATHB-15	**1319**	MRT3702_113325C.3	1268 - 1288	*Arabidopsis thaliana*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR166	proteína zíper homeodomínio-leucina 14; ATHB-14	**1320**	MRT3702_120571C.3	1281 - 1301	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR166	proteína zíper homeodomínio-leucina 8; hb-8	**1321**	MRT3702_18869C.5	934 - 954	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR166	Glicosil transferase	**1322**	MRT3702_24778C.3	2793 - 2813	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR166	CORONA; domínio START; fator de transcrição do domínio HDZIPIII	**1323**	MRT3708_45624C.1	210 - 230	*Brassica napus*	
alvo miR166	Proteína HD-Zip (Proteína zíper homeodomínio-leucina); domínio START	**1324**	MRT3708_5493C.1	79 - 99	*Brassica napus*	
alvo miR166	Proteína zíper homeodomínio-leucina; domínio START	**1325**	MRT3712_4770C.1	229 - 249	*Brassica oleracea*	
alvo miR166	alvo miR166	**1326**	MRT3847_209034C.4	506 - 526	*Glycine max*	
alvo miR166	alvo miR166	**1327**	MRT3847_233286C.5	730 - 750	*Glycine max*	
alvo miR166	alvo miR166	**1328**	MRT3847_248020C.5	298 - 318	*Glycine max*	
alvo miR166	alvo miR166	**1329**	MRT3847_251781C.4	950 - 970	*Glycine max*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR166	alvo miR166	**1330**	MRT3847_288367C.4	1562 - 1582	*Glycine max*	
alvo miR166	Proteína HD-Zip Classe III 4	**1331**	MRT3847_296736C.1	869 - 889	*Glycine max*	
alvo miR166	Proteína HD-Zip Classe III 4	**1332**	MRT3847_326691C.1	910 - 930	*Glycine max*	
alvo miR166	alvo miR166	**1333**	MRT3847_348410C.1	912 - 932	*Glycine max*	
alvo miR166	Proteína HD-Zip Classe III 8	**1334**	MRT3880_12194C.1	788 - 808	*Medicago truncatula*	
alvo miR166	Proteína HD-Zip Classe III 1	**1335**	MRT3880_30145C.1	560 - 580	*Medicago truncatula*	
alvo miR166	Proteína HD-Zip Classe III 6	**1336**	MRT3880_37546C.1	819 - 839	*Medicago truncatula*	
alvo miR166	Proteína HD-Zip Classe III 6	**1337**	MRT3880_39764C.1	536 - 556	*Medicago truncatula*	
alvo miR166	proteína zíper homeodomínio-leucina	**1338**	MRT4530_10527C.4	959 - 979	*Oryza sativa*	
alvo miR166	Proteína zíper homeodomínio-leucina; Domínio START	**1339**	MRT4530_107863C.5	880 - 900	*Oryza sativa*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR166	Proteína zíper homeodomínio-leucina Hox10 ; Domínio START	**1340**	MRT4530_160340C.3	1031 - 1051	*Oryza sativa*	
alvo miR166	Proteína zíper homeodomínio-leucina; Domínio START	**1341**	MRT4530_216192C.2	563 - 583	*Oryza sativa*	
alvo miR166	Proteína zíper homeodomínio-leucina; Domínio START	**1342**	MRT4530_253068C.2	957 - 977	*Oryza sativa*	
alvo miR166	Proteína zíper homeodomínio-leucina; Domínio START	**1343**	MRT4558_275607C.1	750 - 770	*Sorghum bicolor*	
alvo miR166	Proteína zíper homeodomínio-leucina; Domínio START	**1344**	MRT4565_226777C.1	285 - 305	*Triticum aestivum*	
alvo miR166	Proteína zíper homeodomínio-leucina; Domínio START	**1345**	MRT4565_232172C.1	168 - 188	*Triticum aestivum*	
alvo miR166	Proteína zíper homeodomínio-leucina; Domínio START	**1346**	MRT4565_264759C.1	954 - 973	*Triticum aestivum*	
alvo miR166	alvo miR166	**1347**	MRT4577_141500C.4	839 - 859	*Zea mays*	
alvo miR166	alvo miR166	**1348**	MRT4577_200605C.3	788 - 808	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR166	folha enrolada 1; RLD1; zíper homeodomínio-leucina classe III (HD-ZIPIII)	**1349**	MRT457 7_22949 7C.6	1098 - 1118	*Zea mays*	
alvo miR166	Folha enrolada1 ; Homeobox: Domínio homeobox; Domínio START	**1350**	MRT457 7_31238 4C.3	563 - 583	*Zea mays*	
alvo miR166	alvo miR166	**1351**	MRT457 7_32071 8C.6	963 - 983	*Zea mays*	
alvo miR166	alvo miR166	**1352**	MRT457 7_34225 9C.4	1092 - 1112	*Zea mays*	
alvo miR166	alvo miR166	**1353**	MRT457 7_44283 8C.4	1159 - 1179	*Zea mays*	
alvo miR166	alvo miR166	**1354**	MRT457 7_53567 6C.2	560 - 580	*Zea mays*	
alvo miR166	alvo miR166	**1355**	MRT457 7_53592 8C.2	1142 - 1162	*Zea mays*	
alvo miR166	alvo miR166	**1356**	MRT457 7_56677 0C.1	545 - 565	*Zea mays*	
alvo miR166	alvo miR166	**1357**	MRT457 7_56861 6C.1	801 - 821	*Zea mays*	
alvo miR166	alvo miR166	**1358**	MRT457 7_58671 8C.1	572 - 592	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR166	alvo miR166	**1359**	MRT4577_659410C.1	788 - 808	*Zea mays*	
alvo miR166	alvo miR166	**1360**	MRT4577_673351C.1	161 - 181	*Zea mays*	
miRNA	miR167b	**1361**			*Zea mays*	
miRNA	miR167b	**1362**			*Zea mays*	
alvo miR 167	ARF8	**1363**			*Zea mays*	
não-responsivo ao miRNA	ARF8 (não-responsivo ao mir167)	**1364**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
alvo miR 167	fato de resposta à auxina 8; ARF8;	**1365**	MRT3702_22410C.4	4382 - 4402	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR 167	fator de resposta ao domínio auxina; Tipo ARF8	**1366**	MRT3708_50323C.1	89 - 109	*Brassica napus*	
alvo miR 167	alvo miR 167	**1367**	MRT3847_305421C.4	1358 - 1378	*Glycine max*	
alvo miR 167	alvo miR 167	**1368**	MRT3847_340154C.1	1586 - 1606	*Glycine max*	
alvo miR 167	fator de resposta ao domínio auxina; Tipo ARF8	**1369**	MRT3847_41926C.6	1489 - 1509	*Glycine max*	
alvo miR 167	fator de resposta ao domínio auxina; Tipo ARF8	**1370**	MRT3880_12926C.1	365 - 385	*Medicago truncatula*	
alvo miR 167	fator de resposta ao domínio auxina; Tipo ARF8	**1371**	MRT3880_25270C.1	1758 - 1778	*Medicago truncatula*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR 167	alvo miR 167	**1372**	MRT4513_29483C.2	564 - 584	*Hordeum vulgare*	
alvo miR 167	alvo miR 167	**1373**	MRT4530_178528C.2	2219 - 2239	*Oryza sativa*	
alvo miR 167	fator de resposta ao domínio auxina; Tipo ARF8	**1374**	MRT4530_86291C.3	2659 - 2679	*Oryza sativa*	
alvo miR 167	fator de resposta ao domínio auxina; Tipo ARF8	**1375**	MRT4558_37108C.1	147 - 167	*Sorghum bicolor*	
alvo miR 167	alvo miR 167	**1376**	MRT4577_306050C.5	647 - 667	*Zea mays*	
alvo miR 167	alvo miR 167	**1377**	MRT4577_339989C.4	2584 - 2604	*Zea mays*	
alvo miR 167	alvo miR 167	**1378**	MRT4577_377896C.4	244 - 264	*Zea mays*	
alvo miR 167	alvo miR 167	**1379**	MRT4577_521851C.2	1595 - 1615	*Zea mays*	
alvo miR 167	alvo miR 167	**1380**	MRT4577_650810C.1	1618 - 1638	*Zea mays*	
alvo miR 167	alvo miR 167	**1381**	MRT4577_680014C.1	208 - 228	*Zea mays*	
alvo miR 167	alvo miR 167	**1382**	MRT4577_681995C.1	230 - 250	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR 167	alvo miR 167	**1383**	MRT4577_683953C.1	442 - 462	*Zea mays*	
miRNA	miR169	**1384**			*Zea mays*	
miRNA	miR169	**1385**			*Zea mays*	
alvo miR169	Família NFY de TFs	**1386**			*Zea mays*	
não-responsivo ao miRNA	Família NFY de TFs(miR169-unresponsive)	**1387**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1388**	MRT3635_18720C.2	1123 - 1143	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1389**	MRT3635_24490C.1	345 - 365	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1390**	MRT3635_60547C.1	1610 - 1630	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1391**	MRT3635_63203C.1	1353 - 1373	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR169	alvo miR169	**1392**	MRT3635_63602C.1	692 - 712	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1393**	MRT3635_751C.2	1156 - 1176	*Gossypium hirsutum*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR169	alvo miR169	**1394**	MRT3635_7843C.2	302 - 322	*Gossypium hirsutum*	
alvo miR169	HAP2/Fator de transcrição CCAAT; At3g05690	**1395**	MRT3702_11008C.6	1183 - 1203	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR169	HAP2A, CCAAT; proteína da família do fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA) ATHAP2A, EMBRIÃO DEFEITUOSO 2220	**1396**	MRT3702_145277C.3	1122 - 1142	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR169	alvo miR169	**1397**	MRT3702_145278C.1	1870 - 1890	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1398**	MRT3702_1608C.8	1254 - 1274	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1399**	MRT3702_167062C.2	1489 - 1509	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR169	HAP2C, CCAAT; proteína da família do fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA) At1g17590	**1400**	MRT3702_175138C.1	1412 - 1432	*Arabidopsis thaliana*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR169	HAP2A, CCAAT; proteína da família do fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA) ATHAP2A, EMBRIÃO DEFEITUOSO 2220	**1401**	MRT3702_176968C.1	1037 - 1057	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1402**	MRT3702_180826C.1	1610 - 1630	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1403**	MRT3702_20139C.6	1305 - 1325	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1404**	MRT3702_20659C.7	1428 - 1448	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1405**	MRT3702_4133C.5	1308 - 1328	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1406**	MRT3702_5699C.6	1504 - 1524	*Arabidopsis thaliana*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1407**	MRT3708_42756C.1	928 - 948	*Brassica napus*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR169	alvo miR169	**1408**	MRT3708_45516C.2	1074 - 1094	*Brassica napus*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1409**	MRT3708_46224C.1	1017 - 1037	*Brassica napus*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1410**	MRT3708_56325C.1	670 - 690	*Brassica napus*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1411**	MRT3711_4547C.1	157 - 177	*Brassica rapa*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1412**	MRT3712_6671C.1	481 - 501	*Brassica oleracea*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1413**	MRT3847_251095C.3	995 - 1015	*Glycine max*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1414**	MRT3847_25786C.5	1208 - 1228	*Glycine max*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1415**	MRT3847_278998C.2	722 - 742	*Glycine max*	
alvo miR169	alvo miR169	**1416**	MRT3847_305217C.3	1028 - 1048	*Glycine max*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1417**	MRT3847_312701C.1	803 - 823	*Glycine max*	
alvo miR169	alvo miR169	**1418**	MRT3847_335193C.1	1452 - 1472	*Glycine max*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1419**	MRT3847_51286C.6	801 - 821	*Glycine max*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1420**	MRT3847_53466C.6	1490 - 1510	*Glycine max*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1421**	MRT3847_53467C.5	902 - 922	*Glycine max*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1422**	MRT3847_54010C.4	1403 - 1423	*Glycine max*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1423**	MRT3880_16272C.2	1496 - 1516	*Medicago truncatula*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1424**	MRT3880_21811C.2	1054 - 1074	*Medicago truncatula*	
alvo miR169	alvo miR169	**1425**	MRT3880_36579C.1	90 - 110	*Medicago truncatula*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR169	alvo miR169	**1426**	MRT3880_48656C.1	73 - 94	*Medicago truncatula*	
alvo miR169	alvo miR169	**1427**	MRT3880_55431C.1	145 - 166	*Medicago truncatula*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1428**	MRT3880_59679C.1	1268 - 1288	*Medicago truncatula*	
alvo miR169	alvo miR169	**1429**	MRT3880_9392C.1	182 - 202	*Medicago truncatula*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1430**	MRT4513_27452C.1	721 - 741	*Hordeum vulgare*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1431**	MRT4513_38912C.1	1037 - 1057	*Hordeum vulgare*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1432**	MRT4513_51394C.1	631 - 651	*Hordeum vulgare*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1433**	MRT4530_156068C.3	1715 - 1735	*Oryza sativa*	
alvo miR169	alvo miR169	**1434**	MRT4530_16169C.4	1389 - 1409	*Oryza sativa*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1435**	MRT4530_196466C.4	2027 - 2047	*Oryza sativa*	
alvo miR169	alvo miR169	**1436**	MRT4530_223395C.1	653 - 673	*Oryza sativa*	
alvo miR169	Proteína RAPB; rapB	**1437**	MRT4530_225972C.3	867 - 887	*Oryza sativa*	
alvo miR169	alvo miR169	**1438**	MRT4530_238300C.1	220 - 240	*Oryza sativa*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1439**	MRT4530_267924C.1	1002 - 1022	*Oryza sativa*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1440**	MRT4530_268072C.1	756 - 776	*Oryza sativa*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1441**	MRT4530_52650C.3	1391 - 1411	*Oryza sativa*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1442**	MRT4530_67920C.7	1637 - 1657	*Oryza sativa*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1443**	MRT4530_98042C.6	1170 - 1190	*Oryza sativa*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1444**	MRT4558_11671C.2	530 - 550	*Sorghum bicolor*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1445**	MRT4558_13240C.2	880 - 900	*Sorghum bicolor*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1446**	MRT4558_19368C.2	726 - 746	*Sorghum bicolor*	
alvo miR169	Fator de transcrição	**1447**	MRT4558_8287C.2	346 - 366	*Sorghum bicolor*	
alvo miR169	alvo miR169	**1448**	MRT4565_219265C.1	936 - 956	*Triticum aestivum*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1449**	MRT4565_224073C.1	1081 - 1101	*Triticum aestivum*	
alvo miR169	alvo miR169	**1450**	MRT4565_232474C.1	1040 - 1060	*Triticum aestivum*	
alvo miR169	alvo miR169	**1451**	MRT4565_236768C.1	1284 - 1304	*Triticum aestivum*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1452**	MRT4565_240119C.1	934 - 954	*Triticum aestivum*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1453**	MRT4565_250357C.1	1230 - 1250	*Triticum aestivum*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1454**	MRT4565_270644C.1	1050 - 1070	*Triticum aestivum*	
alvo miR169	alvo miR169	**1455**	MRT4565_271488C.1	1032 - 1052	*Triticum aestivum*	
alvo miR169	HAP2, CCAAT-fator de transcrição de ligação (CBF-B/NF-YA)	**1456**	MRT4565_271817C.1	2171 - 2191	*Triticum aestivum*	
alvo miR169	alvo miR169	**1457**	MRT4565_278167C.1	895 - 915	*Triticum aestivum*	
alvo miR169	alvo miR169	**1458**	MRT4577_136204C.6	573 - 593	*Zea mays*	
alvo miR169	alvo miR169	**1459**	MRT4577_192239C.6	1297 - 1317	*Zea mays*	
alvo miR169	alvo miR169	**1460**	MRT4577_270253C.7	1375 - 1395	*Zea mays*	
alvo miR169	alvo miR169	**1461**	MRT4577_321589C.4	1051 - 1071	*Zea mays*	
alvo miR169	alvo miR169	**1462**	MRT4577_35015C.6	1679 - 1699	*Zea mays*	
alvo miR169	alvo miR169	**1463**	MRT4577_40749C.8	1361 - 1381	*Zea mays*	
alvo miR169	alvo miR169	**1464**	MRT4577_411247C.4	1445 - 1465	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR169	alvo miR169	**1465**	MRT457 7_42839 2C.4	1583 - 1603	*Zea mays*	
alvo miR169	alvo miR169	**1466**	MRT457 7_43424 7C.4	671 - 691	*Zea mays*	
alvo miR169	alvo miR169	**1467**	MRT457 7_53696 1C.2	920 - 940	*Zea mays*	
alvo miR169	alvo miR169	**1468**	MRT457 7_53696 2C.2	1836 - 1856	*Zea mays*	
alvo miR169	alvo miR169	**1469**	MRT457 7_54014 7C.2	1327 - 1347	*Zea mays*	
alvo miR169	alvo miR169	**1470**	MRT457 7_55637 2C.2	1417 - 1437	*Zea mays*	
alvo miR169	alvo miR169	**1471**	MRT457 7_57025 3C.1	340 - 360	*Zea mays*	
alvo miR169	alvo miR169	**1472**	MRT457 7_57025 4C.1	1391 - 1411	*Zea mays*	
alvo miR169	alvo miR169	**1473**	MRT457 7_66866 0C.1	1292 - 1312	*Zea mays*	
alvo miR169	alvo miR169	**1474**	MRT457 7_69394 9C.1	400 - 420	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR169	alvo miR169	**1475**	MRT4577_701125C.1	471 - 491	*Zea mays*	
alvo miR169	alvo miR169	**1476**	MRT4577_72313C.1	262 - 282	*Zea mays*	
miRNA	miR171b	**1477**			*Zea mays*	
Precursor de miRNA para a superexpressão de miR171 maduro	osa-MIR171b (precursor)	**1478**			*Oryza sativa*	Rendimento melhorado*
Alvo miR171	Proteína Sd1 tipo Scarecrow (3e-37); fator de transcrição da família GRAS	**1479**	MRT4577_520619C.1	106 - 126	*Zea mays*	
Alvo miR171	Proteína Sd1 tipo Scarecrow (3e-37); fator de transcrição da família GRAS	**1480**	MRT4577_139132C.5	1336 - 1356	*Zea mays*	
Alvo miR171	Proteína Sd1 tipo Scarecrow (3e-37); fator de transcrição da família GRAS	**1481**	MRT4577_75777C.7	640 - 660	*Zea mays*	
Alvo miR171	Proteína Sd1 tipo Scarecrow (3e-37); fator de transcrição da família GRAS	**1482**	MRT4577_234039C.5	771 - 791	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR171	Proteína Sd1 tipo Scarecrow (3e-37); fator de transcrição da família GRAS	**1483**	MRT4577_57336C.8	1274 - 1294	*Zea mays*	
Alvo miR171	Proteína Sd1 tipo Scarecrow (3e-37); fator de transcrição da família GRAS	**1484**	MRT4577_140896C.5	507 - 527	*Zea mays*	
Alvo miR171	Proteína Sd1 tipo Scarecrow (3e-37); fator de transcrição da família GRAS	**1485**	MRT4577_30852C.5	800 - 820	*Zea mays*	
miRNA	miR172	**1486**			*Zea mays*	
miRNA	miR172	**1487**			*Zea mays*	
Alvo miR172	Glossy15	**1488**			*Zea mays*	
Atrator	Atrator de miR172	**1489**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Atrator	Atrator de miR172	**1490**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Atrator	Atrator de miR172	**1491**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
miRNA	miRMON18	**1492**			*Zea mays*	
Bloqueador de clivagem	Bloqueador de clivagem mirR172	**1493**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo miR172	Fator de transcrição do domínio AP2 SCHNARCHZAPFEN; SNZ	**1494**	MRT3635_50596C.2	622 - 642	*Gossypium hirsutum*	
Alvo miR172	Fator de transcrição do domínio AP2 SCHNARCHZAPFEN; SNZ	**1495**	MRT3635_64291C.1	246 - 266	*Gossypium hirsutum*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR172	Fator de transcrição do domínio AP2 SCHNARCHZAPFEN; SNZ	**1496**	MRT3635_64989C.1	1102 - 1122	*Gossypium hirsutum*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1497**	MRT3635_65450C.1	241 - 261	*Gossypium hirsutum*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1498**	MRT3635_70864C.1	646 - 666	*Gossypium hirsutum*	
Alvo miR172	Fator de transcrição do domínio AP2 SCHNARCHZAPFEN; SNZ	**1499**	MRT3635_8244C.2	1657 - 1677	*Gossypium hirsutum*	
Alvo miR172	Fator de transcrição do domínio AP2 SCHNARCHZAPFEN; SNZ	**1500**	MRT3702_103726C.5	1044 - 1064	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR172	Proteína contendo o domínio AP2 RAP2.7	**1501**	MRT3702_103748C.5	1560 - 1580	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR172	Fator de transcrição do domínio AP2 SCHLAFMUTZE; SMZ	**1502**	MRT3702_14904C.2	1095 - 1115	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1503**	MRT3702_150241C.1	947 - 967	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1504**	MRT3702_156728C.3	1030 - 1050	*Arabidopsis thaliana*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR172	APETALA2; AP2	**1505**	MRT3702_168284C.1	1271 - 1291	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR172	Fator de transcrição contendo o domínio AP2 RAP2.7	**1506**	MRT3702_175574C.1	1630 - 1650	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR172	Fator de transcrição do domínio AP2 SCHNARCHZAPFEN; SNZ	**1507**	MRT3702_179746C.1	263 - 283	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1508**	MRT3702_192675C.5	1368 - 1388	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR172	Tipo fator de alongamento 2	**1509**	MRT3702_4319C.8	1045 - 1065	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR172	Fator de transcrição do domínio AP2 SCHNARCHZAPFEN; SNZ	**1510**	MRT3702_76733C.6	1663 - 1683	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1511**	MRT3708_36942C.2	411 - 431	*Brassica napus*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1512**	MRT3708_39387C.1	366 - 386	*Brassica napus*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1513**	MRT3711_6838C.1	137 - 157	*Brassica rapa*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1514**	MRT3847_196945C.3	667 - 687	*Glycine max*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1515**	MRT3847_202930C.3	1630 - 1650	*Glycine max*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1516**	MRT3847_235857C.3	1789 - 1809	*Glycine max*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1517**	MRT3847_257655C.4	1984 - 2004	*Glycine max*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1518**	MRT3847_289890C.3	2213 - 2233	*Glycine max*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1519**	MRT3847_289891C.3	529 - 549	*Glycine max*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1520**	MRT3847_295726C.1	1539 - 1559	*Glycine max*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1521**	MRT3847_326790C.1	1269 - 1289	*Glycine max*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1522**	MRT3847_329301C.1	775 - 795	*Glycine max*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1523**	MRT3847_344570C.1	564 - 584	*Glycine max*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1524**	MRT3847_43925C.7	811 - 831	*Glycine max*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1525**	MRT3847_46007C.5	1544 - 1564	*Glycine max*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1526**	MRT3847_51633C.3	910 - 930	*Glycine max*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1527**	MRT3847_59804C.6	2369 - 2389	*Glycine max*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1528**	MRT3880_19283C.1	558 - 578	*Medicago truncatula*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1529**	MRT3880_32459C.1	311 - 331	*Medicago truncatula*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1530**	MRT3880_36568C.1	1424 - 1444	*Medicago truncatula*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1531**	MRT3880_39959C.1	1689 - 1709	*Medicago truncatula*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1532**	MRT3880_55789C.1	1241 - 1261	*Medicago truncatula*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1533**	MRT4513_42015C.1	1464 - 1484	*Hordeum vulgare*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1534**	MRT4513_6417C.1	632 - 652	*Hordeum vulgare*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR172	Alvo miR172	**1535**	MRT4530_140532C.4	1358 - 1378	*Oryza sativa*	
Alvo miR172	Fator de transcrição do domínio AP2 SCHNAR-CHZAPFEN; SNZ	**1536**	MRT4530_146548C.4	669 - 689	*Oryza sativa*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1537**	MRT4530_160275C.3	1405 - 1425	*Oryza sativa*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1538**	MRT4530_167237C.7	804 - 824	*Oryza sativa*	
Alvo miR172	Fator de transcrição do domínio AP2 SCHNAR-CHZAPFEN; SNZ	**1539**	MRT4530_209082C.4	1976 - 1996	*Oryza sativa*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1540**	MRT4530_212672C.3	187 - 207	*Oryza sativa*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1541**	MRT4530_238241C.2	1481 - 1501	*Oryza sativa*	
Alvo miR172	Fator de transcrição do domínio AP2 SCHNAR-CHZAPFEN; SNZ	**1542**	MRT4530_263068C.2	1768 - 1788	*Oryza sativa*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1543**	MRT4530_266671C.1	2391 - 2411	*Oryza sativa*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1544**	MRT4530_272652C.1	378 - 398	*Oryza sativa*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR172	Alvo miR172	**1545**	MRT4530_274692C.1	236 - 256	*Oryza sativa*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1546**	MRT4530_56773C.3	1148 - 1168	*Oryza sativa*	
Alvo miR172	Dedo de zinco (tipo proteína (dedo RING tipo C3HC4), transporte, núcleo, ligação do íon metálico	**1547**	MRT4530_57252C.7	41 - 61	*Oryza sativa*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1548**	MRT4558_24999C.3	298 - 318	*Sorghum bicolor*	
Alvo miR172	Fator de transcrição do domínio AP2 SCHNARCHZAPFEN; SNZ	**1549**	MRT4558_25704C.2	512 - 532	*Sorghum bicolor*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1550**	MRT4565_108668C.1	220 - 240	*Triticum aestivum*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1551**	MRT4565_118657C.1	354 - 374	*Triticum aestivum*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1552**	MRT4565_235388C.1	572 - 592	*Triticum aestivum*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1553**	MRT4565_245146C.1	1148 - 1168	*Triticum aestivum*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1554**	MRT4565_247090C.1	1462 - 1482	*Triticum aestivum*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1555**	MRT4565_249252C.1	551 - 571	*Triticum aestivum*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1556**	MRT4565_256056C.1	810 - 830	*Triticum aestivum*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1557**	MRT4565_273183C.1	1152 - 1172	*Triticum aestivum*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1558**	MRT4565_279009C.1	1155 - 1175	*Triticum aestivum*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1559**	MRT4565_83602C.3	26 - 46	*Triticum aestivum*	
Alvo miR172	Glicosiltransferase	**1560**	MRT4565_88032C.3	361 - 381	*Triticum aestivum*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1561**	MRT4577_12523C.7	2414 - 2434	*Zea mays*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1562**	MRT4577_243746C.1	140 - 160	*Zea mays*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1563**	MRT4577_27478C.9	1546 - 1566	*Zea mays*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1564**	MRT4577_304712C.4	1326 - 1346	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR172	Alvo miR172	**1565**	MRT457 7_30755 3C.7	1508 - 1528	*Zea mays*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1566**	MRT457 7_39951 C.8	1611 - 1631	*Zea mays*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1567**	MRT457 7_43112 2C.3	1359 - 1379	*Zea mays*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1568**	MRT457 7_43112 5C.4	824 - 844	*Zea mays*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1569**	MRT457 7_45577 4C.3	963 - 983	*Zea mays*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1570**	MRT457 7_46876 2C.3	2414 - 2434	*Zea mays*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1571**	MRT457 7_49516 C.9	408 - 428	*Zea mays*	
Alvo miR172	Tipo fator de transcrição do domínio AP2	**1572**	MRT457 7_49517 C.8	1652 - 1672	*Zea mays*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1573**	MRT457 7_54831 0C.2	1451 - 1471	*Zea mays*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1574**	MRT457 7_55661 2C.2	1352 - 1372	*Zea mays*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1575**	MRT457 7_59713 6C.1	551 - 571	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR172	Alvo miR172	**1576**	MRT4577_616573C.1	670 - 690	*Zea mays*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1577**	MRT4577_668951C.1	270 - 290	*Zea mays*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1578**	MRT4577_669210C.1	1031 - 1051	*Zea mays*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1579**	MRT4577_676464C.1	1308 - 1328	*Zea mays*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1580**	MRT4577_679724C.1	157 - 177	*Zea mays*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1581**	MRT4577_700043C.1	147 - 167	*Zea mays*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1582**	MRT4577_701524C.1	136 - 156	*Zea mays*	
Alvo miR172	Alvo miR172	**1583**	MRT4577_708079C.1	540 - 560	*Zea mays*	
miRNA	miR319	**1584**			*Zea mays*	
Precursor de miRNA para a superexpressão de miR319 maduro	osa-MIR319 (precursor)	**1585**			*Oryza sativa*	Rendimento melhorado*
alvo miR319	Fator de transrição da família TCP	**1586**	MRT4577_275782C.5	1673 - 1692	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
alvo miR319	Fator de transrição da família TCP	**1587**	MRT4577_558102C.1	949 - 968	*Zea mays*	
alvo miR319	Fator de transrição da família TCP	**1588**	MRT4577_30525C.5	1316 - 1335	*Zea mays*	
alvo miR319	Fator de transrição da família TCP	**1589**	MRT4577_275060C.2	818 - 836	*Zea mays*	
alvo miR319	Fator de transrição da família TCP	**1590**	MRT4577_22397C.4	943 - 961	*Zea mays*	
alvo miR319	Fator de transrição da família TCP	**1591**	MRT4577_275063C.5	1247 - 1265	*Zea mays*	
alvo miR319	Fator de transrição da família TCP	**1592**	MRT4577_480991C.1	150 - 169	*Zea mays*	
alvo miR319	Fator de transrição da família TCP	**1593**	MRT4577_427906C.3	1557 - 1576	*Zea mays*	
alvo miR319	Fator de transrição da família TCP	**1594**	MRT4577_213173C.3	1594 - 1613	*Zea mays*	
miRNA	miR396	**1595**			*Zea mays*	
Alvo miR396	Zm-GRF1	**1596**			*Zea mays*	
Atrator	Atrator miR396	**1597**			Constructo artificial	Rendimento melhorado*
Atrator	Atrator miR396	**1598**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Atrator	Atrator miR396	**1599**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo miR396	Alvo miR396	**1600**	MRT3635_67262C.1	6 - 25	*Gossypium hirsutum*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR396	Alvo miR396	**1601**	MRT3635_70418C.1	147 - 166	*Gossypium hirsutum*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1602**	MRT3635_71272C.1	414 - 433	*Gossypium hirsutum*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1603**	MRT3635_71696C.1	37 - 56	*Gossypium hirsutum*	
Alvo miR396	Proteína tipo RNA helicase dependente de ATP	**1604**	MRT3702_15262C.6	1141 - 1160	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR396	Proteína da família subtilase, contém perfil Pfam; família subtilase PF00082	**1605**	MRT3702_17628C.6	1886 - 1905	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1606**	MRT3702_18069C.6	2763 - 2782	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1607**	MRT3702_2454C.7	1387 - 1406	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1608**	MRT3708_59476C.1	194 - 213	*Brassica napus*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1609**	MRT3708_61891C.1	236 - 255	*Brassica napus*	
Alvo miR396	Precursor da cisteína proteinase; proteólise; atividade endopeptidase tipo cisteína	**1610**	MRT3847_115000C.2	180 - 199	*Glycine max*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR396	Alvo miR396	**1611**	MRT3847_249313C.3	1165 - 1184	*Glycine max*	
Alvo miR396	Fimbriata putativa, ciclo de ubiquitina, núcleo, ligação de proteína	**1612**	MRT3847_260044C.4	1337 - 1356	*Glycine max*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1613**	MRT3847_282324C.5	578 - 597	*Glycine max*	
Alvo miR396	Citocromo microssomal b5, transporte de elétron, membrana interna mitocondrial, ligação ao íon ferro	**1614**	MRT3847_32554C.3	245 - 264	*Glycine max*	
Alvo miR396	Receptor associado ao BRASSINOSTEROIDE INSENSIVEL 1 (EC 2.7.11.1) (receptor associado à BRI1 quinase 1) (Receptor de embriogênese somático tipo quinase 3), fosforilação de aminoácido de proteína, integral à membrana, atividade de proteína serina/treonina quinase	**1615**	MRT3847_60193C.5	1967 - 1986	*Glycine max*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1616**	MRT3847_72393C.1	34 - 53	*Glycine max*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR396	ATPase tipo AFG1 putativo	**1617**	MRT4513_2056C.1	294 - 313	*Hordeum vulgare*	
Alvo miR396	Fimbriata putativa, diferenciação celular, núcleo, ligação de proteína	**1618**	MRT4513_23211C.1	721 - 740	*Hordeum vulgare*	
Alvo miR396	Criptocromo 2, reparo de DNA, atividade DNA fotoliase	**1619**	MRT4513_24452C.1	19 - 38	*Hordeum vulgare*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1620**	MRT4513_32857C.1	621 - 640	*Hordeum vulgare*	
Alvo miR396	Proteína S-locus 5	**1621**	MRT4513_48780C.1	84 - 103	*Hordeum vulgare*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1622**	MRT4530_139664C.5	2371 - 2390	*Oryza sativa*	
Alvo miR396	RNA polimerase III putativa, RNA_pol_Rpb2_1 : Subunidade da RNA polimerase beta, RNA_pol_Rpb2_3 : RNA polimerase Rpb2, domínio 3, RNA_pol_Rpb2_4 : RNA polimerase Rpb2, domínio 4, RNA_pol_Rpb2_5 : RNA polimerase Rpb2, domínio 5,	**1623**	MRT4530_171648C.2	1063 - 1082	*Oryza sativa*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
	RNA_pol_Rpb2_6 : RNA polimerase Rpb2, domínio 6, RNA_pol_Rpb2_7 : RNA polimerase Rpb2, domínio 7; transcrição; núcleo; ligação ao íon metálico					
Alvo miR396	Alvo miR396	**1624**	MRT4530_267934C.1	467 - 486	*Oryza sativa*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1625**	MRT4530_268027C.1	95 - 114	*Oryza sativa*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1626**	MRT4530_27400C.6	682 - 701	*Oryza sativa*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1627**	MRT4530_59122C.7	573 - 591	*Oryza sativa*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1628**	MRT4530_62393C.7	2341 - 2360	*Oryza sativa*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1629**	MRT4530_81835C.6	1243 - 1262	*Oryza sativa*	
Alvo miR396	Proteína hipotética P0698A04.3; GRP: Família de proteína rica em glicina	**1630**	MRT4530_98651C.4	271 - 290	*Oryza sativa*	
Alvo miR396	Fimbrioata putativa, F-box: Domínio F-box	**1631**	MRT4558_11973C.2	1234 - 1253	*Sorghum bicolor*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR396	Metiltransferase, putativa, parede celular (sensu Magnoliophyta), atividade metiltransferase	**1632**	MRT4558_29180C.1	101 - 120	*Sorghum bicolor*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1633**	MRT4558_34091C.1	266 - 285	*Sorghum bicolor*	
Alvo miR396	Quinase tipo receptor putativo; Pkinase_Tyr: Proteína tirosina quinase, fosforilação do aminoácido de proteína, integral à membrana, atividade da proteína tirosina quinase	**1634**	MRT4558_9324C.2	375 - 394	*Sorghum bicolor*	
Alvo miR396	Acil-CoA desidrogenase, putativa	**1635**	MRT4565_127266C.2	27 - 46	*Triticum aestivum*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1636**	MRT4565_162831C.1	1134 - 1153	*Triticum aestivum*	
Alvo miR396	Ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/ subunidade pequena da oxigenase	**1637**	MRT4565_200090C.1	1047 - 1066	*Triticum aestivum*	
Alvo miR396	Fimbriata putativa	**1638**	MRT4565_230957C.1	450 - 469	*Triticum aestivum*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR396	Proteína tipo dirigente	**1639**	MRT4565_234418C.1	1427 - 1446	*Triticum aestivum*	
Alvo miR396	Proteína F-box putativa	**1640**	MRT4565_242541C.1	1472 - 1491	*Triticum aestivum*	
Alvo miR396	Folilpoliglutamato sintetase putativa, ácido fólico e biossíntese de derivado, espaço extraceluilar, ligação ao ATP	**1641**	MRT4565_244837C.1	918 - 937	*Triticum aestivum*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1642**	MRT4565_248632C.1	625 - 644	*Triticum aestivum*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1643**	MRT4565_249453C.1	108 - 127	*Triticum aestivum*	
Alvo miR396	Folilpoliglutamato sintetase putativa, ácido fólico e biossíntese de derivado, espaço extraceluilar, ligação ao ATP (4e-99)	**1644**	MRT4565_253149C.1	616 - 635	*Triticum aestivum*	
Alvo miR396	Fitocromo/proteína tipo quinase, fosforilação de aminoácido de proteína, atividade de proteína tirosina quinase	**1645**	MRT4565_253747C.1	894 - 913	*Triticum aestivum*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR396	Fimbriata putativa	**1646**	MRT4565_259298C.1	1362 - 1381	*Triticum aestivum*	
Alvo miR396	Fimbriata putativa	**1647**	MRT4565_260134C.1	414 - 433	*Triticum aestivum*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1648**	MRT4565_273137C.1	137 - 156	*Triticum aestivum*	
Alvo miR396	Diidrolipoamida S-acetiltansferase putativa; Biotin_lipoyl: Enzima que requer biotina; metabolismo; mitocôndria; atividade acetiltransferase do resíduo diidrolipoillisina	**1649**	MRT4577_130243C.1	12 - 31	*Zea mays*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1650**	MRT4577_165771C.1	95 - 114	*Zea mays*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1651**	MRT4577_213750C.1	60 - 79	*Zea mays*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1652**	MRT4577_26483C.7	805 - 824	*Zea mays*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1653**	MRT4577_341149C.6	1110 - 1129	*Zea mays*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1654**	MRT4577_355112C.1	159 - 177	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR396	gag-pol putativo	**1655**	MRT4577_406214C.1	376 - 395	*Zea mays*	
Alvo miR396	Beta-cetoacil redutase; biossíntese da cera cuticular; glossy8	**1656**	MRT4577_416676C.5	1463 - 1482	*Zea mays*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1657**	MRT4577_521629C.3	555 - 574	*Zea mays*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1658**	MRT4577_540304C.2	1355 - 1374	*Zea mays*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1659**	MRT4577_540948C.2	1095 - 1114	*Zea mays*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1660**	MRT4577_548836C.1	467 - 486	*Zea mays*	
Alvo miR396	Proteína retrotransposon, putativa, não-classificada; Retrotrans_gag: Proteína gag de retrotransposon, replicação de DNA dependente de RNA, núcleo, atividade DNA polimerase direcionada ao RNA	**1661**	MRT4577_555855C.1	148 - 167	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR396	Alvo miR396	**1662**	MRT457 7_55767 8C.2	344 - 363	*Zea mays*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1663**	MRT457 7_56112 1C.1	956 - 975	*Zea mays*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1664**	MRT457 7_56428 8C.1	290 - 309	*Zea mays*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1665**	MRT457 7_56429 C.8	1315 - 1334	*Zea mays*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1666**	MRT457 7_59582 8C.1	63 - 82	*Zea mays*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1667**	MRT457 7_61383 2C.1	1029 - 1048	*Zea mays*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1668**	MRT457 7_61944 3C.1	394 - 413	*Zea mays*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1669**	MRT457 7_63516 9C.1	602 - 621	*Zea mays*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1670**	MRT457 7_63892 1C.1	172 - 191	*Zea mays*	
Alvo miR396	Alvo miR396	**1671**	MRT457 7_66491 4C.1	581 - 600	*Zea mays*	
miRNA	miR393	**1672**			*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1673**	MRT3635_18188C.2	746 - 766	*Gossypium hirsutum*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1674**	MRT3635_18850C.2	171 - 191	*Gossypium hirsutum*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1675**	MRT3635_35639C.2	1049 - 1069	*Gossypium hirsutum*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1676**	MRT3635_49076C.2	373 - 393	*Gossypium hirsutum*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1677**	MRT3635_68504C.1	1996 - 2016	*Gossypium hirsutum*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1; At3g26830	**1678**	MRT3702_13118C.8	2015 - 2035	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1679**	MRT3702_145409C.1	1508 - 1528	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1680**	MRT3702_15703C.8	1738 - 1758	*Arabidopsis thaliana*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1681**	MRT3702_16076C.7	1587 - 1607	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1; At1g12820	**1682**	MRT3702_92498C.6	1898 - 1918	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1683**	MRT3708_31301C.1	259 - 280	*Brassica napus*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1684**	MRT3708_52518C.1	250 - 270	*Brassica napus*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1685**	MRT3708_55951C.1	93 - 113	*Brassica napus*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1686**	MRT3711_1771C.1	103 - 123	*Brassica rapa*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1687**	MRT3847_238705C.4	1172 - 1192	*Glycine max*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1688**	MRT3847_27973C.7	1339 - 1359	*Glycine max*	
Alvo miR393	Alvo miR393	**1689**	MRT3847_313402C.3	958 - 978	*Glycine max*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR393	Alvo miR393	**1690**	MRT3847_329954C.2	1740 - 1760	*Glycine max*	
Alvo miR393	Alvo miR393	**1691**	MRT3847_335477C.1	1715 - 1735	*Glycine max*	
Alvo miR393	Alvo miR393	**1692**	MRT3847_338734C.1	1474 - 1494	*Glycine max*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1693**	MRT3847_44371C.6	2345 - 2365	*Glycine max*	
Alvo miR393	Alvo miR393	**1694**	MRT3880_18564C.2	3116 - 3136	*Medicago truncatula*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1695**	MRT3880_38847C.1	139 - 159	*Medicago truncatula*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1696**	MRT4513_12741C.1	197 - 217	*Hordeum vulgare*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1697**	MRT4513_38675C.1	419 - 439	*Hordeum vulgare*	
Alvo miR393	Alvo miR393	**1698**	MRT4530_113561C.5	5590 - 5610	*Oryza sativa*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1699**	MRT4530_237446C.2	2221 - 2241	*Oryza sativa*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1700**	MRT4530_241313C.2	1706 - 1726	*Oryza sativa*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1701**	MRT4558_1226C.2	167 - 187	*Sorghum bicolor*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1702**	MRT4558_20000C.2	412 - 432	*Sorghum bicolor*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1703**	MRT4565_141193C.1	43 - 63	*Triticum aestivum*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1704**	MRT4565_226582C.1	486 - 506	*Triticum aestivum*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1705**	MRT4565_247449C.1	28 - 48	*Triticum aestivum*	
Alvo miR393	Proteína tipo resposta do inibidor de transporte tipo TIR1	**1706**	MRT4565_274399C.1	1499 - 1519	*Triticum aestivum*	
Alvo miR393	Alvo miR393	**1707**	MRT4577_262597C.7	2373 - 2393	*Zea mays*	
Alvo miR393	Alvo miR393	**1708**	MRT4577_39097C.9	1716 - 1736	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR393	Alvo miR393	**1709**	MRT4577_546333C.2	1349 - 1369	*Zea mays*	
Alvo miR393	Alvo miR393	**1710**	MRT4577_656737C.1	1325 - 1345	*Zea mays*	
miRNA	miR395	**1711**			*Zea mays*	
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1712**			*Zea mays*	
Atrator	Atrator miR395	**1713**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1714**	MRT3635_15903C.2	410 - 429	*Gossypium hirsutum*	
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1715**	MRT3635_48567C.2	480 - 499	*Gossypium hirsutum*	
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1716**	MRT3702_166264C.1	202 - 221	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR395	Transportador de sulfato	**1717**	MRT3702_169467C.1	107 - 126	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1718**	MRT3702_17054C.8	470 - 489	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1719**	MRT3702_177422C.1	340 - 359	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR395	Transportador de sulfato	**1720**	MRT3702_20451C.6	125 - 144	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1721**	MRT3702_23086C.8	544 - 563	*Arabidopsis thaliana*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1722**	MRT3702_57141C.1	331 - 350	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1723**	MRT3708_36129C.1	403 - 422	*Brassica napus*	
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1724**	MRT3708_4492C.1	316 - 335	*Brassica napus*	
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1725**	MRT3708_55043C.1	400 - 419	*Brassica napus*	
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1726**	MRT3711_3394C.1	356 - 375	*Brassica rapa*	
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1727**	MRT3711_4165C.1	383 - 402	*Brassica rapa*	
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1728**	MRT3711_4313C.1	384 - 403	*Brassica rapa*	
Alvo miR395	Transportador de sulfato	**1729**	MRT3712_1686C.1	124 - 143	*Brassica oleracea*	
Alvo miR395	Transportador de sulfato	**1730**	MRT3847_10451C.5	125 - 144	*Glycine max*	
Alvo miR395	Transportador de sulfato	**1731**	MRT3847_131987C.4	153 - 172	*Glycine max*	
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1732**	MRT3847_14792C.7	641 - 660	*Glycine max*	
Alvo miR395	Transportador de sulfato	**1733**	MRT3847_245035C.3	64 - 83	*Glycine max*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1734**	MRT3847_331787C.1	381 - 400	*Glycine max*	
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1735**	MRT4530_16384C.4	560 - 579	*Oryza sativa*	
Alvo miR395	Transportador de sulfato	**1736**	MRT4530_33633C.6	746 - 765	*Oryza sativa*	
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1737**	MRT4558_11861C.1	474 - 493	*Sorghum bicolor*	
Alvo miR395	Transportador de sulfato	**1738**	MRT4558_24400C.2	275 - 294	*Sorghum bicolor*	
Alvo miR395	Transportador de sulfato	**1739**	MRT4565_219452C.1	259 - 278	*Triticum aestivum*	
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1740**	MRT4565_223839C.1	541 - 560	*Triticum aestivum*	
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1741**	MRT4565_232080C.1	462 - 481	*Triticum aestivum*	
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1742**	MRT4565_236093C.1	542 - 561	*Triticum aestivum*	
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1743**	MRT4565_254783C.1	482 - 501	*Triticum aestivum*	
Alvo miR395	Alvo miR395	**1744**	MRT4565_35429C.3	207 - 226	*Triticum aestivum*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1745**	MRT4577_118322C.5	455 - 474	*Zea mays*	
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1746**	MRT4577_386324C.4	465 - 484	*Zea mays*	
Alvo miR395	Proteína do domínio ATP sulfurilase	**1747**	MRT4577_57434C.9	528 - 547	*Zea mays*	
Alvo miR395	Alvo miR395	**1748**	MRT4577_644561C.1	27 - 46	*Zea mays*	
Alvo miR395	Alvo miR395	**1749**	MRT4577_694623C.1	449 - 468	*Zea mays*	
miRNA	miR398	**1750**			*Zea mays*	
Alvo miR398	SODs e citocromo c oxidase	**1751**			*Zea mays*	
Atrator	Atrator miR398	**1752**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Atrator	Atrator miR398	**1753**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo miR398	Alvo miR398	**1754**	MRT3702_118804C.3	1651 - 1671	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1755**	MRT3708_22683C.2	117 - 137	*Brassica napus*	
Alvo miR398	Tipo Las1	**1756**	MRT3847_22858C.5	2306 - 2326	*Glycine max*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1757**	MRT3847_235546C.3	112 - 132	*Glycine max*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1758**	MRT4530_151653C.4	66 - 86	*Oryza sativa*	
Alvo miR398	Alvo miR398	**1759**	MRT4530_201873C.4	1720 - 1740	*Oryza sativa*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1760**	MRT4530_20521C.4	152 - 172	*Oryza sativa*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1761**	MRT4558_3896C.2	103 - 123	*Sorghum bicolor*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1762**	MRT4558_9962C.2	176 - 196	*Sorghum bicolor*	
Alvo miR398	Alvo miR398	**1763**	MRT4565_118267C.1	66 - 86	*Triticum aestivum*	
Alvo miR398	Alvo miR398	**1764**	MRT4565_122618C.1	14 - 34	*Triticum aestivum*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1765**	MRT4565_123037C.3	94 - 114	*Triticum aestivum*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR398	Alvo miR398	**1766**	MRT4565_129871C.1	54 - 74	*Triticum aestivum*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1767**	MRT4565_133338C.1	172 - 192	*Triticum aestivum*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1768**	MRT4565_162003C.1	144 - 164	*Triticum aestivum*	
Alvo miR398	Alvo miR398	**1769**	MRT4565_16358C.1	66 - 86	*Triticum aestivum*	
Alvo miR398	Alvo miR398	**1770**	MRT4565_187852C.1	194 - 214	*Triticum aestivum*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1771**	MRT4565_201143C.1	93 - 113	*Triticum aestivum*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1772**	MRT4565_201144C.1	85 - 105	*Triticum aestivum*	
Alvo miR398	Subunidade Vb da citocromo c oxidase	**1773**	MRT4565_221067C.1	153 - 173	*Triticum aestivum*	
Alvo miR398	Subunidade Vb da citocromo c oxidase	**1774**	MRT4565_223829C.1	139 - 159	*Triticum aestivum*	
Alvo miR398	Subunidade Vb da citocromo c oxidase	**1775**	MRT4565_230710C.1	303 - 323	*Triticum aestivum*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1776**	MRT4565_236346C.1	91 - 111	*Triticum aestivum*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1777**	MRT4565_244294C.1	69 - 89	*Triticum aestivum*	
Alvo miR398	Subunidade Vb da citocromo c oxidase	**1778**	MRT4565_246005C.1	160 - 180	*Triticum aestivum*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1779**	MRT4565_248858C.1	69 - 89	*Triticum aestivum*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1780**	MRT4565_72209C.2	105 - 125	*Triticum aestivum*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1781**	MRT4577_19020C.8	92 - 112	*Zea mays*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1782**	MRT4577_211709C.6	85 - 105	*Zea mays*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1783**	MRT4577_329847C.3	89 - 109	*Zea mays*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1784**	MRT4577_329851C.4	114 - 134	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1785**	MRT4577_335011C.2	7 - 27	*Zea mays*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1786**	MRT4577_339810C.4	174 - 194	*Zea mays*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1787**	MRT4577_339813C.4	233 - 253	*Zea mays*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1788**	MRT4577_358061C.1	120 - 140	*Zea mays*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1789**	MRT4577_388896C.4	200 - 220	*Zea mays*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1790**	MRT4577_401904C.1	49 - 69	*Zea mays*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1791**	MRT4577_54564C.7	147 - 167	*Zea mays*	
Alvo miR398	Alvo miR398	**1792**	MRT4577_561629C.1	222 - 242	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR398	Alvo miR398	**1793**	MRT4577_570532C.1	129 - 149	*Zea mays*	
Alvo miR398	Proteína do domínio cobre/zinco superóxido desmutase (SODC)	**1794**	MRT4577_571443C.1	184 - 204	*Zea mays*	
Alvo miR398	Alvo miR398	**1795**	MRT4577_648609C.1	83 - 103	*Zea mays*	
miRNA	miR399	**1796**			*Zea mays*	
miRNA	miR399	**1797**			*Zea mays*	
miRNA	miR399	**1798**			*Zea mays*	
miRNA	miR399	**1799**			*Zea mays*	
Alvo miR399	pho2 e transportador de fosfato inorgânico	**1800**			*Zea mays*	
Atrator	Atrator miR399	**1801**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Bloqueador de clivagem	Bloqueador de clivagem miR399 (na estrutura miRMON1)	**1802**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo miR399	E2, Enzima conjugadora de ubiquitina; At2g33770 PHO2	**1803**	MRT3702_9137C.7	607 - 627	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR399	Enzima conjugadora de ubiquitina E2 tipo PHO2 (fosfato)	**1804**	MRT3847_4521C.5	139 - 159	*Glycine max*	
Alvo miR399	Transportador de fosfato	**1805**	MRT3847_51499C.6	381 - 401	*Glycine max*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR399	Enzima conjugadora de ubiquitina E2 tipo PHO2 (fosfato)	**1806**	MRT3880_39637C.1	33 - 53	*Medicago truncatula*	
Alvo miR399	Alvo miR399	**1807**	MRT3880_45031C.1	512 - 532	*Medicago truncatula*	
Alvo miR399	Alvo miR399	**1808**	MRT3880_48872C.1	5 - 25	*Medicago truncatula*	
Alvo miR399	Alvo miR399	**1809**	MRT3880_54972C.1	5 - 25	*Medicago truncatula*	
Alvo miR399	Transportador de fosfato	**1810**	MRT3880_64645C.1	245 - 265	*Medicago truncatula*	
Alvo miR399	Alvo miR399	**1811**	MRT4530_189375C.1	502 - 522	*Oryza sativa*	
Alvo miR399	Transportador de fosfato	**1812**	MRT4530_40506C.4	292 - 312	*Oryza sativa*	
Alvo miR399	Alvo miR399	**1813**	MRT4530_53090C.4	821 - 841	*Oryza sativa*	
Alvo miR399	Alvo miR399	**1814**	MRT4530_7904C.4	1144 - 1164	*Oryza sativa*	
Alvo miR399	Alvo miR399	**1815**	MRT4558_16475C.1	693 - 713	*Sorghum bicolor*	
Alvo miR399	Alvo miR399	**1816**	MRT4558_34625C.1	171 - 191	*Sorghum bicolor*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR399	Alvo miR399	**1817**	MRT4565_160343C.1	481 - 501	*Triticum aestivum*	
miRNA	miR408	**1818**			*Zea mays*	
Alvo miR408	Lacase e plantocianina	**1819**			*Zea mays*	
Atrator	Atrator miR408	**1820**			*Sequência artificial*	Rendimento melhorado*
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1821**	MRT3635_36078C.2	61 - 80	*Gossypium hirsutum*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1822**	MRT3635_36080C.2	61 - 80	*Gossypium hirsutum*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1823**	MRT3702_153631C.1	42 - 61	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1824**	MRT3702_20027C.5	108 - 127	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1825**	MRT3702_20202C.5	99 - 118	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1826**	MRT3702_6668C.5	71 - 90	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1827**	MRT3708_48434C.2	137 - 156	*Brassica napus*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); planto-cianina multicobre oxidase	**1828**	MRT3711_7108C.1	9 - 28	*Brassica rapa*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1829**	MRT3847_133008C.1	25 - 44	*Glycine max*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1830**	MRT3847_166855C.1	17 - 36	*Glycine max*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); planto-cianina multicobre oxidase	**1831**	MRT3847_261984C.4	181 - 200	*Glycine max*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); planto-cianina multicobre oxidase	**1832**	MRT3847_273040C.3	702 - 721	*Glycine max*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1833**	MRT3847_273288C.3	114 - 133	*Glycine max*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); planto-cianina multicobre oxidase	**1834**	MRT3847_296270C.2	189 - 208	*Glycine max*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1835**	MRT3847_31127C.7	232 - 251	*Glycine max*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1836**	MRT3847_329905C.2	137 - 156	*Glycine max*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1837**	MRT3847_336704C.1	58 - 77	*Glycine max*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR408	Alvo miR408	**1838**	MRT3847_343250C.1	286 - 305	*Glycine max*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1839**	MRT3847_346770C.1	38 - 57	*Glycine max*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1840**	MRT3847_349900C.1	68 - 87	*Glycine max*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1841**	MRT3847_66506C.8	33 - 52	*Glycine max*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1842**	MRT3847_66508C.1	12 - 31	*Glycine max*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1843**	MRT3880_52991C.2	96 - 115	*Medicago truncatula*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); planto-cianina multicobre oxidase	**1844**	MRT3880_53025C.1	96 - 115	*Medicago truncatula*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); planto-cianina multicobre oxidase	**1845**	MRT3880_58299C.2	659 - 678	*Medicago truncatula*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); planto-cianina multicobre oxidase	**1846**	MRT3880_5838C.1	37 - 56	*Medicago truncatula*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); planto-cianina multicobre oxidase	**1847**	MRT3880_61178C.1	715 - 734	*Medicago truncatula*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR408	Alvo miR408	**1848**	MRT4513_31098C.2	106 - 125	*Hordeum vulgare*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1849**	MRT4513_36864C.1	93 - 112	*Hordeum vulgare*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1850**	MRT4513_43046C.1	113 - 132	*Hordeum vulgare*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1851**	MRT4513_47240C.1	630 - 649	*Hordeum vulgare*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1852**	MRT4513_8677C.1	71 - 90	*Hordeum vulgare*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1853**	MRT4530_137979C.3	929 - 948	*Oryza sativa*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1854**	MRT4530_148564C.5	1091 - 1110	*Oryza sativa*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1855**	MRT4530_160612C.2	220 - 239	*Oryza sativa*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1856**	MRT4530_169405C.1	105 - 124	*Oryza sativa*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1857**	MRT4530_247839C.2	360 - 379	*Oryza sativa*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1858**	MRT4530_260849C.1	658 - 677	*Oryza sativa*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1859**	MRT4530_26787C.5	611 - 630	*Oryza sativa*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1860**	MRT4530_274369C.1	112 - 131	*Oryza sativa*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1861**	MRT4530_275579C.1	108 - 127	*Oryza sativa*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1862**	MRT4530_36958C.6	99 - 118	*Oryza sativa*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1863**	MRT4530_40477C.6	182 - 201	*Oryza sativa*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1864**	MRT4530_69716C.6	162 - 181	*Oryza sativa*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1865**	MRT4558_23167C.3	713 - 732	*Sorghum bicolor*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1866**	MRT4558_2496C.2	104 - 123	*Sorghum bicolor*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); planto-cianina multicobre oxidase	**1867**	MRT4558_26802C.1	87 - 106	*Sorghum bicolor*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); planto-cianina multicobre oxidase	**1868**	MRT4558_37109C.1	109 - 128	*Sorghum bicolor*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); planto-cianina multicobre oxidase	**1869**	MRT4558_40844C.1	217 - 236	*Sorghum bicolor*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); planto-cianina multicobre oxidase	**1870**	MRT4558_5019C.2	102 - 121	*Sorghum bicolor*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); planto-cianina multicobre oxidase	**1871**	MRT4558_8981C.2	180 - 199	*Sorghum bicolor*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); planto-cianina multicobre oxidase	**1872**	MRT4565_100542C.3	91 - 110	*Triticum aestivum*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); planto-cianina multicobre oxidase	**1873**	MRT4565_130135C.1	10 - 29	*Triticum aestivum*	
Alvo miR408	Proteína de domínio Hsp70	**1874**	MRT4565_198220C.1	1221 - 1240	*Triticum aestivum*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1875**	MRT4565_202586C.1	51 - 70	*Triticum aestivum*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1876**	MRT4565_216408C.1	206 - 225	*Triticum aestivum*	
Alvo miR408	Transportador de amônio; domínio de hélice básica-alça-hélice (bHLH)	**1877**	MRT4565_219732C.1	742 - 761	*Triticum aestivum*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1878**	MRT4565_229783C.1	98 - 117	*Triticum aestivum*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1879**	MRT4565_235378C.1	116 - 135	*Triticum aestivum*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1880**	MRT4565_250808C.1	652 - 671	*Triticum aestivum*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1881**	MRT4565_257176C.1	91 - 110	*Triticum aestivum*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1882**	MRT4565_263239C.1	102 - 121	*Triticum aestivum*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1883**	MRT4565_263949C.1	94 - 113	*Triticum aestivum*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR408	Alvo miR408	**1884**	MRT4565_267955C.1	84 - 103	*Triticum aestivum*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1885**	MRT4565_274907C.1	720 - 739	*Triticum aestivum*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1886**	MRT4565_276632C.1	172 - 191	*Triticum aestivum*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1887**	MRT4565_278866C.1	365 - 384	*Triticum aestivum*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1888**	MRT4565_66211C.2	36 - 55	*Triticum aestivum*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1889**	MRT4565_67059C.3	133 - 152	*Triticum aestivum*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1890**	MRT4565_87146C.2	314 - 333	*Triticum aestivum*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1891**	MRT4577_137208C.1	94 - 113	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1892**	MRT4577_191445C.5	696 - 715	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR408	Alvo miR408	**1893**	MRT4577_234909C.4	331 - 350	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1894**	MRT4577_245033C.8	117 - 136	*Zea mays*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1895**	MRT4577_264839C.3	102 - 121	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1896**	MRT4577_30771C.9	282 - 301	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1897**	MRT4577_325201C.6	619 - 638	*Zea mays*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1898**	MRT4577_325458C.1	59 - 78	*Zea mays*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1899**	MRT4577_327865C.2	113 - 132	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1900**	MRT4577_341887C.5	132 - 151	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1901**	MRT4577_37590C.9	800 - 819	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1902**	MRT4577_380413C.6	208 - 227	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR408	Alvo miR408	**1903**	MRT4577_387021C.4	151 - 170	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1904**	MRT4577_388860C.4	117 - 136	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1905**	MRT4577_427804C.4	729 - 748	*Zea mays*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); planto-cianina multicobre oxidase	**1906**	MRT4577_446604C.1	67 - 86	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1907**	MRT4577_456053C.1	66 - 85	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1908**	MRT4577_461451C.3	463 - 482	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1909**	MRT4577_463087C.7	273 - 292	*Zea mays*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); planto-cianina multicobre oxidase	**1910**	MRT4577_517561C.1	883 - 902	*Zea mays*	
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); planto-cianina multicobre oxidase	**1911**	MRT4577_528699C.2	636 - 655	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1912**	MRT4577_536494C.2	151 - 170	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR408	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1913**	MRT4577_550892C.1	659 - 678	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1914**	MRT4577_572693C.1	101 - 120	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1915**	MRT4577_602288C.1	5 - 24	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1916**	MRT4577_603948C.1	206 - 225	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1917**	MRT4577_603999C.1	226 - 245	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1918**	MRT4577_610458C.1	111 - 130	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1919**	MRT4577_623809C.1	153 - 172	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1920**	MRT4577_625157C.1	254 - 273	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1921**	MRT4577_629379C.1	269 - 288	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1922**	MRT4577_645720C.1	236 - 255	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1923**	MRT4577_650403C.1	788 - 807	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR408	Alvo miR408	**1924**	MRT4577_686202C.1	160 - 179	*Zea mays*	
Alvo miR408	Alvo miR408	**1925**	MRT4577_710942C.1	48 - 67	*Zea mays*	
miR444	miR444	**1926**			*Zea mays*	
miRNA precursor	miR444	**1927**			*Zea mays*	Rendimento melhorado*
Alvo miR444	Os.ANR1	**1928**			*Oryza sativa*	
não-responsivo ao miRNA	Os.ANR1 (não-responsivo ao miR444)	**1929**			Constructo artificial	Rendimento melhorado*
Alvo miR444	AGL17, AGL21, ANR1	**1930**			*Zea mays*	
Atrator	Atrator miR444	**1931**			Constructo artificial	Rendimento melhorado*
Alvo miR444	Proteína do fator de transcrição MADS-box	**1932**	MRT3847_247970C.2	471 - 491	*Glycine max*	
Alvo miR444	Proteína do fator de transcrição MADS-box	**1933**	MRT3847_259952C.3	453 - 473	*Glycine max*	
Alvo miR444	Proteína do fator de transcrição MADS-box	**1934**	MRT3880_12754C.1	75 - 95	*Medicago truncatula*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1935**	MRT4513_18691C.1	73 - 93	*Hordeum vulgare*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1936**	MRT4513_36208C.1	320 - 340	*Hordeum vulgare*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR444	Alvo miR444	**1937**	MRT4530_101813C.4	1164 - 1184	*Oryza sativa*	
Alvo miR444	Proteína do fator de transcrição MADS-box	**1938**	MRT4530_196636C.3	539 - 559	*Oryza sativa*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1939**	MRT4530_197829C.2	585 - 605	*Oryza sativa*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1940**	MRT4530_223119C.3	610 - 630	*Oryza sativa*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1941**	MRT4530_244375C.1	208 - 228	*Oryza sativa*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1942**	MRT4530_251481C.2	1234 - 1254	*Oryza sativa*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1943**	MRT4530_272160C.1	571 - 591	*Oryza sativa*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1944**	MRT4530_274638C.1	337 - 357	*Oryza sativa*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1945**	MRT4530_275771C.1	97 - 117	*Oryza sativa*	
Alvo miR444	Proteína do fator de transcrição MADS-box	**1946**	MRT4530_78475C.3	305 - 325	*Oryza sativa*	
Alvo miR444	Proteína do fator de transcrição MADS-box	**1947**	MRT4558_100900C.1	400 - 420	*Sorghum bicolor*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR444	Proteína do fator de transcrição MADS-box	**1948**	MRT4558_11440C.2	434 - 454	*Sorghum bicolor*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1949**	MRT4558_3598C.3	1024 - 1044	*Sorghum bicolor*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1950**	MRT4558_37372C.1	1355 - 1375	*Sorghum bicolor*	
Alvo miR444	Proteína do fator de transcrição MADS-box	**1951**	MRT4565_247066C.1	375 - 395	*Triticum aestivum*	
Alvo miR444	Proteína do fator de transcrição MADS-box	**1952**	MRT4565_39318C.3	416 - 436	*Triticum aestivum*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1953**	MRT4565_98921C.1	352 - 372	*Triticum aestivum*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1954**	MRT4577_166928C.8	1146 - 1166	*Zea mays*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1955**	MRT4577_204116C.4	475 - 495	*Zea mays*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1956**	MRT4577_296919C.6	475 - 495	*Zea mays*	
Alvo miR444	Proteína do fator de transcrição MADS-box	**1957**	MRT4577_321664C.4	1029 - 1049	*Zea mays*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1958**	MRT4577_417091C.4	1757 - 1777	*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR444	Alvo miR444	**1959**	MRT4577_502196C.3	468 - 488	*Zea mays*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1960**	MRT4577_537511C.2	364 - 384	*Zea mays*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1961**	MRT4577_538474C.2	451 - 471	*Zea mays*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1962**	MRT4577_5433C.4	473 - 493	*Zea mays*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1963**	MRT4577_543434C.2	377 - 397	*Zea mays*	
Alvo miR444	Proteína do fator de transcrição MADS-box	**1964**	MRT4577_553467C.1	17 - 37	*Zea mays*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1965**	MRT4577_581326C.1	388 - 408	*Zea mays*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1966**	MRT4577_590710C.1	509 - 529	*Zea mays*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1967**	MRT4577_613242C.1	18 - 38	*Zea mays*	
Alvo miR444	Alvo miR444	**1968**	MRT4577_672581C.1	430 - 450	*Zea mays*	
miRNA	miR528	**1969**			*Zea mays*	
Alvo miR528	SOD	**1970**			*Zea mays*	
Atrator	Atrator miR528	**1971**			Constructo artificial	Rendimento melhorado*

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR528	Proteína de ligação do ácido salicílico	**1972**	MRT3847_26249C.5	98 - 118	*Glycine max*	
Alvo miR528	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1973**	MRT4513_36138C.1	838 - 858	*Hordeum vulgare*	
Alvo miR528	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1974**	MRT4513_39686C.1	35 - 55	*Hordeum vulgare*	
Alvo miR528	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1975**	MRT4513_5560C.1	506 - 525	*Hordeum vulgare*	
Alvo miR528	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1976**	MRT4530_128077C.2	269 - 289	*Oryza sativa*	
Alvo miR528	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1977**	MRT4530_139238C.4	2152 - 2172	*Oryza sativa*	
Alvo miR528	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1978**	MRT4530_155994C.3	247 - 267	*Oryza sativa*	
Alvo miR528	Proteína tipo VIP2; PHD dedo de zinco	**1979**	MRT4530_237311C.1	632 - 652	*Oryza sativa*	
Alvo miR528	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1980**	MRT4530_275240C.1	24 - 44	*Oryza sativa*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR528	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1981**	MRT4530_68465C.5	687 - 706	*Oryza sativa*	
Alvo miR528	Proteína tipo VIP2; PHD dedo de zinco	**1982**	MRT4530_85016C.5	215 - 235	*Oryza sativa*	
Alvo miR528	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1983**	MRT4558_8881C.1	101 - 121	*Sorghum bicolor*	
Alvo miR528	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1984**	MRT4565_204482C.1	212 - 231	*Triticum aestivum*	
Alvo miR528	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1985**	MRT4565_219247C.1	923 - 943	*Triticum aestivum*	
Alvo miR528	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1986**	MRT4565_22497C.4	806 - 826	*Triticum aestivum*	
Alvo miR528	Superfamília de facilitador principal	**1987**	MRT4565_260315C.1	584 - 604	*Triticum aestivum*	
Alvo miR528	Lacase (Difenol oxidase); plantocianina multicobre oxidase	**1988**	MRT4565_276632C.1	219 - 239	*Triticum aestivum*	
Alvo miR528	Alvo miR528	**1989**	MRT4565_278866C.1	412 - 432	*Triticum aestivum*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR528	Lacase (Difenol oxidase); planto-cianina multicobre oxidase	**1990**	MRT4565_6214C.4	548 - 567	*Triticum aestivum*	
Alvo miR528	Lacase (Difenol oxidase); planto-cianina multicobre oxidase	**1991**	MRT4577_302078C.5	115 - 135	*Zea mays*	
Alvo miR528	Lacase (Difenol oxidase); planto-cianina multicobre oxidase	**1992**	MRT4577_327865C.2	163 - 183	*Zea mays*	
Alvo miR528	Lacase (Difenol oxidase); planto-cianina multicobre oxidase	**1993**	MRT4577_338803C.6	189 - 209	*Zea mays*	
Alvo miR528	Alvo miR528	**1994**	MRT4577_574203C.1	48 - 68	*Zea mays*	
miRNA	miR827	**1995**			*Zea mays*	
Alvo miR827	Proteína contendo o domínio SPX (SYG1/Pho81/XPR1); ubiquitina ligase do domínio RING	**1996**	MRT3702_118660C.4	258 - 278	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR827	Proteína contendo o domínio SPX (SYG1/Pho81/XPR1); MFS_1; ubiquitina ligase do domínio RING	**1997**	MRT3702_165543C.2	253 - 273	*Arabidopsis thaliana*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR827	Proteína contendo o domínio SPX (SYG1/Pho81/XPR1); MFS_1: Superfamília de facilitador principal	**1998**	MRT3702_4781C.6	153 - 173	*Arabidopsis thaliana*	
Alvo miR827	Proteína contendo o domínio SPX (SYG1/Pho81/XPR1); MFS_1ubiquitina ligase do domínio RING	**1999**	MRT3708_29390C.1	32 - 52	*Brassica napus*	
Alvo miR827	Alvo miR827	**2000**	MRT3711_10064C.1	155 - 175	*Brassica rapa*	
Alvo miR827	Proteína contendo o domínio SPX (SYG1/Pho81/XPR1)	**2001**	MRT3712_6456C.1	96 - 116	*Brassica oleracea*	
Alvo miR827	Proteína contendo o domínio SPX (SYG1/Pho81/XPR1); MFS_1: Superfamília de facilitador principal	**2002**	MRT4530_236774C.2	395 - 415	*Oryza sativa*	
Alvo miR827	Proteína contendo o domínio SPX (SYG1/Pho81/XPR1); MFS_1: Superfamília de facilitador principal	**2003**	MRT4530_45193C.6	335 - 355	*Oryza sativa*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR827	Alvo miR827	**2004**	MRT4577_197256C.1	135 - 155	*Zea mays*	
Alvo miR827	Alvo miR827	**2005**	MRT4577_235663C.3	559 - 579	*Zea mays*	
miRNA	miR-COP1_1227-1247	**2006**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
miRNA	miR-COP1_653-673	**2007**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
miRNA	miR-COP1_1417-1437	**2008**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo miR-COP1	COP1 (fotomorfogênese constitutiva 1)	**2009**			*Zea mays*	
miRNA	miRGA2_945-965	**2010**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo miR-GA2	zm-GA2ox (ácido giberélico 2 oxidase)	**2011**			*Zea mays*	
miRNA	miR-GA20_852-872	**2012**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo miR-GA20	zm-GA2ox (ácido giberélico 20 oxidase)	**2013**			*Zea mays*	
miRNA	mi-RHB2-4_700-720	**2014**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo mi-RHB2-4	ZmHB2-4 (homeobox 2 e homeobox 4)	**2015**			*Zea mays*	
miRNA	miRHB4_84-104	**2016**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo mi-RHB4	ZmHB-4 (homeobox 4)	**2017**			*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
miRNA	miRLG1_899-919	**2018**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo miR-LG1	LG1 (Liguleless1)	**2019**			*Zea mays*	
miRNA	miRMON18	**2020**			*Glycine max*	
Alvo miR-MON18	SPX (Domínio SYG1, PHO81 e XPR1; Entrada PFAM PF03105 em www.sanger.ac.uk)	**2021**			*Zea mays*	
Atrator	Atrator miR-MON18	**2022**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Precursor de miRNA (sintético)	miRVIM1a	**2023**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo miR-VIM1a	VIM1a (Variante na metilação 1a)	**2024**			*Zea mays*	
Precursor de miRNA (sintético)	miRDHS1	**2025**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo miR-DHS1	DHS1 (desoxiipusina sintase)	**2026**			*Zea mays*	
Precursor de miRNA (sintético)	miRDHS2	**2027**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo miR-DHS2	DHS2 (desoxiipusina sintase)	**2028**			*Zea mays*	
Precursor de miRNA (sintético)	miRDHS3	**2029**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Alvo miR-DHS3	DHS3 (desoxiipusina sintase)	**2030**			*Zea mays*	
Precursor de miRNA (sintético)	miRDHS4	**2031**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo miR-DHS4	DHS4 (desoxiipusina sintase)	**2032**			*Zea mays*	
tasiRNA sintético	DHS5 ta-siRNA	**2033**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo DHS5 ta-siRNA	DHS5 (desoxiipusina sintase)	**2034**			*Zea mays*	
tasiRNA sintético	DHS6 ta-siRNA	**2035**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo DHS6 ta-siRNA	DHS6 (desoxiipusina sintase)	**2036**			*Zea mays*	
tasiRNA sintético	DHS7 ta-siRNA	**2037**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo DHS7 ta-siRNA	DHS7 (desoxiipusina sintase)	**2038**			*Zea mays*	
tasiRNA sintético	DHS8 ta-siRNA	**2039**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo DHS8 ta-siRNA	DHS8 (desoxiipusina sintase)	**2040**			*Zea mays*	
tasiRNA sintético	DHS ta-siRNA	**2041**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo DHS ta-siRNA	DHS (desoxiipusina sintase)	**2042**			*Zea mays*	
Precursor de miRNA (sintético)	miRCRF_804-824	**2043**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo miR-CRF	CRF (dedo RING de milho; também RNF169)	**2044**			*Zea mays*	

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Precursor de miRNA	miRMON18	**2045**			*Zea mays*	Rendimento melhorado*
Alvo miRMON18	SPX	**2046**			*Zea mays*	
Precursor de miRNA (sintético)	miRZmG1543a	**2047**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo miRZmG1543a	ZmG1543a (ortólogo do milho de homeobox de *Arabidopsis thaliana* 17)	**2048**			*Zea mays*	
Precursor de miRNA (sintético)	miRZmG1543	**2049**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo miRZmG1543	ZmG1543a (ortólogo do milho de homeobox de Arabidopsis thaliana 17)	**2050**			*Zea mays*	
Precursor de miRNA (sintético)	miRZmG1543b	**2051**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo miRZmG1543b	ZmG1543b (ortólogo do milho de homeobox de Arabidopsis thaliana 17)	**2052**			*Zea mays*	
Precursor de miRNA (sintético)	miRHB2	**2053**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo miRHB2	HB2 (homeobox 2)	**2054**			*Zea mays*	
Precursor de miRNA	Os.MIR169g	**2055**			*Oryza sativa*	Rendimento melhorado*

Tipo de Constructo	Nome	SEQ ID Nº:	ID do Gene	Posição do Nucleotídeo	Organismo de Origem	Razão para a transformação da planta*
Precursor de miRNA	Zm.MIR167g	**2056**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Precursor de miRNA (sintético)	miRGS3	**2057**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo miRGS3	GS3 (tamanho do grão 3)	**2058**			*Zea mays*	
Precursor de miRNA (sintético)	Zm_GW2_miR1	**2059**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Precursor de miRNA (sintético)	Zm_GW2_miR2	**2060**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Precursor de miRNA (sintético)	Zm_GW2_miR3	**2061**			Sequência artificial	Rendimento melhorado*
Alvo GW2_miR1/2/3	GW2 (peso do grão2)	**2062**			*Zea mays*	
Precursor de miRNA (sintético)	miR-IPS	**2063**			Constructo artificial	Rendimento melhorado*
Alvo miR-IPS	Zm_2-isopropilamato sintase	**2064**			*Zea mays*	

* Plantas de safra particularmente preferidas são o milho, soja, canola, algodão, alfafa, cana-de-açúcar, beterraba, sorgo e arroz

Exemplo 5

Este exemplo ilustra vários aspectos da invenção relativos a células de plantas transgênicas e plantas transgênicas. Mais especificamente, este exemplo ilustra vetores de transformação e técnicas úteis com plantas de safras diferentes para fornecer células vegetais transgênicas não-naturais, plantas e sementes tendo em seus genomas qualquer um dos constructos de DNA recombinante da invenção transcrevíveis em uma célula

vegetal, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal e operavelmente ligado a pelo menos um polinucleotídeo conforme descrito aqui, incluindo: (1) um constructo de DNA recombinante transcrevível em uma célula vegetal, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal e operavelmente ligado a pelo menos um polinucleotídeo selecionado a partir de: (a) DNA que codifica um bloqueador de clivagem para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**, (b) um DNA que codifica um bloqueador de clivagem 5' modificado para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (c) DNA que codifica um inibidor de tradução para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (d) DNA que codifica um atrator para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**, (e) DNA que codifica um transgene não-responsivo de miRNA com uma sequência de nucleotídeos derivada da sequência de nucleotídeos natural de pelo menos um alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**, onde um sítio de reconhecimento de miRNA na sequência de nucleotídeos natural é eliminado ou, de outro modo, modificado para evitar a clivagem mediada por miRNA; (f) DNA que codifica um precursor de miRNA que é processado em um miRNA para suprimir a expressão de pelo menos um alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (g) DNA que codifica RNA de fita dupla que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de pelo menos um alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; e (h) DNA que codifica um ta-siRNA, que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de pelo menos um alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**; (2) um constructo de DNA recombinante transcrevível em uma célula vegetal, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal e operavelmente ligado a pelo menos um polinucleotídeo selecionado a partir de: (a) DNA que codifica um bloqueador de clivagem para impedir ou diminuir a clivagem mediada por RNA do transcrito de pelo menos um

alvo do miRNA, (b) DNA que codifica um bloqueador de clivagem 5'-modificado para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo do miRNA; (c) DNA que codifica um inibidor de tradução para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo de miRNA, (d) DNA que codifica um atrator para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo do miRNA; (e) DNA que codifica um transgene não-responsivo de miRNA com uma sequência de nucleotídeos derivada da sequência de nucleotídeos natural de pelo menos um alvo de miRNA, onde um sítio de reconhecimento de miRNA na sequência de nucleotídeos natural é eliminado ou, de outro modo, modificado para evitar a clivagem mediada por miRNA; (f) DNA que codifica um precursor de miRNA que é processado em um miRNA para suprimir a expressão de pelo menos um alvo de miRNA; (g) DNA que codifica RNA de fita dupla, que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de pelo menos um alvo do miRNA; e (h) um DNA que codifica um ta-siRNA, que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de pelo menos um alvo do miRNA – em que pelo menos um alvo de miRNA é pelo menos um selecionado do grupo que consiste em um alvo miR156, um alvo miR160, um alvo miR164, um alvo miR166, um alvo miR167, um alvo miR169, um alvo miR171, um alvo miR172, um alvo miR319, um alvo miR395, um alvo miR396, um alvo miR398, um alvo miR399, um alvo miR408, um alvo miR444, um alvo miR528, um alvo miR167g, um alvo miR169g, COP1 (fotomorfogênese constitutiva 1), GA2ox (ácido giberélico 2 oxidase), GA20ox (ácido giberélico 20 oxidase), HB2 (homeobox 2), HB2-4 (homeobox 2 e homeobox 4), HB4 (homeobox 4), LG1 (*liguleless*1), SPX (domínio SYG1, PHO81 e XPR1; entrada PFAM PF03105 em www.sanger.ac.uk), VIM1a (variante na metilação 1a), DHS1 (sintase desoxiupsina), DHS2 (sintase desoxiupsina), DHS3 (sintase desoxiupsina), DHS4 (sintase desoxiupsina), DHS5 (sintase desoxiupsina), DHS6 (sintase desoxiupsina), DHS7 (sintase desoxiupsina), DHS8 (sintase desoxiupsina), CRF (dedo RING de milho; RNF169), G1543a (ortólogo de milho de homeobox de *Arabidopsis thaliana* 17), G1543b (ortólogo

de milho de homeobox 17 de *Arabidopsis thaliana*), GS3 (tamanho de grão 3), e GW2 (peso de grãos 2); (3) um constructo de DNA recombinante transcrevível em uma célula vegetal, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal e operavelmente ligado a pelo menos um polinucleotídeo selecionado do grupo constituído por DNA que codifica uma sequência de nucleotídeos selecionada de **SEQ ID Nos: 1120, 1121, 1122, 1248, 1257, 1313, 1314, 1364, 1387, 1478, 1489, 1490, 1491, 1492, 1493, 1585, 1597, 1598, 1599, 1713 , 1752, 1753, 1801, 1802, 1820, 1927, 1929, 1931, 1971, 2006, 2007, 2008, 2010, 2012, 2014, 2016, 2018, 2022, 2023, 2025, 2027, 2029, 2031, 2033, 2035 , 2037, 2039, 2041, 2043, 2045, 2047, 2049, 2051, 2053, 2055, 2056, 2057, 2059, 2060, 2061 e 2063**; (4) um constructo de DNA recombinante transcrevível em uma célula vegetal, incluindo um promotor funcional na célula vegetal transgênicas não-natural e operavelmente ligado a pelo menos um polinucleotídeo selecionado a partir do DNA que codifica pelo menos, um alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**, e (5) um constructo de DNA recombinante transcrevível em uma célula vegetal, incluindo um promotor funcional nas células vegetais transgênicas não-naturais e operavelmente ligado a pelo menos um polinucleotídeo incluindo uma sequência de DNA selecionada das **SEQ ID Nos: 15-2064**). É evidente que o polinucleotídeo a ser expresso utilizando esses vetores de DNA recombinantes em células, plantas e sementes vegetais transgênicas não-naturais pode codificar um transcrito que impede ou diminui a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3** (incluindo os alvos de miRNA específicos identificados pelo nome, neste parágrafo), ou um transcrito que suprime a expressão de pelo menos um alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3** (incluindo os alvos de miRNA específicos identificadas pelo nome, neste parágrafo) ou um transcrito que codifica pelo menos um alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**, ou que codifica uma sequência de DNA selecionada dentre as **SEQ ID Nos: 15-2064**.

Vetores de Transformação e Protocolos

As seções a seguir descrevem exemplos de um vetor de base

para a preparação de vetores de transformação, incluindo constructos de DNA recombinante desta invenção para a transformação de uma planta de safra específica. Os constructos de DNA recombinante são transcrevíveis em uma célula vegetal e incluem um promotor que é funcional na célula vegetal e operavelmente ligado a pelo menos um polinucleotídeo, que codifica um transcrito que previne ou reduz a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de pelo menos um alvo de miRNA identificados nas **Tabelas 2 ou 3** (incluindo os alvos de miRNA específicos identificados pelo nome, neste parágrafo), ou um transcrito que suprime a expressão de pelo menos um alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3** (incluindo os alvos de miRNA específicos identificadas pelo nome neste parágrafo), ou um transcrito que codifica pelo menos um alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 ou 3**, ou que codifica uma sequência de DNA selecionada dentre as **SEQ ID N^{os}: 15-2064**. São também fornecidos exemplos detalhados de protocolos de transformação específicos de safras para a utilização desses vetores incluindo constructos de DNA recombinante desta invenção para gerar uma célula de planta transgênica não-natural, o tecido transgênico não-natural ou planta transgênica não-natural. Técnicas de transformação adicionais são conhecidas por uma pessoa versada na técnica, conforme refletido em "Compêndio de Plantas de Safra Transgências", editado por Chittaranjan Kole e Timothy C. Hall, Blackwell Publishing Ltd., 2008; ISBN 978-1-405-16924-0 (disponível eletronicamente em mrw.interscience.wiley.com/emrw/9781405181099/hpt/toc). Tais métodos de transformação são úteis na produção de uma célula vegetal transgênica não-natural tendo um núcleo transformado. Plantas, sementes e pólen transgênico não-naturais são subsequentemente produzidos a partir de tal planta transgênica não-natural que tem um núcleo transformado, e testado quanto a uma característica melhorada (por exemplo, rendimento aumentado, eficiência de uso da água melhorada, tolerância ao frio melhorada, eficiência do uso de nitrogênio ou fosfato melhorada, proteína de semente melhorada ou óleo de semente melhorado, ou qualquer característica como aquelas reveladas acima sob o título "Fazendo e Usando Células Vegetais

Transgênicas e Plantas Transgênicas").

Transformação do Milho

Um vetor de transformação de base pMON93039 (**SEQ ID Nº: 2065**), ilustrado na **Tabela 4** e na **Figura 2**, é usado na preparação de constructos de DNA recombinantes para a transformação mediada por *Agrobacterium* de células de milho. Um vetor de transformação para expressar cada um dos constructos de DNA recombinante desta invenção é construído através da inserção de um polinucleotídeo desta invenção no vetor de base pMON93039 (**SEQ ID Nº: 2065**) no gene do cassete de expressão de interesse em um sítio de inserção, isto é, entre o elemento íntron (coordenadas 1287-1766) e o elemento de poliadenilação (coordenadas 1838-2780). Por exemplo, um vetor de transformação para a expressão de um bloqueador de clivagem miR399 é preparado mediante a inserção do DNA da **SEQ ID Nº: 1802** (ver Tabela 3) no cassete de expressão do gene de interesse em um sítio de inserção entre o elemento íntron (coordenadas 1287-1766) e o elemento de poliadenilação (coordenadas 1838-2780) de pMON93039 (**SEQ ID Nº: 2065**).

Para a transformação mediada por *Agrobacterium* de células embrionárias de milho, as plantas de milho de uma linhagem transformável são cultivadas na estufa e as espigas são colhidas quando os embriões tem 1,5 a 2,0 mm de comprimento. As espigas têm a superfície esterilizada por pulverização ou imersão das espigas em etanol 80%, seguido por secagem ao ar. Embriões imaturos são isolados de núcleos individuais das espigas esterilizadas. Antes da inoculação de células de milho, culturas de *Agrobacterium*, cada uma contendo um vetor de transformação para expressar cada um dos constructos de DNA recombinante desta invenção crescem durante a noite em temperatura ambiente. As células imaturas embrionárias de milho são inoculadas com *Agrobacterium* após a excisão, incubadas em temperatura ambiente com a *Agrobacterium* por 5 a 20 minutos e, em seguida, co-cultivadas com *Agrobacterium* por 1 a 3 dias a 23 graus Celsius no escuro. Os embriões co-cultivados são transferidos para um meio de seleção e cultivados por cerca de duas semanas para permitir que calos embriogêni-

cos se desenvolvam. Os calos embriogênicos são transferidos para um meio de cultura contendo 100 mg/L de paromomicina e subcultivadas em intervalos de cerca de duas semanas. Vários eventos de células vegetais transformadas são recuperados de 6 a 8 semanas após o início da seleção.

Plantas de milho transgênicos são regeneradas a partir de calos de células vegetais transgênicas para cada um dos vários eventos transgênicos resultantes da transformação e seleção. Os calos de células de plantas transgênicas de cada evento são colocados em um meio de iniciar o desenvolvimento do broto e da raiz nas plantículas que são transferidas para solo de vaso para o crescimento inicial em uma câmara de crescimento a 26 graus Celsius, seguido de crescimento em uma bancada de nebulização antes do transplante para vasos, onde as plantas são cultivadas até a maturidade. As plantas regeneradas são auto-fertilizadas. As sementes de primeira geração ("R1") são coletadas. As sementes ou plantas que crescem a partir da semente são usadas para selecionar sementes, mudas, progenia de plantas transgênicas de segunda geração ("R2") ou híbridos, por exemplo, selecionando plantas transgênicas que exibem uma característica melhorada em relação a uma planta de controle (uma planta sem expressão do constructo de DNA recombinante).

O processo acima é repetido para a produção de vários eventos de células de plantas de milho transgênicas que são transformadas com constructo de DNA recombinante separados desta invenção, isto é, um constructo transcrevível em uma célula de planta de milho, incluindo um promotor que é funcional na célula de planta de milho e operavelmente ligado a cada polinucleotídeo selecionado a partir de: (a) DNA que codifica uma bloqueador de clivagem para impedir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de cada alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (b) DNA que codifica um bloqueador de clivagem 5'-modificado para evitar ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de cada alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (c) DNA que codifica um inibidor de tradução para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de cada miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (d)

DNA que codifica um atrator para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de cada alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (e) DNA que codifica um transgene não-responsivo ao miRNA com uma sequência de nucleotídeos derivada da sequência de nucleotídeos natural de cada miRNA identificado nas **Tabelas 2 e** 3, em que um sítio de reconhecimento do miRNA na sequência de nucleotídeos natural é eliminado ou, de outro modo, modificado para evitar a clivagem mediada por miRNA; (f) DNA que codifica um precursor do miRNA que é processado em um miRNA para supressão da expressão de pelo menos um alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (g) DNA que codifica RNA de fita dupla que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de cada alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; e (h) DNA que codifica um ta-siRNA, que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de cada alvo de miRNA nas **Tabelas 2 e 3**.

O processo acima é repetido para produzir vários eventos de células de plantas de milho transgênicas que são transformadas com cada um dos seguintes constructos de DNA recombinante desta invenção, isto é, um constructo transcrevível em uma célula vegetal de milho, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal de milho e operavelmente ligado a um polinucleotídeo selecionado a partir de: (a) DNA que codifica um bloqueador de clivagem para impedir ou diminuir a clivagem mediada por RNA do transcrito do alvo do miRNA; (b) um DNA que codifica um bloqueador de clivagem 5'-modificado para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito do alvo do miRNA, (c) DNA que codifica um inibidor de tradução para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito do alvo do miRNA; (d) DNA que codifica um atrator para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito do alvo do miRNA; (e) DNA que codifica o transgene não-responsivo do miRNA com uma sequência de nucleotídeos derivada a partir da sequência de nucleotídeos natural do alvo do miRNA, onde um sítio de reconhecimento do miRNA na sequência de nucleotídeos natural é eliminado ou, de outro modo, modificado para evitar a clivagem mediada por miRNA; (f) DNA que

codifica um precursor de miRNA que é processado em um miRNA para supressão da expressão do alvo do miRNA; (g) DNA que codifica um RNA de fita dupla que é processado em siRNAs para suprimir a expressão do alvo do miRNA e (h) DNA que codifica um ta siRNA, que é processado em siRNAs para suprimir a expressão do alvo de miRNA – em que os constructos separados são feitos para cada um dos alvos de miRNA enumerados na **Tabela 5**.

O processo acima é repetido para a produção de vários eventos de células de plantas de milho transgênicas que são transformadas com cada um dos seguintes constructos de DNA recombinante desta invenção, isto é, um constructo transcrevível em uma célula vegetal de milho, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal de milho e operavelmente ligado a cada polinucleotídeo apresentado na **Tabela 6**, onde os constructos separado são feitos para cada polinucleotídeo.

O processo é repetido para a produção de vários eventos de células vegetais de milho transgênicas que são transformadas com cada um dos seguintes constructos de DNA recombinante desta invenção, isto é, um constructo transcrevível em uma célula vegetal de milho, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal e operavelmente ligado a um polinucleotídeo selecionado a partir de DNA que codifica cada alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**.

O processo acima é repetido para a produção de vários eventos de células vegetais de milho transgênicas que são transformadas com cada um dos seguintes constructos de DNA recombinante desta invenção, isto é, um constructo transcrevível em uma célula vegetal de milho, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal e operavelmente ligado a cada polinucleotídeo das **SEQ ID N^{os}: 15-2064**.

As plantas de milho transgênico regeneradas, ou as plantas de milho transgênico de progenia ou sementes de milho, produzido a partir das plantas de milho transgênico regeneradas são testadas em relação a uma característica melhorada (por exemplo, rendimento aumentado), em comparação com uma planta ou semente de controle (uma planta ou semente sem

expressão do constructo de DNA recombinante). De cada grupo de vários eventos de plantas de milho transgênicas com um constructo recombinante específico desta invenção, o evento que produz a maior característica melhorada (por exemplo, o maior aumento no rendimento) é identificado e a semente de milho de progenia é selecionada para o desenvolvimento comercial.

Tabela 4

Função	**Nome**	**Anotação**	**Coordenadas da SEQ ID Nº: 2065**
Transferência de T-DNA de Agrobacterium	B-AGRtu.right border	Sequência limite direita Agro, essencial para a transferência de T-DNA.	11364-11720
Gene do cassete de expressão de interesse	E-Os.Act1	Região promotora à montante do gene de actina de arroz 1	19-775
	E-CaMV.35S.2xA1-B3	Domínio 35S A1-B3 duplicado sem TATA box	788-1120
	P-Os.Act1	Região promotora do gene de actina de arroz 1	1125-1204
	L-Ta.Lhcb1	Líder 5' não-traduzido de proteína de ligação à clorofila a/b principal do trigo	1210-1270
	I-Os.Act1	Sequências do primeiro íntron e do éxon UTR flanqueador do gene da actina de arroz 1	1287-1766
	T-St.Pis4	Região não-traduzida 3' do gene inibidor da proteinase de batata II que funciona para direcionar a poliadenilação do RNAm	1838-2780
Cassete de expressão do marcador selecionável vegetal	P-Os.Act1	Promotor do gene de actina de arroz 1	2830-3670
	L-Os.Act1	Primeiro éxon do gene de actina de arroz 1	3671-3750

Tabela 4(continuação)

	I-Os.Act1	Sequências do primeiro íntron e éxon UTR flanqueado do gene de actina de arroz 1	3751-4228
	TS-At.ShkG-CTP2	Região do peptídeo e de trânsito de *Arabidopsis* EPSPS	4238-4465
	CR-AGRtu.aroA-CP4.nat	Região de codificação para o gene aro A natural da cepa bacteriana CP4	4466-5833
	T-AGRtu.nos	Uma região 3' não-traduzida do gene da nopalina sintase do plasmídeo Ti de *Agrobacterium tumefaciens* que funciona para direcionar a poliadenilação do RNAm.	5849-6101
Transferência de T-DNA de *Agrobacterium*	B-AGRtu.left border	Sequência da margem esquerda de Agro, essencial para a transferência de T-DNA.	6168-6609
Manutenção em *E. coli*	OR-Ec.oriV-RK2	A origem de replicação vegetativa do plasmídeo RK2	6696-7092
	CR-Ec.rop	Região codificadora para o repressor do iniciador do plasmídeo ColE1. A expressão desse produto gênico interfere com a ligação do iniciador na origem de replicação, mantendo o número de cópias de plasmídeos baixo.	8601-8792
	OR-Ec.ori-ColE1	A origem mínima da replicação do plasmídeo de *E. coli* ColE1.	9220-9808
	P-Ec.aadA-SPC/STR	Promotor para Tn7 adenililtransferase (AAD(3"))	10339-10380
	CR-Ec.aadA-SPC/STR	Região codificadora para Tn7 adenililtransferase (AAD(3")) conferindo resistência à espectinomicina e estreptomicina.	10381-11169
	T-Ec.aadA-SPC/STR	3' UTR do gene adenililtransferase Tn7 (AAD(3")) de *E. coli*.	11170-11227

Tabela 5: Alvos de Mirna

um alvo miR156, um alvo miR160, um alvo miR164, um alvo miR166, um alvo miR167, um alvo miR169, um alvo miR171, um alvo miR172, um alvo miR319, miR395, um alvo miR396, um alvo um alvo miR398, um alvo miR399, um alvo miR408, um alvo miR444, um alvo miR528, um alvo miR167g, um alvo miR169g, COP1 (fotomorfogênese 1 constitutiva), GA2ox (ácido giberélico 2 oxidase), GA20ox (ácido giberélico 20 oxidase), HB2 (homeobox 2), HB2-4 (homeobox 2 e homeobox 4), HB4 (homeobox 4), LG1 (*liguleless*1), SPX (domínio SYG1, PHO81 e XPR1; entrada PFAM PF03105 em www.sanger.ac.uk), VIM1a (variante na metilação 1a), DHS1 (desoxiipusina sintase), DHS2 (desoxiipusina sintase), DHS3 (desoxiipusina sintase), DHS4 (desoxiipusina sintase), DHS5 (desoxiipusina sintase), DHS6 (desoxiipusina sintase), DHS7 (desoxiipusina sintase), DHS8 (desoxiipusina sintase), CRF (dedo RING de milho; RNF169), G1543a (ortólogo de milho de homeobox 17 de *Arabidopsis thaliana*), G1543b (ortólogo de milho de homeobox 17 de *Arabidopsis thaliana*), GS3 (tamanho de grão 3), e GW2 (peso de grãos 2);

Tabela 6: Polinucleotídeos Expressos pelos Constructos desta Invenção

SEQ ID Nºs: 1120, 1121, 1122, 1248, 1257, 1313, 1314, 1364, 1387, 1478, 1489, 1490, 1491, 1492, 1493, 1585, 1597, 1598, 1599, 1713, 1752, 1753, 1801, 1802, 1820, 1927, 1929, 1931, 1971, 2006, 2007, 2008, 2010, 2012, 2014, 2016, 2018, 2022, 2023, 2025, 2027, 2029, 2031, 2033, 2035, 2037, 2039, 2041, 2043, 2045, 2047, 2049, 2051, 2053, 2055, 2056, 2057, 2059, 2060, 2061 e 2063

Transformação de Soja

Um vetor de transformação de base pMON82053 (**SEQ ID Nº: 2066**), ilustrado na **Tabela 7** e **Figura 3**, é utilizado na preparação dos constructos de DNA recombinante desta invenção para a transformação mediada por *Agrobacterium* em células ou tecidos de soja. Para construir um vetor de transformação para expressar qualquer um dos construtos de DNA recombinantes desta invenção, nucleotídeos codificando pelo menos o polinucleo-

tídeo são inseridos no vetor de base pMON82053 (**SEQ ID Nº: 2066**) no gene do cassete de expressão de interesse em um sítio de inserção, isto é, entre o elemento promotor (coordenadas 1-613) e o elemento de poliadenilação (coordenadas 688-1002). Por exemplo, um vetor de transformação para a expressão de um bloqueador de clivagem miR399 é preparado mediante a inserção do DNA da **SEQ ID Nº: 1802** (ver Tabela 3) no cassete de expressão do gene de interesse em um sítio de inserção entre o elemento promotor (coordenadas 1-613) e o elemento de poliadenilação (coordenadas 688-1002) de pMON82053 (**SEQ ID Nº: 2066**).

Para a transformação mediada por *Agrobacterium*, sementes de soja são embebidas durante a noite e os explantes de meristemas retirados e colocados num recipiente lesivo. Culturas de células de Agrobacterium induzidas cada uma contendo um vector de transformação para a expressão de cada um dos construtos de DNA recombinantes desta invenção são misturados com explantes preparados. Os explantes inoculados são lesados com ultra-som, colocado em co-cultura por 2 a 5 dias e transferidos para o meio de seleção por 6 a 8 semanas para permitir a seleção e o crescimento de brotos transgênicos. Brotações resistentes são colhidos em aproximadamente 6 a 8 semanas e colocados em meios de enraizamento seletivo por 2 a 3 semanas. Mudas produzindo brotos são transferidas para a estufa e colocadas em solo de vaso.

O processo acima é repetido para a produção de múltiplos eventos de células vegetais de soja transgênicas que são transformadas com constructos de DNA recombinante separado desta invenção, isto é, um constructo que se pode transcrever em uma célula vegetal de soja, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal de soja e operavelmente ligado a cada polinucleotídeo selecionado a partir de: (a) DNA que codifica um bloqueador de clivagem para impedir ou diminuir a clivagem mediada por RNA do transcrito de cada alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (b) DNA que codifica um bloqueador de clivagem 5'-modificado para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de cada alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (c) DNA que codifica um inibidor de

tradução para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de cada alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (d) DNA que codifica um atrator para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de cada alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (e) DNA que codifica o transgene não-responsivo do miRNA com uma sequência de nucleotídeos derivada a partir da sequência de nucleotídeos natural de cada alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3,** onde um sítio de reconhecimento do miRNA na sequência de nucleotídeos natural é eliminado ou, de outro modo, modificado para evitar a clivagem mediada por miRNA; (f) DNA que codifica um precursor de miRNA que é processado em um miRNA para supressão da expressão do alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (g) DNA que codifica um RNA de fita dupla que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de cada alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e** 3; e (h) DNA que codifica um ta siRNA, que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de cada alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**.

O processo acima é repetido para a produção de vários eventos de células vegetais de soja transgênica da planta que são transformadas com cada um dos seguintes constructos de DNA recombinante desta invenção, isto é, um constructo que se pode transcrever em uma célula vegetal de soja, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal de soja e operavelmente ligado a um polinucleotídeo selecionado a partir de: (a) DNA que codifica um bloqueador de clivagem para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito do alvo de miRNA; (b) um DNA que codifica um bloqueador de clivagem 5'-modificado para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito do alvo de miRNA; (c) um DNA que codifica um inibidor de tradução para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito do alvo de miRNA; (d) DNA que codifica um atrator para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito do alvo de miRNA; (e) DNA que codifica um transgene não-responsivo ao miRNA com uma sequência de nucleotídeos derivada da sequência de nucleotídeos natural do alvo de miRNA, onde um

sítio de reconhecimento de miRNA na sequência de nucleotídeos natural é suprimido ou, de outra forma, modificado para evitar a clivagem mediada por miRNA; (f) DNA que codifica um precursor de miRNA que é processado em um miRNA para supressão da expressão do alvo do miRNA; (g) DNA que codifica um RNA fita dupla que é processado em siRNAs para suprimir a expressão do alvo de miRNA; e (h) DNA que codifica um ta-siRNA que é processado em siRNAs para suprimir a expressão do alvo de miRNA – em que constructos separados são feitos para cada um dos alvos de miRNA enumerados na **Tabela 5**.

O processo acima é repetido para a produção de vários eventos de células vegetais de soja transgênica que são transformadas com cada um dos seguintes constructos de DNA recombinante desta invenção, isto é, um constructo transcrevível em uma célula vegetal de soja, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal de soja e operavelmente ligado a cada polinucleotídeo apresentado na **Tabela 6**, onde constructos separados são feitos para cada polinucleotídeo.

O processo acima é repetido para a produção de múltiplos eventos de células vegetais de soja transgênica que são transformadas com cada um dos seguintes constructos de DNA recombinante desta invenção, isto é, um constructo que se pode transcrever em uma célula vegetal de soja, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal e operavelmente ligado a um polinucleotídeo selecionado a partir de DNA codificando cada alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**.

O processo acima é repetido para a produção de vários eventos de células vegetais de soja transgênica que são transformadas com cada um dos seguintes constructos de DNA recombinante desta invenção, isto é, um constructo que se pode transcrever em uma célula vegetal de soja, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal e operavelmente ligados a cada um polinucleotídeo das SEQ ID N^{os}: 15-2064.

As plantas de soja transgênicas regeneradas, ou plantas de soja transgênicas da progenia ou sementes de soja, produzidas a partir das plantas de soja transgênicas regeneradas, são testadas para uma caracte-

rística melhorada (por exemplo, rendimento aumentado), em comparação com uma planta ou semente de controle (uma planta ou sementes sem expressão do constructo de DNA recombinante). De cada grupo de eventos múltiplos de plantas de soja transgênicas com um constructo recombinante específico desta invenção, o evento que produz a maior característica intensificada (por exemplo, o maior aumento no rendimento) é identificado e as sementes de soja da progenia são selecionadas para o desenvolvimento comercial.

Transformação da Canola

Um vetor de transformação de base pMON82053 (**SEQ ID Nº: 2066**), ilustrado na **Tabela 7** e **Figura 3**, é utilizado na preparação de constructos de DNA recombinante da presente invenção para a transformação mediada por *Agrobacterium* em células ou tecidos de canola. Para construir um vetor de transformação para expressar qualquer um dos construtos de DNA recombinantes desta invenção, nucleotídeos codificando pelo menos um polinucleotídeo é inserido no vetor de base pMON82053 (**SEQ ID Nº: 2066**) no gene do cassete de expressão de interesse em um sítio de inserção, isto é, entre o elemento promotor (coordenadas 1-613) e o elemento de poliadenilação (coordenadas 688-1002). Por exemplo, um vetor de transformação para a expressão de um bloqueador de clivagem miR399 é preparado mediante a inserção do DNA da **SEQ ID Nº: 1802** (ver Tabela 3) no gene do cassete de expressão de interesse em um local de inserção entre o elemento promotor (coordenadas 1-613) e o elemento de poliadenilação (coordenadas 688-1002) de pMON82053 (**SEQ ID Nº: 2066**).

Culturas que crescem de um dia para o outro de células *Agrobacterium*, cada uma contendo um vetor de transformação para expressar cada um dos constructos de DNA recombinante desta invenção são usados para inocular tecidos de mudas de canola cultivadas *in vitro*. Após o co-cultivo com *Agrobacterium*, os tecidos infectados são cultivados na seleção para promover o crescimento de brotos transgênicos, seguido pelo crescimento de raízes a partir dos brotos transgênicos, colocação em vasos das plantículas selecionadas no solo, e a transferência das plantas nos vasos

para a estufa. A caracterização molecular é realizada para confirmar a presença de um constructo de DNA recombinante desta invenção e sua expressão em plantas transgênicas.

O processo acima é repetido para a produção de vários eventos de células de canola transgênica que são transformadas com constructos de DNA recombinantes separados desta invenção, isto é, um constructo transcrevível em uma célula vegetal de canola, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal de canola e operavelmente ligado a cada polinucleotídeo selecionada a partir de: (a) um DNA que codifica um bloqueador de clivagem para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de cada alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (b) DNA que codifica um bloqueador de clivagem 5'-modificado para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de cada alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (c) DNA que codifica um inibidor de tradução para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de cada alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (d) DNA que codifica um atrator para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de cada alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (e) DNA que codifica o transgene não-responsivo do miRNA com uma sequência de nucleotídeos derivada a partir da sequência de nucleotídeos natural de cada alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3,** onde um sítio de reconhecimento do miRNA na sequência de nucleotídeos natural é eliminado ou, de outro modo, modificado para evitar a clivagem mediada por miRNA; (f) DNA que codifica um precursor de miRNA que é processado em um miRNA para supressão da expressão de cada alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (g) DNA que codifica um RNA de fita dupla que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de cada alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e** 3; e (h) DNA que codifica um ta siRNA, que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de cada alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**.

O processo acima é repetido para a produção de vários eventos de células vegetais de canola transgênicas, que são transformadas com ca-

da um dos seguintes constructos de DNA recombinante desta invenção, isto é, um constructo que se pode transcrever na célula de planta de canola, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal de canola e operavelmente ligados a um polinucleotídeo selecionada a partir de: (a) DNA que codifica um bloqueador de clivagem para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito do alvo do miRNA, (b) um DNA que codifica um bloqueador de clivagem 5'-modificado para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito do alvo de miRNA; (c) um DNA que codifica um inibidor de tradução para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito do alvo de miRNA; (d) DNA que codifica um atrator para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito do alvo de miRNA; (e) DNA que codifica um transgene não-responsivo ao miRNA com uma sequência de nucleotídeos derivada da sequência de nucleotídeos natural do alvo de miRNA, onde um sítio de reconhecimento de miRNA na sequência de nucleotídeos natural é suprimido ou, de outra forma, modificado para evitar a clivagem mediada por miRNA; (f) DNA que codifica um precursor de miRNA que é processado em um miRNA para supressão da expressão do alvo do miRNA; (g) DNA que codifica um RNA fita dupla que é processado em siRNAs para suprimir a expressão do alvo de miRNA; e (h) DNA que codifica um ta-siRNA que é processado em siRNAs para suprimir a expressão do alvo de miRNA – em que constructos separados são feitos para cada um dos alvos de miRNA enumerados na **Tabela 5**.

O processo acima é repetido para a produção de vários eventos de células vegetais de canola transgênica que são transformadas com cada um dos seguintes constructos de DNA recombinante desta invenção, isto é, um constructo transcrevível em uma célula vegetal de soja, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal de canola e operavelmente ligado a cada polinucleotídeo apresentado na **Tabela 6**, onde constructos separados são feitos para cada polinucleotídeo.

O processo acima é repetido para a produção de múltiplos eventos de células vegetais de canola transgênicas que são transformadas

com cada um dos seguintes constructos de DNA recombinante desta invenção, isto é, um constructo que se pode transcrever em uma célula vegetal de canola, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal e operavelmente ligado a um polinucleotídeo selecionado a partir de DNA codificando cada alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**.

O processo acima é repetido para a produção de vários eventos de células vegetais de canola transgênicas que são transformadas com cada um dos seguintes constructos de DNA recombinante desta invenção, isto é, um constructo que se pode transcrever em uma célula vegetal de canola, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal e operavelmente ligado a cada polinucleotídeo das **SEQ ID Nº^{S}: 15-2064**.

As plantas de canola transgênicas regeneradas, ou plantas de canola transgênicas da progenia ou sementes de canola, produzidas a partir das plantas de canola transgênicas regeneradas, são testadas para uma característica melhorada (por exemplo, rendimento aumentado), em comparação com uma planta ou semente de controle (uma planta ou semente sem expressão do constructo de DNA recombinante). De cada grupo de eventos múltiplos de plantas de canola transgênicas com um constructo recombinante específico desta invenção, o evento que produz a maior característica intensificada (por exemplo, a maior melhora no rendimento) é identificado e as sementes de canola da progenia são selecionadas para o desenvolvimento comercial.

Transformação de Algodão

Um vetor de transformação de base pMON99053 (**SEQ ID Nº: 2067**), ilustrado na **Tabela 8** e na **Figura 4**, é usada na preparação de constructos de DNA recombinante desta invenção para a transformação mediada por *Agrobacterium* em células ou tecidos de milho. Para construir um vetor de transformação para expressar qualquer um dos construtos de DNA recombinante desta invenção, nucleotídeos codificando pelo menos um polinucleotídeo são inseridos no vetor de base pMON99053 (**SEQ ID Nº: 2067**) no gene do cassete de expressão de interesse em um sítio de inserção, isto é, entre o elemento promotor (coordenadas 388-1091) e o elemento de poli-

adenilação (coordenadas 1165-1791).

Métodos para transformação de algodão são conhecidos na técnica, ver, por exemplo, as técnicas descritas nas Publicações do Pedido de Patente U.S. 2004/0087030A1 2008/0256667A1, 2008/0280361A1 e 2009/0138985A1, que são incorporados por referência. Em um exemplo de um protocolo de transformação de algodão, sementes de genótipos de algodoeiro transformáveis (por exemplo, sem néctar, DP393, OOSO4, 07W610F, STN474, Delta Pearl, DP5415, SureGrow501 ou SureGrow747) tem as superfícies esterilizadas, rinsadas e hidratadas em meio CSM (contendo carbenicilina, cefotaxima, Bravo e Captan 50) por 14 a 42 horas no escuro. Explantes meristemáticos são processados a partir de sementes, conforme descrito nas Publicações de Pedido de Patente U.S. 2008/0256667A1. As culturas de células de *Agrobacterium* contendo cada uma um vector de transformação para expressar cada um dos constructo de DNA recombinante desta invenção são usados para inocular os explantes utilizando ultra-som. O inóculo é removido e os explantes inoculados transferidos em meio INO e incubados por 2 a 5 dias, usando um fotoperíodo de luz de 16 horas. Após o co-cultivo, os explantes são transferidos para meio de seleção semi-sólido (Meio Vegetal Lenhoo Lloyd & McCown modificado suplementado com 200 mg/L de cefotaxima, 200 mg/L de carbenicilina e 100-200 mg/L de espectinomicina), com ou sem reguladores de crescimento vegetal ou outros aditivos para promover a formação e o crescimento de brotos múltiplos. Os explantes são cultivados em um fotoperíodo de luz de 16 horas. Depois de 4 a 6 semanas no meio de seleção aqueles explantes que desenvolveram mudas verdes são transferidos para plugues e colocados em meio líquido contendo 0,25 mg/L de AIB para o enraizamento e crescimento dos brotos sob as abóbadas de plástico por 3 a 4 semanas. Os tecidos são analisados para a caracterização molecular de um ou mais métodos de análise molecular (por exemplo, PCR, ou Southern blots).

O processo acima é repetido para a produção de vários eventos de células vegetais transgênicas de algodão que são transformadas com constructos de DNA recombinantes separados desta invenção, isto é, um

constructo que se pode transcrever em uma célula vegetal de algodoeiro, incluindo um promotor que é funcional na célula de planta de algodão e operavelmente ligado a cada polinucleotídeo selecionado a partir de: (a) um DNA que codifica um bloqueador de clivagem para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de cada alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (b) DNA que codifica um bloqueador de clivagem 5'-modificado para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de cada alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (c) DNA que codifica um inibidor de tradução para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de cada alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (d) DNA que codifica um atrator para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de cada alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (e) DNA que codifica o transgene não-responsivo do miRNA com uma sequência de nucleotídeos derivada a partir da sequência de nucleotídeos natural de cada alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3,** onde um sítio de reconhecimento do miRNA na sequência de nucleotídeos natural é eliminado ou, de outro modo, modificado para evitar a clivagem mediada por miRNA; (f) DNA que codifica um precursor de miRNA que é processado em um miRNA para supressão da expressão de cada alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (g) DNA que codifica um RNA de fita dupla que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de cada alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e** 3; e (h) DNA que codifica um ta siRNA, que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de cada alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**.

O processo acima é repetido para a produção de vários eventos de células vegetais de algodão transgênicas, que são transformadas com cada um dos seguintes constructos de DNA recombinante desta invenção, isto é, um constructo que se pode transcrever na célula de planta de algodão, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal de algodão e operavelmente ligado a um polinucleotídeo selecionada a partir de: (a) DNA que codifica um bloqueador de clivagem para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito do alvo do miRNA, (b) um DNA que

codifica um bloqueador de clivagem 5'-modificado para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito do alvo de miRNA; (c) um DNA que codifica um inibidor de tradução para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito do alvo de miRNA; (d) DNA que codifica um atrator para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito do alvo de miRNA; (e) DNA que codifica um transgene não-responsivo ao miRNA com uma sequência de nucleotídeos derivada da sequência de nucleotídeos natural do alvo de miRNA, onde um sítio de reconhecimento de miRNA na sequência de nucleotídeos natural é suprimido ou, de outra forma, modificado para evitar a clivagem mediada por miRNA; (f) DNA que codifica um precursor de miRNA que é processado em um miRNA para supressão da expressão do alvo do miRNA; (g) DNA que codifica um RNA fita dupla que é processado em siRNAs para suprimir a expressão do alvo de miRNA; e (h) DNA que codifica um ta-siRNA que é processado em siRNAs para suprimir a expressão do alvo de miRNA – em que constructos separados são feitos para cada um dos alvos de miRNA enumerados na **Tabela 5**.

O processo acima é repetido para a produção de vários eventos de células vegetais de algodão transgênicas que são transformadas com cada um dos seguintes constructos de DNA recombinante desta invenção, isto é, um constructo transcrevível em uma célula vegetal de algodão, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal de algodão e operavelmente ligado a cada polinucleotídeo apresentado na **Tabela 6**, onde constructos separados são feitos para cada polinucleotídeo.

O processo acima é repetido para a produção de múltiplos eventos de células vegetais de algodão transgênicas que são transformadas com cada um dos seguintes constructos de DNA recombinante desta invenção, isto é, um constructo que se pode transcrever em uma célula vegetal de algodão, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal e operavelmente ligado a um polinucleotídeo selecionado a partir de DNA codificando cada alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**.

O processo acima é repetido para a produção de vários eventos

de células vegetais de algodão transgênicas que são transformadas com cada um dos seguintes constructos de DNA recombinante desta invenção, isto é, um constructo que se pode transcrever em uma célula vegetal de algodão, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal e operavelmente ligado a cada polinucleotídeo das **SEQ ID N^{oS}: 15-2064**.

As plantas de algodão transgênicas regeneradas, ou plantas de algodão transgênicas da progenia ou sementes de algodão, produzidas a partir das plantas de algodão transgênicas regeneradas, são testadas para uma característica melhorada (por exemplo, rendimento aumentado), em comparação com uma planta ou semente de controle (uma planta ou semente sem expressão do constructo de DNA recombinante). De cada grupo de eventos múltiplos de plantas de algodão transgênicas com um constructo recombinante específico desta invenção, o evento que produz a maior característica intensificada (por exemplo, a maior melhora no rendimento) é identificado e as sementes de algodão da progenia são selecionadas para o desenvolvimento comercial.

Tabela 7

Função	Nome	Anotação	Coordenadas da SEQ ID Nº: 2066
Transferência de T-DNA de Agrobacterium	B-AGRtu.left border	Sequência limite esquerda Agro, essencial para a transferência de T-DNA.	6144-6585
Cassete de expressão do marcador selecionável vegetal	P-At.Act7	Promotor do gene de actina de Arabiodopsis 7	6624-7861
	L-At.Act7	5'UTR do gene de Arabidopsis Act7	
	I-At.Act7	Íntron do gene da actina7 de Arabidopsis	
	TS-At.ShkG-CTP2	Região do de trânsito de *Arabidopsis* EPSPS	7864-8091
	CR-AGRtu.aroA-CP4.nat	Região de codificação CP4 sintética com uso e códon preferido de dicotiledônea	8092-9459
	T-AGRtu.nos	Uma região 3' não-traduzida do gene da nopalina sintase do plasmídeo Ti de *Agrobacterium tumefaciens* que funciona para direcionar a poliadenilação do RNAm.	9466-9718
Gene do cassete de expressão de interesse	P-CaMV.35s-enh	Promotor para 35S RNA de Camv contendo a duplicação da região -90 a -350	1-613
	T-Gb.E6-3b	Região 3' não-traduzida do gene E6 da proteína da fibra de algodão de Sea Island	688-1002
Transferência de T-DNA de *Agrobacterium*	B-AGRtu.right border	Sequência limite da direita Agro, essencial para a transferência de T-DNA	1033-1389
Manutenção em *E. coli*	OR-Ec.oriV-RK2	A origem vegetativa de replicação do plasmídeo RK2.	5661-6057
	CR-Ec.rop	Região codificadora para o repressor do iniciador do plasmídeo ColE1. Expressão deste produto gênico interfere com a ligação do iniciador na origem de replicação, mantendo o número de cópias de plasmídeo baixo.	3961-4152
	Or-Ec. ori-ColE1	A origem mínima de replicação do plasmídeo de *E. coli* ColE1.	2945-3533
	P-Ec.aadA-SPC/STR	Promotor para a Tn7 adenililtransferase (AAD(3"))	2373-2414
	CR-Ec.aadA-SPC/STR	Região codificadora para a Tn7 adenililtransferase (AAD(3")) conferindo resistência à espectinomicina e estreptomicina	1584-2372
	T-Ec.aadA-SPC/STR	3'UTR do gene de adenililtransferase Tn7 (AAD(3")) de *E. coli.*	1526-1583

Tabela 8

Função	Nome	Anotação	Coordenadas da SEQ ID Nº: 2067
Transferência de T-DNA de *Agrobacterium*	B-AGRtu.right border	Sequência da margem direita agro, essencial para transferência de T-DNA	1-357
Cassete de expressão do gene de interesse	Exp-CaMV.35S-enh+Ph.DnaK	Versão melhorada do promotor 35S RNA de CaMV mais a região não-traduzida de petúnia hps70	388-1091
	T-Ps.RbcS2-E9	A região não-traduzida 3' do gene de ervilha RbsS2 que funciona para direcionar a poliadenilação do RNAm	1165-1797
Cassete de expressão do marcador selecionável vegetal	Exp-CaMV.35S	Promotor e região 5' não-traduzida de RNA 35S de CaMV	1828-2151
	CR-Ec.nptII-Tn5	Região codificadora para o gene da neomicina fosfotransferase do transposon Tn5 que confere resistência à neomicina e canamicina	2185-2979
	T-AGRtu.nos	Uma região 3' não-traduzida do gene da nopalina sintase do plasmídeo Ti de *Agrobacterium tumefaciens* que funciona para direcionar a poliadenilação do RNAm	3011-3263
Transferência de T-DNA de *Agrobacterium*	B-ARGtu.left border	Sequência da margem esquerda Agro, essencial para a transferência de T-DNA	3309-3750
Manutenção em *E. coli*	OR-Ec.ORIV-RK2	A origem vegetativa da replicação do plasmídeo RK2	3837-4233
	CR-Ec.rop	Região codificadora para a repressão do iniciador do plasmídeo ColE1. A expressão desse produto gênico interfere com a ligação do iniciador na origem de replicação, mantendo o número de cópias de plasmídeo baixo.	5742-5933
	OR-Ec.ori-ColE1	A origem mínima de replicação do plasmídeo de *E. coli* ColE1.	6361-6949
	P-Ec.aadA-SPC/STR	Promotor para a Tn7 adenililtransferase (AAD(3"))	7480-7521
	CR-Ec.aadA-SPC/STR	Região codificadora para a Tn7 adenililtransferase (AAD(3")) que confere resistência à espectinomicina e estreptomicina	7522-8310
	T.Ec.aadA-SPC/STR	3'UTR do gene Tn7 de adenililtransferase (AAD(3") de *E. coli*	8311-8368

Transformação da cana-de-açúcar

Técnicas de transformação de cana-de-açúcar são conhecidas na técnica; ver, por exemplo, os procedimentos descritos para cana-de-açúcar por Brumbley et al. em "Sugarcane" (disponível eletronicamente em mrw.interscience.wiley.com/emrw/9781405181099/hpt/article/k0701/current/pdf), publicado em "Compendium of Transgenic Crop Plants", editado por Chittaranjan Kole e Timothy C. Hall, Blackwell Publishing Ltd., 2008; ISBN 978-1-405-16924-0 (disponível eletronicamente em mrw.interscience.wiley.com/emrw/9781405181099/hpt/toc), e as Publicações de Pedido de Patente Internacional PCT WO2007/003023 (cana-de-açúcar) e WO2008/049183 (cana-de-açúcar). Em um exemplo de transformação de cana-de-açúcar (ver Exemplo 3 da Publicação do Pedido de Patente Internacional PCT WO2007003023A2), culturas de calos de cana-de-açúcar embrionárias são estabelecidas a partir do meristema apical e folhas primordiais da cana-de-açúcar (Saccharum spp. híbrido). Calos de oito semanas são co-bombardeados com uma mistura equimolar de UBI-1::Bar::NOSpo1yA e UBI-1::Oas::NOSpolyA ou UBI-1::Bar::NOSpolyA e UBI-1:CPs:cassetes de expressão de NOSpolyA (10 pg de DNA13/mg de partícula) pelo bombardeamento de partículas tal como descrito anteriormente (Sanford (1990) Plant Physiol, 79:206-209.). Após o bombardeamento, os calos são transferidos para meio MS contendo 1 mg/L de PPT e 1 mg/L de BAP para promover a regeneração do broto e inibir o desenvolvimento de tecido não-transgênico. Duas semanas depois, os calos são transferidos para meio MS com 1 mg/L de PPT e 1 mg/L de Affi para o alongamento do broto e para induzir a formação de raízes. Depois de duas semanas, as plantículas são colocadas em caixas magenta para aclimatação e duas semanas depois, os broto (10-15 cm), com raízes bem desenvolvidas, são transferidos para o solo de vaso e colocadas na estufa.

O processo acima é repetido para a produção de vários eventos de células vegetais transgênicas de cana-de-açúcar que são transformadas com constructos de DNA recombinantes separados desta invenção, isto é,

um constructo que se pode transcrever em uma célula vegetal de cana-de-açúcar, incluindo um promotor que é funcional na célula de planta de cana-de-açúcar e operavelmente ligado a cada polinucleotídeo selecionado a partir de: (a) um DNA que codifica um bloqueador de clivagem para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de cada alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (b) DNA que codifica um bloqueador de clivagem 5'-modificado para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de cada alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (c) DNA que codifica um inibidor de tradução para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de cada alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (d) DNA que codifica um atrator para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito de cada alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (e) DNA que codifica o transgene não-responsivo do miRNA com uma sequência de nucleotídeos derivada a partir da sequência de nucleotídeos natural de cada alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3,** onde um sítio de reconhecimento do miRNA na sequência de nucleotídeos natural é eliminado ou, de outro modo, modificado para evitar a clivagem mediada por miRNA; (f) DNA que codifica um precursor de miRNA que é processado em um miRNA para supressão da expressão de cada alvo do miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**; (g) DNA que codifica um RNA de fita dupla que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de cada alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e** 3; e (h) DNA que codifica um ta siRNA, que é processado em siRNAs para suprimir a expressão de cada alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**.

O processo acima é repetido para a produção de vários eventos de células vegetais de cana-de-açúcar transgênicas, que são transformadas com cada um dos seguintes constructos de DNA recombinante desta invenção, isto é, um constructo que se pode transcrever na célula de planta de cana-de-açúcar, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal de cana-de-açúcar e operavelmente ligado a um polinucleotídeo selecionado a partir de: (a) DNA que codifica um bloqueador de clivagem para prevenir ou

reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito do alvo do miRNA, (b) um DNA que codifica um bloqueador de clivagem 5'-modificado para prevenir ou diminuir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito do alvo de miRNA; (c) um DNA que codifica um inibidor de tradução para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito do alvo de miRNA; (d) DNA que codifica um atrator para prevenir ou reduzir a clivagem mediada por RNA pequeno do transcrito do alvo de miRNA; (e) DNA que codifica um transgene não-responsivo ao miRNA com uma sequência de nucleotídeos derivada da sequência de nucleotídeos natural do alvo de miRNA, onde um sítio de reconhecimento de miRNA na sequência de nucleotídeos natural é suprimido ou, de outra forma, modificado para evitar a clivagem mediada por miRNA; (f) DNA que codifica um precursor de miRNA que é processado em um miRNA para supressão da expressão do alvo do miRNA; (g) DNA que codifica um RNA fita dupla que é processado em siRNAs para suprimir a expressão do alvo de miRNA; e (h) DNA que codifica um ta-siRNA que é processado em siRNAs para suprimir a expressão do alvo de miRNA – em que constructos separados são feitos para cada um dos alvos de miRNA enumerados na **Tabela 5**.

O processo acima é repetido para a produção de vários eventos de células vegetais de cana-de-açúcar transgênicas que são transformadas com cada um dos seguintes constructos de DNA recombinante desta invenção, isto é, um constructo transcrevível em uma célula vegetal de cana-de-açúcar, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal de cana-de-açúcar e operavelmente ligado a cada polinucleotídeo apresentado na **Tabela 6**, onde constructos separados são feitos para cada polinucleotídeo.

O processo acima é repetido para a produção de múltiplos eventos de células vegetais de cana-de-açúcar transgênicas que são transformadas com cada um dos seguintes constructos de DNA recombinante desta invenção, isto é, um constructo que se pode transcrever em uma célula vegetal de cana-de-açúcar, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal e operavelmente ligado a um polinucleotídeo selecionado a partir

de DNA codificando cada alvo de miRNA identificado nas **Tabelas 2 e 3**.

O processo acima é repetido para a produção de vários eventos de células vegetais de cana-de-açúcar transgênicas que são transformadas com cada um dos seguintes constructos de DNA recombinante desta invenção, isto é, um constructo que se pode transcrever em uma célula vegetal de cana-de-açúcar, incluindo um promotor que é funcional na célula vegetal e operavelmente ligado a cada polinucleotídeo das **SEQ ID N^{os}: 15-2064**.

As plantas de cana-de-açúcar transgênicas regeneradas, ou plantas de cana-de-açúcar transgênicas da progenia ou sementes de cana-de-açúcar, produzidas a partir das plantas de cana-de-açúcar transgênicas regeneradas, são testadas para uma característica melhorada (por exemplo, rendimento aumentado), em comparação com uma planta ou semente de controle (uma planta ou semente sem expressão do constructo de DNA recombinante). De cada grupo de eventos múltiplos de plantas de cana-de-açúcar transgênicas com um constructo recombinante específico desta invenção, o evento que produz a maior característica intensificada (por exemplo, a maior melhora no rendimento) é identificado e as sementes de cana-de-açúcar da progenia são selecionadas para o desenvolvimento comercial.

Outras Modalidades

181) Um atrator de miRNA compete com o gene-alvo endógeno para se ligar àquele miRNA particular e, deste modo, reduz o efeito de miRNA na rede ou nas redes bioquímicas envolvendo o miRNA. Atratores incluem sequências atratoras de miRNA endógeno (natural), atratores criados pela manipulação de uma sequência endógena (por exemplo, por produtos químicos ou outra mutagênese ou recombinação direcionada a sítio), e as sequências de miRNA sintéticas do atrator. O constructo de DNA recombinante pode ser projetado para expressar múltiplos atratores de miRNA. As vantagens de uma abordagem de atrator de miRNA incluem o fato de que nenhuma proteína é expressa, e devido ao fato de miRNAs muitas vezes pertencer às famílias de múltiplos genes (em que cada gene miRNA produz um transcrito primário de miRNA único) que um atrator de miRNA único é útil

para a ligação com um miRNA maduro que é derivado de mais de um gene de miRNA ou transcrito primário.

No entanto, uma alternativa para um atrator de miRNA às vezes é preferida, uma vez que é possível que um atrator de miRNA que se liga a miRNAs maduros de mais de um gene miRNA involuntariamente para afete a expressão de um gene não-alvo. Os requerentes divulgaram aqui novas abordagens para manipulação de uma via regulada por miRNA pela interferência com a ligação do miRNA maduro ao seu alvo. Estas abordagens geralmente envolvem a expressão e processamento *in vivo* (por exemplo, na planta), de um constructo de DNA recombinante desta invenção, e são especialmente úteis para regular a expressão de um único (ou, caso desejado múltiplos) genes-alvos, e na manipulação da expressão genética em plantas transgênicas, resultando em fenótipos melhorados, tal como maior rendimento ou tolerância a estresses bióticos ou abióticos.

Uma abordagem é pelo uso de um "bloqueador de clivagem" ou "bloqueador de clivagem 5' modificado" que é transgenicamente expresso em uma células eucarióticas, e que se liga a um sítio de reconhecimento de miRNA de um transcrito de gene-alvo de uma forma que não conduza à clivagem, impedindo ou diminuindo deste modo a clivagem mediada por miRNA do transcrito pela competição com o miRNA para a ligação ao sítio de reconhecimento. Este método controla a taxa de supressão pós-tradução de genes-alvo de miRNA, protegendo-os de serem clivados por complexos miRNA-Ago, e diminui ou impede a infrarregulação do gene do alvo do miRNA. A invenção inclui bloqueadores de clivagem análogos que competem com outros RNAs pequenos envolvidos no silenciamento, por exemplo, si-RNAs, siRNAs transatuantes, RNAs em fase, siRNAs de transcrito antissentido natural, miRNAs de transcrito antissentido natural, ou mesmo qualquer RNA pequeno associado a um complexo de silenciamento como RISC ou um Argonaute ou uma proteína tipo Argonaute.

Uma outra abordagem é o uso de um "inibidor de tradução", que é transgenicamente expresso em uma célula eucariótica, e que se liga e inibir a tradução da transcrição do gene-alvo, diminuindo assim a expressão do

gene-alvo. A sequência de nucleotídeos do inibidor de tradução é projetada de modo que o segmento hibridizado formado entre o inibidor de tradução e o transcrito do gene-alvo confere ao transcrito resistência à clivagem pela ribonuclease RNAse III em ou na vizinhança do segmento hibridizado. Inibidores de tradução fornecem as vantagens de reduzir a probabilidade de formação de RNAs pequenos transitórios (como pode ocorrer na degradação mediada por miRNA de um gene-alvo), e obtenção da regulação mais controlada ou supressão alvo uma vez que o inibidor de tradução permanece associado com o transcrito do gene-alvo (ao contrário dos miRNAs, que se dissociam da transcrição fendida e podem, então, se ligar a outra molécula de transcrição). Inibidores de tradução podem se basear nas sequências selecionadas a partir de qualquer RNA pequeno associado a um complexo de silenciamento como RISC ou Argonaute ou proteína tipo Argonaute.

Uma pessoa normalmente versada na técnica facilmente reconhece que os procedimentos acima são igualmente aplicáveis às situações em que o RNA de fita dupla que medeia a supressão do gene-alvo é diferente do miRNA. Assim, os vários aspectos da presente invenção incluem constructo de DNA recombinante análogos que são processados *in vivo* ou *in planta* para fornecer RNA, incluindo RNA de fita simples que serve como um "bloqueador de clivagem de siRNA", um "bloqueador de clivagem siRNA transatuante", um "bloqueador de clivagem de RNA pequeno em fase", um "bloqueador de clivagem de siRNA de transcrito antissentido natural" ou um "bloqueador de clivagem de miRNA de transcrito antissentido natural" (ou, em termos gerais, um "bloqueador de clivagem de RNA pequeno"), de acordo com se a clivagem da ribonuclease RNAse III que é inibida é mediada por, respectivamente, uma siRNA, uma siRNA transatuante, um RNA pequeno em fase, um siRNA transcrito antissentido natural, ou um miRNA transcrito antissentido natural (ou, em termos gerais, qualquer RNA pequeno associado a um complexo silenciador, tal como RISC ou um Argonaute ou proteína tipo Argonaute).

Todos os materiais e métodos aqui descritos e reivindicados podem ser feitos e utilizados sem experimentação excessiva conforme ins-

truído pela descrição acima. Embora os materiais e métodos da presente invenção tenham sido descritos em termos de modalidades preferidas e exemplos ilustrativos, será evidente para os as pessoas versadas na técnica que as variações podem ser aplicadas aos materiais e métodos descritos neste documento, sem se afastar do conceito, o espírito e escopo da invenção. Todos os tais substitutos similares, e modificações aparentes para as pessoas versadas na técnica são consideradas dentro do espírito, escopo e conceito de invenção, tal como definido pelas reivindicações em anexo.

REIVINDICAÇÕES

1. Constructo de DNA recombinante em uma célula de planta transgênica que compreende DNA que é expresso nas ditas células de plantas transgênicas e sofre processamento ao RNA que compreende RNA de fita simples que se liga com a transcrição de pelo menos um gene-alvo na dita célula de planta transgênica para formar um segmento hibridizado de pelo menos RNA de fita parcialmente dupla, que transmite ao dito transcrito resistência à clivagem por uma ribonuclease RNase III dentro ou na vizinhança do referido segmento hibridizado.

2. Constructo de DNA recombinante, de acordo com a reivindicação 1, em que a dita ligação do referido RNA de fita simples ao dito transcrito inibe a supressão do dito pelo menos um gene-alvo por um miRNA maduro.

3. Constructo de DNA recombinante, de acordo com a reivindicação 1, em que o comprimento do dito segmento hibridizado compreende pelo menos 10 pares de bases.

4. Constructo de DNA recombinante, de acordo com a reivindicação 1, em que a dita ligação é em um sítio de reconhecimento de miRNA no dito transcrito, a dita clivagem do dito transcrito ocorre no dito sítio de reconhecimento de miRNA, e o dito segmento hibridizado é formado pelo menos parcialmente no dito sítio de reconhecimento de miRNA.

5. Constructo de DNA recombinante, de acordo com a reivindicação 4, em que o dito segmento hibridizado compreende:

a. pelo menos um mau-emparelhamento entre o dito RNA de fita única e o dito sítio de reconhecimento de miRNA nas posições correspondentes às posições 9, 10 ou 11 do dito miRNA maduro, ou

b. pelo menos uma inserção em uma posição no dito RNA de fita simples nas posições correspondentes às posições 10 – 11 do dito miRNA maduro, ou

c. um A, G ou C (mas não um U) em uma posição correspondente ao terminal 5' do dito miRNA maduro, mas que não inclui (i) maus-emparelhamentos entre o dito RNA de fita simples e o dito sítio de reconhecimento de miRNA

nas posições do dito sítio de reconhecimento de miRNA correspondente às posições 9, 10 ou 11 (na direção 3' a 5') do dito miRNA maduro, ou (ii) inserções em uma posição no dito RNA de fita simples nas posições do dito sítio de reconhecimento de miRNA correspondente às posições 10 ou 11 (na direção 3' a 5') do dito miRNA maduro.

6. Método de modular a expressão de um gene-alvo em uma célula vegetal, compreendendo a expressão na dita célula vegetal do constructo de DNA recombinante como definido na reivindicação 1.

7. Método, de acordo com a reivindicação 6, em que a dita ligação do dito RNA de fita simples ao dito transcrito inibe a supressão do dito pelo menos um gene-alvo por um miRNA maduro.

8. Cromossomo de planta não-natural ou plastídeo que compreende o constructo de DNA recombinante como definido na reivindicação 1.

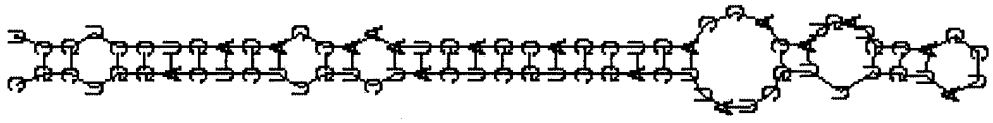
9. Célula de planta transgênica não-natural tendo em seu genoma o constructo de DNA recombinante como definido na reivindicação 1, ou uma planta transgênica não-natural ou uma semente de planta transgênica não-natural ou um grão de pólen transgênico não-natural compreendendo a dita células de planta transgênica não-natural.

10. Planta transgênica parcialmente não-natural, compreendendo:

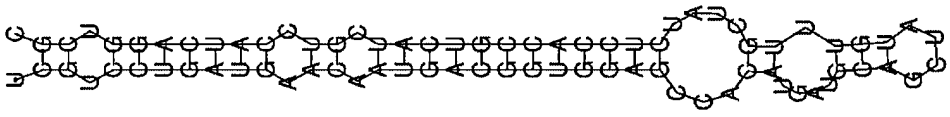
a. a célula vegetal transgênica não-natural como definida na reivindicação 9 e que compreende ainda o tecido não-transgênico: ou

b. um rizoma transgênico que compreende a célula vegetal transgênica não-natural como definida na reivindicação 9 e compreende ainda uma muda não-transgênica.

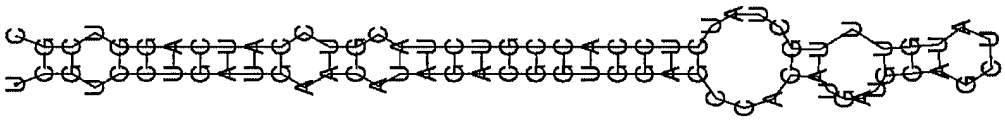
FIGURA 1



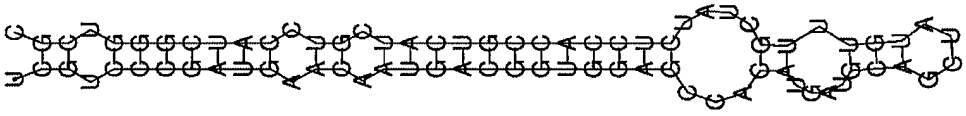
A



B



C



D

5′-CTCCACCGTC**AT**TGTTCATCA-3′ (**SEQ ID NO: 2**) (Sítio de reconhecimento de miRNA GL1)

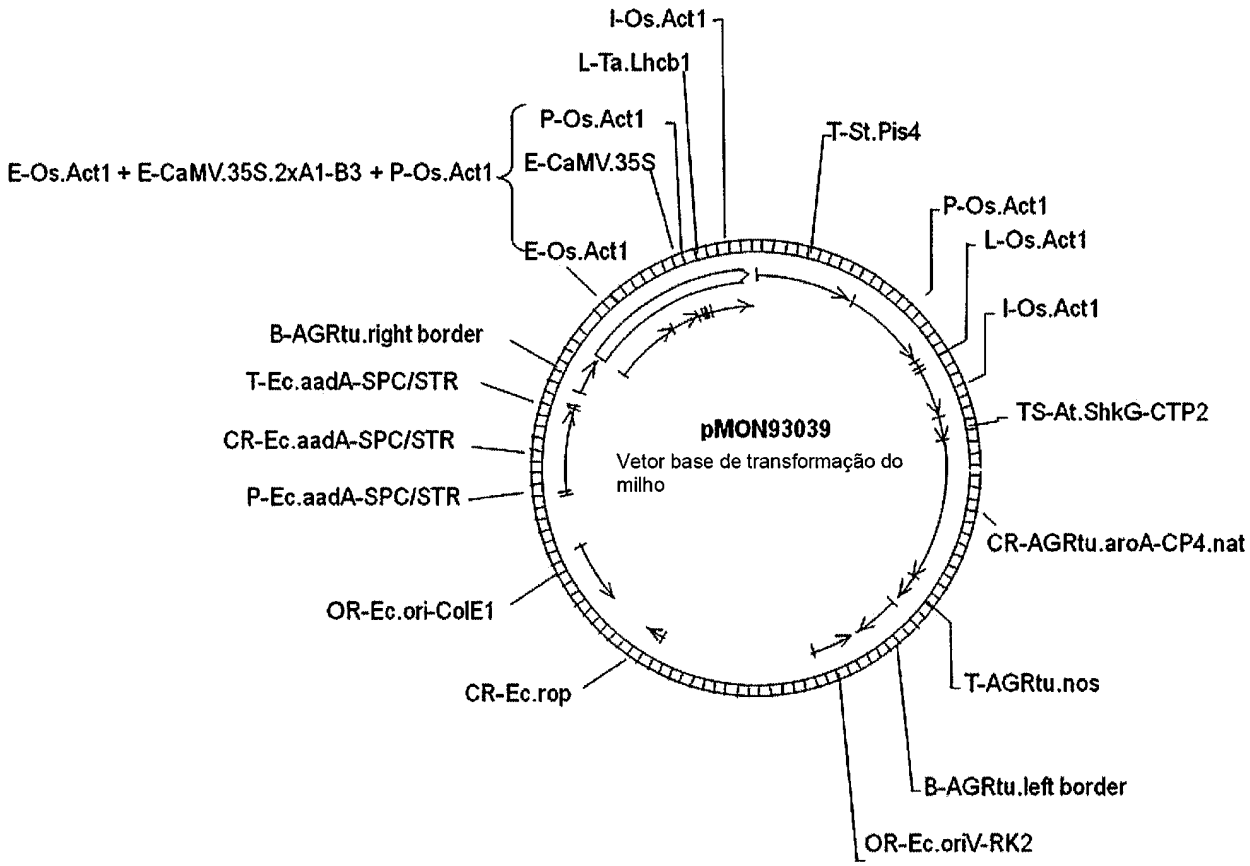
3′-GAGGTGGCAG**TA**ACAAGTAGT-5′ (**SEQ ID NO: 6**) (miRGL1 maduro)

3′-GAGGTGGCAG**AT**ACAAGTAGT-5′ (**SEQ ID NO: 8**) (miRGL1-CB maduro)

5′-**ga**CCACCGTC**AT**TGTTCATCA-3′ (**SEQ ID NO: 10**) (sítio de reconhecimento de GL1 artificial no sensor miRGL1)

E

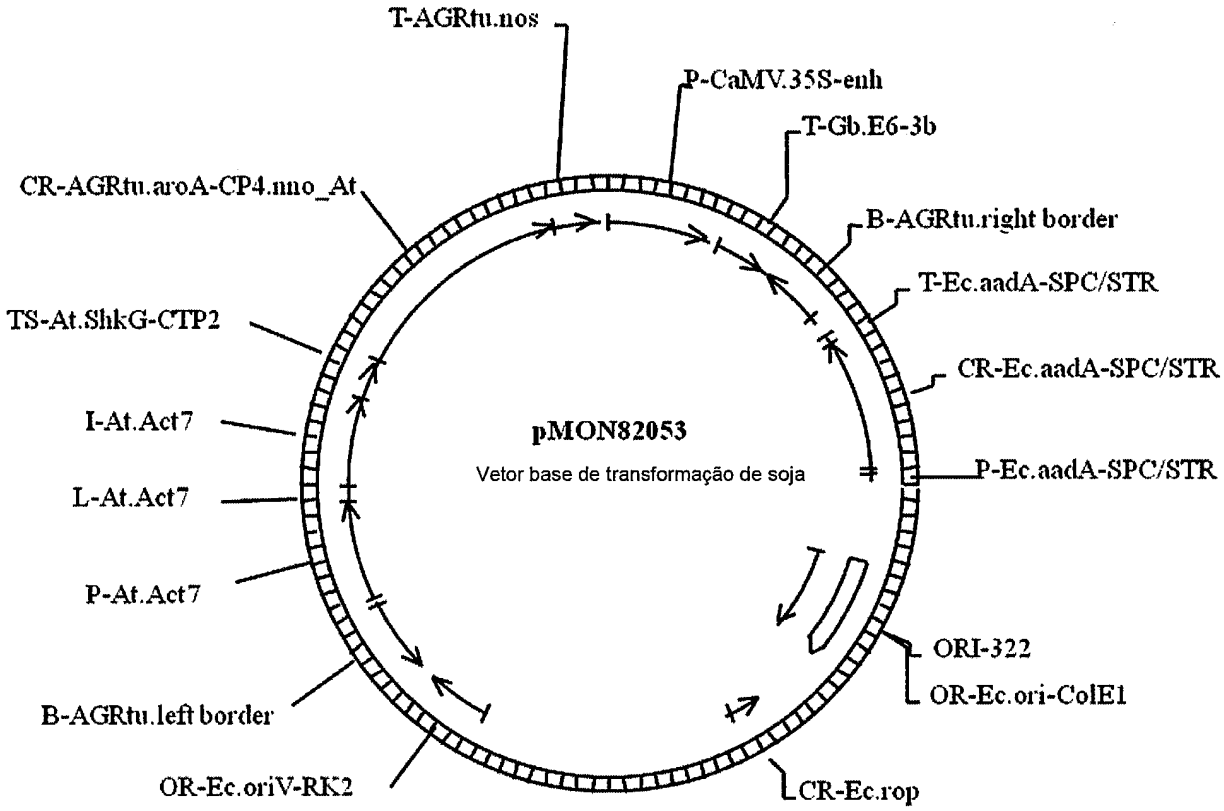
FIGURA 2



Vetor base de transformação do milho

SEQ ID NO. 2065

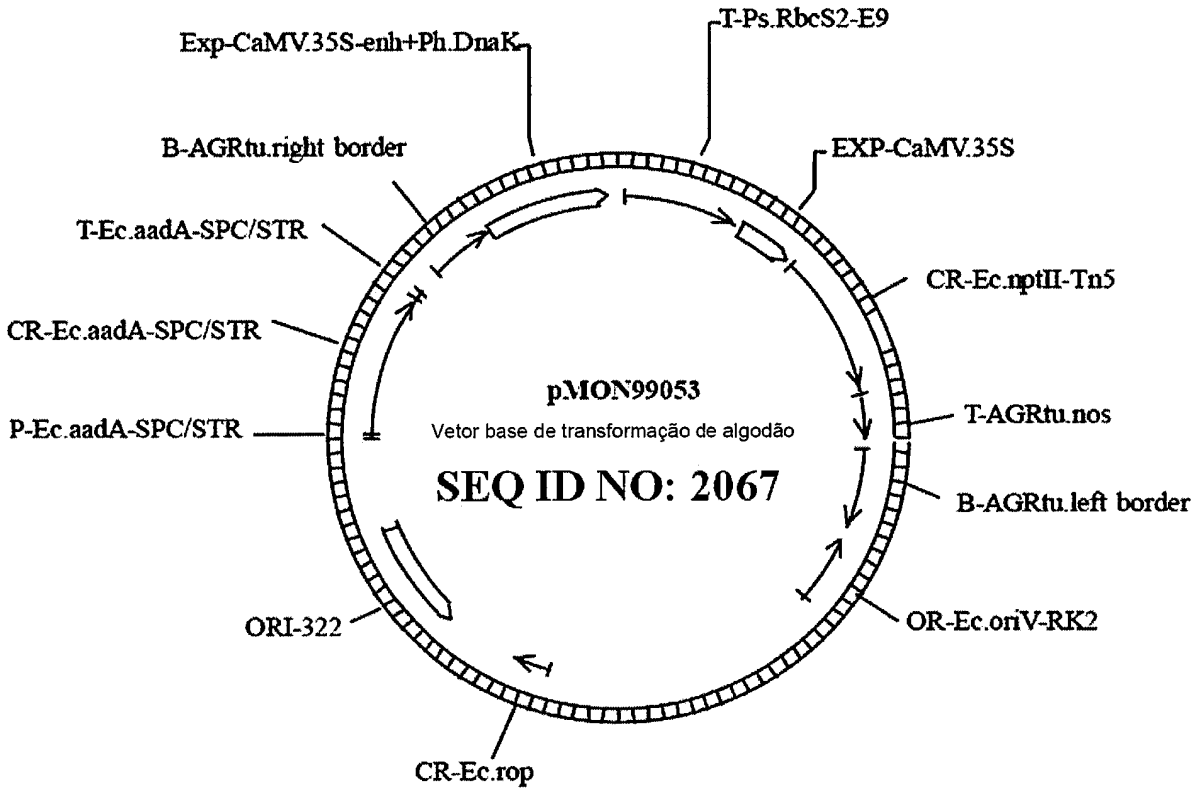
FIGURA 3



Vetor base de transformação de soja e canola

SEQ ID NO. 2066

FIGURA 4



Vetor base de transformação de algodão

SEQ ID NO. 2067

RESUMO

Patente de Invenção: **"CONSTRUCTOS DE DNA RECOMBINANTE E MÉTODOS PARA A MODULAÇÃO DA EXPRESSÃO DE UM GENE-ALVO".**

A presente invenção refere-se a constructos de DNA recombinante e métodos para manipular a expressão de um gene-alvo, que é regulado por um RNA pequeno, interferindo com a ligação do RNA pequeno ao seu gene-alvo. Mais especificamente, esta invenção divulga constructos de DNA recombinante que codifica bloqueadores de clivagem de codificação, bloqueadores de clivagem 5-modificados, e inibidores de tradução úteis para modular a expressão de um gene-alvo e seus métodos de utilização. Outros alvos descritos são miRNA úteis para a construção de constructos de DNA recombinante, incluindo transgenes miRNA não-responsivos, protetores de miRNA, bloqueadores de clivagem, bloqueadores de clivagem 5-modificados e inibidores de tradução, bem como seus métodos de utilização, e células eucarióticas transgênicas e organismos que contêm tais constructos.