

# MicroARNs, PEQUEÑOS GUARDIANES DEL EQUILIBRIO GENÉTICO VEGETAL

Catharina Merchante y Pablo A. Manavella

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora» (IHSM «La Mayora»),  
Universidad de Málaga (UMA) - CSIC, Málaga

<https://doi.org/10.18567/sebbmrev.226.202509.dc3>



Desde su descubrimiento en plantas, los microARNs (miARNs) han emergido como protagonistas cruciales en la regulación de la expresión génica. Estas pequeñas moléculas de ARN no codificante, de alrededor de 21 nucleótidos, controlan una amplia gama de procesos biológicos esenciales, desde el desarrollo embrionario hasta la respuesta a factores ambientales. Su papel es comparable al de los directores de orquesta que aseguran la armonía de toda una sinfonía celular. Por estas características, los miARNs han captado la atención de la comunidad científica, revelando un mundo molecular de alta precisión y extraordinaria complejidad que permiten a los organismos adaptarse a su entorno. Esto es particularmente importante en plantas dado que, por su naturaleza sésil, no pueden escaparse de ambientes hostiles. Y es por ello que los procesos de síntesis y acción de los miARNs en plantas han evolucionado de forma divergente a los de animales, incluyendo muchas particularidades fascinantes aunque también muchos puntos de conexión.

Como la mayoría de los procesos que permiten la vida eucariota, todo comienza en el núcleo celular. La producción de miARNs en plantas empieza con la transcripción de genes *MIRNA* por la ARN polimerasa II, que es la misma polimerasa que transcribe los genes que codifican proteínas. Estos transcritos primarios, llamados «pri-miARNs», presentan una característica muy especial, y es que se pliegan sobre sí mismos generando estructuras de ARN de doble cadena del tipo horquilla, y esto es esencial para su reconocimiento por el complejo de procesamiento. Éste es un complejo de proteínas conocido como microprocesador y cuya pieza central es la enzima DICER-LIKE1 (DCL1, por sus siglas en inglés). DCL1, asistida por los cofactores SERRATE (SE) y HYPONASTIC LEAVES1 (HYL1, por sus siglas en inglés), reconoce esta estructura en horquilla y comienza el proceso de producción de miARNs (Figura 1). A diferencia de animales, donde la producción de miARNs está compartimentada en etapas nucleares y citoplasmáticas, en plantas este proceso

ocurre íntegramente en el núcleo. El resultado de este procesamiento es la generación de un dúplex miARN que será posteriormente metilado para su estabilización.

Se ha demostrado que el procesamiento de estos pri-miRNAs puede iniciarse mientras el pri-miARN está todavía sintetizándose, en un mecanismo denominado procesamiento cotranscripcional. Factores como el complejo 'Elongator' y ciertas modificaciones en la ARN polimerasa II favorecen que el microprocesador se asocie de manera temprana al pri-miARN naciente, lo que permite una regulación más eficaz y un procesamiento casi inmediato de los precursores. La producción de miARNs no ocurre de manera aislada. Existe una estrecha conexión entre la biogénesis de miARNs y otros procesos nucleares, especialmente el *splicing* de ARN mensajero. Proteínas como SERRATE y componentes del Complejo 'Cap-binding' (CBC, por sus siglas en inglés) actúan tanto en el procesamiento de miARNs como en el *splicing*, lo que sugiere que existen centros nucleares

multifuncionales donde ambos procesos están coordinados. Este acoplamiento permite una regulación integrada de la expresión génica, lo que optimiza la respuesta celular frente a cambios en el entorno, y contribuye al mantenimiento de la homeostasis.

El procesamiento de los pri-miARNs no es un mecanismo rígido ni universal, sino que depende de características intrínsecas de cada pri-miARN, como su estructura secundaria, modificaciones químicas, o su asociación con proteínas accesorias. Este ajuste fino permite a la célula regular, de forma específica, qué miARNs se producen en cada tipo celular o en respuesta a señales externas concretas. De hecho, aunque el procesamiento acoplado a la transcripción ofrece muchas ventajas como un menor consumo energético y una mayor eficiencia, muchos miARNs no se procesan de esta manera. En esos casos, una vez transcritos, muchos pri-miARNs se dirigen a estructuras subnucleares especializadas denominadas «*Dicing bodies*» o «*D-bodies*». En ellos se concentran componentes del microprocesador, como DCL1, HYL1 y SE, responsables de llevar a cabo el corte preciso de los pri-miARNs (Figura 1).

Aunque los *D-bodies* se han asociado tradicionalmente con el procesamiento de pri-miARNs, nuevas evidencias apuntan a que su papel podría ser más amplio, actuando como reservorios de miARNs o centros donde regular su maduración y estabilidad. La formación de estos *D-bodies* depende de la correcta interacción entre varios factores, entre los cuales destaca HYL1 como pieza clave para su ensamblaje.

Pero ¿quién es HYL1 y por qué nombramos tanto a esta proteína? HYL1 es una proteína de unión al ARN, o, más específicamente, es una proteína de unión a ARN de doble cadena. Sí, no es un error de

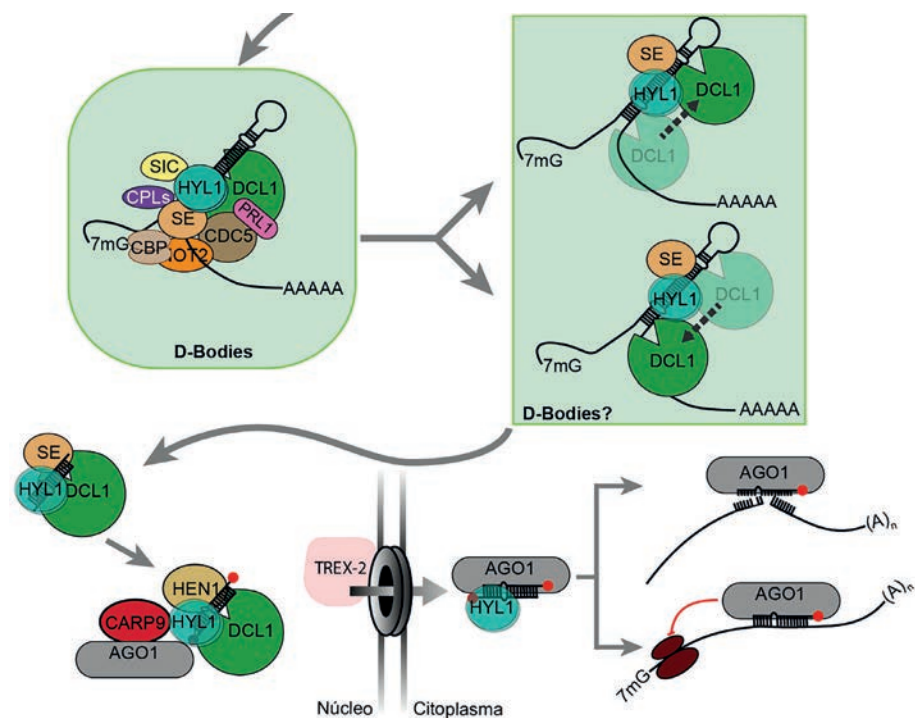


Figura 1

Representación esquemática de la vía de biogénesis de miARNs en plantas (modificada de Achkar y col., 2016).

escritura, no solo el ADN forma hebras bicatenarias, el ARN también. De hecho, el ARN de doble cadena tiene, de forma general, una mayor energía de disociación que el ADN de doble cadena, es decir, es más difícil separar sus hebras. HYL1 tiene gran afinidad por estas estructuras y se une a ellas mediante dos dominios de unión a ARN. Esta alta afinidad hace que HYL1 sea una de las primeras proteínas en reconocer a los pri-miARN nacientes, y esto permite la unión del resto de las proteínas del complejo, y guía a DCL1 hacia los sitios de corte precisos para liberar el dúplex de miARN, al que también estabiliza. En este contexto, HYL1 destaca como una proteína multifuncional clave. Además de su rol como cofactor en el procesamiento preciso de pri-miARNs, HYL1 participa en la regulación de la transcripción de genes *MIRNA*, protege los pri-miARNs de su degradación prematura y facilita el transporte del dúplex maduro hacia

el citoplasma. De forma sorprendente, también interviene en la inhibición de la traducción de genes diana en el retículo endoplásmico, lo que refuerza su papel como un verdadero centro regulador en la vía de los miARNs.

Como es de esperar para una proteína con tanta importancia en la vía, la actividad de HYL1 no es constante, sino que está finamente regulada por mecanismos postraduccionales, principalmente por fosforilación. La forma activa de HYL1, la que es capaz de promover un procesamiento preciso de los pri-miARNs, es su versión no fosforilada (activa) y fosforilada (inactiva), que está regulado por diversas quinasas y fosfatasa, y esto permite a la planta ajustar rápidamente su actividad ante cambios en el ambiente. Un ejemplo de esta regulación se da ante variaciones de luz. En condiciones de oscuridad, HYL1 se degrada, lo que reduce

la producción de nuevos miARNs. Sin embargo, una fracción de HYL1 permanece inactiva en el núcleo como «reserva», lista para ser reactivada cuando vuelva la luz, lo que asegura una rápida respuesta adaptativa.

Pero ¿qué pasa después de su síntesis y para qué sirven los miARNs? Como mencionábamos, el procesamiento de pri-miARNs da lugar a los miARNs maduros de doble hebra. Posteriormente, estos se metilan por HUA ENHANCER1 (HEN1, por sus siglas en inglés) y se cargan preferentemente en proteínas del tipo ARGONAUTE (AGO). En especies como *Arabidopsis thaliana*, se cargan mayoritariamente en AGO1 (Figura 1). Una vez cargado en AGO1, el miARN funcional se incorpora al complejo RISC (por sus siglas en inglés, *RNA-Induced Silencing Complex*), mientras que la hebra complementaria suele ser degradada. Un miARN asociado a AGO1 puede actuar en el núcleo o exportarse al citoplasma, donde ejerce su función reguladora sobre ARN mensajeros (ARNm), induciendo su silenciamiento ya sea por degradación o inhibición de la traducción.

De forma llamativa, no todos los miARNs se cargan inmediatamente en AGO1. Existe un conjunto de miARNs libres en el citoplasma que podría participar en funciones no autónomas, moviéndose de una célula a otra y coordinando respuestas a nivel de tejido u órgano. Se ha propuesto que HYL1 pudiera intervenir en esta selección de destinos, acompañando a los miARNs en su salida del núcleo y participando tanto en su transferencia a AGO1 como en su movilidad intercelular, aunque esta hipótesis requiere confirmación experimental.

Ya sea en su célula de origen o en otra actuando remotamente, el modo de acción principal de los miARNs en plantas es la represión génica post-transcripcional,

que puede manifestarse de dos formas:

**Corte endonucleolítico del ARNm diana:** este es el mecanismo predominante, favorecido por la alta complementariedad entre el miARN y su blanco. Este proceso está catalizado por la actividad ribonucleasa de AGO1 y, en última instancia, conlleva la desestabilización del ARNm diana, su degradación y, en consecuencia, una disminución de los niveles de la proteína codificada por el gen diana.

**Represión traduccional:** en algunos casos, especialmente cuando la complementariedad entre un miARN y su diana no es perfecta o hay interferencia estructural, el miARN puede inhibir la traducción del ARNm sin inducir su degradación. Aunque este mecanismo se consideró inicialmente secundario en plantas, estudios recientes han demostrado su relevancia en varios contextos biológicos, como el desarrollo o la respuesta a estrés. La inhibición puede producirse tanto a nivel de iniciación como de elongación de la traducción, y puede implicar la asociación del RISC con polirribosomas. Una particularidad de esta forma de silenciamiento es que es reversible, ya que una disociación del miARN a su diana puede restablecer su traducción, lo que es imposible si el mecanismo de silenciamiento conlleva el corte del mensajero diana.

El resultado de este tipo de regulación, sea por un mecanismo o por el otro, es muy variable y por supuesto depende de los genes diana. Sin embargo, una particularidad de los miARNs en plantas es que muestran una notable preferencia evolutiva a silenciar factores de transcripción, lo que conlleva que sus efectos regulatorios sean variados y puedan amplificarse por la desregulación de cientos de genes diana de estos factores de transcripción.

Algunos de los ejemplos mejor

caracterizados de miARNs activos en plantas incluyen:

- **miR156:** regula la transición de fase juvenil-adulta controlando genes de la familia *SPL* (por sus siglas en inglés, *SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE*). Su acumulación es alta en etapas tempranas del desarrollo y disminuye con la edad, lo que permite la expresión de genes que promueven la floración y el desarrollo reproductivo.
- **miR172:** actúa en concierto con miR156 pero en sentido opuesto. Reprime genes como *APETALA2* y otros reguladores de la identidad floral. Está implicado en la correcta determinación del momento de floración.
- **miR160 y miR167:** regulan genes de la familia *AUXIN RESPONSE FACTOR (ARF)*, por sus siglas en inglés), modulando respuestas al ácido indolacético (auxina), una fitohormona clave en el desarrollo radicular, formación de órganos y tropismos.
- **miR393:** participa en respuestas a estrés biótico regulando receptores de auxinas como *TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE 1 (TIR1)*, por sus siglas en inglés), inhibiendo así vías de crecimiento que podrían ser contraproducentes durante una infección.
- **miR168:** tiene una función singular ya que actúa sobre el propio sistema de silenciamiento. Regula la expresión de *AGO1*, estableciendo un bucle de retroalimentación negativa que modula la abundancia del complejo RISC. Esto permite un equilibrio dinámico en la intensidad del silenciamiento mediado por otros miARNs.
- **miR319:** el primer miRNA descubierto en plantas. Regula genes de la familia *TCP* (por sus siglas en inglés, *TEOSINTE BRANCHED/CYCLOIDEA/PCF*), que están implicados en

la proliferación celular, el crecimiento de hojas y el desarrollo floral. Su sobreexpresión produce hojas con márgenes serrados y participa en la integración entre desarrollo y señalización hormonal.

- **miR396:** controla la proliferación celular mediante la regulación de genes de la familia *GRF* (por sus siglas en inglés, *GROWTH REGULATING FACTOR*). Su sobreexpresión restringe el crecimiento de hojas y órganos, y se ha vinculado también a la respuesta frente al estrés y al equilibrio entre proliferación y diferenciación celular.

Además de estas funciones intracelulares, algunos miARNs son móviles y participan en la señalización a larga distancia. Por ejemplo, miR399, un regulador clave del metabolismo del fósforo, se produce en las hojas y se transporta a la raíz donde reprime a *PHO2*, un gen que regula la homeostasis de este nutriente. Otro ejemplo notable es miR390, que participa en la producción de ta-siRNAs (ARNs pequeños trans-activados) a partir del locus *TAS3*. En este caso, miR390 no causa la degradación directa de su mRNA diana, sino que guía a AGO7 para activar una vía secundaria de silenciamiento que regula los genes *ARF2*, *ARF3* y *ARF4*, implicados en el desarrollo lateral y la respuesta a auxinas.

Estos ejemplos ilustran la diversidad funcional de los miARNs en plantas, actuando como nodos centrales en redes de regulación genética que integran señales ambientales, hormonales y de desarrollo.

Como es de esperar, la actividad reguladora de los miARNs debe estar sujeta a regulación. Así, una vez en el citoplasma, la estabilidad de los miARNs y su actividad en el complejo RISC no son indefinidas. La degradación, o el recambio, de miARNs es un proceso regulado y dinámico que garantiza la

plasticidad en la regulación génica. En este sentido, la enzima SDN (por sus siglas en inglés, *Small RNA Degrading Nuclease*) participa en la degradación progresiva del extremo 3' de los miARNs cuando dejan de estar protegidos por metilación o por AGO1. Factores como HEN1 SUPPRESSOR 1 (HESO1, por sus siglas en inglés) o RNA URIDYLTRANSFERASE 1 (URT1, por sus siglas en inglés) pueden añadir uridinas codificadas en el extremo 3' del miARN, lo que los marca para su degradación. A su vez, la estabilidad del complejo RISC también puede ser modulada por la interacción con proteínas accesorias, por competencia entre miARNs por el acceso a las proteínas ARGONAUTE disponibles, por cambios en la expresión de *AGO1* o directamente por su degradación. Relacionado con esto, es interesante que siendo el silenciamiento génico el principal mecanismo de defensa de las plantas contra infecciones virales, los virus de plantas empleen estrategias relacionadas con estos mecanismos para bloquear estas vías de silenciamiento para favorecer la infección. Por ejemplo, los polerovirus producen un supresor de silenciamiento llamado P0 que se une e induce la degradación de proteínas ARGONAUTE. Por su parte, el supresor de silenciamiento P19

de toombusvirus actúa uniéndose específicamente a ARNs pequeños de 19 a 21 nucleótidos que funcionan como ARN interferentes pequeños (siRNA) en el sistema de silenciamiento por ARN.

El estudio de los miARNs en plantas pone de manifiesto un entramado molecular dinámico y sofisticado. Lejos de actuar como simples silenciadores, los miARNs y su maquinaria asociada constituyen un mecanismo capaz de integrar señales internas y externas para regular tanto el desarrollo como la adaptación de las plantas.

Desde su compleja biogénesis en el núcleo hasta su acción específica sobre genes diana, pasando por mecanismos de transporte, modulación y degradación, estas pequeñas moléculas son piezas clave en la maquinaria genética vegetal. Comprender su funcionamiento no solo amplía nuestro conocimiento sobre la biología fundamental de las plantas, sino que abre nuevas posibilidades para la mejora agrícola, la resistencia a estrés y el desarrollo de herramientas biotecnológicas innovadoras. En un mundo donde las plantas son esenciales para la vida y enfrentan condiciones cada vez más extremas, descifrar el lenguaje de los miARNs puede ser una de las llaves para garantizar nuestra sostenibilidad futura.

### Para leer más

Achkar NP, Cambiagno DA, Manavella PA. miRNA Biogenesis: A Dynamic Pathway. *Trends in Plant Science* 21 (2016) 1034-1044. doi: 10.1016/j.tplants.2016.09.003

Gonzalo L, Giudicatti AJ, Manavella PA. HYL1's multiverse: A journey through miRNA biogenesis and beyond. *Current Opinion in Plant Biology* 80 (2024)102546. doi: 10.1016/j.pbi.2024.102546

Mencia R, Gonzalo L, Tossolini I, Manavella PA. Keeping up with the miRNAs: current paradigms of the biogenesis pathway. *Journal of Experimental Botany* 74 (2022) 2213-2227. doi: 10.1093/jxb/erac322