



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN
CAMPUS TUXTEPEC

TESIS

Análisis de expresión de microRNAs de respuesta a sequía crónica
durante el ciclo de vida en *Brachypodium distachyon*.

PRESENTA:

ROGELIO ANTONIO RÍOS VILLANUEVA

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

DIRECTORA:

DRA. BLANCA ESTELA BARRERA FIGUEROA

CO-DIRECTOR:

DR. EDGAR BALDEMAR SEPÚLVEDA GARCÍA

Tuxtepec, Oaxaca, 2016.

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del Instituto de Biotecnología de la Universidad del Papaloapan Campus Tuxtepec, bajo la asesoría de la Dra. Blanca Estela Barrera Figueroa y la coasesoría del Dr. Edgar Baldemar Sepúlveda García, con el apoyo del del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través del proyecto de Ciencia Básica CONACYT 169619 y la beca de estudiante 22839 asignado al mismo.

Parte de este trabajo fue presentado en el 1er Simposium de la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería Delegación Oaxaca con el nombre: “Elaboración y Evaluación de un Protocolo Simple y de Bajo Costo para Construir Bibliotecas de RNAs Pequeños a partir de Plantas”



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN CAMPUS TUXTEPEC

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

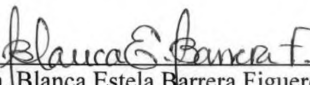
En la Ciudad de San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, el día 22 de Noviembre del 2016 a las **12:00 hr**, se reunieron en la sala de juntas del Instituto de Biotecnología, los miembros de la comisión revisora de tesis designada por la jefatura de la carrera de **Ingeniería en Biotecnología** de la Universidad del Papaloapan, con la finalidad de examinar la tesis titulada "**Análisis de expresión de microRNAs de respuesta a sequía crónica durante el ciclo de vida en *Brachypodium distachyon***" presentado por el alumno **Rogelio Antonio Ríos Villanueva**, con número de matrícula **11090021**, aspirante al grado de **Licenciatura**.

Después de intercambiar opiniones, los miembros de la comisión manifestaron **QUE LA TESIS SATISFACE LOS REQUISITOS SEÑALADOS POR LAS DISPOSICIONES REGLAMENTARIAS VIGENTES, OTORGANDO SU APROBACIÓN PARA QUE EL ASPIRANTE PUEDA PROCEDER CON EL PROCESO DE TITULACIÓN.**

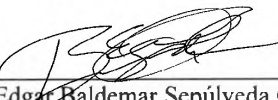
Tuxtepec, Oax., a 22 de Noviembre del 2016.

ATENTAMENTE. LA COMISIÓN REVISORA

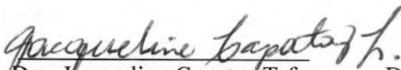
Asesor de Tesis


Dra. Blanca Estela Barrera Figueroa
Profesor- Investigador

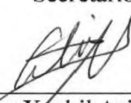
Co-Asesor de Tesis


Dr. Edgar Baldemar Sepúlveda García
Profesor- Investigador

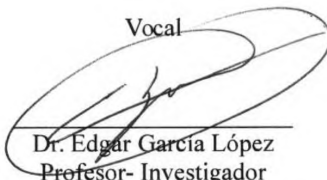
Presidente

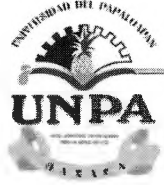

Dra. Jacqueline Capataz Tafur
Profesor- Investigador

Secretario


Dra. Alma Xóchil Avila Alejandre
Profesor-Investigador

Vocal


Dr. Edgar García López
Profesor- Investigador



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN CAMPUS TUXTEPEC

Oficio No. JCIB/199/16

Tuxtepec, Oaxaca a 22 de Noviembre del 2016.

Lic. Yessenia Barrientos Arenal
Jefa de Servicios Escolares

Con base en el dictamen de la comisión revisora, se autoriza la **impresión** del trabajo de tesis del alumno **Rogelio Antonio Ríos Villanueva** titulado **“Análisis de expresión de microRNAs de respuesta a sequía crónica durante el ciclo de vida en *Brachypodium distachyon*”**. Para ser presentado como trabajo de tesis para obtener el título de Licenciado en **Ingeniería en Biotecnología**, toda vez que cumple satisfactoriamente con la reglamentación establecida para tal fin.

Sin mas por el momento le envió un cordial saludo.

Atentamente
terra uberrima, mens aperta
Bou Lo-tama, chí jí jú



Dra. Ana Karin Navarro Martinez
Jefe de Carrera de
Ingeniería en Biotecnología

c.c.p. M.C. Héctor López Arjona, Vice-Rector Académico, Para su conocimiento.
c.c.p. Dra. Blanca Estela Barrera Figueroa, Asesor de tesis, Para su conocimiento
c.c.p. Rogelio Antonio Ríos Villanueva, Alumno, Para su conocimiento
c.c.p. Archivo

**Universidad del Papaloapan Campus Tuxtepec. Circuito Central No. 200. Col. Parque Industrial,
C.P. 68301, Tuxtepec, Oax. Tel: 01 287 87 5 92 40. www.unpa.edu.mx**

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Blanca Estela Barrera Figueroa, por la oportunidad otorgada para trabajar bajo su asesoría, por la confianza, sus consejos y entusiasmo siempre presentes durante mi estancia. Por los conocimientos adquiridos a través de su enorme compromiso y tiempo esta etapa de aprendizaje.

Al Dr. Edgar Baldemar Sepúlveda García, por sus aportes y sugerencias ,mismos que han enriquecido el trabajo.

A la Dra. Jacqueline Capataz Tafur, Dr. Edgar García López, Dra. Alma Xochil Ávila Alexandre, Dr. Julián Mario Peña Castro, Dra. Ariana Arlene Huerta Heredia y Dr. Paul Mauricio Sánchez Ocampo por formar parte de mi comité revisor, por sus consejos y comentarios en este trabajo.

A la Universidad del Papaloapan y a los profesores que a lo largo de mi estadía proporcionaron un excelente ambiente académico a través de sus conocimientos y enseñanzas que impactaron directamente sobre mi formación.

Tabla de contenido

<i>Resumen</i>	1
<i>1. Introducción</i>	2
<i>2. Antecedentes</i>	4
<i>2.1 La sequía y la agricultura</i>	4
<i>2.2 Respuestas de las plantas ante la sequía</i>	6
<i>2.2.1 Respuestas fisiológicas</i>	9
<i>2.2.2 Respuestas bioquímicas</i>	10
<i>2.2.3 Respuestas moleculares</i>	12
<i>2.3 MicroRNAs</i>	15
<i>2.4 MicroRNAs y su función en la respuesta a la sequía.</i>	19
<i>2.5 Brachypodium distachyon, modelo de respuesta a la sequía</i>	22
<i>2.6 Brachypodium distachyon y microRNAs en la respuesta a la sequía</i>	26
<i>2.7 Métodos actuales para detección de miRNAs</i>	27
<i>2.8 Consideraciones para el análisis bioinformático de bibliotecas</i>	28
<i>2.9 Empleo de bibliotecas en análisis de expresión</i>	29
<i>2.10 PCR cuantitativa</i>	30
<i>2.11 Métodos de detección de miRNAs</i>	32
<i>3. Justificación</i>	34
<i>4. Hipótesis</i>	35
<i>5. Objetivo general</i>	35
<i>5.1 Objetivos específicos</i>	35
<i>6. Metodología</i>	36
<i>6.1 Análisis bioinformático de bibliotecas de RNAs pequeños</i>	36
<i>6.1.1 Depuración de bibliotecas de RNAs pequeños</i>	36
<i>6.1.2 Clasificación de grupos de miRNAs</i>	39
<i>6.1.3 Análisis de expresión diferencial digital</i>	40
<i>6.2 Material vegetal</i>	41
<i>6.3 Desinfección de semillas</i>	42
<i>6.4 Experimento guía</i>	42
<i>6.5 Tratamientos de estrés</i>	42
<i>6.6 Monitoreo de tratamientos</i>	43

6.7 <i>Colecta de tejido vegetal</i>	44
6.8 <i>Medición parámetros fisiológicos</i>	45
6.9 <i>Análisis molecular</i>	45
6.9.1 <i>Extracción de RNA</i>	45
6.9.2 <i>Cuantificación y análisis de la pureza e integridad de RNA</i>	46
6.9.3 <i>Ensayo de PCR punto final</i>	47
6.9.4 <i>Ensayo de expresión por PCR cuantitativa</i>	48
6.10 <i>Análisis estadístico</i>	51
7. <i>Resultados y discusión</i>	52
7.1 <i>Análisis bioinformático de bibliotecas de RNAs pequeños</i>	52
7.1.1 <i>Depuración y estadística de las bibliotecas de RNAs pequeños</i>	52
7.1.2 <i>Normalización de las bibliotecas de RNAs pequeños</i>	56
7.1.3 <i>Identificación de grupos de miRNAs</i>	60
7.1.4 <i>Análisis de expresión diferencial digital</i>	63
7.2 <i>Experimento guía</i>	65
7.3 <i>Tratamientos de estrés</i>	66
7.4 <i>Monitoreo de tratamientos de estrés</i>	67
7.5 <i>Medición de parámetros fisiológicos</i>	69
7.6 <i>Análisis molecular</i>	73
7.6.1 <i>Análisis de la integridad y pureza del RNA total.</i>	73
7.6.2 <i>Ensayo PCR punto final</i>	74
7.6.3 <i>Ensayo de PCR cuantitativa</i>	77
8. <i>Conclusiones</i>	82
9. <i>Perspectivas</i>	82
10. <i>Referencias</i>	83
Apéndices	92
Apéndice A. <i>Soluciones empleadas.</i>	92
Apéndice B. <i>Oligonucléotidos empleados</i>	95
Apéndice C. <i>Análisis de la pureza y concentración de RNA</i>	97
Apéndice D. <i>Resultados de métodos de normalización</i>	98
Apéndice E. <i>Análisis TPM</i>	114
Apéndice F. <i>Resultados de ANOVA en Minitab.</i>	120

Índice de figuras

<i>Figura 1. Monitor de sequía en México</i>	5
<i>Figura 2. Factores que determinan la respuesta de la planta ante el estrés abiótico</i>	7
<i>Figura 3. Mecanismos moleculares de respuesta al estrés hídrico en plantas</i>	12
<i>Figura 4. Biogénesis de los microRNAs</i>	17
<i>Figura 5. Participación de miRNAs en bibliotecas</i>	21
<i>Figura 6. Árbol filogenético entre Brachypodium y otros pastos</i>	24
<i>Figura 7. Fundamento de la PCR cuantitativa</i>	31
<i>Figura 8. Métodos de detección para miRNAs</i>	33
<i>Figura 9. Diagrama de flujo para la selección de miRNAs a partir de bibliotecas de RNA pequeños</i>	38
<i>Figura 10. Colectas respectivas de material vegetal</i>	44
<i>Figura 11. Análisis de la calidad.</i>	54
<i>Figura 12. Distribución de la longitud de la secuencias en la bibliotecas.</i>	55
<i>Figura 13. Evaluación de los métodos de normalización</i>	57
<i>Figura 14. Distribución de lecturas en gráficas MA durante normalización</i>	59
<i>Figura 15. Clasificación de miRNAs de acuerdo a su patrón de expresión digital.</i>	61
<i>Figura 16. Participación de miRNAs en las bibliotecas.</i>	63
<i>Figura 17. Patrones de comportamiento en Fold Change para los cuatro miRNAs evaluados.</i>	64
<i>Figura 18. Estadíos fenológicos de experimento guía.</i>	66
<i>Figura 19. Efecto de la sequía crónica sobre las etapas de desarrollo de B. distachyon.</i>	67
<i>Figura 20. Contenido relativo de agua en suelo.</i>	68
<i>Figura 21. Contenido relativo de agua en hojas.</i>	69
<i>Figura 22. Respuesta fisiológica al estrés por sequía crónica durante 4 etapas de desarrollo de B. distachyon</i>	71

<i>Figura 23. Distribución del tiempo de floración de B. distachyon</i>	72
<i>Figura 24. Electroforesis en gel de agarosa al 1% desnaturalizante de RNAs totales extraídos de B. distachyon</i>	73
<i>Figura 25. Electroforesis en gel de acrilamida de 5.8S, miR5163, miR7757, miR166 y miR408.</i>	75
<i>Figura 26. Electroforesis en gel de acrilamida de 5.8S, miR397, miR529 y miR7741.</i>	76
<i>Figura 27. Análisis de expresión relativa de miRNAs.</i>	79
<i>Figura 28. Distribución de datos de qPCR y bibliotecas</i>	81

Índice de tablas

<i>Tabla 1. Comparación de plantas modelos y de interés económico.</i>	24
<i>Tabla 2. Puntajes de calidad y exactitud de lectura de base.</i>	28
<i>Tabla 3. Datos de las bibliotecas de RNAs pequeños.</i>	36
<i>Tabla 4. Recursos para el entorno de trabajo.</i>	37
<i>Tabla 5. Resultados del análisis bioinformático para la detección de miRNAs.</i>	53
<i>Tabla 6. Medidas de tendencia central de los métodos de normalización</i>	58
<i>Tabla 7. Lecturas de los cuatro miRNAs evaluados</i>	64

Lista de abreviaturas

Símbolo	Significado
<i>BBCH</i>	<i>Biologische Bundesantalt, Bundessortenamt and Chemische Industrie</i>
<i>cm</i>	<i>Centímetros</i>
<i>DDG</i>	<i>Días Después de Germinación</i>

<i>DNA</i>	<i>Ácido desoxirribonucleico</i>
<i>DEPC</i>	<i>Dietilpirocarbonato</i>
<i>cDNA</i>	<i>DNA complementario</i>
<i>°C</i>	<i>Grados centígrados</i>
<i>g</i>	<i>gramos</i>
<i>ha</i>	<i>Hectáreas</i>
<i>h</i>	<i>Horas</i>
<i>K</i>	<i>Potasio</i>
<i>m</i>	<i>Metros</i>
<i>m²</i>	<i>Metros cuadrados</i>
<i>min</i>	<i>Minutos</i>
<i>miRNA</i>	<i>MicroRNA</i>
<i>µg</i>	<i>Microgramos</i>
<i>µL</i>	<i>Microlitros</i>
<i>µM</i>	<i>Micromolar</i>
<i>min</i>	<i>Minutos</i>
<i>M</i>	<i>Molar</i>
<i>MOPS</i>	<i>Ácido 3-Morfolinopropano-1-sulfónico</i>
<i>N</i>	<i>Nitrógeno</i>
<i>qPCR</i>	<i>Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa</i>
<i>RNA</i>	<i>Ácido ribonucleico</i>
<i>rpm</i>	<i>Revoluciones por minuto</i>
<i>P</i>	<i>Fósforo</i>
<i>s⁻¹</i>	<i>Segundos a la menos 1</i>
<i>TBE</i>	<i>Tris-Borato-EDTA</i>
<i>V</i>	<i>Volts</i>

Resumen

La sequía es el factor abiótico de mayor influencia que reduce la producción agrícola y genera inestabilidad económica. Las plantas poseen estrategias bioquímicas, fisiológicas y moleculares propias para la respuesta a diferentes tipos de estrés. En los últimos años, numerosos grupos de investigación se han enfocado en el estudio de los mecanismos moleculares en respuesta a la sequía en plantas, estableciendo que los cambios en la expresión son de naturaleza multifactorial al estar determinados por el genotipo, etapa de desarrollo y tipo de tejido de la plantas, así como la intensidad y duración del estrés al que están sometidas. Se ha demostrado que ciertos cambios en la expresión de los genes están dirigidos por pequeños elementos de RNA denominados microRNAs (miRNAs), los cuales pueden modular a una gran cantidad de genes, que a su vez están implicados en funciones específicas en organismos eucariotas como las plantas. En este trabajo, se emplearon herramientas bioinformáticas para el análisis de seis bibliotecas de RNAs pequeños de la planta monocotiledónea modelo *Brachypodium distachyon* en condiciones de sequía crónica en tres etapas de desarrollo. Para esto se aplicaron métodos de normalización de los datos masivos generados por secuenciación, resultando que el método de cuantiles presenta la distribución más adecuada para los datos, de acuerdo a las gráficas MA de dependencia logarítmica. Con el objetivo de identificar miRNAs implicados en la respuesta, se calculó la expresión relativa (*Fold change*) a partir de los datos de abundancia de las secuencias maduras de miRNAs. De acuerdo a los resultados, se eligieron cuatro miRNAs candidatos (miR397, miR529, miR5163 y miR7741) implicados en la regulación por sequía en las fases de desarrollo, vegetativa, transición a la floración y floración. Con base en el coeficiente de correlación R^2 , solo existe correspondencia para el caso de miR1563 entre los datos de qPCR y el análisis digital de expresión a partir de las bibliotecas. El resto de los miRNAs mostraron perfiles de expresión que no corresponden a lo observado en las bibliotecas.

1. Introducción

El sector agropecuario en México juega un papel muy importante en la generación de divisas, empleos e ingresos (Rodríguez y Juárez, 2011). Alrededor de 1,960 MDP que corresponden al 3.7% del Producto Interno Bruto (PIB) se derivan de las actividades agrícolas en el año 2015 (Banco Mundial, 2016). La agricultura depende del agua para su desarrollo; representa alrededor del 70% del uso total de agua en todo el mundo y hasta un 95% en muchos países en desarrollo, influyendo así tanto en la cantidad como en la calidad del agua disponible para otros usos humanos (FAO, 2007). Por lo tanto, los fenómenos naturales extremos que causan alteraciones en la disponibilidad del agua, como las sequías, las inundaciones y los huracanes, han reducido significativamente la competitividad de este sector productivo.

La sequía es un fenómeno meteorológico natural y recurrente que presenta una deficiencia prolongada y anormal de humedad en el suelo (Palmer, 1965), se presenta en todo el mundo, en diferentes climas y magnitudes (CONAZA, 2010). En México, la sequía causa las mayores pérdidas en la agricultura; tan solo en 2008 del total de los siniestros naturales reportados, la sequía representó el 47 % (CONAZA, 2010). En nuestro país, donde la agricultura de riego y de temporal es una fuente importante de empleo y de ingreso económico, las sequías representan un alto riesgo para el sector agropecuario, ya que propician severos desajustes a la economía regional y nacional (Ortega-Gaucin y Velasco, 2011).

El agua es un elemento clave durante el crecimiento y desarrollo de las plantas, por lo que su disponibilidad es esencial para la regulación del ciclo de vida de las mismas. Con el objetivo de disminuir el impacto ocasionado por la sequía, se prevé que surjan estrategias para el aprovechamiento sustentable de la tierra y la distribución del agua en los campos de cultivo. Por otra parte, los avances de la biotecnología moderna vislumbran el desarrollo e implementación de

plantas tolerantes a la sequía que mantengan los estándares de productividad y garanticen el abastecimiento de alimentos y el desarrollo económico de las naciones.

La sequía provoca estrés en organismos eucariotas y genera respuestas al nivel molecular que implican ajustes en la expresión genética, es decir, la inducción y represión genes involucrados en procesos de adaptación. Estos ajustes pueden estar dirigidos por la actividad de pequeñas moléculas de RNA denominados microRNAs (miRNAs). Se han identificado diversos miRNAs que participan en respuesta a la sequía en una gran variedad de plantas, por ejemplo, en *Oryza sativa* (Zhao *et al.*, 2007), *Arabidopsis thaliana* (Liu *et al.*, 2008) y *Brachypodium distachyon* (Ding *et al.*, 2013).

La identificación de miRNAs es esencial para la comprensión de los procesos de adaptación ante fenómenos de estrés. Con la aplicación de estrategias de estudio tales como la genética directa, la predicción bioinformática, la clonación directa y la secuenciación a diversas escalas (Zhang *et al.*, 2009), se ha generado conocimiento de la función de los miRNAs en plantas. La adquisición de dicho conocimiento se ha facilitado con el estudio de sistemas vegetales modelo, los cuales se caracterizan por tener un ciclo de vida corto, tamaño pequeño y mantenimiento de bajo costo, morfología simple, genoma totalmente secuenciado, facilidad de transformación genética y una diversidad de recursos bioinformáticos; éstas propiedades simplifican la obtención e interpretación de los resultados en un estudio (Meyerowitz, 2001; Brkljacic *et al.*, 2011). En este sentido, *B. distachyon*, que es una planta modelo ampliamente usada en la última década para realizar estudios moleculares de alto alcance, es un modelo ideal por su relación con plantas monocotiledóneas de importancia agronómica como el arroz, trigo y maíz (Draper *et al.*, 2001; Garvin, 2007).

2. Antecedentes

2.1 La sequía y la agricultura

La agricultura es una de las actividades humanas más extendidas a lo largo de todo el mundo y representa una de las principales fuentes de ingresos para las naciones. Sin embargo, no existe actividad económica más vulnerable que la agrícola debido a una amplia gama de riesgos que pueden derivarse en catástrofes. De los 570 millones de explotaciones agrícolas en el mundo, el 90% están dirigidas en una base de mano de obra familiar, las cuales producen más del 80% de los alimentos a nivel mundial (FAO, FIDA y PMA, 2015).

La producción de alimentos se ha ido adaptando a los requerimientos demográficos mundiales, incluso ofreciendo algunos alimentos a menor precio a costa de los recursos hídricos disponibles. Se estima que el agua destinada al riego aumentará un 14 por ciento para 2030, dado que la escasez de agua será cada vez mayor en algunos lugares, lo que limitará la producción local de alimentos (FAO, 2002).

México posee 198 millones de hectáreas (ha), de las cuales 115 millones están dedicadas al sector agropecuario (SAGARPA, 2007), donde el entorno rural juega un papel fundamental para el desarrollo social y económico. En nuestro país, la actividad agropecuaria ocupa alrededor del 21% de la fuerza laboral y genera empleos a 8.7 millones de personas. Dicha cifra es representada en una escasa aportación del 3.7% al PIB (AGROASEMEX, 2006).

En 2012, las cifras revelaron que la superficie destinada solo a la agricultura por temporal ascendieron a 14, 495, 477 ha, lo que representa cerca de tres veces más en comparación de las 5, 556, 274 ha de riego (INEGI, 2015), indicando que gran parte de la producción agrícola en el país está sujeta a la disponibilidad de recursos hídricos por precipitación.

El desarrollo productivo nacional presenta elementos contrastantes y diferencias notorias; por un lado, se cuenta con productores altamente tecnificados y explotaciones comerciales especializadas y exitosas, que atienden los mercados locales y simultáneamente sostienen el crecimiento de las exportaciones agrícolas. En contraparte, existe un amplio segmento de la población rural cuya producción se orienta al autoconsumo y que practica exclusivamente agricultura de temporal o secano en pequeñas parcelas, que no ha podido superar el círculo vicioso de baja productividad (Escamilla-Juárez, 2012).

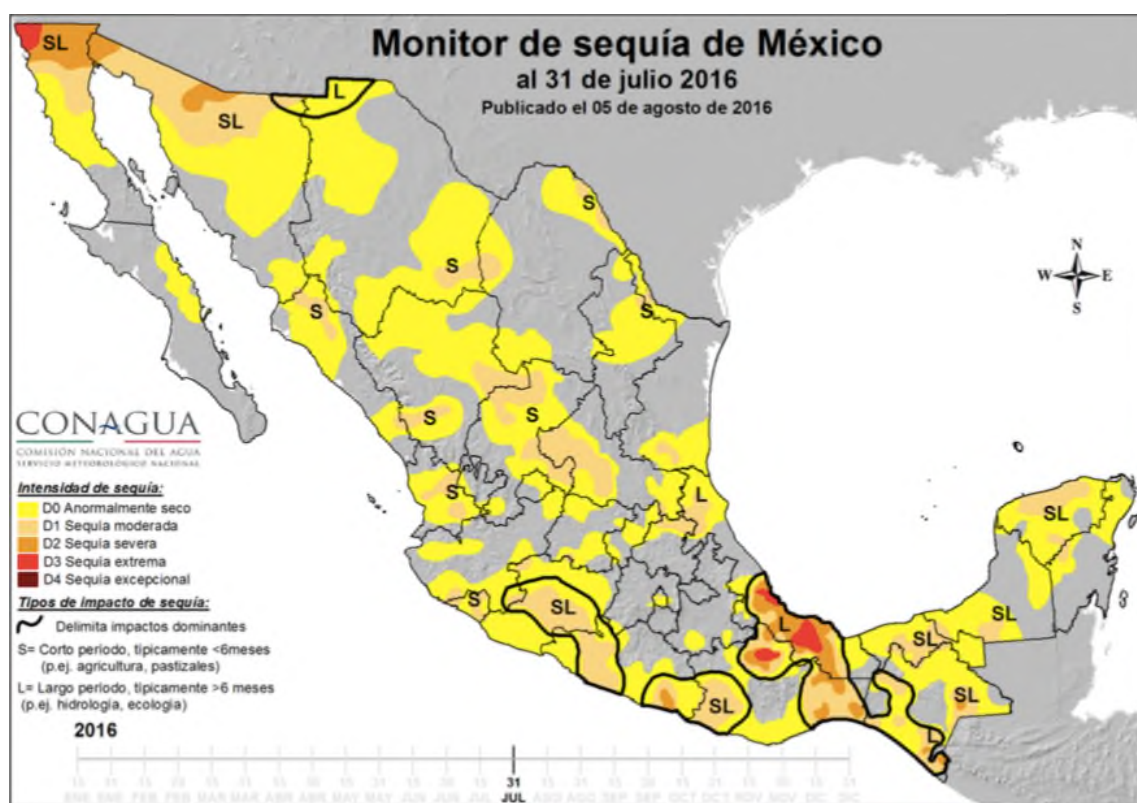


Figura 1. Monitor de Sequía en México, julio 2016. Representación en colores de acuerdo a la intensidad de la sequía y tipos de impacto. (CONAGUA, 2016)

El cambio climático ha alterado drásticamente el ciclo del agua, provocando inundaciones y sequías con efectos negativos en la producción agrícola. Entre estos dos eventos meteorológicos, la sequía es el factor que causa mayores

pérdidas de cultivos en la República Mexicana, además de que es un evento recurrente. En la Fig. 1 se muestran los grados de exposición de sequía y tipos de impacto en México durante el mes de julio de 2016. En su mayoría se presentan zonas anormalmente secas, siendo éste patrón alarmante, puesto que implica el abastecimiento de agua para dichas zonas agrícolas y su vez significa mayores costos de producción.

La sequía se manifiesta a lo largo del país en diferentes grados. Este hecho pone en riesgo la productividad agrícola en los principales cultivos como el maíz, sorgo, frijol y arroz. En 2012, las pérdidas por la sequía fueron de 15,000 millones de pesos para el maíz y frijol, lo que ocasionó inestabilidad económica. (El Economista, 2012).

2.2 Respuestas de las plantas ante la sequía

Como organismos sésiles, las plantas están expuestas a factores adversos que pueden causar estrés. El estrés se define como un factor externo que ejerce una influencia de desventaja para la planta (Taiz y Zeiger, 2006). Los tipos de estrés se dividen en bióticos, como el ataque de patógenos, insectos y herbívoros, y los abióticos como la deficiencia de nutrientes, alto contenido salino, cambios de temperatura, hipoxia y sequía (Taiz y Zeiger, 2006).

Los factores de respuesta en plantas ante el estrés abiótico están determinados por las características del estrés y de la planta, que son elementos moduladores importantes. Éstos determinarán dos posibles respuestas propias de la planta: resistencia y susceptibilidad. Finalmente el resultado será la supervivencia y crecimiento, o la muerte como producto de la combinación de todos los factores implicados (Fig. 2) (Buchanan *et al.*, 2015).

La productividad de las plantas depende de la cantidad de agua total disponible y del uso eficiente del agua por la planta; en ese sentido, una planta puede ser

capaz de acceder a una menor cantidad de agua mientras la eficiencia de uso de agua sea mayor y así puede hacer frente al déficit hídrico. El déficit hídrico fisiológico se define como cualquier cantidad de agua de un tejido o una célula que se encuentra abajo del mayor contenido de agua en el estado de mayor hidratación (Taiz y Zeiger, 2006). Los parámetros más afectados de la relación planta-agua sobre los cuales el déficit hídrico tiene mayor incidencia son el contenido relativo de agua, el potencial de agua en hojas, el potencial osmótico y la tasa de transpiración (Farooq *et al.*, 2009).

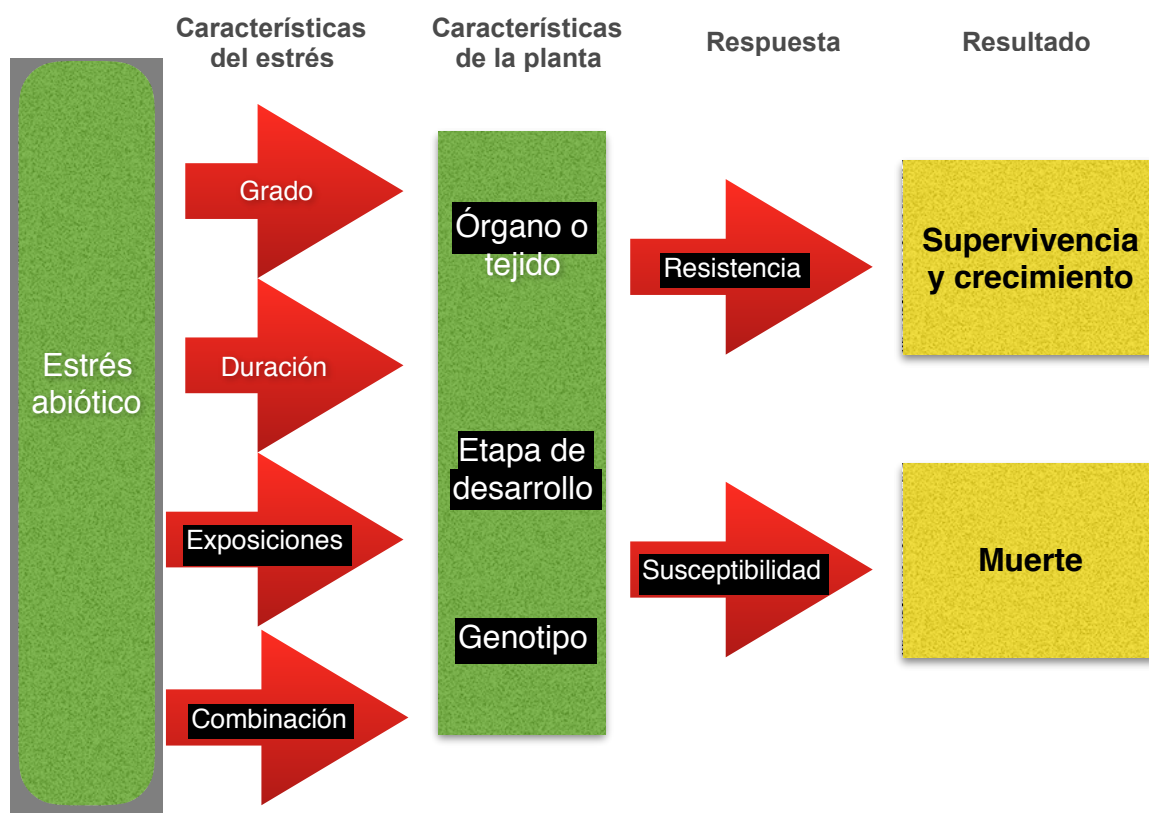


Figura 2. Factores que determinan la respuesta de la planta ante el estrés abiótico. Adaptado. (Buchanan *et al.*, 2015).

Las plantas responden al estrés a través de mecanismos de adaptación como el escape a la sequía, la evasión y la tolerancia a la deshidratación (Farooq *et al.*, 2012). El escape es la habilidad de la planta por mostrar plasticidad, es decir, la capacidad intrínseca de la planta de cambiar su fenotipo, completar su ciclo de vida antes del inicio de la sequía y anclarse al proceso de dormancia antes de

la temporada de secas. Un claro ejemplo de este mecanismo son las plantas desérticas que exhiben como característica ciclos cortos de vida y producen semillas durante la temporadas de lluvia para asegurar su progenie (Levitt, 1980). En plantas de interés agrícola, se ha observado que este mecanismo exhibe una alta tasa de supervivencia, pero existe una baja productividad debido a que el tiempo de floración es una etapa crítica en el ciclo de vida.

La evasión a la sequía es la capacidad de la planta de mantener alto el estado de hidratación celular durante la sequía. Las plantas logran este mecanismo mediante la búsqueda de agua en suelo o minimizando la pérdida de agua por transpiración (Akhtar y Nazir, 2013). Generalmente, los cambios que se realizan son a nivel morfológico y fisiológico; uno de ellos es la reducción de biomasa, en particular de la parte aérea. En contraparte, se busca una mayor profundidad de raíces, proliferación e incremento en la densidad radicular con el objetivo de penetrar suelos más profundos en búsqueda de agua (Khan *et al.*, 2011).

La reducción de la pérdida de agua por transpiración es otra adaptación importante de la evasión a la sequía. Para lograr eso, las plantas han desarrollado varias adaptaciones morfológicas, tales como ajustar una relación raíz-ápice alta, generar menos hojas y más pequeñas para mantener el contenido de agua con una alta absorción y una pérdida mínima (Lei *et al.*, 2006). El cierre de estomas, la disminución del área de hojas y la resistencia de cutícula son algunos de los mecanismos de evasión para mantener el agua durante condiciones de estrés.

La tolerancia a la deshidratación en plantas implica mantener las actividades metabólicas de forma funcional durante el déficit hídrico. Una respuesta fisiológica es el ajuste osmótico, el cual se lleva cabo mediante la acumulación de solutos orgánicos e inorgánicos que ayudan a disminuir el potencial de agua sin perder el contenido de agua presente en la célula. Esta estrategia ayuda a la

planta en dos maneras; mantener la turgencia en hojas y promover la capacidad de la raíces para la absorción de agua (Farooq *et al.*, 2012).

2.2.1 Respuestas fisiológicas

La presión de turgencia generada por la absorción de agua del medio, provee a las plantas herbáceas rigidez estructural necesaria para mantenerse verticales. Durante la sequía, la presión de la turgencia y el potencial de agua se ven disminuidos, teniendo una repercusión directa sobre la expansión y crecimiento de la célula (Taiz y Zeiger, 2006).

Una de las respuestas inmediatas ante el déficit hídrico es el cierre de estomas, el cual se puede llevar a cabo por dos mecanismos denominados cierre hidropasivo o hidroactivo. El primero ocurre en las células guarda localizadas en la epidermis de la hoja. Éstas pierden turgencia por evaporación a la atmósfera en respuesta a la sequía ocasionando el cierre hidropasivo de los estomas. Se ha propuesto que dicho mecanismo funciona en aire de baja humedad debido a que la pérdida de agua de las células guarda es muy rápida, sin embargo, es equilibrada por el movimiento de agua dentro de las células guarda adyacentes en la epidermis (Taiz y Zeiger, 2006).

El segundo mecanismo es el cierre hidroactivo o dependiente de (ácido abscísico) ABA. Durante el estrés hídrico se sintetiza ABA en los apoplastos y disminuye la actividad de la ATPasa de la membrana plasmática. Al disminuir la actividad de ATPasa, se incrementa el pH y se promueve la conversión de ABA a su forma aniónica (ABA^-). El cual no puede cruzar la membrana plasmática de las células de las hojas y se trasloca hacia las células guarda del estoma por transpiración en el apoplasto, induciendo el cierre de estomas (Hossain *et al.*, 2016a). Independientemente del mecanismo, el cierre de estomas produce inhibición de la transpiración; este hecho ocasiona un decremento en la

concentración de CO₂ (Taiz y Zeiger, 2006) y disminuye la tasa neta de la actividad fotosintética (Reddy *et al.*, 2004).

La disminución del área foliar se presenta como otro mecanismo de respuesta ante el estrés hídrico. Este fenómeno se debe a que las células se contraen y la pared celular se relaja, provocando la disminución en el volumen de las células, lo que resulta en una menor presión de turgencia y una mayor concentración de solutos. La membrana plasmática se vuelve más gruesa y comprimida debido a que cubre menos espacio de lo que se disponía inicialmente (Taiz y Zeiger, 2006).

Finalmente, la abscisión de hojas es un mecanismo de adaptación de largo término que ocurre cuando la planta ha estado sometida a un estrés hídrico constante, por lo que las hojas maduras suelen acelerar el proceso de senescencia y con ello realizar ajustes a nivel morfológico que le permita establecer un equilibrio en el estado de estrés (Taiz y Zeiger, 2006; Farooq *et al.*, 2012).

2.2.2 Respuestas bioquímicas

El estrés hídrico produce efectos a nivel bioquímico en las plantas. Uno de los más importantes es la disminución del metabolismo fotosintético, principalmente derivado de la reducción en el flujo de CO₂ a través de los estomas cuando el estrés es prolongado (Chaves *et al.*, 2009). Se ha demostrado que este fenómeno ocurre cuando existe una baja concentración CO₂ intercelular y la enzima Rubisco se inactiva (Meyer y Genty, 1998).

Otros efectos bioquímicos comprenden la alteración de la fosforilación, que disminuye significativamente los niveles de ATP. Este fenómeno resulta en la disminución de la regeneración de Rubisco-Fosfato (RuBP). Esta molécula participa como aceptor de unión al CO₂, por lo que su decremento produce

alteraciones notables en el Ciclo de Calvin (Andersson y Backlund, 2008). Adicionalmente, se ha observado que durante un estrés medio-prolongado, la actividad de enzimas implicadas en el ciclo de Calvin disminuyen su actividad (Maroco *et al.*, 2002). Aunado al estrés por sequía, las plantas pueden estar sometidas a otros estreses en combinación, como altas temperaturas o exceso de luz, lo que puede generar fotoinhibición (Chaves *et al.*, 2009).

La conjunción de procesos como el cierre de estomas, la limitación de la actividad fotosintética y la fotoinhibición resulta en la formación de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO's). Se ha reportado que en plantas los ERO's causan deleciones de bases en el DNA, dímeros de pirimidinas, rompimiento de cadenas y modificaciones de bases como alquilación y oxidación (Gill y Tuteja, 2010). Además, causa daños en los compartimentos del apoplasto, y en la membrana celular por peroxidación de lípidos, proteínas y carbohidratos (Baier *et al.*, 2005).

Las plantas han desarrollado estrategias de defensa para evitar o minimizar los efectos del estrés por sequía. Uno de estas estrategias es contar con un sistema antioxidante eficiente. Los antioxidantes pueden ser clasificados en enzimáticos tales como; peroxidasas, catalasas, y superóxido dismutasas, o no enzimáticos como ascorbato, glutatión, carotenoides y tocoferoles. El sistema antioxidante se encarga de destoxificar o eliminar agentes oxidantes como ERO's y otros como radicales libres, y mantiene un balance adecuado de óxido-reducción a nivel celular (Farooq *et al.*, 2012).

El ajuste osmótico es otro mecanismo bioquímico que ayuda a las plantas tolerar el estrés hídrico. La acumulación de solutos orgánicos en la célula, conocidos como solutos compatibles, tales como prolina, glicina betaína, alcohol de azúcar, y el sorbitol puede mejorar la hidratación de las células y por lo tanto preserva la turgencia de la célula, de modo que la planta puede

sobrevivir más tiempo y mantener los procesos metabólicos en el suelo seco (Taiz y Zeiger, 2006; Chen y Jiang, 2010; Farooq *et al.*, 2012).

2.2.3 Respuestas moleculares

Las respuestas moleculares ante el estrés por sequía están mediadas por un conjunto de señales en diferentes niveles. Por un lado, las señales extracelulares representan el primer paso de percepción del estrés a través de receptores especializados ubicados en la membrana celular. Además, comprende la participación de moléculas de señalización como hormonas, factores de transcripción y genes de respuesta al estrés que codifican para proteínas contra el estrés, incluyendo proteínas LEA (Late Embryogenesis Abundant) y HSP (Heat Shock Proteins) (Fig. 3).

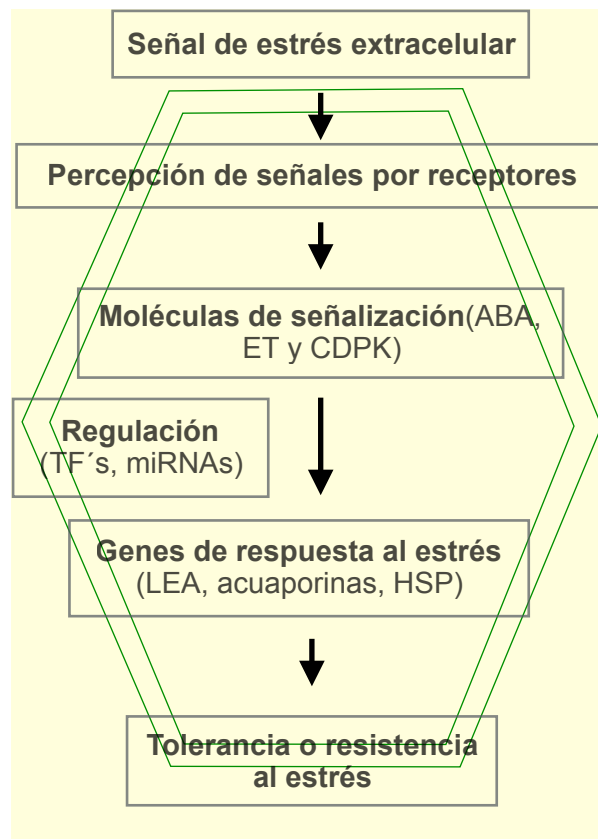


Figura 3. Mecanismos moleculares de respuesta al estrés hídrico en plantas. El contorno verde simboliza la membrana celular. Adaptado de Hossain *et al.*, 2016b.

La hormona ABA es una molécula de transducción de señales durante la respuesta al estrés por sequía. El ABA puede coordinar respuestas celulares como el cierre de estomas, inducción de proteínas del estrés y acumulación de metabolitos para la protección celular (Hossain *et al.*, 2016b). En condiciones de sequía se han identificado una gran cantidad de genes que alteran su expresión. En ensayos donde se lleva a cabo la aplicación exógena de ABA, se han reconocido un numeroso grupo de genes que responden a esta condición, sin embargo, hay otros genes que no son afectados. De esta forma, se ha demostrado que existen dos vías de inducción de genes relativos a estrés, una dependiente de ABA y otra independiente (Yamaguchi-Shinozaki y Shinozaki, 2005). Algunos de los genes que responden a ABA contienen Elementos de Respuesta a ABA (ABRE) en sus promotores. Los factores que se unen a elementos ABRE (ABRE/BF) son factores de transcripción basic leucine zipper (bZIP); como resultado de esta unión se desencadena una serie de procesos que regulan la tolerancia al estrés osmótico de manera dependiente de ABA (Nakashima *et al.*, 2014).

Otras hormonas como ácido jasmónico (JA) y etileno (ET) también participan en la transducción de señales durante el estrés hídrico (Kazan *et al.*, 2015). El JA está implicado en promover el cierre de estomas. Se ha propuesto que el estrés por sequía detiene la conversión del precursor ácido 12-oxo-fitodienoico (OPDA) a JA. OPDA puede intervenir de manera dependiente o independiente de ABA para promover el cierre de estomas e incrementando la tolerancia al estrés. Por otro lado, el ET ha sido implicado en el cierre y apertura de estomas (Daszkowska-Golec y Szarejko, 2013).

La señalización del estrés puede aumentarse por la acumulación de un proteína quinasa dependiente de calcio (CDPK). Este proceso resulta en la inducción de un estrés osmótico temprano debido al movimiento de Ca^{2+} , lo que permite la activación de CDPK y la transcripción de genes de respuesta a la sequía (Hossain *et al.*, 2016b).

Los factores de transcripción son proteínas que se unen a secuencias de DNA específicas para activar la expresión de los genes. Son responsables de la regulación de genes y a menudo se expresan en un tejido o etapa de desarrollo específico (Licausi *et al.*, 2013). APETALA2 y los elementos de respuesta a etileno (AP2/ERF), pertenecen a un grupo amplio de factores de transcripción específicos de plantas que se unen al dominio AP2. Los genes AP2/ERF han sido identificados en diversas plantas como tabaco, uva, trigo y *Arabidopsis*. Estos genes mejoran la tolerancia al ataque de patógenos y estrés osmótico, sequía, bajas temperaturas y salinidad. Los elementos que se unen a DREB2 (Dehydration-responsive element binding 2) se inducen por sequía, alta salinidad y estrés por calor, y funcionan como activadores transcripcionales de la respuesta independiente de ABA. (Licausi *et al.*, 2013).

Existe una familia de genes que se activan durante la sequía, la cual codifica para una clase de proteínas denominadas LEA; éstas han sido identificadas durante el proceso de desecación de la semilla. Las proteínas LEA se caracterizan por tener un peso molecular alto (8-60 kDa), y están compuestas principalmente de aminoácidos hidrofílicos como glicina y lisina ordenados en secuencias repetidas. Esta característica les permite ser estables ante altas temperaturas (Hong-Bo *et al.*, 2005). Existen reportes de que las proteínas LEA tienen un rol en la retención de agua como amortiguador de hidratación, como chaperona molecular en protección de la membrana celular y como agente secuestrante de ERO's (Hossain *et al.*, 2016b).

Otra familia de proteínas llamadas acuaporinas regulan el movimiento de agua dentro de las células. Las acuaporinas son canales de agua que permiten la traslocación de moléculas de agua, solutos (urea, ácido bórico y ácido salicílico) y gases como amonio y CO₂ (Liu *et al.*, 2014). Durante el desarrollo de órganos vegetales, las acuaporinas tienen una alta expresión y su función principal es contribuir al mantenimiento de la turgencia celular (Gomes *et al.*, 2009).

Durante la sequía otro grupo de proteínas que se expresan son las HSP, que están relacionadas con mecanismos de defensa ante la deshidratación y de protección molecular actuando como chaperonas. Las HSPs pueden participar evitando la desnaturalización de otras proteínas, y contribuyendo al mantenimiento de la homeostasis celular durante el estrés por sequía (Timperio *et al.*, 2008).

La expresión de los genes en respuesta a la sequía está determinada por puntos de control estrictos, que le permiten a la planta responder al estrés. Se reconocen dos puntos clave de control de la expresión: el transcripcional y el postranscripcional. El control transcripcional está dirigido por los factores requeridos para iniciar la transcripción de los genes o para silenciarlos. Para inducir la expresión de los genes existe una diversidad de proteínas llamadas factores de transcripción que reconocen la secuencia de DNA al nivel del promotor de los genes e inician el proceso para activar la maquinaria de síntesis de RNAm y llevar a cabo la transcripción del gen. Otro punto es la regulación postranscripcional, la cual se centra en el procesamiento y modificación del transcrito producido que será transportado hacia los ribosomas para la síntesis de la proteína codificada (Buchanan *et al.*, 2015).

Durante la última década se ha descrito que un grupo de moléculas denominadas microRNAs (miRNAs) tienen una gran importancia en el control de la expresión genética, ya que actúan como efectores negativos o positivos en la regulación de procesos de desarrollo y en respuesta ante estreses abióticos, participando en los dos puntos de control de la expresión descritos anteriormente (Reis, 2016).

2.3 MicroRNAs

Los miRNAs son moléculas pequeñas de RNA de 17-24 nucleótidos, que se expresan en forma endógena y no son traducidas a proteínas. Son elementos

reguladores en la expresión genética que dirigen mecanismos de silenciamiento transcripcional y postranscripcional en eucariotas (Kulcheski *et al.*, 2011). El silenciamiento transcripcional se lleva a cabo sobre genes blanco a nivel del DNA, los cuales poseen una región complementaria de nucleótidos donde los miRNAs se unen por complementariedad de bases, y de esta manera los marcan para su silenciamiento (Salmanidis *et al.*, 2014). Por otra parte, el silenciamiento postranscripcional se efectúa sobre los transcritos ya sintetizados, marcándolos para su posterior degradación o impidiendo su traducción a proteínas. Diversos estudios indican que los miRNAs tienen participación en las etapas de desarrollo de las plantas, así como la tolerancia a los estreses bióticos y abióticos (Zhang *et al.*, 2009; Barrera-Figueroa *et al.*, 2011; Kulcheski *et al.*, 2011; Bertolini *et al.*, 2013).

Los miRNAs provienen de los genes MIR, que son familias de genes que están localizados principalmente en regiones intergénicas del genoma, y se transcriben por la RNA Polimerasa tipo II (Rogers y Chen, 2013). Son procesados a partir de transcritos precursores largos de 70-200 nucleótidos que tienen la capacidad de formar estructuras tallo-asa, denominados pri-miRNAs, stem-loops o hairpins (Aukerman, 2003; Rogers y Chen, 2013).

La Pol II es una RNA Polimerasa que actúa sobre regiones de DNA y es reclutada por los promotores mediante el mediador general de transcripción (Fig. 4a). La interacción de los activadores transcripcionales con el mediador desencadena el reclutamiento de Pol II en eucariotas. La caja TATA y otros motivos cis-regulatorios presentes en las secuencias promotoras de MIR, están implicados en la regulación de la transcripción de los genes MIR por el reconocimiento de diversos factores de transcripción (Ansari y Morse, 2013).

Una vez sintetizados los miRNAs tallo-asa, éstos son procesados posteriormente hasta fragmentos cortos de doble cadena (dsRNAs) que consisten en un miRNA maduro y un miRNA estrella (miRNA*) (Fig. 4c).

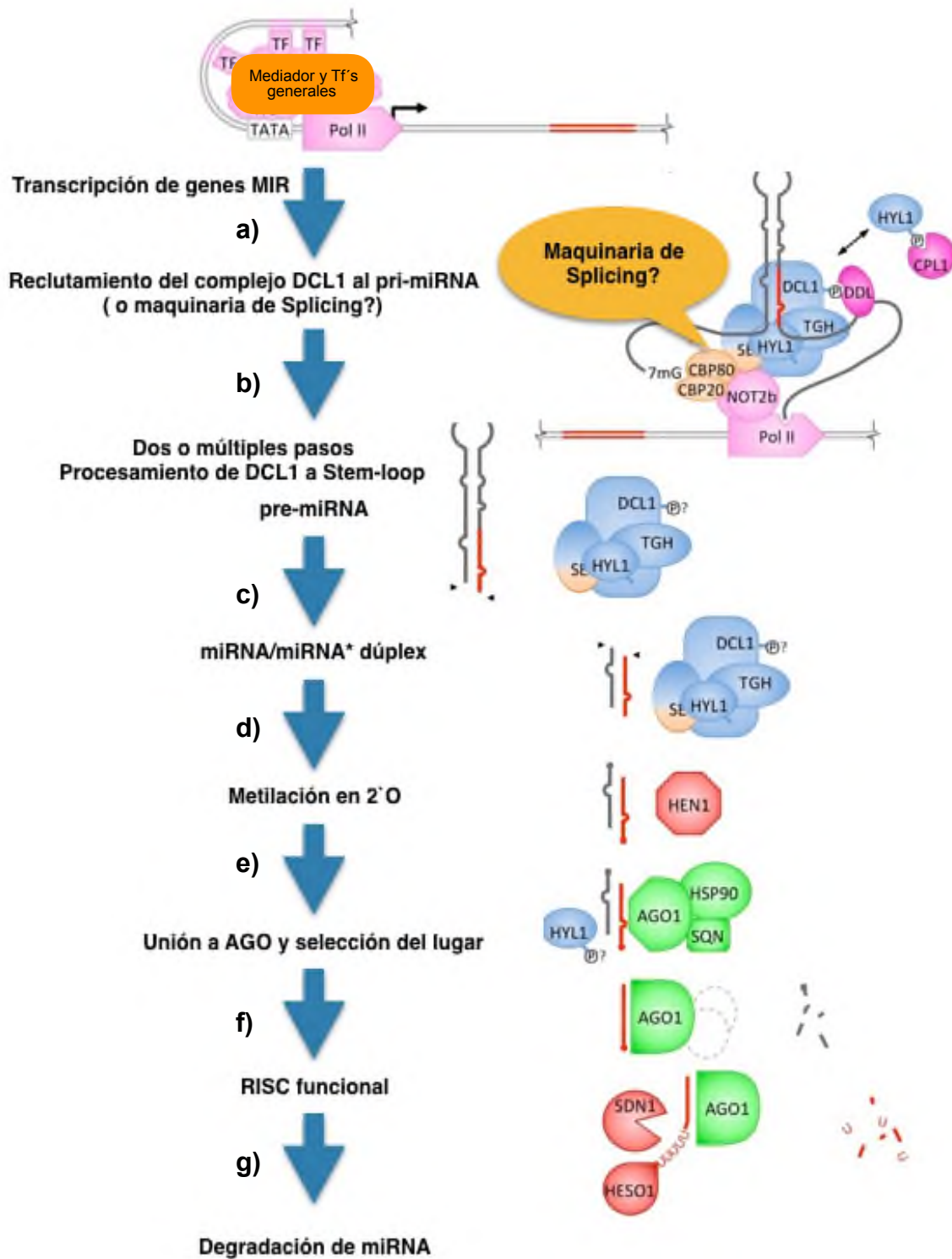


Fig. 4. Biogénesis de los microRNAs. Las letras muestran pasos en secuencia.

(Adaptada de Rogers y Chen, 2013)

Para esto, las estructuras pri-miRNAs tallo asa sufren un corte inicial por la proteína DCL1 (Dicer-Like) cerca de la base del tallo, generando precursores de microRNAs (pre-miRNAs). Enseguida, se presentan escisiones progresivas a intervalos de 21 nucleótidos a lo largo del tallo (Fig. 4c) (Liu *et al.*, 2012).

Otras proteínas, como la proteína de unión al dominio G (THG), la proteína dedo de zinc (SE) y la proteína de unión al dominio dsRNA HYPONASTIC LEAVES 1 (HYL1/DRB1) son requeridas para el procesamiento y la acumulación del microRNA (Kurihara *et al.*, 2006). Las tres proteínas se unen al RNA y pueden estar asociadas a regiones distintas durante el procesamiento, siendo un factor determinante en la actividad del complejo DCL1 (Fig. 4c) (Ren *et al.*, 2012).

Los nucleótidos 3' del dúplex microRNA/microRNA* son 2'-oximetilados por la metiltransferasa HEN1 (Fig. 4d). Se ha demostrado que ésta es necesaria para la acumulación de miRNAs, ya que en ausencia de su actividad la longitud de los miRNAs es variable, ocurriendo truncación en 3' y oligouridilación (Li *et al.*, 2005; Axtell *et al.*, 2011).

Después de la participación de DCL1 y la metilación vía HEN1, la mayoría de los miRNAs salen del núcleo y entran en el citoplasma. Este proceso es facilitado por proteínas llamadas exportinas, que además proporcionan estabilidad a los miRNAs. Un componente central de todos los complejos de silenciamiento es un miembro de la familia de proteínas ARGONAUTA(AGO) (Carmell *et al.*, 2002). AGO1 forma un complejo con una proteína de choque térmico PROTEIN90 (HSP90) durante su asociación con el dúplex miRNA/miRNA* para la selección de la cadena de miRNA maduro (Fig. 4e) (Budak *et al.*, 2015). La selección de la cadena correcta se ve reforzada por HYL1 (Eamens *et al.*, 2009).

AGO incorpora al miRNA maduro en el complejo RISC para dirigirlo al transcrito que será blanco de regulación (Fig. 4f) (Takeda *et al.*, 2008). En plantas, el reconocimiento de los blancos de regulación ocurre por complementariedad casi perfecta entre las bases del miRNA maduro y el transcrito. El reconocimiento miRNA-transcrito blanco marca al transcrito para su degradación y/o para la inhibición de su traducción (Eamens *et al.*, 2009).

La transcripción, el procesamiento y la incorporación en el complejo RISC determina los niveles de miRNA maduros que se encuentran en una célula. Sin embargo, la acumulación de miRNAs también puede limitarse mediante degradación por actividad de proteínas llamadas SMALL RNA DEGRADING NUCLEASE (SDN) (Fig. 4g). La función de este grupo de proteínas es limitar la acumulación de miRNAs, tal como se ha demostrado en *A. thaliana* (Ramachandran y Chen, 2008; Ren *et al.*, 2015).

2.4 MicroRNAs y su función en la respuesta a la sequía.

Existen familias completas de miRNAs que participan en la respuesta al estrés por sequía en las plantas, actuando en dos diferentes formas; regulación positiva y negativa, que se traduce en la acumulación y decremento de los miRNAs, respectivamente. Las funciones que ejercen estas familias están determinadas por los genes blanco sobre los que actúan, representando variabilidad de efectos en la planta en cuanto a la intensidad y la duración del estrés.

Por ejemplo, una de las familias de miRNAs de respuesta a sequía más estudiadas es miR169, cuyos miembros se regulan negativamente en *Arabidopsis thaliana* (Li *et al.*, 2008) y *Medicago truncatula* (Wang *et al.*, 2011), mientras que para *Oryza sativa* (Zhao *et al.*, 2007) y *Solanum lycopersicum* (Zhang *et al.*, 2011) se regulan positivamente. En *A. thaliana* se ha verificado que los genes blanco de esta familia son los transcritos NFY que codifican

factores de transcripción implicados en respuesta dependiente del ABA (Zhu *et al.*, 2008) y cuya expresión es importante para la tolerancia al estrés (Li *et al.*, 2008).

Se han distinguido 3 rutas de regulación en las que están involucrados los comportamientos y modos de acción de los miRNAs bajo estrés por sequía (Fig. 5). La primera es la regulación de homeostasis por retroalimentación, donde una familia de miRNAs regulan negativamente a factores implicados en la biosíntesis de los mismos, tal es el caso de miR168 que regula negativamente al complejo proteico funcional AGO. La adaptación molecular y fisiológica representan la segunda y la tercera vía de regulación respectivamente.

La adaptación molecular comprende procesos como la producción de osmolitos, compuestos antioxidantes y respuesta a la hormona del estrés ABA. Por otra parte, el desarrollo de hojas y raíz, así como cambios en la fijación de CO₂ y movimiento de estomas, son alternativas implicadas en la adaptación fisiológica de la planta (Fig. 5).

Otro caso de expresión de miRNAs en respuesta a sequía es miR159. Este miRNA se induce durante tratamientos de sequía en semillas de *Arabidopsis* y tiene como blanco de degradación a los transcritos MYB33 y MYB101 (Reyes y Chua, 2007), los cuales son factores de transcripción implicados en la señalización o respuesta ante estreses abióticos como la sequía, mediando una respuesta directa de reconocimiento a ABA (Ambawat *et al.*, 2013). La degradación de MYB33 y MYB101 hace que las plantas sean hiposensibles a ABA permitiendo una respuesta en un plazo menor de tiempo (Allen *et al.*, 2010).

La fosfolipidasa D (PLD) es un regulador positivo de resistencia al estrés por sequía de respuesta a ABA y que afecta el movimiento de estomas en células guarda (Zhang *et al.*, 2005). Se ha comprobado que el RNAm de PLD es blanco

del miR167. Durante la sequía, miR167 se regula negativamente activando la expresión de PLD que tiene implicación en el proceso de señalización de ABA y/o su respuesta (Ding *et al.*, 2013).

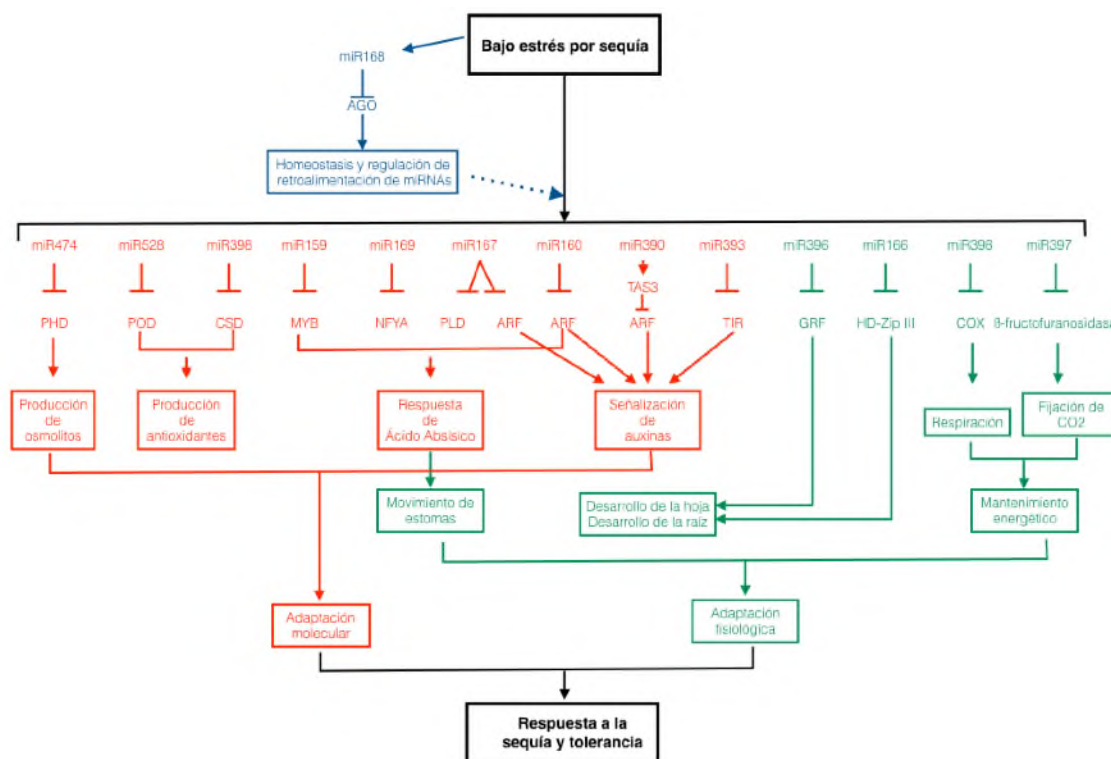


Figura 5. Participación de los microRNAs en rutas de regulación y sus genes blanco en respuesta a la sequía. Las letras azules refieren a la regulación por retroalimentación de miRNAs, las letras verdes, a adaptación fisiológica, y las rojas a adaptación molecular. ARF, factor de respuesta a auxina; COX, citocromo C oxidasa; CSD, Cu/Zn-superoxido dismutasa; GRF, factor de regulación de crecimiento; HD-Zip, hemodominio-leucina zipper; NFYA, factor nuclear Y; PDH, prolina deshidrogenasa; PLD, fosfolipidasa D; POD, peroxidasa; TIR, respuesta de la inhibición de transporte. (Adaptada de Ding *et al.*, 2013; Turchi *et al.*, 2015)

Las respuestas de las plantas ante la sequía ocurren a través de una serie de rutas que conllevan a la reprogramación del crecimiento de la célula. Se ha comprobado que los miRNAs son factores clave que tienen influencia sobre el

crecimiento y desarrollo (Carrington y Ambros, 2003). El miR396 se regula negativamente en arroz (Zhou *et al.*, 2010) y caupí (Barrera-Figueroa *et al.*, 2011), mientras que en *Arabidopsis* (Liu *et al.*, 2008) y tabaco (Frazier *et al.*, 2011) se regula positivamente. Se ha demostrado que miR396 tiene como blanco a factores de transcripción (GRF) que participan en la coordinación de la división celular y diferenciación durante el desarrollo de las hojas en *Arabidopsis* (Wang *et al.*, 2011). En plantas transgénicas de *A.thaliana* que sobreexpresan a miR396a, se mostró un fenotipo que desarrollaba hojas estrechas debido a la reducción del número de células y por la represión de los genes GRF (Liu *et al.*, 2009).

2.5 *Brachypodium distachyon*, modelo de respuesta a la sequía

Los organismos modelo sirven para tener un mejor entendimiento de los procesos biológicos complejos. En ese sentido, los científicos se han propuesto reducir el grado de complejidad de sistemas de estudio y así comenzar a generar conocimiento básico. Adicionalmente, cuando la comunidad científica se enfoca en un sistema modelo, las investigaciones son más consistentes y se produce un mayor avance.

Arabidopsis thaliana es el modelo vegetal predominante que ha servido por más de 30 años para generar una gran cantidad de conocimiento en la bioquímica, fisiología y desarrollo (Meinke *et al.*, 1998). Actualmente, la selección de plantas modelo se origina por la facilidad de atributos de manejo, el desarrollo de herramientas experimentales y la cercanía genética con plantas de interés. *A. thaliana* ha provisto de muchos descubrimientos científicos, sin embargo, su utilidad es limitada cuando se desea investigar procesos específicos de plantas monocotiledóneas (Brkljacic *et al.*, 2011).

Los pastos se sitúan dentro de un amplio grupo de plantas llamadas monocotiledóneas. Estos proveen de la mayoría de las calorías a la población

humana y están siendo utilizados como una fuente de energía sustentable (Zhussupova *et al.*, 2013). El arroz (*Oryza sativa*) y maíz (*Zea mays*) tienen una gran cantidad de ventajas como pastos modelo, tal como un genoma totalmente secuenciado, comunidades de investigación amplias y recursos genéticos. Los desafíos con estas especies son el tamaño de la planta, requerimientos de crecimiento especiales, ciclo de vida largo y restricciones de acceso a germoplasma (Jung *et al.*, 2008).

Para sobrellevar la carencia de un modelo vegetal simple y comparable con plantas monocotiledóneas de importancia económica, se propuso a *Brachypodium distachyon* en 2001 como sistema modelo para el estudio de la familia Poaceae (Draper *et al.*, 2001). *B. distachyon* es un pasto pequeño, anual, con atributos biológicos, físicos y genómicos, como ciclo de vida rápido, estatura pequeña, capacidad de autopolinización y genoma pequeño (300 Mb), apropiado para usarse como un sistema modelo (Vogel y Bragg, 2009). Además es el único miembro similar a los pastos cultivables de importancia agronómica (Zhussupova *et al.*, 2013).

Brachypodium es fácil de cultivar en espacios pequeños, logrando una alta densidad de plantas. Además, es fácil de transformar y es genéticamente manipulable. Así mismo, a la fecha se han sumado una amplia variedad de recursos genéticos sobre esta especie, lo que permite explorar con facilidad cuestiones biológicas básicas (Vogel y Bragg, 2009). En la Tabla 1 se enlistan las características de *Arabidopsis* y *Brachypodium* en comparación con otras plantas de interés económico.

La familia Poaceae comprende cerca de 600 géneros y más de 10,000 especies que dominan en sistemas ecológicos y agrícolas (Kellogg, 2001). Poaceae incluye a los cereales tropicales como el maíz y arroz, y a los cereales templados como cebada, trigo y avena. *Brachypodium* se ubica en la subfamilia

Pooideae dentro de la misma familia, aportando un elemento de contraste genético entre la planta modelo y las de interés agrícola (Fig. 6).

Tabla 1. Comparación de plantas modelo y de interés económico.

	<i>Brachypodium</i>	<i>Arabidopsis</i>	Arroz	Trigo	<i>Panicum</i>
Altura (cm)	15-20	15-20	100	50	200
Densidad (plantas/m ²)	1000	2000	36	50	6
Tamaño de genoma (Mpb)	300	165	430	16000	2400
Requerimientos de crecimiento	simple	simple	demandante	simple	simple
Tiempo de generación (semanas)	8-12	8-12	30	12	26
Reproducción	autopolinización	autopolinización	autopolinización	autopolinización	cruzada
Tipo de pared celular	Tipo 2	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 2	Tipo 2

(Adaptada de Vogel y Bragg 2009.)

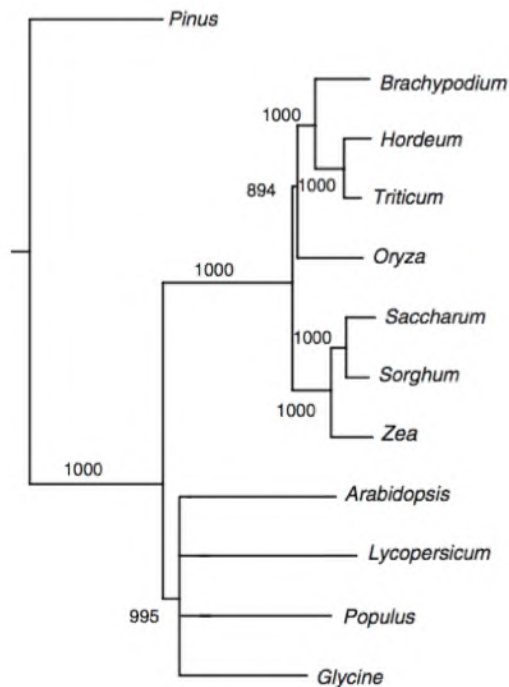


Fig. 6. Árbol filogenético entre *Brachypodium* y otros pastos. (Tomado de Vogel *et al.*, 2006).

Además de exhibir un gran número de ventajas para consolidarse como planta modelo, *Brachypodium* posee una colección diversa de accesiones o variedades que son recursos valiosos para examinar la resistencia natural ante estreses abióticos. En ese sentido, se ha explorado la variación natural de *B. distachyon* en respuesta a la sequía (Luo *et al.*, 2011), donde se evaluó un total de 57 accesiones a través de la medición de parámetros fisiológicos como contenido de agua en hojas y fluorescencia de clorofila, donde se identificaron a cuatro grupos de acuerdo a la tolerancia a sequía, clasificándolos en tolerantes, moderadamente tolerantes, susceptibles y muy susceptibles.

En un estudio reciente realizado en el laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad del Papaloapan, se analizó la influencia de diferentes niveles de sequía (60%, 40% y 30%, en comparación con el control; 100% en base al Contenido Relativo de Agua en suelo) sobre 4 variantes naturales de *Brachypodium distachyon* (a lo largo del ciclo de vida. Debido a que los tiempos de vida de las variantes fueron diferentes, para su comparación el ciclo de vida se dividió en 4 estadíos; a) etapa vegetativa, b) transición a la floración, c) inicio de la floración y d) llenado de semillas y senescencia, éstos ensayos se llevaron a cabo en un fotoperiodo de 20h/4h.

Las cuatro variantes (Bd-21, Bd-2-3, Bd-1-1 y Tek 10) mostraron reducciones significativas en los parámetros de desarrollo (número de hojas, ramificaciones y altura) con mayor incidencia en las etapas posteriores al desarrollo vegetativo y en función a la intensidad del estrés. En lo respectivo al tiempo de floración, las variantes Bd-2-3, Bd-1-1 y Tek-10 presentaron una respuesta de escape a la sequía, mientras que Bd-21 retrasó la floración. Adicionalmente Bd-21 se caracterizó por ser una variante de ciclo de vida corto y que mostró los menores niveles de consumo de agua en comparación con las demás variantes (Cesario-Solís, 2015).

2.6 *Brachypodium distachyon* y microRNAs en la respuesta a la sequía

A partir del descubrimiento de los miRNAs en plantas y su implicación en procesos biológicos básicos, diversos grupos de investigación se han centrado en la identificación y estudio de miRNAs como elementos regulatorios de la expresión genética a nivel postranscripcional en diferentes sistemas vegetales modelo y de importancia económica. En lo que respecta a *B. distachyon*, gracias al empleo de técnicas como la secuenciación de pequeños RNAs ha sido posible la identificación y anotación de 525 miRNAs maduros (miRBase 21) a la fecha en el genoma de *Brachypodium* (Jeong *et al.*, 2013; Frankle y Green, 2015).

En *B. distachyon*, se ha reportado la implicación de los miRNAs en la reprogramación génica del crecimiento durante la expansión celular de las hojas bajo estrés por sequía (Bertolini *et al.*, 2013). En otro estudio, mediante el uso de microarreglos, se han identificado siete miRNAs de respuesta a la deshidratación, entre los cuales se eligió a miR896 y miR1867 para su validación mediante una estrategia de PCR cuantitativa. Los resultados mostraron que ambos se regulan positivamente y que tienen una respuesta similar en comparación con *Triticum dicoccoides* (Budak y Akpinar, 2011).

Como antecedente directo al presente trabajo, en el laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad del Papaloapan, se empleó una estrategia de secuenciación de alto alcance para el estudio de miRNAs de respuesta a sequía en *B. distachyon*. Para esto, se desarrolló un protocolo *in house* que permitió la construcción de bibliotecas de RNAs pequeños a partir de muestras de *B. distachyon* en tres fases de desarrollo: vegetativa, de transición a la floración, y de floración. La etapa vegetativa se caracterizó por el desarrollo de hojas y del tallo principal. El estadio de transición a la floración dio inicio al proceso de ramificación o *tillering*, elongación de hojas y del tallo principal. La etapa de floración marcó la finalización del *tillering*, el emergimiento de la hoja

bandera y aparición de la espiga. La ubicación temporal de las etapas vegetativa, transición a la floración y floración, se presentaron alrededor de 23, 43 y 73 DDG respectivamente (Ortíz-Yescas, 2016).

2.7 Métodos actuales para detección de miRNAs

Con los avances de secuenciación se han descubierto una gran cantidad de RNAs pequeños en plantas, lo que ha contribuido al crecimiento rápido de las bases de datos. Este fenómeno ha derivado en la aparición y desarrollo de nuevas herramientas bioinformáticas (Rajagopalan *et al.*, 2006). Una estrategia para la predicción de miRNAs se basa en el desarrollo computacional que analiza a gran escala el genoma de especies homólogas, es decir, estudia secuencias conservadas entre especies donde ya se hayan reportado y validado experimentalmente miRNAs. Adicionalmente se complementa con datos de la función probable del blanco del miRNA, estructura secundaria y parámetros de precursores (Jones-Rhoades y Bartel, 2004). Este método puede ofrecer un acercamiento a las secuencias de los miRNAs, sin embargo, es necesaria la validación experimental.

Por otra parte, los microarreglos son laminillas sobre las cuáles se fijan secuencias de pares de bases complementarias a los RNAs pequeños bajo estudio. Se obtienen resultados rápidamente, sin embargo, los costos son elevados y solo permiten obtener información limitada a RNAs pequeños de secuencia conocida, por lo que este método no permite el descubrimiento de nuevos RNAs pequeños (Liu *et al.*, 2008)

La estrategia de secuenciación de alto alcance ha sido una de las más sobresalientes en los últimos años. Permite el descubrimiento de RNAs pequeños y provee evidencia directa de la existencia de las secuencias maduras en una muestra. El procedimiento básico implica necesariamente la construcción de bibliotecas de RNAs pequeños. Este proceso requiere el uso de

adaptadores que se ligan a los extremos de los RNAs pequeños. Los RNAs ligados son empleados después para generar cDNA mediante transcripción reversa y posteriormente para amplificarse mediante la PCR. Después, los productos se purifican y se procesan en una plataforma de secuenciación de alto alcance. Los RNAs pequeños se mapean al genoma de referencia y de ahí se inicia el análisis bioinformático (Barrera-Figueroa *et al.*, 2011).

2.8 Consideraciones para el análisis bioinformático de bibliotecas

La secuenciación de alto alcance consiste en una serie de pasos que determina la calidad de los datos. En ese sentido, la medición de la calidad de datos es un parámetro de suma importancia para el análisis de los mismos y para reducir fallos en análisis posteriores. La exactitud de lectura de bases es el parámetro empleado de forma extensiva para plataformas de secuenciación (Ewing *et al.*, 1998; Cock *et al.*, 2009) y es medida por el puntaje de calidad Phred (Q), que se calcula con la siguiente ecuación (Ec. 1):

$$Q = -10 \log_{10} P \quad \{\text{Ec. 1}\}$$

El puntaje Q se define como una propiedad que está relacionada en forma de logaritmo con la probabilidad de error de lectura de bases (P)². En la Tabla 2 se muestran los parámetros de calidad de acuerdo al puntaje Phred.

Tabla 2. Puntajes de calidad y exactitud de lectura de base.

Puntaje de calidad Phred	Probabilidad de lectura de base incorrecta	Exactitud de lectura de base
10	1 en 10	90%
20	1 en 100	99%
30	1 en 1,000	99.9%
40	1 en 10,000	99.99%
50	1 en 100,000	99.999%

Tomado de Cock *et al.*, 2009.

Otra consideración que debe tomarse en cuenta, es la implementación de métodos de normalización. La normalización es el proceso por el cual se comparan las secuencias crudas provenientes de la secuenciación contra un común denominador. Este paso, remueve la aparición de artefactos técnicos inherentes al método, con el objetivo de observar diferencias de manera predominante en el comportamiento biológico de las muestras (McCormick *et al.*, 2011).

2.9 Empleo de bibliotecas en análisis de expresión

Los datos provenientes de la plataforma de secuenciación son empleados para hacer el análisis digital de la expresión. Este proceso consta de cuantificar la abundancia de los miRNAs presentes en cada biblioteca, a través de la comparación entre el tratamiento de estrés y control. Los miRNAs que muestran un incremento en su acumulación se infiere que son regulados positivamente, activados o encendidos, en contraparte los que muestran baja abundancia se dice que son regulados negativamente o reprimidos en base al estrés.

La comparación que se lleva a cabo para determinar la activación o represión de los miRNAs es el *Fold Change* (FC) o factor de doblaje. Este método permite visualizar la variación de un número en comparación con una base. Por ejemplo, el valor A es de 50 y el B es de 100, al hacer la operación $(100/50=2, \log_2(2)= 1)$ corresponde a un doblaje de 1 (equivalente a un cambio de 2 veces) (EMBL-EBI, 2016).

Una vez identificados los miRNAs de respuesta al estrés, el siguiente paso es realizar un análisis detallado de la expresión de miRNAs específicos. Para esto, se pueden realizar ensayos Northern Blot, sin embargo, el método posee una baja sensibilidad y especificidad debido a que puede haber degradación de RNA durante la electroforesis, y como consecuencia directa la cantidad y calidad de la expresión podrían verse afectados negativamente. Además esta

técnica no permite detectar miRNAs de baja abundancia (Streit *et al.*, 2008), por lo que es recomendable emplear PCR cuantitativa.

2.10 PCR cuantitativa

La PCR cuantitativa (qPCR) también llamada PCR en tiempo real es una de las técnicas más usadas en biología molecular, que permite la amplificación y al mismo tiempo la cuantificación de una secuencia específica de DNA. La ventaja en comparación la técnica de PCR convencional o de punto final, es la capacidad de medir la amplificación del DNA inmediatamente después de que fue sintetizada la nueva molécula, por lo cual se denomina en tiempo real. Para la detección de moléculas de DNA sintetizadas se emplean fluoróforos como SYBRGreen, que se intercala en las cadenas dobles de DNA elevando su emisión de fluorescencia, o bien, con sondas que se activan por la amplificación (Benes y Castoldi, 2010).

La emisión de fluorescencia permite la cuantificación de las moléculas iniciales del molde, mediante la comparación del número de ciclos de amplificación requeridos (Ct), para para alcanzar un nivel umbral de fluorescencia como se observa en la Fig. 7 (Pabinger *et al.*, 2014). Se observa que el número de ciclos o Ct, necesarios para alcanzar el umbral será bajo si la muestra inicial tiene un número alto de copias de la secuencia de DNA en estudio, como es el caso para la muestra 1. En cambio, el Ct será elevado cuando se tenga un número de copias bajo. Por lo tanto, el Ct es inversamente proporcional a la abundancia del la molécula de interés en una muestra.

La PCR cuantitativa es aplicable para el estudio de los miRNAs. Se han reportado diversos métodos para detección y cuantificación de los miRNAs de formas maduras (Chen *et al.*, 2005; Benes y Castoldi, 2010; Kang *et al.*, 2012) y de precursores (Schmittgen *et al.*, 2008). Para comparar la expresión relativa de un gen de interés en dos muestras, como es el caso de una muestra sometida a

estrés y otra en control, es necesario aplicar alguno de los métodos reportados como el Pfaffl (Pfaffl, 2001), ΔC_t (Schmittgen y Livak, 2008) y el $\Delta\Delta C_t$ (Livak y Schmittgen, 2001).

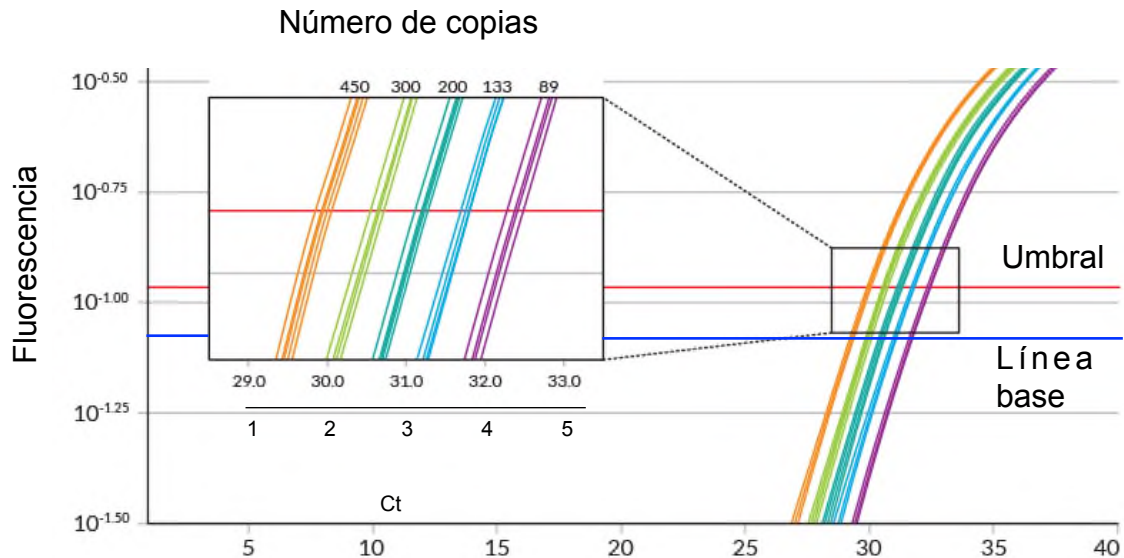


Figura 7. Fundamento de la PCR cuantitativa. Tomado de archivo Biotecnología Vegetal.

El método $\Delta\Delta C_t$ es uno de los más empleados para la cuantificación de niveles de expresión de RNAs. Este consiste en el uso de un gen de referencia, cuya expresión no se altera entre las muestras a analizar y sirve para normalizar el nivel de expresión del gen o RNA de interés. El método $\Delta\Delta C_t$ supone que cualquier cambio en el C_t de referencia tiene un efecto equivalente en el cambio para el valor de C_t de interés. El cambio en la expresión de un gen de interés se determina con la ecuación 2 (Livak y Schmittgen, 2001):

$$ER = 2^{-(\Delta\Delta C_t)} \quad \text{\{Ec. 2\}}$$

Donde:

$$\Delta\Delta C_t = (C_{t_{GI}} - C_{t_{REF}})_{\text{Problema}} - (C_{t_{GI}} - C_{t_{REF}})_{\text{Control}}$$

ER: Expresión relativa

GI: Gen de interés

REF: Gen de referencia

Problema: Condición de estudio

Control: Condición control

2.11 Métodos de detección de miRNAs

Los métodos actuales para la detección de miRNAs usando la qPCR son tres; el Stem-Loop (SL), el S-Poli (T) (SPT), y el de ligación de adaptador (LA).

El método Stem-Loop (Chen *et al.*, 2005) emplea primers que forman una estructura tallo-asa para la síntesis de cDNA a partir de miRNAs maduros (Fig. 8a). Es un método altamente específico puesto que cada primer utilizado en la retrotranscripción es único para cada miRNA, donde algunas bases del miRNA interactúan en la unión del extremo 3' del primer stem-loop. (Fig. 8a) Enseguida, un primer directo que reconoce la secuencia del miRNA, un primer reverso, y una sonda TaqMan parcialmente complementaria al miRNA, se emplean para llevar a cabo la cuantificación por PCR (Tang *et al.*, 2006).

El método S-Poli(T) se basa en la poliadenilación de miRNAs por poli(A) polimerasa, posteriormente se sintetiza cDNA mediante la transcripción reversa. Se emplea un oligonucleótido largo que incluye un sitio Poli T fusionado a seis bases específicas del miRNA en estudio, además de un sitio de unión a una sonda fluorescente (Fig. 8b). Este primer incrementa la eficiencia de la retrotranscripción, la sensibilidad y la especificidad en comparación con el método el Stem-Loop (Kang *et al.*, 2012).

El método de ligación de adaptador (LA) se basa en la unión enzimática de un adaptador pre-adenilado al extremo 3' de los RNAs pequeños (Fig. 8c). En este método existen dos variantes de acuerdo al tipo de adaptador que se liga. Puede emplearse un adaptador de secuencia definida o un adaptador con 2-4 bases degeneradas (2-4N) en el extremo 5'. El uso de un adaptador con bases

degeneradas intenta disminuir el sesgo que presenta la enzima ligasa al actuar sobre fragmentos de RNA con mayor o menor preferencia, dependiendo de su secuencia. De esta forma se espera que el método LA detecte a los miRNAs con alta eficiencia y, por lo tanto, con mejor sensibilidad (Ge *et al.*, 2014) (Fig. 8c).

En la Fig. 8 se representan los métodos utilizando las sondas TaqMan para una mayor especificidad de detección, sin embargo, se puede utilizar el agente intercalante SYBRGreen.

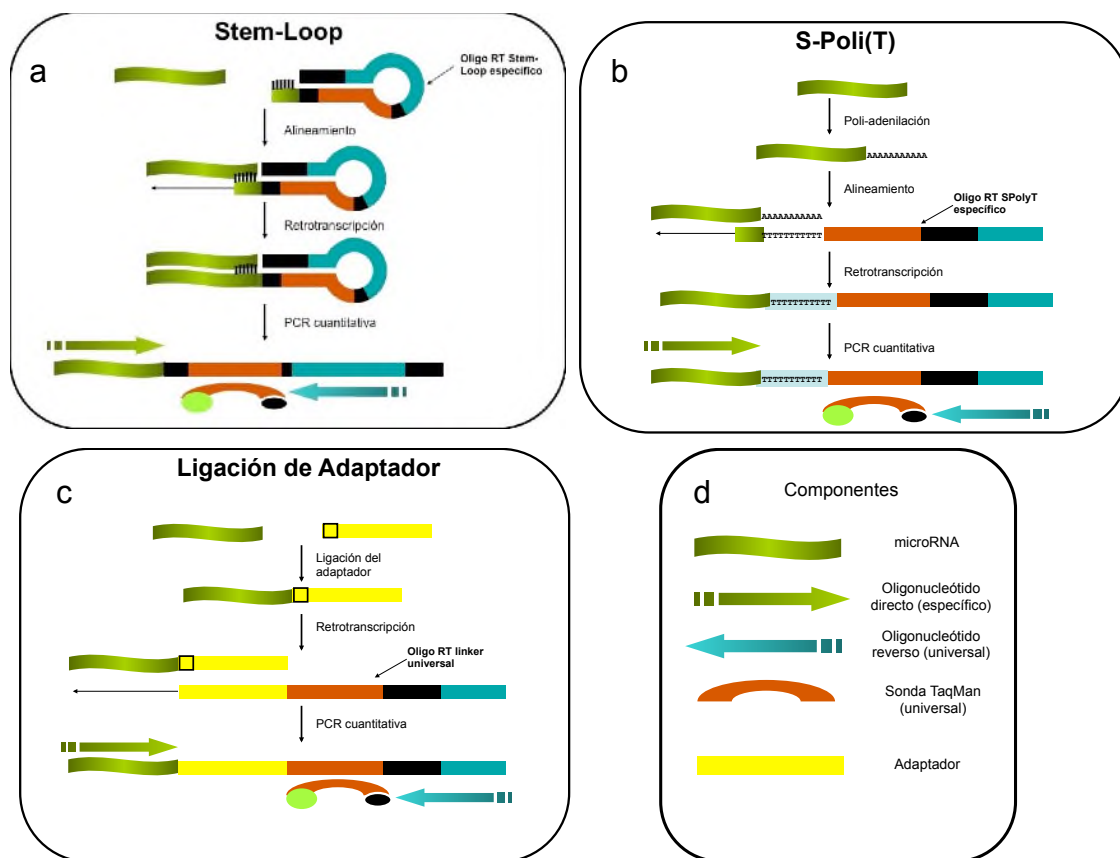


Figura 8. Métodos de detección para miRNAs. a) Stem-loop b) S-Poli (T) c) Ligación de Adaptador d) Componentes de la reacción. Tomado de Flores-Herrerías (2016).

3. Justificación

La sequía es un fenómeno natural que pone en riesgo la actividad agrícola y que compromete la producción de alimentos. En México los principales cultivos como el maíz, frijol y sorgo han sido afectados gravemente por la sequía, resultando en la disminución de su productividad y aumentando los precios en el mercado nacional.

La tolerancia a la sequía es una característica importante que se busca en el mejoramiento de plantas de interés agronómico. Dicha característica está respaldada por mecanismos complejos de adaptación en diferentes bloques de información como el genético, bioquímico y fisiológico, por lo que es necesario su estudio.

Existen estrategias biotecnológicas enfocadas en conferir tolerancia a la sequía en plantas; la primera etapa para la aplicación de una estrategia es conocer su respuesta por medio del estudio de la expresión de los miRNAs, dado que éstas son moléculas con roles centrales en la regulación molecular de procesos importantes como el desarrollo de la planta y la respuesta a estímulos ambientales como la sequía. La mayoría de los estudios se han enfocado en tratamientos de sequía progresiva, por lo que se requiere explorar el efecto de condiciones de sequía crónica de baja intensidad. En este contexto, es necesario identificar miRNAs de respuesta a sequía en diferentes etapas de desarrollo de las plantas que nos permitan proponer un panorama global del comportamiento ante dicho estrés.

4. Hipótesis

La sequía crónica produce ajustes diferenciales en la expresión de miRNAs en *Brachypodium distachyon* en cada etapa de desarrollo.

5. Objetivo general

Analizar la expresión de miRNAs en *Brachypodium distachyon* expuesto a sequía crónica en cuatro etapas de su ciclo de vida.

5.1 Objetivos específicos

- I. Analizar bibliotecas de RNAs pequeños mediante herramientas bioinformáticas, para identificar miRNAs implicados en la respuesta a sequía crónica en *B. distachyon*, en cuatro etapas de su ciclo de vida.
- II. Evaluar parámetros fisiológicos en *B. distachyon* sometido a estrés por sequía crónica en las etapas vegetativa, transición cronológica, transición fisiológica y floración.
- III. Validar mediante PCR cuantitativa los perfiles de expresión diferencial de cuatro miRNAs durante el estrés por sequía crónica *B. distachyon* en diferentes etapas de desarrollo.

6. Metodología

6.1 Análisis bioinformático de bibliotecas de RNAs pequeños

6.1.1 Depuración de bibliotecas de RNAs pequeños

En la tesis de maestría de Amado Ortíz Yescas (Ortíz-Yescas, 2016) se generaron seis bibliotecas (A1, A2, A3, A4, A5, A7) de RNAs pequeños a partir de tejido foliar de *B. distachyon* en etapas vegetativa, transición a la floración y floración, bajo tratamientos control y sequía crónica, según se indica en la Tabla 3.

Tabla 3. Datos de las bibliotecas de RNAs pequeños

Nombre	Tratamiento	Etapas de ciclo de vida
A1	CTRL	VEG
A2	SEQ	VEG
A3	CTRL	TRA
A4	SEQ	TRA
A5	CTRL	FLO
A7	SEQ	FLO

CTRL, Control; SEQ, Sequía crónica; VEG, Vegetativa; TRA, Transición a la floración; FLO, Floración.

En la Tabla 4 se muestran datos para el entorno de trabajo empleados para el análisis de las bibliotecas. El genoma de referencia empleado en este trabajo fue *B. distachyon* V 3.0 obtenido de Phytozome. Como referencias de RNAs pequeños que no pertenecen al grupo de miRNAs, se emplearon bases de datos de RNAs pequeños (lcnRNA, snoRNA, tRNA, rRNA) provenientes del proyecto SILVA del Instituto Max Planck y de la UCSC. Además, se emplearon las secuencias anotadas de miRNAs provenientes de la miRBase.

Tabla 4. Recursos para el entorno de trabajo

Nombre	Fuente/ Contenido
Secuencia remante 3' (Oligonucleótido Bridge)	5'-CTGTAGGCAACCTCA-3'
Genoma <i>Brachypodium distachyon</i> V 3.0	https://phytozome.jgi.doe.gov
miRBase V 21	http://www.mirbase.org
lncRNA, snoRNA, tRNA	http://structuralbiology.cau.edu.cn
rRNA	http://www.arb-silva.de

lnc, largo no codificante; sno, pequeño no codificante; t, transferencia; r, ribosomal.

Dichas bibliotecas se secuenciaron por la tecnología Illumina® con el equipo HiSeq 2500. Para la selección de los miRNAs a partir de las bibliotecas de RNAs se utilizó la versión de prueba del software CLC Genomics Workbench versión 8.5 (QIAGEN®). Para realizar la depuración de las bibliotecas se aplicó una serie de criterios como se muestra en la Figura 9. Dicha metodología constó de 5 pasos con filtrados restrictivos. Para el paso 1, se partió de lecturas de 51 nt las cuales contenían un fragmento remanente del oligonucleótido 3' Bridge, el cual se implementó con el protocolo de construcción desarrollado (Ortíz-Yescas, 2016). Adicionalmente se acotó a un rango de longitud entre 16 y 35 bases. Se reportó en gráficas de histograma la frecuencia de longitud de secuencias para cada biblioteca analizada. Además, se añadió la verificación de calidad de secuenciación mediante el puntaje de calidad Phred previamente descrito.

En el paso 2, se eliminaron las secuencias pertenecientes a RNAs pequeños de identidad distinta a los miRNAs (lncRNA, snoRNA, tRNA, rRNA). Las secuencias restantes fueron alineadas al genoma de referencia (Fig 9, Paso 2).

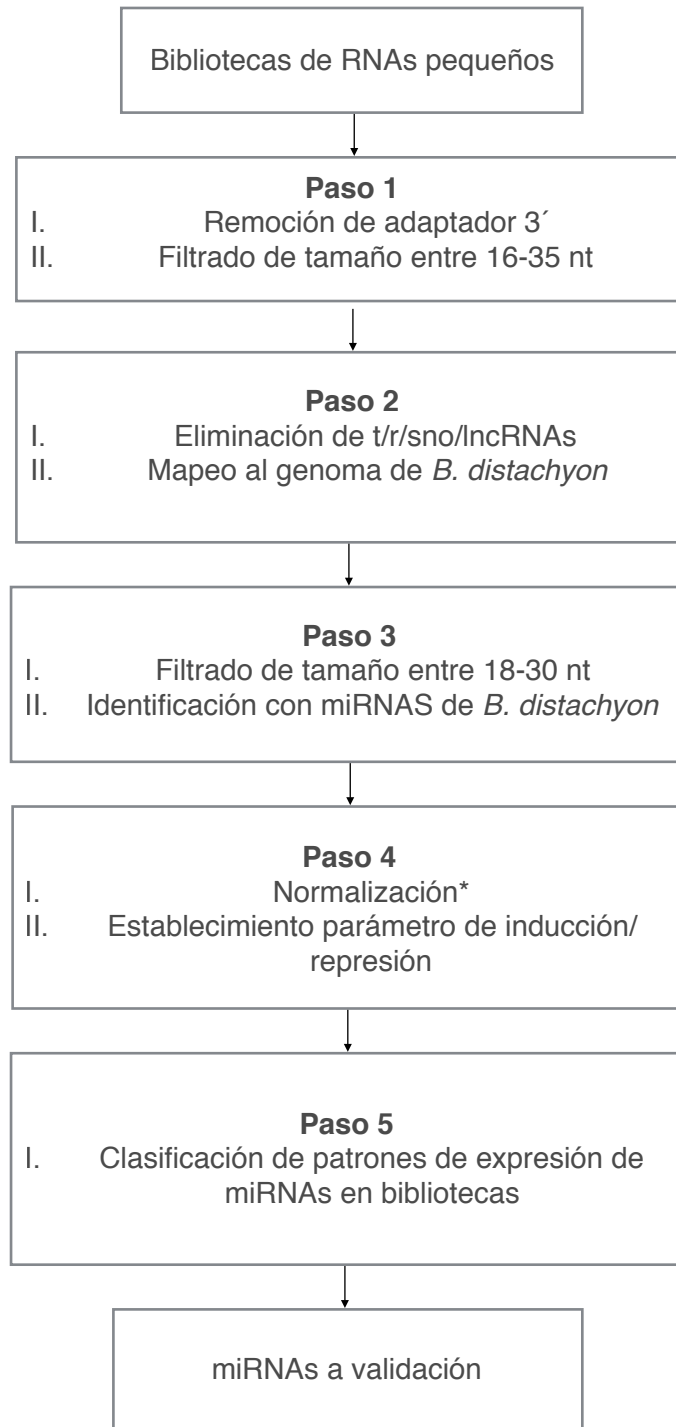


Figura 9. Diagrama de flujo para la selección de miRNAs a partir de bibliotecas de RNA pequeños. nt, nucleótidos; t, transferencia; r, ribosomales; sno, pequeños nucleolares; lnc, largos no codificantes. *Evaluación y consenso de métodos disponibles.

Para la detección de miRNAs de bibliotecas con los de la miRBase versión 21 (Fig. 9, Paso 3), se utilizó un criterio de selección robusto con 100% de identidad de complementariedad de bases.

Subsecuentemente, en el paso 4 se aplicaron los siguientes métodos para la normalización de las lecturas de los miRNA obtenidos:

1. Global filtradas o escala total de conteo (Tam *et al.*, 2015)
2. Cuantiles (Bullard *et al.*, 2010)
3. Mediana Polish (Giorgi *et al.*, 2010)
4. Trimmed Mean of M values (TMM) (Robinson y Oshlack, 2010)
5. Relative Log Expression (RLE) (Yang *et al.*, 2002)

Con los datos normalizados a partir de cada método, se eligió el mejor de acuerdo a la dispersión de datos, representados en gráficas de caja bigote y en gráficas MA de acuerdo a las ecuaciones 1 y 2 :

$$M = \log_2 \frac{A2}{A1} \quad \{\text{Ec. 1}\}$$

$$A = \sqrt{\log_2(A2 * A1)} \quad \{\text{Ec. 2}\}$$

Donde M es la diferencia entre las intensidades logarítmicas y A es el promedio de la intensidad logarítmica.

Para el paso 5, se determinó la expresión diferencial para cada miRNA como se detalla a continuación.

6.1.2 Clasificación de grupos de miRNAs

A partir de este punto se continuó el análisis exclusivamente con las lecturas provenientes del método de normalización más adecuado de forma empírica.

Las lecturas fueron clasificadas de acuerdo a su perfil con la ayuda del software bioinformático de generación y visualización de *Heat-Map*; CLUSTER 3.0 y Java TreeView respectivamente. (De Hoon *et al.*, 2004). En base a los resultados se seleccionaron miRNAs de participación (disminuidos o aumentados) por el estrés durante las etapas de desarrollo, miRNAs exclusivos de desarrollo o miRNAs sin variaciones.

Los parámetros de ajuste fueron los siguientes; en filtro de datos se eligió una representación mayor igual a 80% de los genes en base a la suma total de lecturas, sin distinción de desviación estándar. En cuanto al ajuste de datos, se aplicó la centralización de lecturas de miRNAs en base a la media aritmética. El ordenamiento jerárquico involucró la similitud métrica de correlación (centrada) y se omitió ejecutar los métodos de SOMs y PCA puesto que se implementó un método de normalización previo.

Adicionalmente se realizó una análisis de participación de miRNAs en las seis bibliotecas en base al parámetro TPM (Cuentas por millón) de acuerdo a la ecuación 3. Se generó una clasificación de miRNAs con un resultado mayor a 10 TPM. Éste análisis consistió en identificar miRNAs presentes en una, dos o en las tres etapas de desarrollo. Se compararon los miRNAs de las condiciones control y estrés para cada etapa de desarrollo. Los resultados fueron representados en diagramas de Venn.

$$\text{TPM} = \frac{\text{Lecturas de miRNA en una condición}}{\text{Lecturas totales de la biblioteca}} * 1,000,000 \quad \{\text{Ec. 3}\}$$

6.1.3 Análisis de expresión diferencial digital

Se obtuvo el parámetro *Fold Change* (FC) el cual representa el cambio en la expresión de un miRNA, en una condición de interés, relativa a su expresión en una condición control, como se expresa en la ecuación 4.

$$FC = \frac{\text{Lecturas estrés}}{\text{Lecturas control}} \quad \{\text{Ec. 4}\}$$

Para expresar la magnitud del cambio en la expresión, se aplicó el \log_2 del FC. Con esta información, se pudo visualizar la dinámica de variación de cuatro miRNAs, que cumplieron con algunas condiciones como ser de respuesta a sequía en una etapa de desarrollo, ser poco estudiados y con una representación de al menos diez cuentas por millón por cada biblioteca. Aquellos miRNAs cuyo valor de \log_2 FC fue mayor o igual a uno en alguna etapa de desarrollo fueron considerados como inducidos. Aquellos que presentaron un valor de menor igual a menos uno, fueron clasificados como reprimidos.

6.2 Material vegetal

Se empleó la planta modelo monocotiledónea *Brachypodium distachyon* de la variedad Bd21, utilizada el trabajo de Ortíz-Yescas (2016). El cultivo se estableció en macetas hexagonales de 4.5 cm por lado y 6 cm de altura, se añadió sustrato Mezcla SunShine #3 fina especial (SunGro) esterilizado (temperatura de 121 °C y presión 1.2 kg/cm² durante 1 h) y Perlita en relación 3:1. Se suplementó con fertilizante 15N-5P-20K (Nitrofoska) a razón de 2% del peso total y se hidrató a la máxima capacidad de retención de agua (2.08 g agua/ g sustrato). Las semillas que se utilizaron fueron obtenidas en el laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad del Papaloapan del año 2015, que anteriormente fueron donadas por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos. Las condiciones del cuarto de crecimiento fueron 23°C de temperatura y un fotoperiodo de 16h luz y 8h oscuridad, con un iluminación fluorescente blanca (150lmol m² s⁻¹).

6.3 Desinfección de semillas

Se eligieron semilla llenas y completamente secas para su desinfección superficial, colocándolas en tubos cónicos de 50 ml con tapa. En ambiente de esterilidad, se añadió etanol al 70% por 30 s, seguido de un enjuague y posterior inmersión en una solución de hipoclorito de sodio a 10% (5.25% NaOCl) durante 5 minutos. Después se enjuagó 3 veces con agua destilada estéril. Subsecuentemente, se añadió agua destilada estéril hasta el tope del tubo y se cubrió con papel aluminio. El tubo se colocó cuatro días a 4°C para su estratificación. Posteriormente las semillas se colocaron en una maceta rectangular de 28 x 22 x 12 cm con 400 g de sustrato húmedo. Aproximadamente cuatro días después, se seleccionaron plántulas con los siguientes datos promedio; altura de brote y raíz de 3.5 cm, un par de hojas verdaderas, sin ramificaciones y hoja superior en desarrollo. La cuales se transplantaron en las condiciones de cultivo anteriormente mencionadas, colocando tres plántulas en cada maceta hexagonal.

6.4 Experimento guía

Para corroborar el estadio fenológico de las etapas de desarrollo de *B. distachyon*, se destinó un lote de plantas (aprox. 100 unidades) independiente al de tratamientos de estrés (6.5) con anticipación de 10 días. En este experimento se aplicaron los tratamientos de control y sequía crónica. Simultáneamente permitió la observación de las etapas de desarrollo de las plantas para su contraste con las colectas y lograr establecer los tiempos de colecta del experimento.

6.5 Tratamientos de estrés

El experimento constó de tratamientos de sequía crónica y control, ambas en fases vegetativa, transición a la floración cronológica y fisiológica, y floración,

configurando a éstos de la siguiente manera respecto a su contenido de agua en sustrato:

- Control (2.08 g agua/ g sustrato)
- Sequía crónica (0.95 g agua/ g sustrato)

La intensidad de la sequía se ubicó entre moderada (1.24 g agua/ g sustrato) y leve (.83 g agua/ g sustrato) de acuerdo a la clasificación fisiológica descrita por Cesario-Solís, (2015). Se utilizaron 15 macetas por cada etapa (4 etapas en total: vegetativa, transición a la floración cronológica y fisiológica, y floración), por dos tratamientos respectivos (sequía crónica y control) incluyendo 3 plantas por maceta para total de 180 plantas distribuidas en 60 macetas.

El ajuste de agua para el tratamiento de sequía crónica se inició con el tratamiento control. Una vez alcanzada la etapa 1.3 de la escala Biologische Bundesanstalt Bundessortenamt and Chemische Industrie (BBCH) para *Brachypodium distachyon* (Hong *et al.*, 2011) y aproximadamente 10 días después de germinación (DDG) de acuerdo a Ortíz-Yescas (2016), se dejó de irrigar hasta lograr la relación establecida para la condición de sequía crónica (0.95 g agua/ g sustrato) y se ajustó diariamente con agua para mantener dicho parámetro estable. Cabe mencionar que durante las mediciones se despreció la masa ganada del material vegetal. Los tratamientos control se mantuvieron en riego normal durante todo el experimento.

6.6 Monitoreo de tratamientos

Con el objetivo de controlar los tratamientos de estrés se monitoreó el contenido relativo de agua en suelo (CRAs) a lo largo de los experimentos. Para esto se registró diariamente el peso de cada maceta, y se determinó la cantidad de agua perdida empleando como referencia la relación 2.08 g de agua/ g sustrato, el cual representa el tratamiento control. Se implementó la ecuación 5 para determinar este parámetro de acuerdo a Riboni *et al.*, (2013).

$$CRA_s = \frac{Phd - Ps}{Phi - Ps} * 100 \quad \text{\{Ec. 5\}}$$

Donde:

Phd: Peso húmedo diario.

Ps: Peso del sustrato secado previamente por 3 días a 60°C.

Phi: Peso húmedo inicial (condición control).

6.7 Colecta de tejido vegetal

Para el análisis molecular se tomaron muestras de *B. distachyon* correspondientes a cuatro etapas de desarrollo como se indican en la Fig. 10. Cabe mencionar que se añadió un punto de colecta en comparación con Ortíz-Yescas (2016), ubicado entre transición y floración, al que se denominó transición fisiológica. Se colectó únicamente la parte aérea (tallo y hojas), excluyendo las inflorescencias, si las hubiera. Las muestras fueron envueltas en papel aluminio sumergiéndolas inmediatamente en nitrógeno líquido y se almacenaron en el ultracongelador a -80°C.

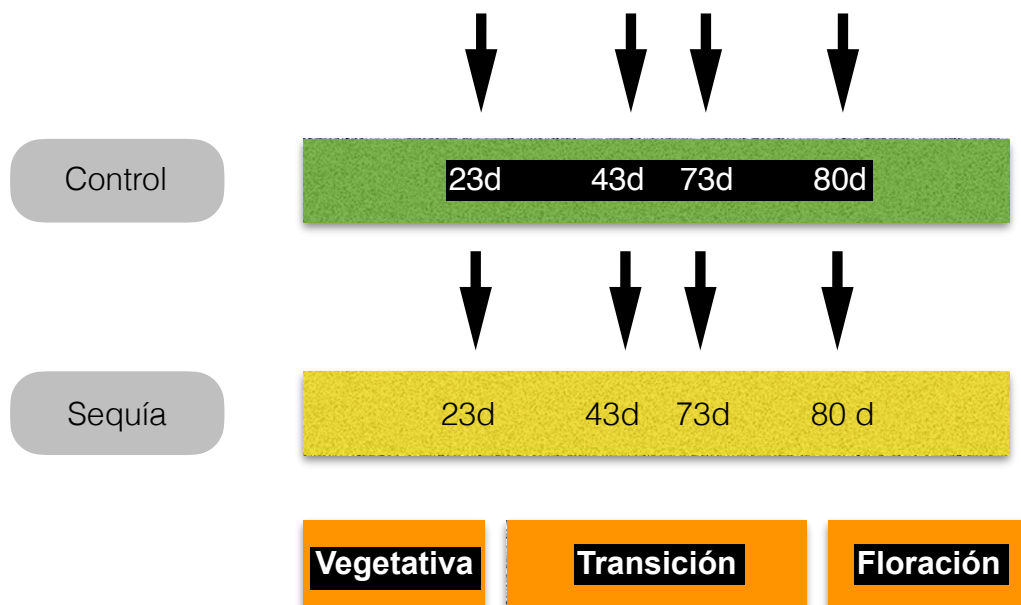


Figura 10. Colectas respectivas de material vegetal. Las flechas se indican el tiempo de colecta aproximado.

6.8 Medición parámetros fisiológicos

Para conocer el nivel de hidratación en los tejidos, se midió el contenido relativo de agua en hojas bajo los tratamientos anteriormente mencionados. Se tomaron muestras de hojas al azar en los tiempos indicados en el punto 6.8, en las que se registró el peso fresco (Pf), peso turgente (Pt) y peso seco (Ps).

Se aplicó la siguiente fórmula (Ecuación 6) para determinar el Contenido Relativo de Agua en hojas (CRAh) de acuerdo a Barrs y Weatherley (1962).

$$CRAh = \frac{Pf - Ps}{Pt - Ps} * 100 \quad \text{\{Ec. 6\}}$$

Donde:

Pf: Peso de un trozo de hoja al momento de la colecta.

Pt: Peso del trozo de hoja a 24 h de ser embebida en agua desionizada.

Ps: Peso de trozo de hoja a 48 h de ser secado a 72°C.

La caracterización fisiológica comprendió la evaluación de los efectos de los tratamientos sobre el desarrollo y ciclo de vida de *B. distachyon* en las cuatro etapas de desarrollo. En cada etapa se registró el número de hojas, altura y número de *tillers* (ramificaciones). Adicionalmente se identificó el tiempo de floración.

6.9 Análisis molecular

6.9.1 Extracción de RNA

Las muestras en almacenamiento a -80°C se molieron de forma manual con nitrógeno líquido hasta que se obtuvo un pulverizado. Se colocó un volumen de material pulverizado aproximado de 500 µl en un tubo 1.5 ml al que se le

adicionó 1 ml de Trizol (Invitrogen, 15596018) y se homogenizó con un vórtex. Enseguida se dejó reposar por 2 min a temperatura ambiente y se añadió 200 μ l de cloroformo a cada tubo y agitó manualmente por 20 s. Los tubos se incubaron a temperatura ambiente por 5 min, posteriormente se centrifugaron a 13,000 rpm por 15 min a 4°C.

Se removió la fase superior (acuosa) de la mezcla y se colocó en un tubo nuevo, a éste se le agregó 1 ml de isopropanol y se mezcló manualmente por inversión, después se incubó a temperatura ambiente por 30 min. Posteriormente se centrifugó a 13,000 rpm por 20 min a 4°C. El sobrenadante se separó por decantación, y la pastilla de RNA formada en el fondo del tubo se enjuagó con 1 ml de etanol al 80%, posteriormente se centrifugó para eliminar el líquido de lavado y se dejó reposar. Cada pastilla se resuspendió en 30 μ l de agua tratada con DEPC (Apéndice A).

6.9.2 Cuantificación y análisis de la pureza e integridad de RNA

La concentración y pureza del RNA total se registró empleando un espectrofotómetro (Nanodrop 2000/2000e), usando el software del fabricante (Thermo Scientific). Se verificó que las muestras analizadas mostraran relaciones de absorbancia 260/280 entre 1.6 y 2.3.

Las muestras se prepararon con 1 μ L de amortiguador de carga 5X para RNA (Apéndice A), 2 μ L de muestra de RNA y 2 μ L de agua DEPC. Para su desnaturalización se incubaron las muestras en un termobloque (Axygen, MC-175-C) durante 5 min a 65°C. Al término, se cargaron en un gel de agarosa desnaturalizante al 1% (Apéndice A).

Para la electroforesis se empleó MOPS 1X (Apéndice A) como solución de corrida y un voltaje de 80 V. Se analizó la integridad del RNA total corroborando visualmente la intensidad de las bandas de RNA ribosomal. La imagen del gel

se adquirió en un fotodocumentador (Ingenius LHR Syngene) mediante el software GeneSnap de Syngene.

6.9.3 Ensayo de PCR punto final

Para corroborar la amplificación de un producto único previo al ensayo de PCR cuantitativa, se realizaron ensayos de PCR punto final con las mismas condiciones que especifica el punto 6.9.4 para reacciones de síntesis de cDNA.

Una vez propuestos miRNAs de interés de acuerdo al análisis digital en las bibliotecas de RNAs pequeños, se procedió a corroborar la amplificación de productos únicos mediante ensayos de PCR de punto final. Para los ensayos individuales (I) el cDNA se generó utilizando el oligonucleótido Stem-loop de cada blanco a amplificar, para los dúplex (D) la combinación del primer Stem-loop del blanco y del control 5.8 S y finalmente para las pruebas multiplex (C) todos los primers Stem-loop.

Para verificar la amplificación de cada blanco se realizaron tres ensayos para cada uno. Para los ensayos individuales la primera prueba consistió en la amplificación del producto de interés con molde desde la generación de cDNA. La segunda sin molde desde la generación de cDNA y la tercera sin molde al momento de la PCR de punto final.

Las pruebas dúplex (D) y múltiplex (C) en el primer ensayo se amplificó el RNA pequeño 5.8 S, en el segundo el miRNA de interés y finalmente el control negativo de la PCR. Para los ensayos de PCR se realizaron reacciones de 20 μ L de acuerdo al kit DreamTaq Green PCR Master Mix (Thermo Scientific, K1081) de acuerdo a las instrucciones del fabricante como se indica a continuación.

Componente	Volumen de reacción
Dream Taq MM (2X)	10 μ L
Primer directo (10 μ M)	0.5 μ l
Primer reverso universal (10 μ M)	0.5 μ l
cDNA (1:5)	2 μ L
Agua	7 μ L
Total	10 μ L

Una vez realizadas las reacciones se sometieron a las siguientes condiciones en un termociclador (Techne, TC-512).

Paso	Tiempo	Temperatura	Ciclos
Desnaturalización	3 min	95 °C	1
Desnaturalización	30 s	95°C	40
Alineamiento	30 s	55 °C	
Extensión	1 min	72 °C	
Extensión final	5 min	72 °C	1

Los productos fueron resueltos en un gel de acrilamida al 6% (Apéndice A) empleando una solución de corrida TBE 1X (Apéndice A) a 100 V.

6.9.4 Ensayo de expresión por PCR cuantitativa

Se siguió el protocolo de PCR cuantitativa *Stem-Loop* de acuerdo a Chen *et al.* (2005), con las modificaciones descritas por Flores-Herrerías (2016). Se emplearon oligonucleótidos *Stem-Loop* diseñados para complementar las 6 últimas bases de los miRNAs seleccionados (Apéndice B). En estas reacciones, además del oligonucleótido para el miRNA específico se añadió el oligonucleótido del RNA pequeño 5.8S como control constitutivo, de acuerdo a

lo reportado en Bertolini *et al.*, (2013). Se realizaron reacciones de síntesis de cDNA como se indica enseguida.

Componente	Volumen de reacción
Maxima Probe qPCR	10 μ L
Primer directo (10 μ M)	0.5 μ L
Primer reverso universal (10 μ M)	0.5 μ L
cDNA (1:5)*	2 μ L
Sonda Taqman (10 μ M)	1 μ L
Agua	5 μ L
Total	20 μ L

* El mir7741 no se diluyó.

Una vez preparadas la reacciones, se sometieron a las condiciones indicadas a continuación en un termociclador.

Paso	Tiempo	Temperatura
Incubación	30 min	16 °C
Incubación	30 min	42°C
Incubación	5 min	85°C

Para los ensayos de PCR cuantitativa se realizaron reacciones de 20 μ L empleando el kit Máxima Probe qPCR (Thermo Scientific, K0262), como se indica continuación (preparación y condiciones de reacción) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Las reacciones se llevaron a cabo en un equipo CFX96 Real Time System (BIO-RAD) que fue facilitado por el CINVESTAV-Irapuato. El equipo se programó para detectar fluorescencia emitida por el fluoróforo FAM durante el curso de la reacción de PCR.

Preparación y condiciones de reacción (PCR cuantitativa):

Componente	Volumen de reacción
dNTP (100 µM)	0.1 µL
Multiscribe Transcriptasa Reversa, 50 U/µL	0.67 µL
Buffer (10X)	1.0 µl
Inhibidor de RNAsa, 20 U/µL	0.13 µL
Agua	2.8 µL
Primer SL (1µM)	0.5 µL
Primer 5.8S (1 µM)	0.5 µL
RNA total (650 ng)+ Agua	4.3 µL
Total	10 µL

Paso	Tiempo	Temperatura	Ciclos
Desnaturalización	10 min	95 °C	1
Desnaturalización	15 s	95°C	40
Alineamiento	30 s	60 °C	
Extensión	30 min	72 °C	

Con los datos obtenidos del ensayo se analizó la expresión de los microRNAs en respuesta al estrés, cuantificando con el método $\Delta\Delta C_T$, de acuerdo a la ecuación 7 propuesta por Livak y Schmittgen, (2001):

$$ER = 2^{-(\Delta\Delta C_T)} \quad \{\text{Ec. 7}\}$$

Donde $\Delta\Delta C_T = (C_{t\text{miRNAproblema}} - C_{t5.8S})_{\text{sequía}} - (C_{t\text{miRNAproblema}} - C_{t5.8S})_{\text{control}}$

El cálculo de el coeficiente de correlación de Pearson ($\rho_{X,Y}$) se calculó con la ecuación 8.

$$\rho_{X,Y} = \frac{\delta_{xy}}{\delta_x * \delta_y} \quad \{\text{Ec.8}\}$$

Donde:

δ_{xy} = Covarianza de (X, Y)

δ_x = Desviación típica de la variable (X)

δ_y = Desviación típica de la variable (Y)

6.10 Análisis estadístico

Para los experimentos se analizó un factor con dos niveles (control y sequía) que fueron evaluados de manera individual para cada etapa de desarrollo de la planta (vegetativa, transición cronológica, transición fisiológica y floración).

Los datos provenientes del monitoreo de los tratamientos de estrés y parámetros fisiológicos fueron procesados por Minitab Express para obtener las medidas de tendencia central (media y desviación estándar). Las diferencias observadas entre los tratamientos se investigaron por medio de un análisis de varianza de una sola vía (ANOVA). Posteriormente se realizó una prueba de comparación múltiple, bajo la prueba de Tukey, entre los dos niveles (control y sequía crónica) considerando una diferencia estadística si $P < 0.05$.

El análisis de los resultados de expresión de los miRNAs se realizó mediante ANOVA y una prueba de comparación múltiple de Tukey entre las etapas de desarrollo, con una diferencia estadística si $P < 0.05$.

7. Resultados y discusión

7.1 Análisis bioinformático de bibliotecas de RNAs pequeños

7.1.1 Depuración y estadística de las bibliotecas de RNAs pequeños

La secuenciación de Illumina para las bibliotecas construidas por Ortíz-Yescas (2016) generó lecturas entre 33.1 y 47.7 millones de secuencias por biblioteca, como se muestra en la Tabla 5-A. El total de lecturas crudas fue variable entre bibliotecas; esto se pudo deber a los parámetros de secuenciación empleados para su análisis, diferencias entre procesamiento de la muestra e incluso, con mayor incidencia, a la abundancia natural de los RNAs pequeños presentes en una muestra. Las lecturas obtenidas cuentan con una buena representación de RNAs pequeños en relación con otros trabajos que oscilan entre 24 y 35 millones de secuencias (Ruan *et al.*, 2009; Thiebaut *et al.*, 2014; Mueth *et al.*, 2015).

Después de remover el adaptador 3' Bridge que se incorporó en el proceso de construcción de bibliotecas de RNAs pequeños, de eliminar secuencias de baja calidad y vacías (secuencias que carecen de RNA pequeño) (Tabla 5-B), se aplicaron los filtros de remoción de RNAs pequeños y de secuencias (Tabla 5C-E). Como resultado se obtuvieron 17.6 y 29.9 millones de secuencias secuencias inferiores a 18 nt y superiores a 30 nt para las seis bibliotecas (Tabla 5-F).

Los productos entre 18-30 nt, fueron alineados a las secuencias de miRNAs de *B. distachyon* provenientes de la MIRBase V 21 usando el software CLC Genomics, resultando en un rango de 2.9 a 9.2 millones de secuencias. Cabe mencionar que para este paso se empleó un criterio de 0 *mismatches* o 100% de identidad (Tabla 5-G). La mayor cantidad de secuencias aportadas después del emparejamiento con las lecturas de la miRBase, fueron las bibliotecas

provenientes de la etapa de transición (Tabla 5-G). Realizando el cálculo de los porcentajes de secuencias de t/r/sno/lncRNAs con respecto al total de RNAs pequeños (de 16-35 nt), se obtuvo una mayor cantidad de esta clase de RNAs pequeños para las etapas vegetativa y floración en comparación con las de transición (Tabla 5-H).

Tabla 5. Resultados del análisis bioinformático para la detección de miRNAs.

Bibliotecas/ Filtro aplicado	CV	SV	CT	ST	CF	SF
A. Lecturas iniciales	33,113,161	33,945,340	31,692,781	38,433,131	31,634,796	47,744,371
B. Remoción de adaptador y eliminación de secuencias vacías	28,254,027	31,340,597	28,449,143	35,636,761	29,869,791	45,881,178
C. Selección de longitud (16-35 nt)	27,332,135	30,601,202	27,808,009	34,674,762	29,083,069	44,901,753
D. Eliminación de t/r/sno/lncRNAs	18,073,102	19,532,039	25,155,931	31,223,905	18,617,114	29,240,196
E. Mapeo al genoma	17,931,632	19,411,019	25,009,332	30,950,192	18,493,242	29,092,915
F. Selección de longitud (18-30 nt)	17,616,830	18,970,941	24,492,174	29,927,915	18,074,950	28,659,239
G. Identificación de lecturas en MIRBase	2,968,715	3,224,387	7,177,362	9,927,823	4,558,963	8,037,297
H. Aporte t/r/sno/lncRNAs(%)*	33.88	36.17	9.54	9.95	35.99	34.88
I. Aporte de miRNAs (%)**	16.85	17	29.3	33.17	25.22	28.04

*Calculado a partir de RNAs pequeños de longitud 16-35 nt.

**Calculado a partir de RNAs pequeños de longitud 18-30 nt

C: control; S: sequía; V: vegetativa; T: transición; F: floración.

Las bibliotecas provenientes de la etapa transición a la floración aportan la mayor cantidad de secuencias pertenecientes a los miRNAs (Tabla 5-I). Ésta observación es significativa debido a que se repite en bibliotecas

independientes, con dos tratamientos distintos pero de fase de desarrollo similar. Por lo tanto, las diferencias de participación de miRNAs y de t/r/sno/lncRNAs están asociadas con la etapa de desarrollo. Estos resultados sugieren que las plantas que atraviesan la etapa de transición, podrían estar más activas en la regulación génica postranscripcional para dirigir la serie de cambios que conducen a la floración.

Para la calidad de lecturas se tomó un criterio de remoción de secuencias con un valor del puntaje Phred menor a 30. Alrededor del 2.2% de las secuencias totales de cada una de las bibliotecas fueron removidas con el objetivo de evitar falsos positivos en el emparejamiento de secuencias. El resto de las secuencias se empleó para análisis posteriores (Fig. 11).

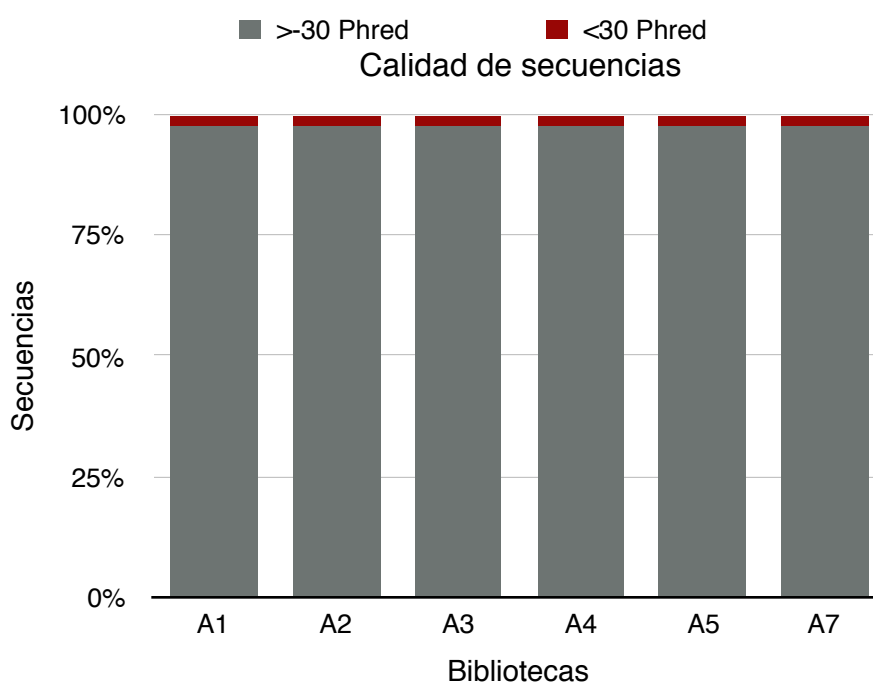


Figura 11. Análisis de la calidad de las secuencias después de la remoción de adaptador.

La mayoría de las secuencias de RNAs pequeños de todas las bibliotecas, presentaron un tamaño entre 20-24 nt correspondientes a los productos generados por el complejo DICER (Fig. 12). Existen dos picos característicos que presentan alta abundancia relativa, ubicados en 21 y 24 nt. Este patrón es

consistente entre las seis bibliotecas y refleja la distribución de tamaño y la diversidad de RNAs pequeños en organismos eucariotas (Mueth *et al.*, 2015).

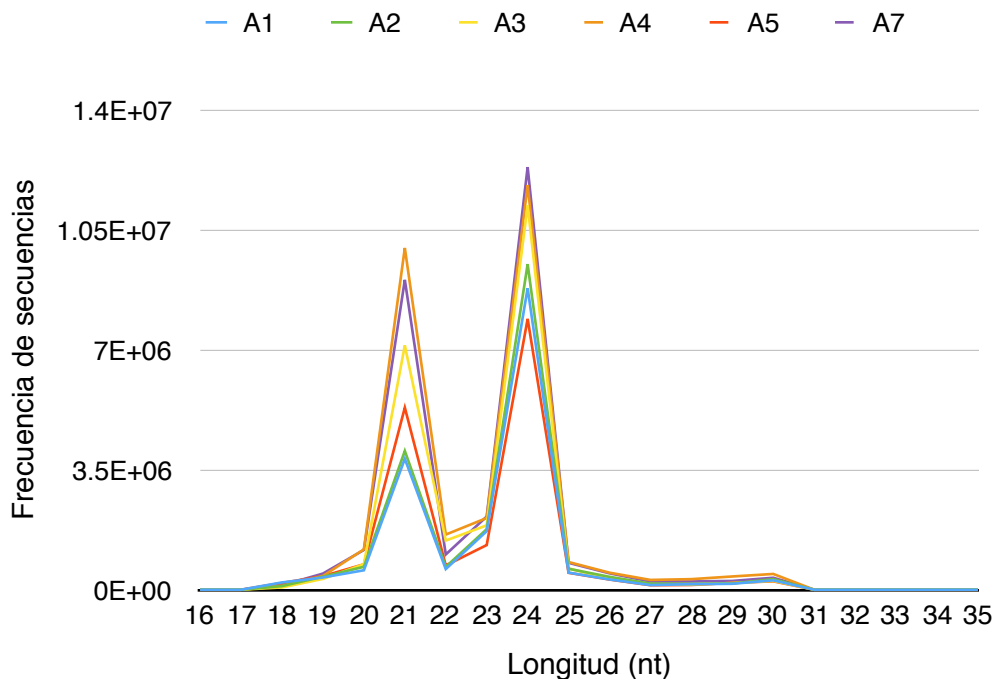


Figura 12. Distribución de la longitud de la secuencias en la bibliotecas.

De acuerdo a trabajos previos (Zhang *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2014), el enriquecimiento de los picos de 21 y 24 nt de longitud es representado como los grupos con mayor abundancia de secuencias, siendo el el grupo de 24 nt el de mayor incidencia a lo largo de las seis bibliotecas. La dominancia del pico de 24 nt, es consistente a lo obtenido en trabajos previos realizados en *Arabidopsis thaliana* (Rajagolapan *et al.*, 2006), *Medicago truncatula* (Szittyá *et al.*, 2008), *Oryza sativa* (Morin *et al.*, 2008) y *Solanum tuberosum* (Zhang *et al.*, 2013).

Los RNAs pequeños de 24 nt de longitud presentan una alta diversidad de secuencias en contraste con los picos de 20, 22 y 23 nt. Este hecho supone que la mayoría de las secuencias generadas se lleva a cabo por la ruta no canónica donde intervienen DCL2, DCL3 y DCL4. (Budak y Akpinar, 2015). Adicionalmente, este fenómeno puede tener implicación en el enriquecimiento de RNAs pequeños de interferencia (siRNA) de longitud similar (Lelandais-Briere *et al.*, 2010; Jeong *et al.*, 2016). Por otra parte, se ha reportado que los

miRNAs de 21 nt de longitud en plantas son procesados por DCL1 y DCL4 por la vía canónica y aportan una cantidad importante de secuencias (Rogers y Chen, 2013).

7.1.2 Normalización de las bibliotecas de RNAs pequeños

El total de lecturas identificadas en la MIRBase (Tabla 5-G) representaron la abundancia de 402 miRNAs en común para las seis bibliotecas. De estos 402 miRNAs se procedió a realizar los análisis posteriores implementando 5 métodos de normalización; Global filtradas, Cuantiles, Mediana Polish, TMM y RLE (Apéndice D).

El análisis de los métodos de normalización se representó en una gráfica de caja bigote (Fig. 13), donde se muestran las secuencias crudas o sin procesar y los métodos empleados. Los resultados demostraron que el método de normalización con mejor ajuste fue el de Cuantiles como se observa en la Tabla 6. Este método mostró el mejor alineamiento entre dos medidas de tendencia central, en este caso se propuso a la mediana y la media para la comparación. Los demás métodos presentaron desviaciones entre 0.00782 a 0.1066 y 0.0389 a 0.2072 para la media y la mediana respectivamente.

Una forma de visualizar la normalización en forma efectiva es que los datos tendrán medidas centrales muy parecidas o en su caso idénticas. La representación de las lecturas crudas posee diversidad de posicionamiento en base a las medidas de tendencia central (Fig. 13). Naturalmente este hecho supone una heterogeneidad entre las muestras debido a la carencia de procesamiento. Adicionalmente, los métodos Mediana Polish, TMM y RLE generan relativa uniformidad dentro del conjunto central (representado por la caja de cada muestra) de los datos en comparación con las lecturas Crudas y Globales filtradas como se observa en la Fig. 13.

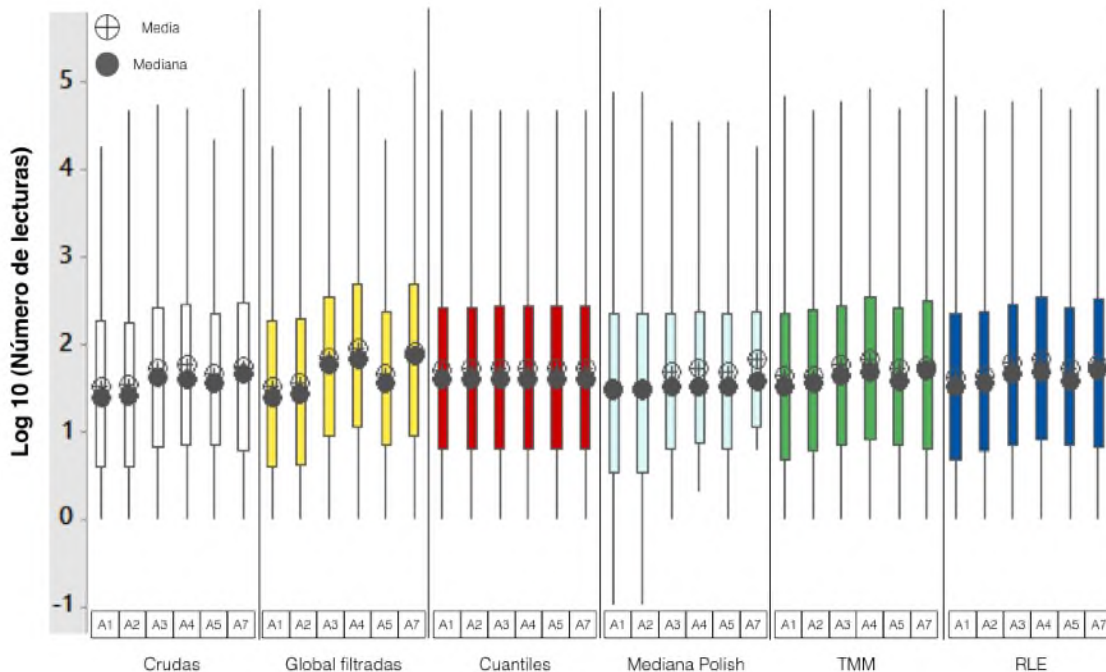


Figura 13. Evaluación de los métodos de normalización.

La representación de los valores superior e inferior para Mediana Polish (línea unida a la caja), resultaron ser los de mayor amplitud generando valores menores a cero (-1 hasta -4, en \log_{10}) en las bibliotecas A1 y A2. Este hecho pudo deberse a que las muestras A1 y A2 son las bibliotecas con menor número de cuentas. Además de presentar traslape entre media y mediana, no existió concordancia para el intervalo de lecturas en Mediana Polish. Por su parte, Cuantiles exhibió un rango homogéneo de datos para las seis muestras analizadas (Tabla 6).

En los ensayos de normalización se establece la suposición que la gran mayoría de los miRNAs a analizar tienen un comportamiento no diferencial, es decir, que no son afectados por el tratamiento. Este dato se puede visualizar empleando gráficas *MA*. Con lo anterior se establece que el método de normalización que resulte con una pendiente cero indicaría que se estableció la suposición. La representación de la distribución de las lecturas se muestra en gráficas *MA*, en las cuales se tomó como referencia las bibliotecas A1 y A2 (Fig. 14). Este tipo de gráficas muestra la dispersión de cada una de las muestras en

la biblioteca mediante propiedades logarítmicas, como se indica en la sección de Materiales y Métodos (6.1.1).

Tabla 6. Medidas de tendencia central de los métodos de normalización

Método de normalización	M.T.C*/ Biblioteca	A1	A2	A3	A4	A5	A7	D.E
Crudas	Media	1.5235	1.5407	1.7377	1.7681	1.6649	1.7391	0.1066
	Mediana	1.3976	1.4065	1.6232	1.6127	1.5563	1.6674	0.1155
Global filtradas	Media	1.5235	1.5661	1.8599	1.9652	1.6742	1.9174	0.1883
	Mediana	1.3976	1.4374	1.7634	1.8384	1.5671	1.8752	0.2073
Cuantiles	Media	1.7159	1.7215	1.7268	1.7199	1.7185	1.7197	0.0037
	Mediana	1.5918	1.5984	1.6287	1.6126	1.6126	1.6126	0.0129
Mediana Polish	Media	1.4911	1.4880	1.6818	1.7278	1.6818	1.8396	0.1382
	Mediana	1.4698	1.4698	1.5119	1.5250	1.5119	1.5740	0.0389
TMM	Media	1.6360	1.6465	1.7742	1.8322	1.7221	1.7532	0.0758
	Mediana	1.5281	1.5543	1.6456	1.6964	1.5852	1.7005	0.0734
RLE	Media	1.6300	1.6403	1.7832	1.8240	1.7269	1.7602	0.0782
	Mediana	1.5250	1.5502	1.6550	1.6887	1.5895	1.7166	0.0776

Datos obtenidos a partir del número de lecturas en \log_{10}

*Medida de Tendencia Central.

D.E: Desviación estándar.

Una vez aplicadas las fórmulas para todas las lecturas de los miRNAs emparejados, se procedió a graficar y se agregó una línea de tendencia de primer orden o de ajuste lineal, donde se muestra el comportamiento de la distribución de las lecturas en modo de regresión lineal. El caso de Mediana Polish ubica la mayoría de lecturas (excepto datos atípicos) sobre el eje "x" (Fig. 14d). Este resultado no permite visualizar la expresión diferencial digital en las muestras. Por otra parte los métodos de TMM y RLE (Fig. 14e-f) generan líneas de tendencia negativas por lo que se descartan para ser considerados como el método idóneo, posiblemente esto se debe a que se modificó el tamaño de las bibliotecas.

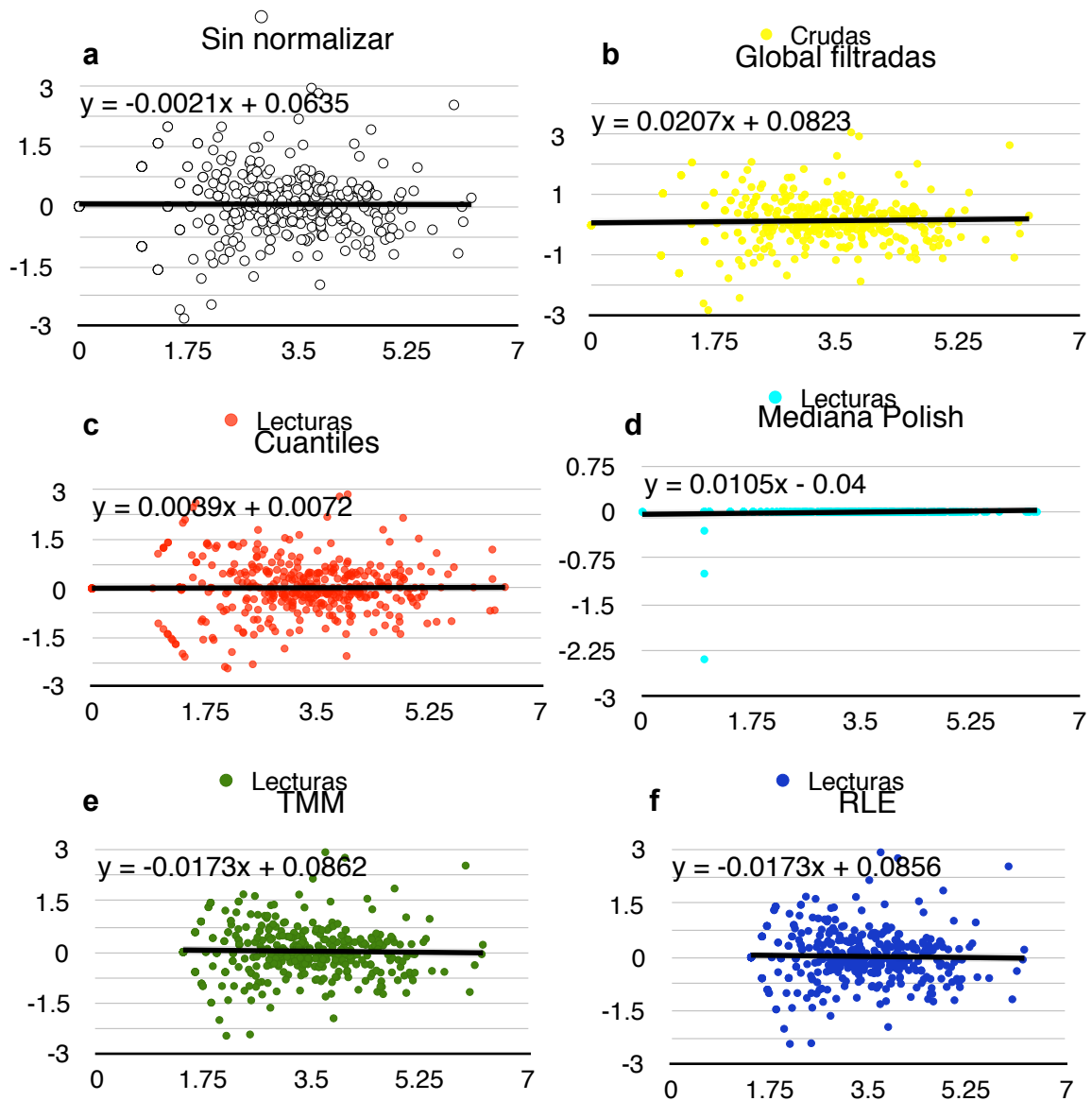


Figura 14. Distribución de lecturas en gráficas MA durante la normalización. a) Crudas, b) Global filtradas c) Cuantiles d) Mediana Polish e) TMM f) RLE

El método de Cuantiles genera la mejor adaptación de ecuación en comparación con los otros métodos (Fig.14c) Los resultados obtenidos fueron concluyentes al elegirlo como el mejor método de normalización para bibliotecas de RNAs pequeños, acorde con otros trabajos (Garmire y Subramaniam, 2012; Garmire y Subramaniam, 2013; Tam *et al.*, 2015), debido a que Cuantiles ofrece la menor desviación en error y una adaptación para secuencias pequeñas como los miRNAs. Por otra parte, Tam *et al.*, (2015)

concluye que TMM es el peor método de normalización para miRNAs debido a que se modifica el tamaño de la biblioteca y los datos de lecturas. El método de Global filtradas carece de un rango base para llevar a cabo la normalización. Por ese motivo, modificó el tamaño de las bibliotecas y por lo tanto alteró la cantidad de lecturas. Otro dato a considerar es que la aportación de lecturas provenientes de t/r/sno/lncRNAs (Tabla 5-D) resultó de naturaleza variable para cada biblioteca. A pesar de que se esperaba uniformidad de las bibliotecas en relación a estos RNAs, ocurrió lo contrario, por lo que este hecho supone que el método TMM y RLE generaría un error al no mantener un relación proporcional de lecturas en cada biblioteca.

Aunado a que los métodos de TMM y RLE han sido propuestos ampliamente para normalización de RNA-seq, la diferencia existente con bibliotecas de RNAs pequeños es el tamaño de productos generados. Por lo tanto, ésta característica no es favorable para su empleo en el estudio digital de la expresión de RNAs pequeños.

7.1.3 Identificación de grupos de miRNAs

El método de normalización Cuantiles fue el que se adoptó como el más adecuado por su distribución, apoyándose de datos empíricos obtenidos previamente. Por lo que se tomaron los datos de éste para posteriores análisis de las bibliotecas. Se ingresaron los datos en un software de generación de mapas de calor (Heat Map). Como resultado se obtuvieron tres patrones de expresión principales (Fig. 15):

1. miRNAs específicos de desarrollo (ED) para todas las etapas,
2. miRNAs de respuesta (expresión disminuida o aumentada) por el estrés en todas las etapas, y
3. miRNAs específicos de desarrollo disminuidos por sequía.

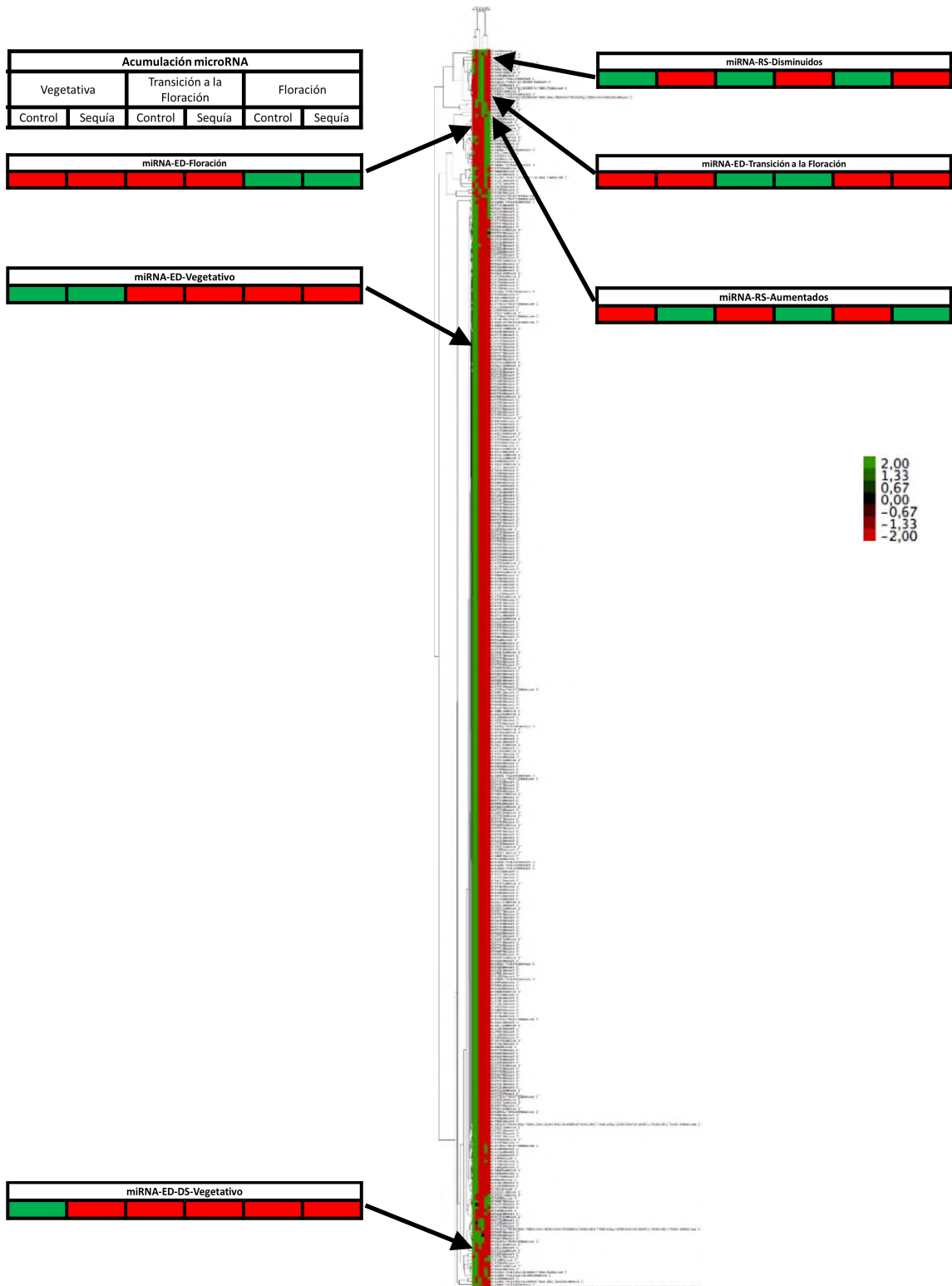


Figura 15. Clasificación de miRNAs de acuerdo a su patrón de expresión digital. RS: Respuesta a sequía, ED: Específico de desarrollo, DS: Disminuido por sequía.

La mayor cantidad de miRNAs inducidos se ubica durante la etapa vegetativa (grupo miRNA-ED-Vegetativo). Estos datos reflejan que hay una participación consistente de miRNAs durante la etapa de desarrollo de manera independiente a la sequía. Aunado a ello se identificó un grupo de miRNAs que mostró un comportamiento similar correspondiente a la etapa floración (miRNA-ED-Floración). Fue posible detectar dos grupos de miRNAs sobre los cuales se mostró particular interés (miRNAs-RS-Disminuidos y Aumentados). Estos conjuntos exhibieron miRNAs expresados o disminuidos en respuesta a la sequía, a lo largo de las etapas de vida de *B. distachyon*.

El análisis de participación en base al criterio 10 TPM (Apéndice E), mostró que hay una cantidad central de miRNAs (148-176) que participan de manera conjunta en la regulación postranscripcional durante las etapas de vida de *B. distachyon*, tal como se muestra en la Fig. 16, siendo los de mayor representación miR166, miR319 y miR408.

Para el caso específico de las bibliotecas en condiciones control en las tres etapas (Fig. 16a), se observó que hay miRNAs específicos de cada etapa de desarrollo (vegetativa; por ejemplo miR7715 y miR9491) y entre estadíos continuos (transición-floración; por ejemplo miR5150 y miR7717). Los casos específicos de comparación de bibliotecas de acuerdo a la fase de desarrollo en condiciones control y sequía (Fig. 16b-d), se apreció que hay miRNAs de participación común en rangos numéricos similares (entre 173 y 176).

Adicionalmente hay una discreta participación de miRNAs únicos por biblioteca en comparación con los miRNAs en común. Estos resultados sugieren que hay un conjunto de miRNAs, que modula los cambios en la expresión genética de manera variable en cuanto la abundancia; acumulándose o disminuyendo según la condición específica.

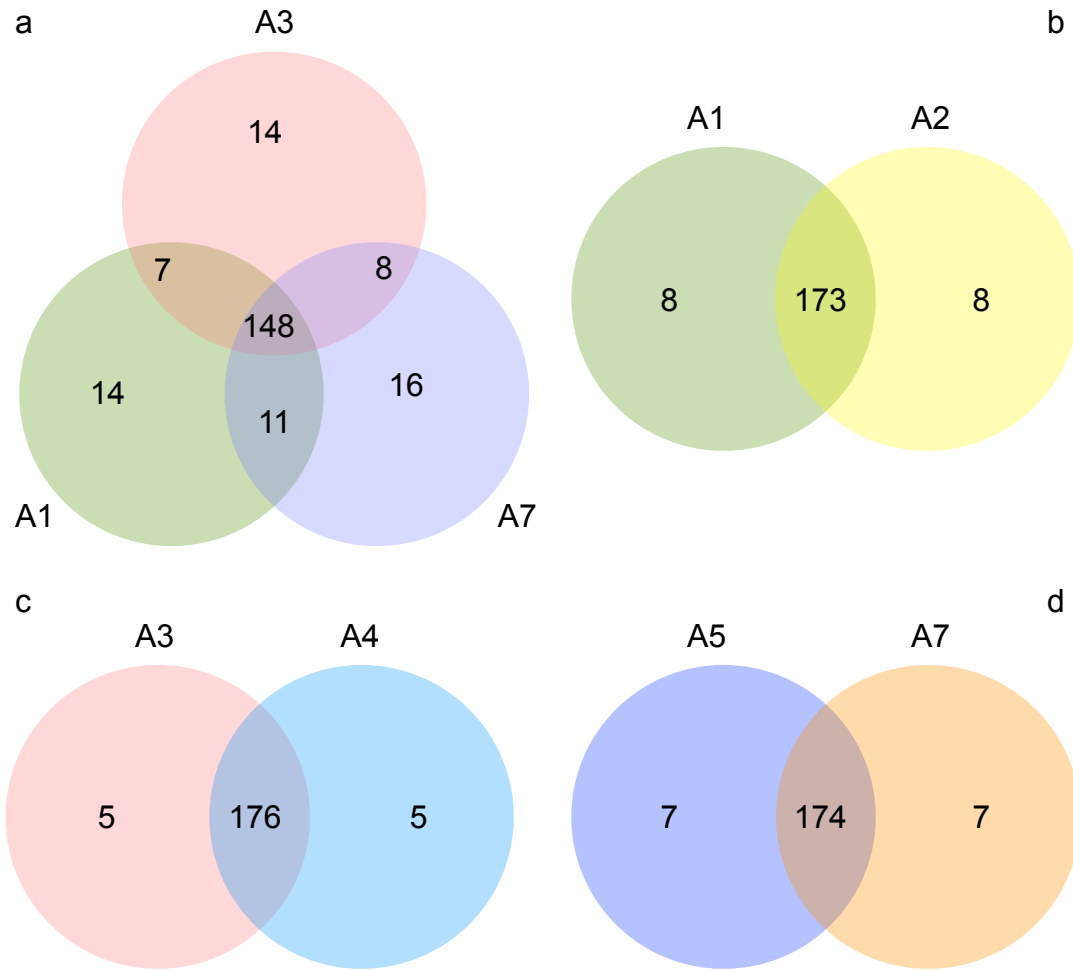


Figura 16. Participación de miRNAs en las bibliotecas. a) Bibliotecas control de las tres etapas. b) Bibliotecas vegetativa (control y sequía). c) Bibliotecas transición a la floración (control y sequía). d) Bibliotecas floración (control y sequía).

7.1.4 Análisis de expresión diferencial digital

Los resultados de identificación de grupos de miRNAs (Heat map y TPM), derivaron en la selección de miRNAs de acuerdo a las restricciones especificadas en el punto 6.1.2. Se eligieron cuatro miRNAs (miR5163, miR7741, miR397, miR529) los cuales se representaron en una gráfica de

acuerdo a su valor de doblaje en \log_2 (Fig.17) a partir de las lecturas de cada una de las bibliotecas tal como se muestra en la Tabla 7.

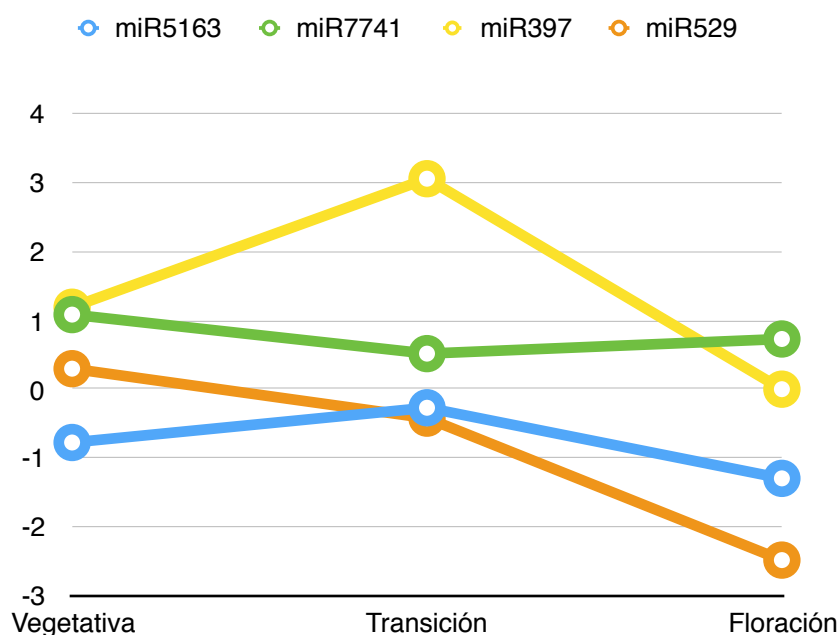


Figura 17. Patrones de comportamiento en Fold Change para los cuatro miRNAs evaluados.

El miRNA predominante en expresión diferencial en respuesta a sequía fue el miR397 que tiene un *Fold Change* (FC) mayor a 3 unidades en la etapa de transición. El miR7741 presentó un FC de cercano a 1 en la etapa vegetativa y de floración en comparación con la etapa de transición. El miR529 fue elegido debido a que su respuesta se ve disminuida en la fase floración con un FC de -2.48 y finalmente el miR5163 presentó regulación negativa en dos fases de desarrollo (vegetativa y floración).

Tabla 7. Lecturas de los cuatro miRNAs evaluados

miRNA/ Biblioteca	A1	A2	A3	A4	A5	A7
miR5163	774.0	452.7	10571.5	8769.9	538.0	219.4
miR7741	15118.5	32010.3	7393.0	10571.5	11608.2	19232.7
miR397	479307.6	1093062.0	214951.7	1785441.9	1785441.9	1785441.9
miR529	145.3	178.6	1182.6	883.7	937.8	168.1

Se investigó su participación de acuerdo a lo descrito en *Brachypodium distachyon*, y se encontró que los miRNAs elegidos son reportados en un trabajo de sequía según Bertolini *et al.*, (2013). Cabe mencionar que a partir de este trabajo, los miRNAs seleccionados solo se anotaron en la miRBase y no se indagó sobre su expresión en respuesta a la sequía y/o su mecanismo de acción.

7.2 Experimento guía

Del experimento guía se llevaron a cabo observaciones fenológicas pertinentes de acuerdo a la escala BBCH (Hong *et al.*, 2011) y a los datos de estadio reportados por Ortiz-Yescas (2016). Los resultados de la caracterización fenotípica permitieron hacer una estimación más precisa temporalmente para la colecta de los tratamientos de estrés.

Se determinó la ubicación temporal de cada estadio de acuerdo al tratamiento control. La etapa vegetativa se ubicó en el día 21(\pm 5) , transición temprana 40 (\pm 5), transición tardía 68(\pm 4) y floración a partir del día 73 (Fig. 18). Los resultados sobre los estadios fenológicos de este trabajo coincide con otros reportes (Schwartz *et al.*, 2010; Ortiz-Yescas, 2016).

La caracterización fenológica durante la etapa vegetativa, presentó el desarrollo de las hojas (una a seis hojas individuales) y del tallo principal (Fig.18a),. Durante las etapas de transición (cronológica y fisiológica) se caracterizaron por mostrar el proceso de ramificación o *tillering*, así como la elongación de hojas y presentación de nodos secundarios (Fig. 18b-c). Al final de la caracterización se exhibió la particular hoja bandera, éste fenómeno da inicio a la etapa de floración puesto que seguido a esto se presenta la primera espiga (Fig.18d).

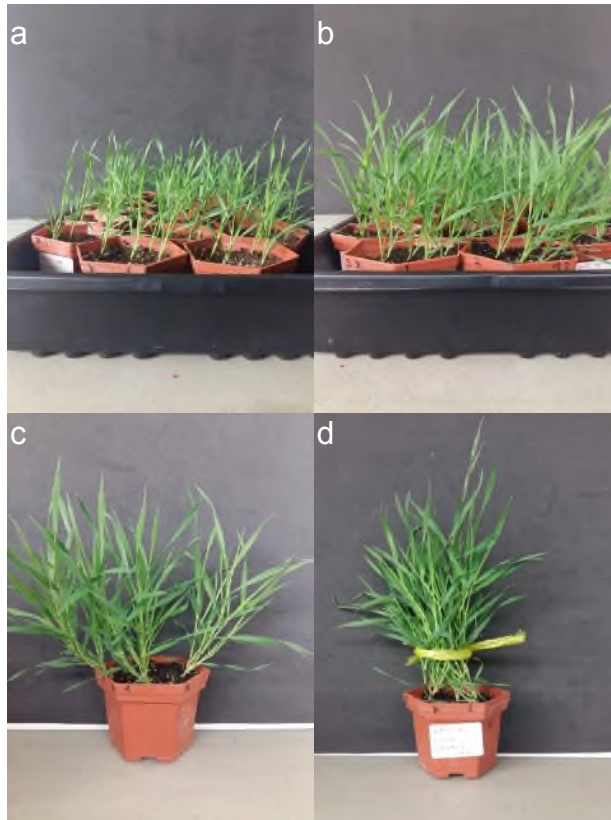


Fig. 18. Estadios fenológicos de experimento guía. a) Vegetativa. b)Transición cronológica c)Transición fisiológica e) Floración.

7.3 Tratamientos de estrés

Con el objetivo de estudiar el efecto del tratamiento de sequía crónica sobre los parámetros de desarrollo del ciclo de vida de *Brachypodium distachyon*, se indujo un estrés hídrico de intensidad moderada tal como se especifica en la sección 6.5 de Materiales y Métodos. En la Fig. 19 se observa el efecto de la sequía crónica sobre el desarrollo de la planta en cuatro etapas de su ciclo de vida.

La sequía crónica genera cambios visuales sin importar la etapa de desarrollo, el más claro es la disminución en el desarrollo de la biomasa vegetativa de la planta, este efecto puede suponerse como una adaptación fisiológica y bioquímica debido a la disminución de su actividad fotosintética como resultado

del déficit hídrico. Debido a que el estrés es de intensidad moderada y de duración prologada, las plantas generan otra respuesta visible como la limitación en tamaño.

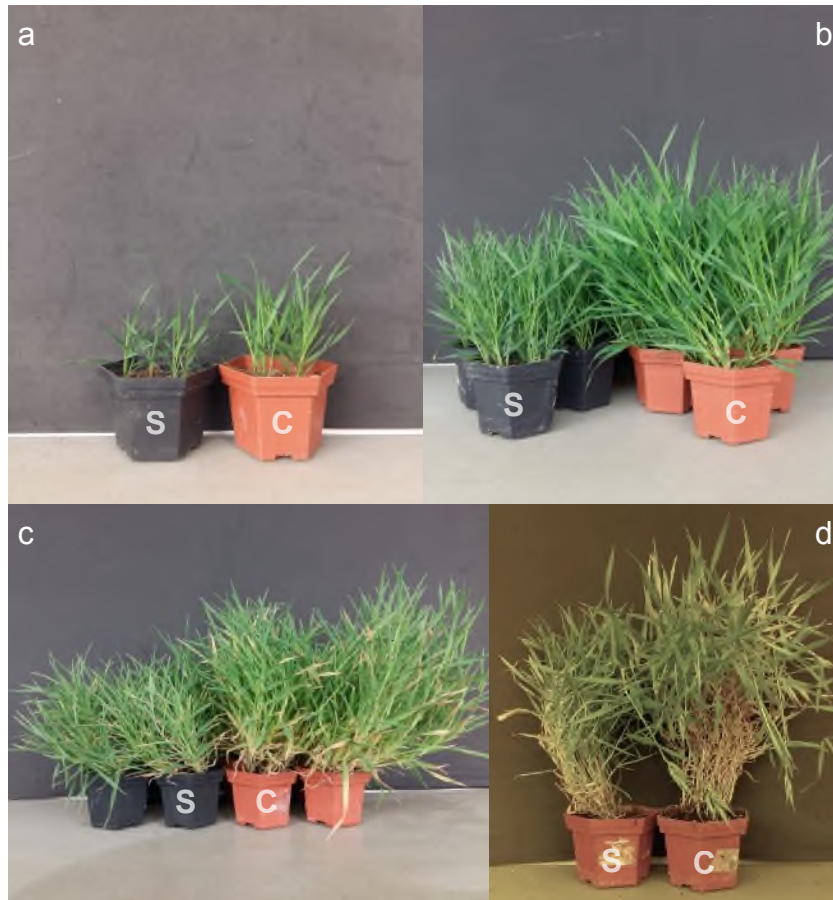


Fig. 19. Efecto de la sequía crónica sobre las etapas de desarrollo. La etapas vegetativa (a), transición cronológica (b) y fisiológica(c), y floración(d) se expresan en función de las plantas control y del tratamiento guía. S: sequía, C: control.

7.4 Monitoreo de tratamientos de estrés

Se determinó el contenido relativo en suelo (CRAs). Este parámetro mostró la dinámica de consumo de agua a lo largo del ciclo de vida de la planta (Fig. 20). Estos datos permitieron visualizar el rango de estrés al que estuvieron sometidas las plantas durante sus etapas de vida. Cabe mencionar que el estrés fue aplicado de acuerdo a lo reportado por Ortíz-Yescas (2016),.

Aproximadamente a partir de 10 DDG se ajustó el contenido en base al peso, según se especifica en Materiales y Métodos.

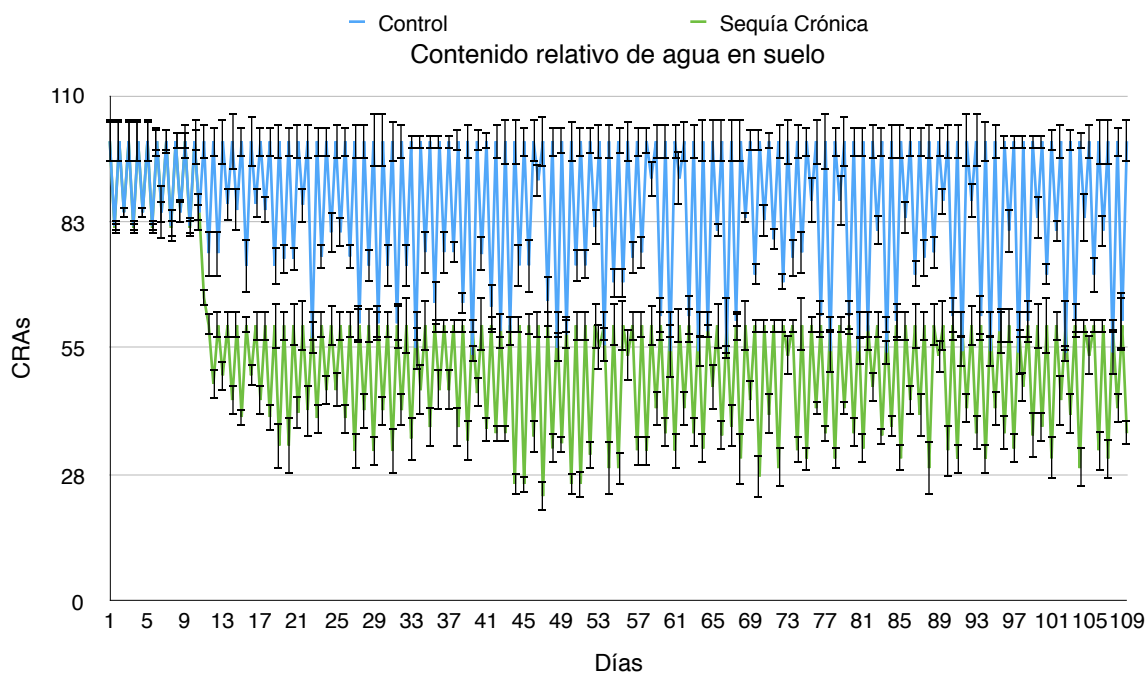


Figura 20. Contenido relativo de agua en suelo. Los resultados son un promedio de 12 macetas \pm DS.

Durante la etapa vegetativa (10-33DDG), se observan cambios en el consumo de agua discretos que no sobrepasan condiciones de estrés para ambos tratamientos. Para el lote control, en la etapa de transición (33-71 DDG) sobresalen numerosos picos que llegan a ser comparables con inicio de un estrés de intensidad intermedia en base a el CRAs (Fig. 20). Hacia el inicio de la floración (73 DDG) para ambas condiciones hay ajustes importantes para ambos tratamientos. Por un lado, el lote control exhibe consumos altos de agua de forma constante en lapsos de tres a cuatro días, posteriormente se restablece su consumo hacia un valor menor (10% aprox.). El consumo de agua para la condición de sequía crónica se lleva a cabo forma alternada, manteniendo un estatus de recuperación menor entre mayores consumos de agua (uno a dos días). Los resultados globales de comportamiento de consumo de agua, indican que las plantas control pueden alcanzar valores hasta de 43% en CRAs en comparación con la condición sequía que presenta 27%. Este

resultado permite aseverar que bajo condiciones de hidratación normales, *B. distachyon* presenta mayores requerimientos de agua durante la etapa de transición y al inicio de la floración. Adicionalmente las plantas sometidas a sequía generaron mecanismos de adaptación a largo plazo para limitar el consumo de agua a lo largo de su ciclo de vida, lo cual se ve reflejado en la cantidad de biomasa generada para cada tratamiento.

7.5 Medición de parámetros fisiológicos

El CRAh es un parámetro que indica el grado de deshidratación de manera indirecta en el tejido de la planta. Los resultados mostraron diferencias significativas para la condición de sequía en comparación con el control en todas las etapas de desarrollo. Los datos obtenidos son comparables con el trabajo de Ortiz-Yescas (2016), y de esta manera hay una concordancia en cuanto al grado de estrés en la planta. Las mediciones de CRAh (Fig. 21) mostraron que a pesar de ser un estrés prologando, las plantas logran ajustar la hidratación de sus tejidos con una disponibilidad menor de agua.

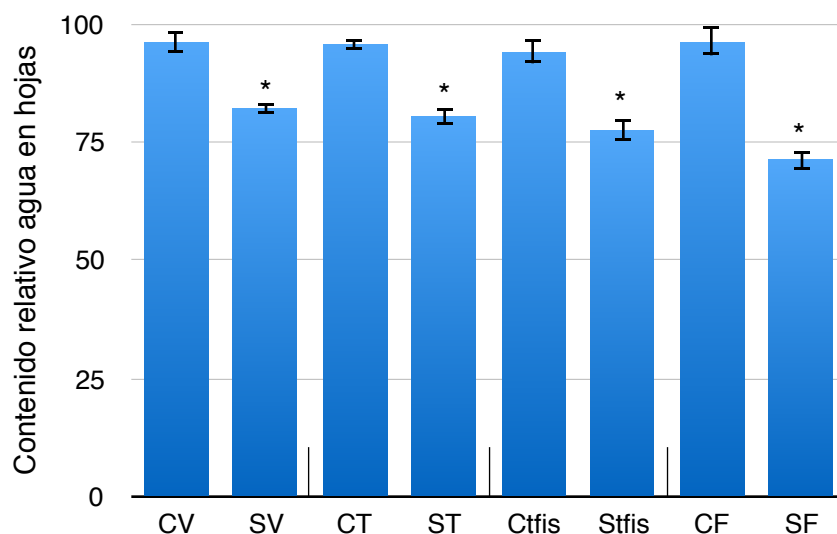


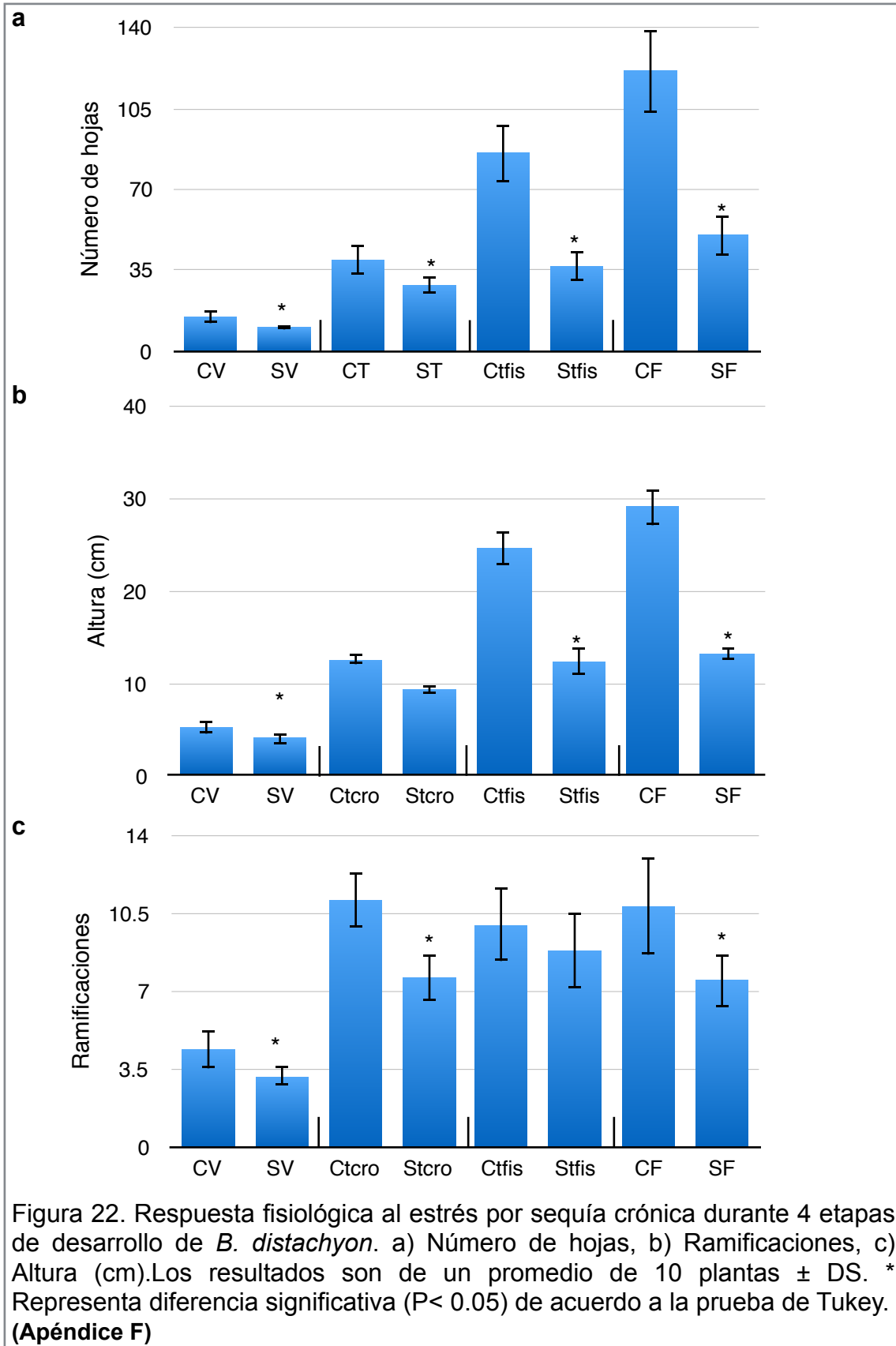
Figura 21. Contenido relativo de agua en hojas. C: Control, S: Sequía, V: Vegetativa, Tcro: Transición cronológica, Tfis: Transición fisiológica, F: Floración. Los resultados se realizaron por triplicados \pm DS. * Representa diferencia significativa ($P < 0.05$) de acuerdo a la prueba de Tukey. (Apéndice F)

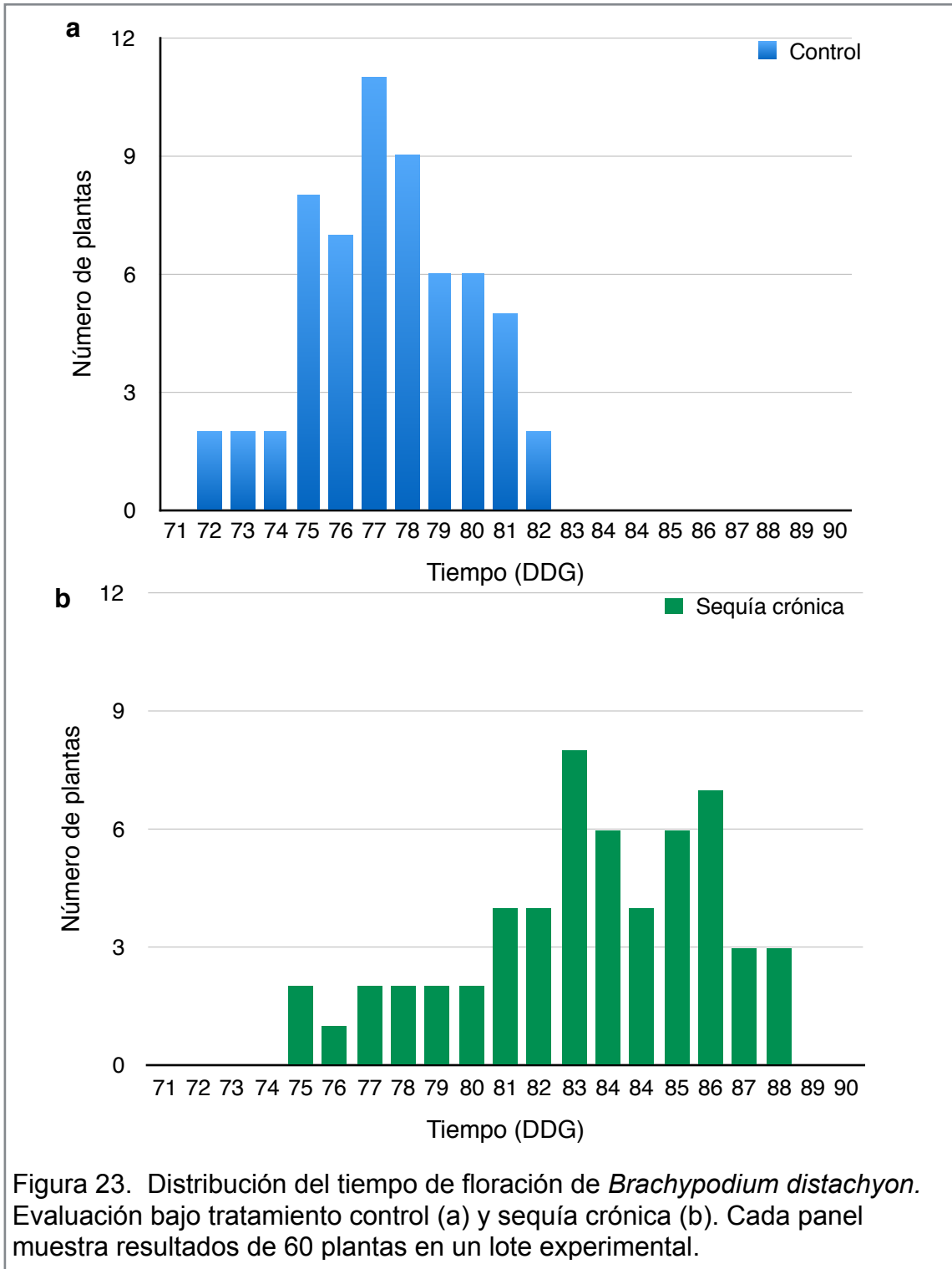
Se registró la estatura, número de hojas y ramificaciones desarrolladas por las plantas en tratamientos control y bajo estrés (Fig. 22). Todos los parámetros de desarrollo resultaron afectados por el tratamiento de sequía. Los cambios que se dieron en mayor proporción, fueron en las etapas posteriores al desarrollo vegetativo, cuando las plantas estuvieron sometidas al estrés por un periodo prolongado.

Las reducciones en los datos de desarrollo debidas al tratamiento de estrés, son respuestas esperadas en comparación con estreses de intensidad severa y de tiempo corto. Sin embargo, el parámetro de ramificaciones en la etapa de transición fisiológica no es significativamente diferente en cuanto a su control, este hecho refleja que el desarrollo de estas estructuras tiende a estabilizarse hacia el inicio de la floración.

Tomando en cuenta los ajustes en parámetros de crecimiento, el consumo de agua y el CRAh, es evidente que las plantas expuestas al estrés logran limitar eficientemente su crecimiento durante la sequía crónica, administran de mejor forma el agua disponible y logran mantener hidratación en sus tejidos. Esta condición les permite mantener un estado fisiológico de balance para recuperar el estado óptimo de hidratación cuando el agua deja de ser limitante.

Una respuesta visible hacia el final del ciclo de vida, es la etapa de floración. Los resultados obtenidos registraron una prolongación del tiempo a floración en plantas sometidas a estrés hídrico crónico tal como se muestra en la Fig. 23. Los datos muestran que las plantas control comienzan a florecer a partir del día 72 DDG, mientras que las plantas de sequía se ubicaron 3 días después del control. Cabe mencionar que la mayor cantidad de plantas en floración para el lote control se ubica entre 75 y 80 días, mientras que las de sequía se encuentran entre 83 y 86 días, teniendo una diferencia de aproximada de 8 días de retraso de floración.





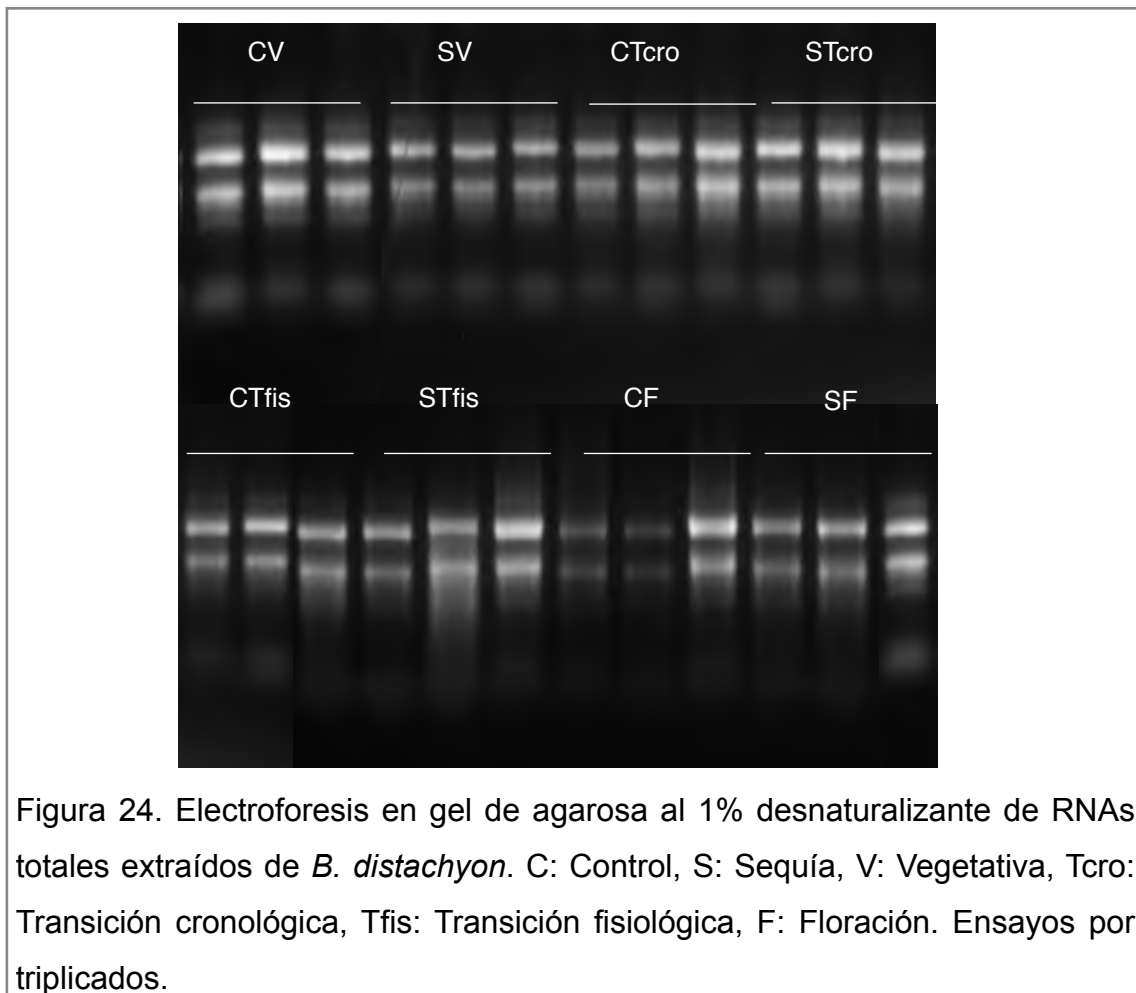
El efecto de retraso de la floración puede estar determinado por la etapa de desarrollo de la planta, la intensidad del tratamiento de estrés y su duración. A pesar de que hay plantas que generan respuestas de escape adelantando la

floración, estas no mostraron este mecanismo posiblemente por su tiempo de vida corto o la carencia de esta respuesta en esta variante natural de *B. distachyon*.

7.6 Análisis molecular

7.6.1 Análisis de la integridad y pureza del RNA total.

El RNA total extraído para la síntesis de cDNA fue analizado para verificar su integridad. En la Figura 24 se muestra el RNA total extraído de las 4 etapas de desarrollo en la condición control y sequía por triplicados. Se observa la intensidad de las bandas ribosomales mayores, indicativas de que la muestras se encuentran libre de degradación aparente.



También se aprecia en menor medida la recuperación de especies pequeñas de RNAs, presentes en la parte inferior del gel. Al realizar el análisis de la concentración y pureza de las muestras, éstas mostraron valores de la relación de absorbancia 280/260 entre 1.6 y 2.3 (Apéndice C). Con todo esto, las muestras cumplieron con las características necesarias para utilizarlas en análisis posteriores.

7.6.2 Ensayo PCR punto final

Los resultados para 5.8 S, miR5163, miR7757, miR166 y miR408 se muestran en la figura 25. El criterio de selección de miRNAs para validar su expresión por PCR cuantitativa, fue visualizar una banda cercana a los 50 nt según el marcador de peso molecular (M) y sin amplificación de productos en los controles negativos. En la figura 25 se observa que para los ensayos individuales, el RNA pequeño constitutivo 5.8S y miR5163 presentan un producto único de tamaño esperado cercano a las 50 pb.

El caso miR166 y miR408, generan múltiples productos de diferente tamaño en el control negativo de cDNA de longitud similar respecto a control positivo, este hecho puede suponer una baja especificidad del oligonucleótido en base a las isoformas del miRNA en estudio, hibridación de oligonucleótidos y de cadenas cDNA previo a la PCR. Al igual que el miRNA 7757, miR166 y miR408 no son consistentes puesto que existen productos de amplificación en los controles negativos (Fig. 25a).

Para los ensayos de dúplex, el único caso que no presentó amplificación de control negativo fue D-5163 como se muestra en la figura 25b, sin embargo, existió una doble amplificación mientras se flanqueaba al RNA pequeño 5.8 S. D-7757, D-166 y D-408, generaron productos de amplificación en el control negativo y múltiples bandas como en el caso de D-7757.

La prueba multiplex no fue exitosa, en todos los casos se generaron productos de amplificación de gran intensidad (alrededor de 50 pb) no deseados en los controles negativos (Fig. 25c).

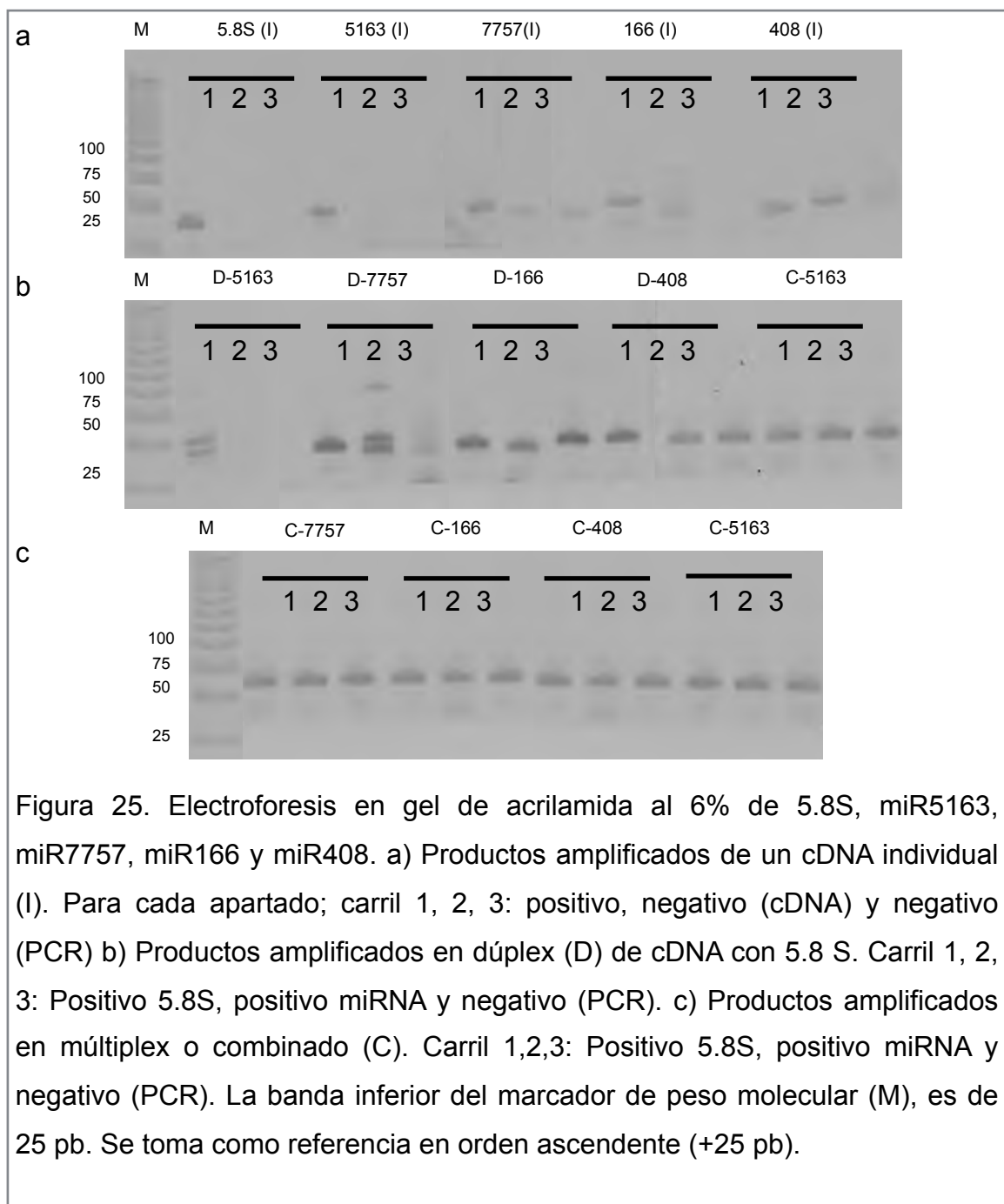
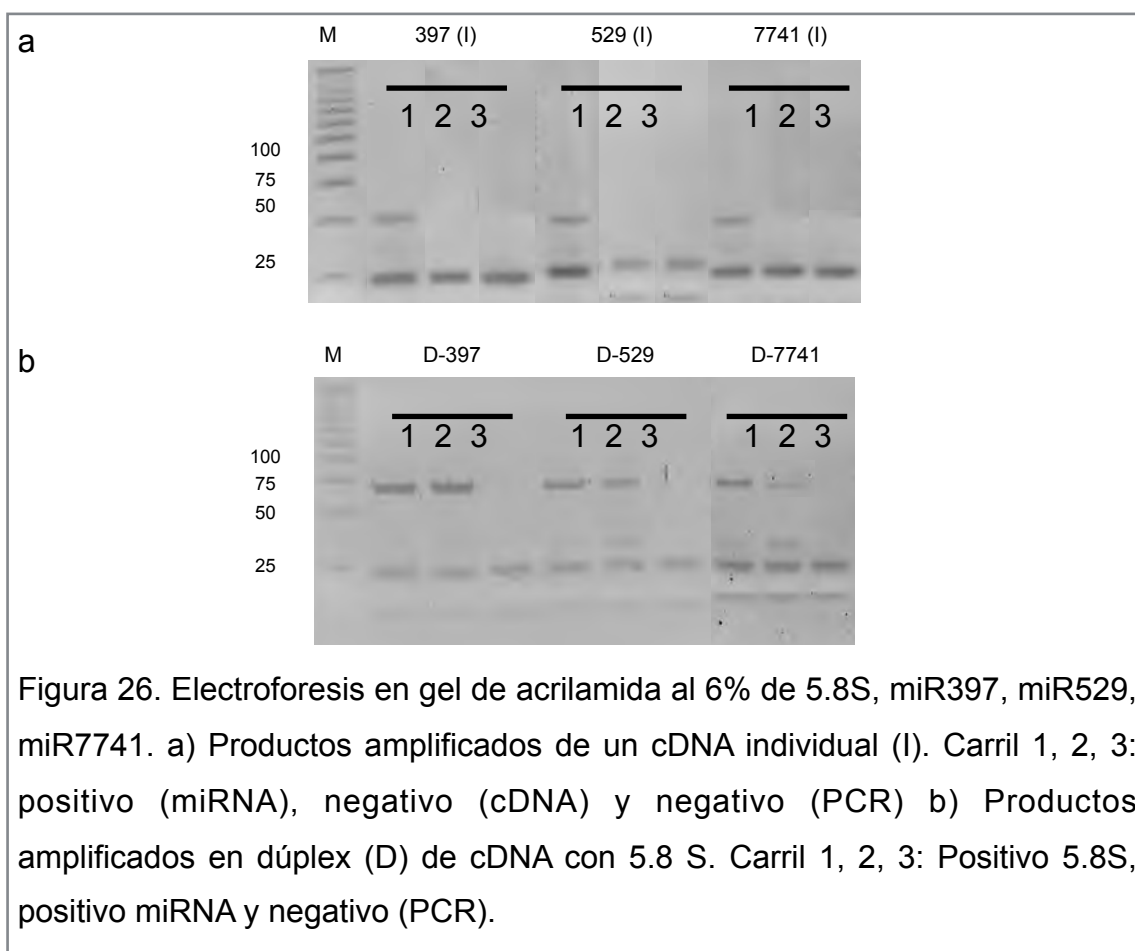


Figura 25. Electroforesis en gel de acrilamida al 6% de 5.8S, miR5163, miR7757, miR166 y miR408. a) Productos amplificados de un cDNA individual (I). Para cada apartado; carril 1, 2, 3: positivo, negativo (cDNA) y negativo (PCR) b) Productos amplificados en dúplex (D) de cDNA con 5.8 S. Carril 1, 2, 3: Positivo 5.8S, positivo miRNA y negativo (PCR). c) Productos amplificados en múltiplex o combinado (C). Carril 1,2,3: Positivo 5.8S, positivo miRNA y negativo (PCR). La banda inferior del marcador de peso molecular (M), es de 25 pb. Se toma como referencia en orden ascendente (+25 pb).

Los estudios que contemplan dos o mas oligonucleótidos para generar cDNA y llevar a cabo la PCR posterior (dúplex y múltiplex), fueron propuestos para

mantener una homogeneidad de condiciones de reacción y disminuir el error técnico. A partir de estos experimentos, se probaron miR397, miR529 y miR7741 en ensayos individuales y dúplex con el control constitutivo 5.8S.

Se obtuvieron resultados favorables para la amplificación de los tres miRNAs propuestos en ambas modalidades tal como se percibe en la Fig. 26. Las bandas que se visualizan en la Fig. 26a, corresponden a productos de un tamaño cercano a 50 pb y la banda inferior se localiza alrededor de los 25 pb, correspondiente al exceso de oligonucleótidos empleados en las reacciones.



Las pruebas de individuales y dúplex fueron congruentes puesto que no hubo amplificación en los controles negativos, sin embargo, para el caso de D-7741 presentó una banda muy tenue por lo que para los ensayos de PCR cuantitativa

se propone concentrar la muestra en la misma proporción que el control constitutivo 5.8S.

De los resultados obtenidos, se eligieron a miR397, miR529 y miR7741 para llevar a cabo las relaciones de PCR cuantitativa en dúplex con 5.8S. El miR5163 se probó de manera individual y de acuerdo a los resultados, se escogió un control consistente para llevar a cabo la comparación con el método de expresión relativa propuesto por Livak y Schmittgen (2001).

7.6.3 Ensayo de PCR cuantitativa

Reportes previos señalan que la familia miR397 una familia conservada en plantas tiene como genes blanco a los que codifican para las enzimas lacasas, una familia importante de enzimas que tienen la función de modular la acumulación de lignina en la planta (Wang *et al.*, 2014). Adicionalmente el miR397b en *A. thaliana* se ha demostrado regulación positiva en tratamientos de estrés abiótico incluyendo a la sequía (Sunkar y Zhu , 2004). Otro estudio en arroz bajo sequía llevado a cabo de la etapa de ramificación o *tillering* hasta el desarrollo de inflorescencias, resultó que 16 miRNAs fueron regulados negativamente incluido al miR397b (Zhou *et al.*, 2010).

En los resultados de la bibliotecas se estableció que miR397 disminuyó sus niveles en la etapa de transición a la floración, sin embargo, en los datos de qPCR (Fig. 27a) no se obtuvo ese comportamiento. A pesar de ello, el análisis del FC mostró un comportamiento esperado en la tres etapas. Para el caso de la etapa vegetativa hubo abundancias similares (FC= 1) independientemente del estrés, este hecho puede deberse a que las condiciones de requerimiento de agua durante este periodo de tiempo no fueron grandes, en comparación con la etapas posteriores como la de transición.

La Fig. 27a para la etapa vegetativa refleja un comportamiento similar al del análisis del FC en cuanto a la abundancia del miR397b, además se exhibe diferencia significativa en comparación con las etapas de transición fisiológica y floración. El incremento de la expresión hacia los últimos puntos de colecta (transición fisiológica y floración), se pudo presentar para limitar la acumulación de lacasas inhibiendo la acumulación de lignina en respuesta al estrés. Por lo tanto, este patrón de expresión pudo ser un factor de influencia en la limitación de tamaño de las plantas expuestas a sequía crónica.

Del miR7741 no se cuenta con información de la función del miRNA, solo se tiene su anotación en la miRBase proveniente del trabajo de Bertolini *et al.*, (2013). Los resultados de FC, muestran valores cercanos a uno para todas las etapas de desarrollo en las bibliotecas de RNAs pequeños. Los valores de expresión para la etapa vegetativa y transición fisiológica exhibieron valores entre 0.24 (± 0.03) y 0.04 (± 0.004) respectivamente (Fig. 27b). Por su parte transición cronológica y floración, presentaron valores mayores y significativamente diferentes para la expresión de miR7741 en función a la etapa de desarrollo. Curiosamente este miRNA presentó diferencias significativas para el punto de colecta que se añadió (transición fisiológica).

El miR529 en conjunto con miR172 y miR156 se ha reportado que actúa sobre los genes SQUAMOSA PROMOTOR BINDING (SPL) los cuales codifican para factores de transcripción que tienen roles activos en el desarrollo de flores y frutos (Chen *et al.*, 2010). Estudios recientes han demostrado que el complejo de regulación (miR529/miR172/miR156) coordina el desarrollo de la ramificaciones durante etapas vegetativa y reproductiva en arroz (Wang *et al.*, 2015). Los datos de expresión (Fig. 27c) revelan que durante la etapa de transición cronológica hay un incremento significativo en comparación con las otras etapas de desarrollo. El análisis digital muestra que hay una disminución de miR529 en base al final del ciclo de vida y es congruente con los datos reportados.

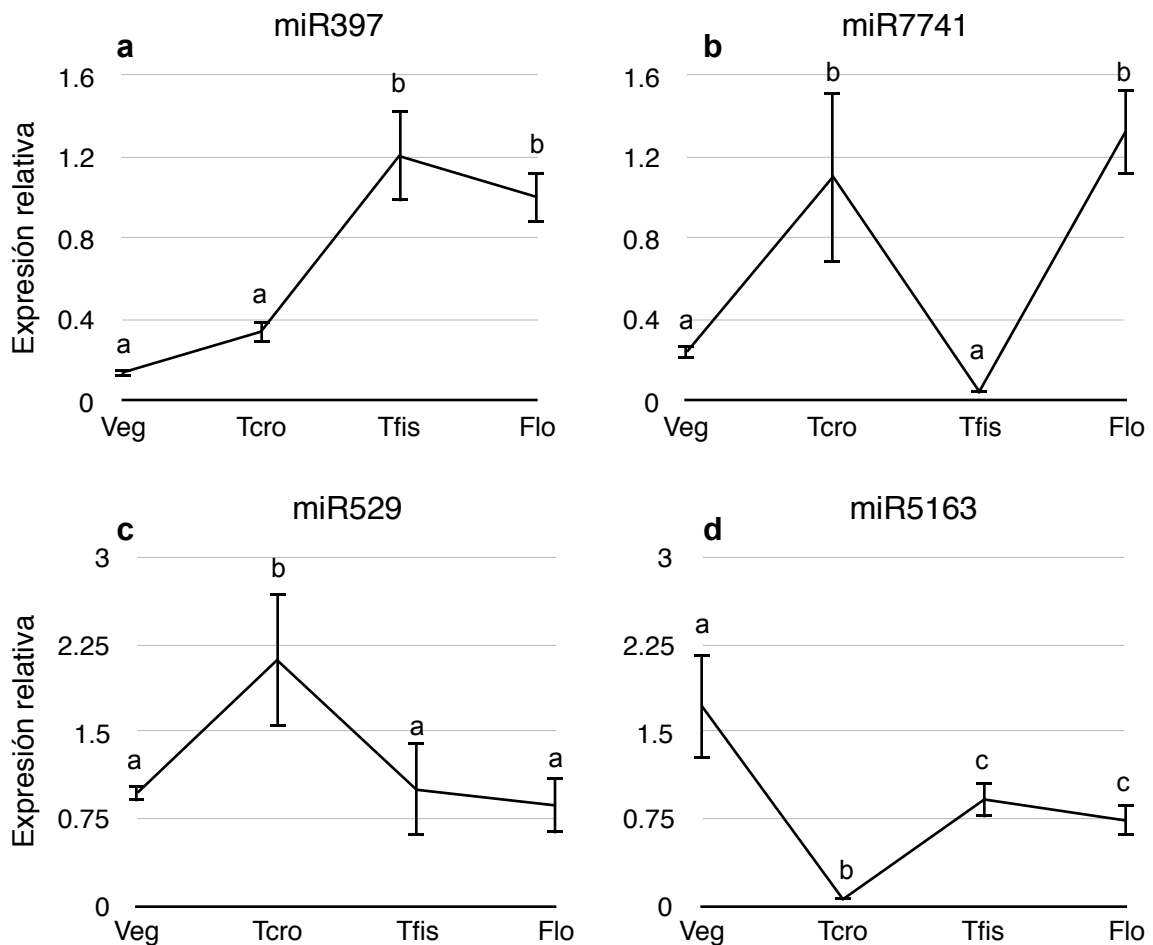


Fig. 27. Análisis de expresión relativa de miRNAs. a) MiR397; b)MiR7741; c)MiR529; d)MiR5163. (Apéndice F)

Los resultados para el miR5163 (Fig. 27d) una especie reportada únicamente en *B.distachyon*, mostró un valor de 1.72 ± 0.44 en expresión relativa para la etapa vegetativa en comparación con el análisis digital (FC= -1). La etapa de transición cronológica presentó valores similares para ambos análisis. Por otra parte, los estadios de transición fisiológica y floración no mostraron diferencias significativas en sus valores de expresión relativa, corroborando que para esta última etapa (floración) tuvo un comportamiento similar en base a lo predicho en el análisis digital de expresión.

Las diferencias observadas a partir de los datos de PCR cuantitativa en contraste con el análisis de expresión, pudieron estar determinadas por fluctuaciones de las condiciones de estrés a lo largo del experimento. Es decir, debido a la duración del estrés y a la intensidad, las plantas pudieron generar mecanismos de adaptación eficientes para sobrellevar el estrés, generando ajustes importantes en la expresión de miRNAs de estudio. Otro punto que pudo tener repercusión fue en la colecta de tejido. Existen reportes donde la modulación de la expresión genética mediada por los miRNAs puede ser exclusiva de órganos específicos de la plantas (Barrera-Figueroa *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2015), por lo que resultados obtenidos pueden estar mediados por la especificidad y modo de acción de los miRNAs en un tejido específico, del tiempo de vida, percepción de las señales y respuestas ante el estrés.

La distribución y comparación de los datos obtenidos por cada método (qPCR y bibliotecas) se visualizó en la Fig. 27. En este análisis se añadió el coeficiente de correlación (R) que indican la relación lineal entre dos variables aleatorias cuantitativas. Los datos permisibles de R son los mayores a 0.95 donde para todos los casos el coeficiente R en todos los datos de la bibliotecas y el de miR5163 de qPCR (Fig. 28d) cumplieron con esta restricción. El dato mas desfasado se presentó en el obtenido por qPCR en el miR529 correspondiendo a un valor de 0.6891(Fig. 28c). Por lo anterior, se da un mayor soporte y confiabilidad a los datos obtenidos mediante el análisis de bibliotecas en contraparte por la qPCR.

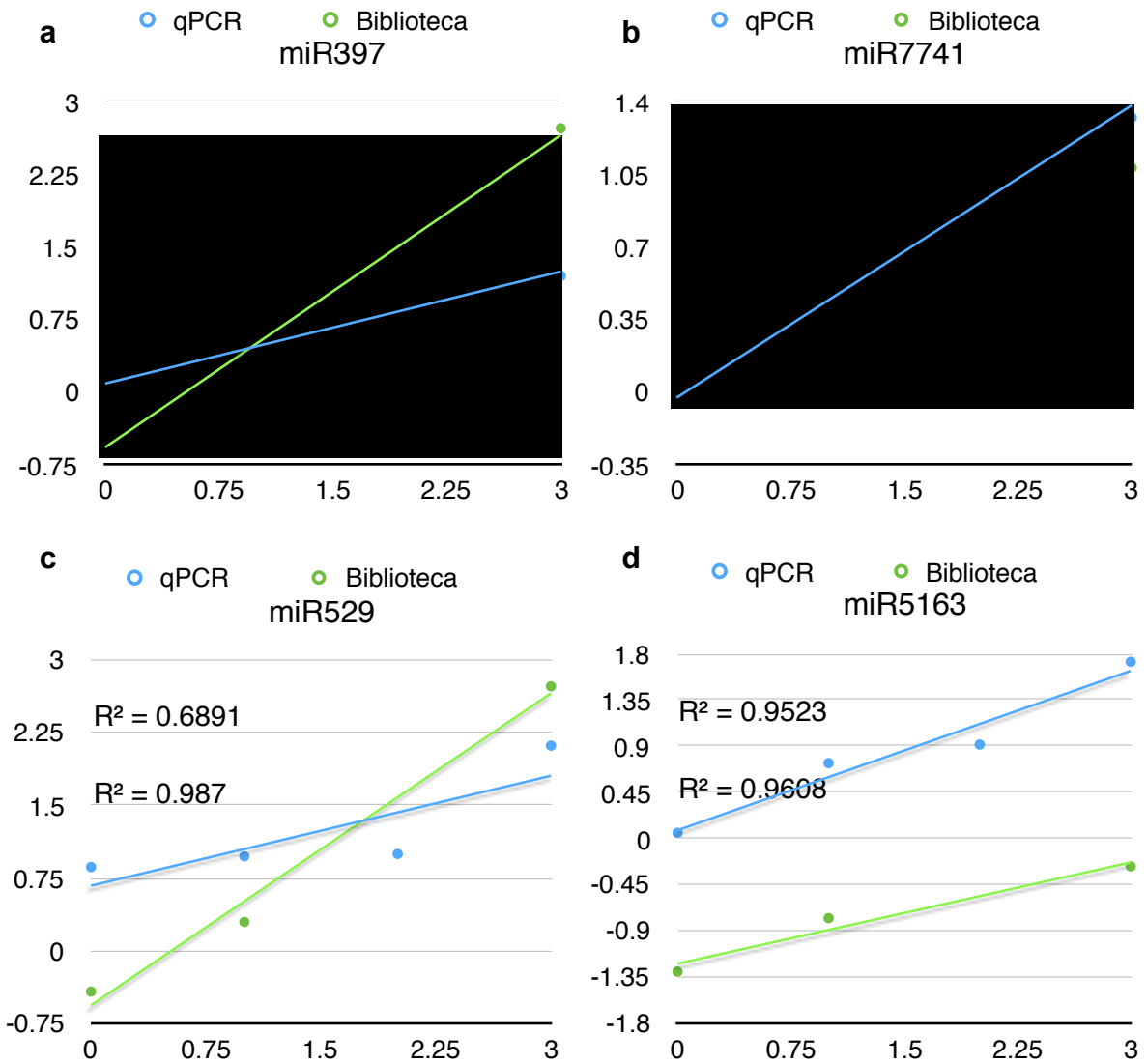


Fig. 28. Distribución de datos de qPCR y bibliotecas. a) miR397; b) miR7741
 c) miR529 d) miR5163

8. Conclusiones

- El análisis de las bibliotecas de RNAs pequeños, la implementación de métodos de normalización y la identificación de grupos de miRNAs, derivaron en una aproximación útil para comprender los roles de acción de conjuntos de miRNAs a lo largo del ciclo de vida de *Brachypodium distachyon* bajo condiciones de sequía crónica.
- El experimento guía, el monitoreo de estrés y la medición de los datos fisiológicos, reveló que *B. distachyon* genera ajustes en la reducción del consumo de agua y en los cambios fisiológicos durante las etapas posteriores al desarrollo vegetativo.
- Los miR397, miR529, miR5163 y miR7741 presentaron ajustes diferenciales significativos en cada etapa de desarrollo por efecto de la sequía crónica, por lo que la hipótesis se acepta.

9. Perspectivas

- Establecer un método de validación de la expresión de miRNAs diferente a Stem Loop para el análisis de miR166, miR408 y miR7757.
- Indagar el comportamiento de los miRNAs validados por PCR cuantitativa en diferentes tejidos en los tiempos de colecta establecidos.
- Analizar la expresión de miRNAs clasificados en diversos grupos de acuerdo a la participación en la etapa de desarrollo y de respuesta a sequía.
- Caracterizar funcionalmente a miR397, miR529, miR5163 y miR7741, sus genes blanco y su participación en la respuesta y tolerancia a la sequía en *B. distachyon*.

10. Referencias

- AGROASEMEX. (2006). La Experiencia Mexicana en el Desarrollo y Operación de Seguros Paramétricos Orientados a la Agricultura. Extraído en julio 2016 de <http://www.agroasemex.gob.mx>
- Akhtar, I., & Nazir, N. (2013). Effect of Waterlogging and Drought Stress in Plants. *International Journal of Water Resources and Environmental Sciences*, 2(2), 34–40.
- Allen, R. S., Li, J., Alonso-Peral, M. M., White, R. G., Gubler, F., & Millar, A. A. (2010). MicroR159 regulation of most conserved targets in Arabidopsis has negligible phenotypic effects. *Silence*, 1(1), 18.
- Ambawat, S., Sharma, P., Yadav, N. R., & Yadav, R. C. (2013). MYB transcription factor genes as regulators for plant responses: An overview. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 19(3), 307–321.
- Ansari, S. A., & Morse, R. H. (2013). Mechanisms of Mediator complex action in transcriptional activation. *Cellular and molecular life sciences*, 70(15), 2743-2756.
- Aukerman, M. J. (2003). Regulation of Flowering Time and Floral Organ Identity by a {MicroRNA} and Its {APETALA}2-Like Target Genes. *{THE} {PLANT} {CELL} {ONLINE}*, 15(11), 2730–2741.
- Axtell, M. J., Westholm, J. O., & Lai, E. C. (2011). Vive la différence: biogenesis and evolution of microRNAs in plants and animals. *Genome Biology*, 12(4), 221.
- Baier, M., Kandlbinder, A., Gollack, D., & Dietz, K. J. (2005). Oxidative stress and ozone: Perception, signalling and response. *Plant, Cell and Environment*. 28(8), 1012-1020.
- Banco Mundial. (2016). Agricultura; valor agregado. Extraído en agosto 2016 de http://datos.bancomundial.org/indicador/NV.AGR.TOTL.ZS?year_high_desc=true
- Barrera-Figueroa, B. E., Gao, L., Diop, N. N., Wu, Z., Ehlers, J. D., Roberts, P. A., Close, T. J., Zhu, J.-K., Liu, R. (2011). Identification and comparative analysis of drought-associated microRNAs in two cowpea genotypes. *BMC Plant Biology*, 11(1), 127.
- Barrera-Figueroa, B. E., Gao, L., Wu, Z., Zhou, X., Zhu, J., Jin, H., Liu, R., Zhu, J.-K. (2012). High throughput sequencing reveals novel and abiotic stress-regulated microRNAs in the inflorescences of rice. *BMC Plant Biology*, 12(1), 132.
- Barrs, H. D., & Weatherley, P. E. (1962). A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences*, 15(3), 413–428.
- Bertolini, E., Verelst, W., Horner, D. S., Gianfranceschi, L., Piccolo, V., Inzé, D., Pè, M. E., Mica, E. (2013). Addressing the role of microRNAs in reprogramming leaf growth during drought stress in *Brachypodium distachyon*. *Molecular Plant*, 6(2), 423–443.

- Benes, V., & Castoldi, M. (2010). Expression profiling of microRNA using real-time quantitative PCR, how to use it and what is available. *Methods (San Diego, Calif.)*, *50*(4), 244–9.
- Brkljacic, J., Grotewold, E., Scholl, R., Mockler, T., Garvin, D. F., Vain, P., ... & Caicedo, A. L. (2011). *Brachypodium* as a model for the grasses: today and the future. *Plant Physiology*, *157*(1), 3-13.
- Buchanan, B. B., Gruissem, W., & Jones, R. L. (Eds.). (2015). *Biochemistry and molecular biology of plants*. John Wiley & Sons.
- Budak, H., & Akpinar, A. (2011). Dehydration stress-responsive miRNA in *Brachypodium distachyon*: evident by genome-wide screening of microRNAs expression. *Omics: A Journal of Integrative Biology*, *15*(11), 791–799.
- Budak, H., & Akpinar, B. A. (2015). Plant miRNAs: biogenesis, organization and origins. *Functional and Integrative Genomics*, *15* (5), 523-531.
- Budak, H., Kantar, M., Bulut, R., & Akpinar, B. A. (2015). Stress responsive miRNAs and isomiRs in cereals. *Plant Science*, *235*, 1-13.
- Bullard, J. H., Purdom, E., Hansen, K. D., & Dudoit, S. (2010). Evaluation of statistical methods for normalization and differential expression in mRNA-Seq experiments. *BMC Bioinformatics*, *11*(1), 94.
- Carmell, M. A., Xuan, Z., Zhang, M. Q., & Hannon, G. J. (2002). The Argonaute family: tentacles that reach into RNAi, developmental control, stem cell maintenance, and tumorigenesis. *Genes & Development*, *16*(21), 2733–2742.
- Carrington, J. C., & Ambros, V. (2003). Role of microRNAs in plant and animal development. *Science*, *301*(5631), 336-338.
- Cesario-Solís ME (2015). Tesis de maestría. *Caracterización fisiológica y molecular de la floración en Brachypodium distachyon bajo estrés por déficit hídrico*. Universidad del Papaloapan, Tuxtepec, Oaxaca, México.
- Chen, C., Ridzon, D. A., Broomer, A. J., Zhou, Z., Lee, D. H., Nguyen, J. T., ... & Lao, K. Q. (2005). Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR. *Nucleic acids research*, *33*(20), e179-e179.
- Chen, H., & Jiang, J.-G. (2010). Osmotic adjustment and plant adaptation to environmental changes related to drought and salinity. *Environmental Reviews*, *18*(NA), 309–319.
- Cock, P. J., Fields, C. J., Goto, N., Heuer, M. L., & Rice, P. M. (2010). The Sanger FASTQ file format for sequences with quality scores, and the Solexa/Illumina FASTQ variants. *Nucleic acids research*, *38*(6), 1767-1771.
- CONAGUA. (2016). Extraído en julio 2016 de <http://www.conagua.gob.mx>
- CONAZA, 2010. Boletín divulgativo 3. Extraído en julio 2016 de <http://www.conaza.gob.mx/transparencia/Documents/Publicaciones/boletin3.pdf>
- Daszkowska-Golec, A., & Szarejko, I. (2013). Open or close the gate—stomata action under the control of phytohormones in drought stress conditions. *Frontiers in plant science*, *4*, 138.

- Ding, Y., Tao, Y., & Zhu, C. (2013). Emerging roles of microRNAs in the mediation of drought stress response in plants. *Journal of Experimental Botany*, 64(11), 3077–3086.
- Draper, J., Mur, L. a. J., Jenkins, G., Ghosh-Biswas, G. C., Bablak, P., Hasterok, R., & Routledge, A. P. M. (2001). *Brachypodium distachyon*. A New Model System for Functional Genomics in Grasses1. *Plant Physiology*, 127(4), 1539–1555.
- Ewing, B., Hillier, L., Wendl, M. C., & Green, P. (1998). Base-calling of automated sequencer traces usingPhred. I. Accuracy assessment. *Genome research*, 8(3), 175-185.
- El Economista. (2012). Sequía propicia grandes pérdidas. Extraído en mayo 2016 de <http://eleconomista.com.mx/finanzas-publicas/2012/02/09/sequia-propicia-grandes-perdidas>
- EMBL-EBI ,2016. Extraído en julio 2016 de <https://www.ebi.ac.uk/gxa/help/differential-atlas.html>
- Escamilla-Juárez, J. (2012). La experiencia mexicana en la gestión de riesgos catastróficos agropecuarios. Extraído en julio 2016. <http://www.dgsc.go.cr/dgsc/documentos/cladxvii/escamjes.pdf>
- FAO, 2002. El agua y la agricultura. Extraído en agosto 2016 de <http://www.fao.org/worldfoodsummit/sideevents/papers/y6899s.htm>
- FAO, 2007. La agricultura y la escasez de agua: enfoque programático de la eficiencia en el uso del agua y la productividad agrícola. <http://www.fao.org/ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/meeting/011/j9206s.pdf>
- FAO, FIDA, PMA, 2015. El estado de la inseguridad alimentaria en el mundo. Extraído en agosto 2016 de <http://www.fao.org/3/a-i4646s.pdf>
- Farooq, M., Hussain, M., Wahid, A., & Siddique, K. H. M. (2012). Drought stress in plants: an overview. In *Plant responses to drought stress* (pp. 1-33). Springer Berlin Heidelberg.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29(1), 185–212.
- Flores-Herrerías A. (2016) Tesis de licenciatura. *Análisis de expresión de microRNAs en Brachypodium distachyon bajo estrés hídrico mediante tres estrategias de PCR cuantitativa*. Universidad del Papaloapan, Tuxtepec, Oaxaca, México.
- Frazier, T. P., Sun, G., Burklew, C. E., & Zhang, B. (2011). Salt and drought stresses induce the aberrant expression of microRNA genes in tobacco. *Molecular Biotechnology*, 49(2), 159–165.
- Garmire LX, Subramaniam S. (2012). Evaluation of normalization methods in mammalian microRNA-Seq data. *RNA* 18: 1279– 1288.
- Garmire LX, Subramaniam S. (2013). The poor performance of TMM on microRNA-Seq .*RNA* 19:735–736
- Garvin, D. F. (2007). *Brachypodium*: a new monocot model plant system emerges. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(7), 1177-1179.

- Ge, Q., Tian, F., Zhou, Y., Zhu, Y., Lu, J., Bai, Y., & Lu, Z. (2014). A universal linker-RT PCR based quantitative method for the detection of circulating miRNAs. *Analytical Methods*, 6(22), 9101-9107.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12), 909-930.
- Giorgi, F. M., Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2010). Algorithm-driven artifacts in median Polish summarization of microarray data. *BMC bioinformatics*, 11(1), 1.
- Gomes, D., Agasse, A., Thiébaud, P., Delrot, S., Gerós, H., & Chaumont, F. (2009). Aquaporins are multifunctional water and solute transporters highly divergent in living organisms. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1788(6), 1213-1228.
- Hackenberg, M., Gustafson, P., Langridge, P., & Shi, B. J. (2015). Differential expression of microRNAs and other small RNAs in barley between water and drought conditions. *Plant biotechnology journal*, 13(1), 2-13.
- Hong-Bo, S., Zong-Suo, L., & Ming-An, S. (2005). LEA proteins in higher plants: structure, function, gene expression and regulation. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 45(3), 131-135.
- Hong, S. Y., Park, J. H., Cho, S. H., Yang, M. S., & Park, C. M. (2011). Phenological growth stages of *Brachypodium distachyon*: Codification and description. *Weed Research*, 51(6), 612–620.
- Hossain, M. A., Wani, S. H., Bhattachajee, S., Burritt, D. J., & Tran, L. S. P. (Eds.)(2016a)*Drought stress tolerance in plants. Vol 1, Physiology and biochemistry*. Springer.
- Hossain, M. A., Wani, S. H., Bhattachajee, S., Burritt, D. J., & Tran, L. S. P. (Eds.) (2016b). *Drought Stress Tolerance in Plants, Vol 2: Molecular and Genetic Perspectives*. Springer.
- INEGI. (2015). Agropecuario, aprovechamiento forestal y pesca. Extraído en mayo 2016 de http://www.inegi.org.mx/prod_serv/contenidos/esp/anal/bvinegi/productos/nueva_estruc/HyM2014/9.%20Agropecuario,%20aprovechamiento.pdf
- Jeong, D. H., Schmidt, S. A., Rymarquis, L. A., Park, S., Ganssmann, M., German, M. A., ... & Garvin, D. F. (2013). Parallel analysis of RNA ends enhances global investigation of microRNAs and target RNAs of *Brachypodium distachyon*. *Genome biology*, 14(12), 1.
- Jones-Rhoades, M. W., & Bartel, D. P. (2004). Computational identification of plant MicroRNAs and their targets, including a stress-induced miRNA. *Molecular Cell*, 14(6), 787–799.
- Kang, K., Zhang, X., Liu, H., Wang, Z., Zhong, J., Huang, Z., ... & Luo, J. (2012). A novel real-time PCR assay of microRNAs using S-Poly (T), a specific oligo (dT) reverse transcription primer with excellent sensitivity and specificity. *PLoS one*, 7(11), e48536.
- Kazan, K. (2015). Diverse roles of jasmonates and ethylene in abiotic stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 20(4), 219–229.

- Kellogg, E. a. (2001). Evolutionary history of the grasses. *Plant Physiology*, 125(3), 1198–1205.
- Khan, M. A., Iqbal, M., Jameel, M., Nazeer, W., Shakir, S., Aslam, M. T., & Iqbal, B. (2011). Potentials of molecular based breeding to enhance drought tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *African Journal of Biotechnology*, 10(55), 11340-11344.
- Koornneef, M., LeonKloosterziel, K. M., Schwartz, S. H., & Zeevaart, J. A. D. (1998). The genetic and molecular dissection of abscisic acid biosynthesis and signal transduction in *Arabidopsis*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 36(1–2), 83–89.
- Kulcheski, F. R., de Oliveira, L. F., Molina, L. G., Almerão, M. P., Rodrigues, F. A., Marcolino, J., ... & Abdelnoor, R. V. (2011). Identification of novel soybean microRNAs involved in abiotic and biotic stresses. *BMC genomics*, 12(1), 1.
- Kurihara, Y., Takashi, Y., & Watanabe, Y. (2006). The interaction between DCL1 and HYL1 is important for efficient and precise processing of pri-miRNA in plant microRNA biogenesis. *Rna*, 12(2), 206-212.
- Lei, Y., Yin, C., & Li, C. (2006). Differences in some morphological, physiological, and biochemical responses to drought stress in two contrasting populations of *Populus przewalskii*. *Physiologia Plantarum*, 127(2), 182–191.
- Lelandais-Brière, C., Sorin, C., Declerck, M., Benslimane, A., Crespi, M., & Hartmann, C. (2010). Small RNA diversity in plants and its impact in development. *Current Genomics*, 11(1), 14–23.
- Levitt, J. (1980). Responses of plants to environmental stresses. *In Responses of plants to environmental stresses*. Academic Press.
- Li, J., Yang, Z., Yu, B., Liu, J., & Chen, X. (2005). Methylation protects miRNAs and siRNAs from a 3'-end uridylation activity in *Arabidopsis*. *Current biology*, 15(16), 1501-1507.
- Li, W.-X., Oono, Y., Zhu, J., He, X.-J., Wu, J.-M., Iida, K., ... Zhu, J.-K. (2008). The *Arabidopsis* NFYA5 transcription factor is regulated transcriptionally and posttranscriptionally to promote drought resistance. *The Plant Cell*, 20(8), 2238–2251.
- Licausi, F., Ohme-Takagi, M., & Perata, P. (2013). APETALA2/Ethylene Responsive Factor (AP2/ERF) transcription factors: mediators of stress responses and developmental programs. *New Phytologist*, 199(3), 639-649.
- Liu, C., Axtell, M. J., & Fedoroff, N. V. (2012). The helicase and RNaseIII domains of *Arabidopsis* Dicer-Like1 modulate catalytic parameters during microRNA biogenesis. *Plant Physiology*, 159(2), 748–58.
- Liu, D., Song, Y., Chen, Z., & Yu, D. (2009). Ectopic expression of miR396 suppresses GRF target gene expression and alters leaf growth in *Arabidopsis*. *Physiologia Plantarum*, 136(2), 223–236.
- Liu, H. H., Tian, X., Li, Y. J., Wu, C. A., & Zheng, C. C. (2008). Microarray-based analysis of stress-regulated microRNAs in *Arabidopsis thaliana*. *Rna*, 14(5), 836-843.

- Liu, Y., Liu, M., Li, X., Cao, B., & Ma, X. (2014). Identification of differentially expressed genes in leaf of *Reaumuria soongorica* under PEG-induced drought stress by digital gene expression profiling. *PLoS one*, 9(4), e94277.
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻ΔΔCT method. *methods*, 25(4), 402-408.
- Luo, N., Liu, J., Yu, X., & Jiang, Y. (2011). Natural variation of drought response in *Brachypodium distachyon*. *Physiologia Plantarum*, 141(1), 19-29.
- Maroco, J. P., Rodrigues, M. L., Lopes, C., & Chaves, M. M. (2002). Limitations to leaf photosynthesis in field-grown grapevine under drought—metabolic and modelling approaches. *Functional Plant Biology*, 29(4), 451-459.
- McCormick, K. P., Willmann, M. R., & Meyers, B. C. (2011). Experimental design, preprocessing, normalization and differential expression analysis of small RNA sequencing experiments. *Silence*, 2(1), 1.
- Meinke, D. W., Cherry, J. M., Dean, C., Rounsley, S. D., & Koornneef, M. (1998). *Arabidopsis thaliana*: a model plant for genome analysis. *Science*, 282(5389), 662-682.
- Meyer, S., & Genty, B. (1998). Mapping Intercellular CO₂ Mole Fraction (C_i) in *Rosa rubiginosa* Leaves Fed with Abscisic Acid by Using Chlorophyll Fluorescence Imaging Significance of C_i Estimated from Leaf Gas Exchange. *Plant Physiology*, 116(3), 947-957.
- Meyerowitz, E. M. (2001). Prehistory and history of Arabidopsis research. *Plant physiology*, 125(1), 15-19.
- Morin, R. D., Aksay, G., Dolgosheina, E., Ebhardt, H. A., Magrini, V., Mardis, E. R., ... & Unrau, P. J. (2008). Comparative analysis of the small RNA transcriptomes of *Pinus contorta* and *Oryza sativa*. *Genome research*, 18(4), 571-584.
- Mueth, N. A., Ramachandran, S. R., & Hulbert, S. H. (2015). Small RNAs from the wheat stripe rust fungus (*Puccinia striiformis f. sp. tritici*). *BMC genomics*, 16(1), 1.
- Nakashima, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., & Shinozaki, K. (2014). The transcriptional regulatory network in the drought response and its crosstalk in abiotic stress responses including drought, cold, and heat. *Abiotic Stress: Molecular Genetics and Genomics*, 25.
- Ortega-Gaucin, D., & Velasco, I. (2013). Aspectos socioeconómicos y ambientales de las sequías en México. *Aqua-lac*, 5, 78-90.
- Ortiz-Yescas A. (2016). Flores-Herrerías A. (2016) Tesis de maestría. *Elaboración de un protocolo para construir bibliotecas de RNAs pequeños y su implementación para el estudio de la respuesta a sequía crónica en Brachypodium distachyon L.* Universidad del Papaloapan, Tuxtepec, Oaxaca, México.

- Pabinger, S., Rödiger, S., Kriegner, A., Vierlinger, K., & Weinhäusel, A. (2014). A survey of tools for the analysis of quantitative PCR (qPCR) data. *Biomolecular Detection and Quantification*, 1(1), 23-33.
- Palmer, W. C. (1965). *Meteorological drought* (Vol. 30). book, US Department of Commerce, Weather Bureau Washington, DC, USA.
- Pfaffl, M. W. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic acids research*, 29(9), e45-e45.
- Rajagopalan, R., Vaucheret, H., Trejo, J., & Bartel, D. P. (2006). A diverse and evolutionarily fluid set of microRNAs in *Arabidopsis thaliana*. *Genes & development*, 20(24), 3407-3425.
- Ramachandran, V., & Chen, X. (2008). Degradation of microRNAs by a family of exoribonucleases in *Arabidopsis*. *Science*, 321(5895), 1490-1492.
- Reddy, A. R., Chaitanya, K. V., & Vivekanandan, M. (2004). Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of plant physiology*, 161(11), 1189-1202.
- Reis, R. S. (2016). The entangled history of animal and plant microRNAs. *Functional & Integrative Genomics*, 1-8.
- Ren, G., Chen, X., & Yu, B. (2012). Uridylation of miRNAs by hen1 suppressor1 in *Arabidopsis*. *Current Biology*, 22(8), 695-700.
- Ren, G., Chen, X., & Yu, B. (2014). Small RNAs meet their targets: when methylation defends miRNAs from uridylation. *RNA biology*, 11(9), 1099-1104.
- Reyes, J. L., & Chua, N. H. (2007). ABA induction of miR159 controls transcript levels of two MYB factors during *Arabidopsis* seed germination. *The Plant Journal*, 49(4), 592-606.
- Riboni, M., Galbiati, M., Tonelli, C., & Conti, L. (2013). GIGANTEA enables drought escape response via abscisic acid-dependent activation of the florigens and SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS1. *Plant physiology*, 162(3), 1706-1719.
- Rizhsky, L., Liang, H., & Mittler, R. (2002). The combined effect of drought stress and heat shock on gene expression in tobacco. *Plant Physiology*, 130(3), 1143-1151.
- Robinson, M. D., & Oshlack, A. (2010). A scaling normalization method for differential expression analysis of RNA-seq data. *Genome biology*, 11(3), 1.
- Rodríguez, G., y Juárez C. (2011). Impacto de la Sequía sobre los Mercados Agropecuarios en México. *Economía Actual*, 4(4), 26-29.
- Rogers, K., & Chen, X. (2013). Biogenesis, turnover, and mode of action of plant microRNAs. *The Plant Cell*, 25(7), 2383-2399.
- Ruan, M. B., Zhao, Y. T., Meng, Z. H., Wang, X. J., & Yang, W. C. (2009). Conserved miRNA analysis in *Gossypium hirsutum* through small RNA sequencing. *Genomics*, 94(4), 263-268.
- SAGARPA. (2007). Programa Sectorial de Desarrollo Agropecuario y Pesquero 2007-2012. Extraído en julio 2016 de <http://>

- www.sagarpa.gob.mx/tramitesyServicios/sms/Documents/sectorial_231107.pdf
- Salmanidis, M., Pillman, K., Goodall, G., & Bracken, C. (2014). Direct transcriptional regulation by nuclear microRNAs. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 54, 304-311.
- Sanders, G. J., & Arndt, S. K. (2012). Osmotic adjustment under drought conditions. In *Plant Responses to Drought Stress* (pp. 199-229). Springer Berlin Heidelberg.
- Schmittgen, T. D., Lee, E. J., Jiang, J., Sarkar, A., Yang, L., Elton, T. S., & Chen, C. (2008). Real-time PCR quantification of precursor and mature microRNA. *Methods*, 44(1), 31-38.
- Schmittgen, T. D., & Livak, K. J. (2008). Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. *Nature protocols*, 3(6), 1101-1108.
- Schwartz CJ, Doyle MR, Manzaneda AJ, Rey PJ, Mitchell-Olds T, Amasino RM (2010). Natural variation of flowering time and vernalization responsiveness in *Brachypodium distachyon*. *Bioenergy Resources* 3: 38-46.
- Streit, S., Michalski, C. W., Erkan, M., Kleeff, J., & Friess, H. (2009). Northern blot analysis for detection and quantification of RNA in pancreatic cancer cells and tissues. *Nature protocols*, 4(1), 37-43.
- Sunkar, R., & Zhu, J. K. (2004). Novel and stress-regulated microRNAs and other small RNAs from *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 16(8), 2001-2019.
- Szittyá, G., Moxon, S., Santos, D. M., Jing, R., Feveireiro, M. P., Moulton, V., & Dalmay, T. (2008). High-throughput sequencing of *Medicago truncatula* short RNAs identifies eight new miRNA families. *BMC genomics*, 9(1), 1.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Plant physiology* (2006). Sunderland, MA: Sinaur Associates Inc.
- Takeda, A., Iwasaki, S., Watanabe, T., Utsumi, M., & Watanabe, Y. (2008). The mechanism selecting the guide strand from small RNA duplexes is different among argonaute proteins. *Plant and cell physiology*, 49(4), 493-500.
- Tam, S., Tsao, M. S., & McPherson, J. D. (2015). Optimization of miRNA-seq data preprocessing. *Briefings in Bioinformatics*, 16(6), 950-963.
- Tang, F., Hajkova, P., Barton, S. C., Lao, K., & Surani, M. A. (2006). MicroRNA expression profiling of single whole embryonic stem cells. *Nucleic acids research*, 34(2), e9-e9.
- Thiebaut, F., Grativol, C., Tanurdzic, M., Carnavale-Bottino, M., Vieira, T., Motta, M. R., ... & Martienssen, R. A. (2014). Differential sRNA regulation in leaves and roots of sugarcane under water depletion. *PLoS one*, 9(4), e93822.
- Timperio, A. M., Egidi, M. G., & Zolla, L. (2008). Proteomics applied on plant abiotic stresses: role of heat shock proteins (HSP). *Journal of proteomics*, 71(4), 391-411.

- Vogel, J., & Bragg, J. (2009). *Brachypodium distachyon*, a new model for the Triticeae. In *Genetics and Genomics of the Triticeae* (pp. 427-449). Springer US.
- Vogel, J. P., Gu, Y. Q., Twigg, P., Lazo, G. R., Laudencia-Chingcuanco, D., Hayden, D. M., ... & Coleman-Derr, D. (2006). EST sequencing and phylogenetic analysis of the model grass *Brachypodium distachyon*. *Theoretical and Applied Genetics*, *113*(2), 186-195.
- Wang, L., Gu, X., Xu, D., Wang, W., Wang, H., Zeng, M., ... & Cui, X. (2011). miR396-targeted AtGRF transcription factors are required for coordination of cell division and differentiation during leaf development in *Arabidopsis*. *Journal of experimental Botany*, *62*(2), 761-773.
- Wang, T., Chen, L., Zhao, M., Tian, Q., & Zhang, W. H. (2011). Identification of drought-responsive microRNAs in *Medicago truncatula* by genome-wide high-throughput sequencing. *BMC genomics*, *12*(1), 1.
- Yamaguchi-Shinozaki, K., & Shinozaki, K. (2005). Organization of cis-acting regulatory elements in osmotic-and cold-stress-responsive promoters. *Trends in plant science*, *10*(2), 88-94.
- Yang, Y. H., Dudoit, S., Luu, P., Lin, D. M., Peng, V., Ngai, J., & Speed, T. P. (2002). Normalization for cDNA microarray data: a robust composite method addressing single and multiple slide systematic variation. *Nucleic acids research*, *30*(4), e15-e15.
- Zhang, J., Xu, Y., Huan, Q., & Chong, K. (2009). Deep sequencing of *Brachypodium* small RNAs at the global genome level identifies microRNAs involved in cold stress response. *BMC genomics*, *10*(1), 1.
- Zhang, R., Marshall, D., Bryan, G. J., & Hornyik, C. (2013). Identification and characterization of miRNA transcriptome in potato by high-throughput sequencing. *PLoS One*, *8*(2), e57233.
- Zhang, W., Yu, L., Zhang, Y., & Wang, X. (2005). Phospholipase D in the signaling networks of plant response to abscisic acid and reactive oxygen species. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, *1736*(1), 1-9.
- Zhao, B., Liang, R., Ge, L., Li, W., Xiao, H., Lin, H., ... & Jin, Y. (2007). Identification of drought-induced microRNAs in rice. *Biochemical and biophysical research communications*, *354*(2), 585-590.
- Zhou, L., Liu, Y., Liu, Z., Kong, D., Duan, M., & Luo, L. (2010). Genome-wide identification and analysis of drought-responsive microRNAs in *Oryza sativa*. *Journal of experimental botany*, *61*(15), 4157-4168.

Apéndices

Apéndice A. Soluciones empleadas.

- TBE 10X

Componente	Volumen (1L)
TRIS base	108 g
Ácido bórico	55 g
EDTA (0.5M)	40 mL
Agua desionizada	Ajustar a 1 L

Diluir TRIS base en 100 mL de agua desionizada, después agregar el ácido bórico y mezclar hasta disolver completamente. Agregar EDTA y aforar a 200 mL. Almacenar a temperatura ambiente. Para preparar TBE 1X, diluir 100 mL de TBE 10 X en 900 mL de agua DEPC.

- Gel de acrilamida 6%

Componente	Volumen (10 mL)
Agua desionizada	6.4 mL
TBE 5X	2 mL
Acrilimida 40% (bis)	1.5 mL
*APS 10%	100 μ L
TEMED	10 μ L

*Añadir 100 mg de persulfato de amonio en un microtubo de 1.5 mL, posteriormente agregar 1 mL de agua desionizada agitar, hasta disolver la sal. Almacenar a 4 °C. Agregar los primeros cuatro componentes a un tubo cónico de 15 mL y agitar suavemente mediante inclinación del tubo durante 5-10 s. Agregar el TEMED al tubo y agitar de la misma forma durante 5 s. Se debe

tener preparada la cámara de electroforesis donde se va a vaciar la solución ya que la adición del TEMED produce la polimerización casi inmediata. La agitación mediante inclinación se usa para evitar la formación de burbujas en el gel.

- Agua DEPC

Componente	Volumen (1 L)
Dietil pirocarbonato	1 mL
Agua desionizada	1 L

Mantener todos los componentes en agitación de 12 a 24h, posteriormente esterilizar a 15 lb/pulg² por 15 min. Mantener a temperatura ambiente.

- TAE 10X

Componente	Volumen (1 L)
TRIS base	48.5 g
Ácido acético glacial	11.4 mL
EDTA (0.5M)	20 mL
Agua desionizada	Aforar a 1L

- Agarosa al 1%

En un frasco con tapa de 250 mL añadir 100 mL de TAE 1X y 1g de agarosa. Calentar y agitar la solución en microondas o en una parrilla de calentamiento hasta disolver la agarosa, evitar la ebullición.

- MOPS 10X pH 7.0

Componente	Volumen (500 mL)
MOPS	20.97 g
Acetato de sodio	5.44 g
EDTA (0.5M)	10 mL
NaOH (2N)	Suficiente para pH 7.0
Agua DEPC	Aforar a 500 mL

Para preparar 1 lt. de MOPS 1X, diluir 100 mL de MOPS 10X en 900 mL de agua DEPC.

- Buffer de carga para RNA 5X

Componente	Volumen (10 mL)
Formamida	3084 μ L
Formaldehído	720 μ L
MOPS 10X	4 mL
EDTA (0.5M)	80 μ L
Azul de bromofenol	16 μ l
Bromuro de etidio	10 mg
Glicerol	2 mL
Agua DEPC	Aforar a 10 mL

Agregar en un tubo cónico con tapa cada uno de los componentes y mezclar suavemente para evitar la formación de burbujas. Almacenar a 4 °C.

Apéndice B. Oligonucléotidos empleados

Oligonucléotido	Secuencia (5'-3')	Ta (°C)
RT Stem Loop (miR166a)	AAA TTG CCC AGG TGG CGC GCA GGG TCC GAG GTC AGA GCC ACC TGG GCA ATT TGG GGA A	90.2
RT Stem Loop (miR397b)	AAA TTG CCC AGG TGG CGC GCA GGG TCC GAG GTC AGA GCC ACC TGG GCA ATT TTT CAT C	88.8
RT Stem Loop (miR408)	AAA TTG CCC AGG TGG CGC GCA GGG TCC GAG GTC AGA GCC ACC TGG GCA ATT TCC ATG C	90.2
RT Stem Loop (miR529)	AAA TTG CCC AGG TGG CGC GCA GGG TCC GAG GTC AGA GCC ACC TGG GCA ATT TAG GCT G	90.2
RT Stem Loop (miR5163)	AAA TTG CCC AGG TGG CGC GCA GGG TCC GAG GTC AGA GCC ACC TGG GCA ATT TCA CCT A	89.5
RT Stem Loop (miR7741)	AAA TTG CCC AGG TGG CGC GCA GGG TCC GAG GTC AGA GCC ACC TGG GCA ATT TCA AGA G	89.5
RT Stem Loop (miR7757)	AAA TTG CCC AGG TGG CGC GCA GGG TCC GAG GTC AGA GCC ACC TGG GCA ATT TTG GGT A	89.5
RT Stem Loop (5.8S)	AAA TTG CCC AGG TGG CGC GCA GGG TCC GAG GTC AGA GCC ACC TGG GCA ATT TGC GTG A	90.2
miR166 Directo	GTA CGT GTC GGA CCA GGC TTC A	65.9
miR397b Directo	TAC TAT ACG ACC ATT GAG TGC AGC GTT	66.8
miR408 Directo	TCC TGC AGG GAT GGA GCA GA	62.5
miR529 Directo	ACA GTC ACG GAC AGA AGA GAG AGA GTA	68.3
miR5163 Directo	CGC CGT ATT AGG TAT TTC AGG	59.4
miR7741 Directo	GAC CGC ACG ACC TTT TAA TTG TGG AAG	68.3
miR7757 Directo	AGG CTG CAC ACA AAA CCT TCA GC	64.7
sRNA 5.8S	CAC GCC TGC CTG GGC	57.1
Sonda Taqman Universal	5-FAM/CAGAGCCAC/ZEN/CTGGGCAATTT/ 3IABKFQ	58.3

Oligonucléotido	Secuencia (5´-3´)	Ta (°C)
PCR Stemloop reverso	GTGGCGCGCAGGGTCCG	65.8

En negritas se señala el sitio de reconocimiento de la sonda Taqman Universal

Apéndice C. Análisis de la pureza y concentración de RNA

Nombre	Concentración(ng/ μ L)	260/280
CVA	923.6	2.26
CVB	865.2	2.25
CVC	1724.3	2.03
SVA	1806.2	2.11
SVB	1149.8	2.14
SVC	1115.3	1.88
CTcroA	607.5	2.13
CTcroA	4457.6	2.19
CTcroC	1095.5	2.16
STcroA	1228	2.35
STcroB	1679.3	2.06
STcroC	1858.6	2.07
CTfisA	388.5	2.44
CTfisB	405.6	2.33
CTfisC	355.3	2.15
STfisA	571.4	2.07
STfisB	404.9	2.21
STfisC	202.3	2.33
CFcroA	645	2.39
CFcroB	387.9	2.04
CFcroC	123	2.19
SFcroA	996.4	2.08
SFcroB	389.3	1.98
SFcroC	561.6	2.01
SFfisA	957.8	1.84
SFfisB	374.9	1.67
SFfisC	407.4	1.66

Apéndice D. Resultados de métodos de normalización

Sin normalizar / Global filtradas

MIRNA/ Biblioteca	A1	A2	A3	A4	A5	A7	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR1122-5'	193	149	461	475	509	469	193	160.5	640.9	806.9	522.2	763.0
MIR1127-5'	0	0	3	1	0	1	0	0.0	4.2	1.7	0.0	1.6
MIR1135-3'	57	55	132	125	330	398	57	59.2	183.5	212.4	338.6	647.5
MIR1139-3'	0	0	0	3	2	2	0	0.0	0.0	5.1	2.1	3.3
MIR1432-5'	232	223	583	339	982	723	232	240.1	810.5	575.9	1007.5	1176.2
MIR156a-3'	2	4	38	26	4	5	2	4.3	52.8	44.2	4.1	8.1
MIR156b,c,d	929	1108	36276	43540	1120	1126	929	1193.2	50433.5	73966.8	1149.1	1831.8
MIR156b-3'	64	123	66	101	74	204	64	132.5	91.8	171.6	75.9	331.9
MIR156d-3'	278	275	146	153	196	349	278	296.1	203.0	259.9	201.1	567.8
MIR156e-3'	0	3	5	4	18	7	0	3.2	7.0	6.8	18.5	11.4
MIR156f-3'	1	0	19	29	1	4	1	0.0	26.4	49.3	1.0	6.5
MIR156g,i,3'	172	219	118	177	91	260	172	235.8	164.1	300.7	93.4	423.0
MIR156h-3'	31	80	26	80	61	169	31	86.1	36.1	135.9	62.6	274.9
MIR156j-5'	18	15	44	60	21	16	18	16.2	61.2	101.9	21.5	26.0
MIR159a-3'	17184	22542	58608	85989	22804	40536	17184	24274.7	81481.0	146080.3	23397.0	65944.4
MIR159a-5'	0	3	11	12	12	11	0	3.2	15.3	20.4	12.3	17.9
MIR159b-5'	2746	1165	6715	3566	2864	6251	2746	1254.5	9335.7	6058.0	2938.5	10169.2
MIR159c-3'	1289	1839	4808	4679	2005	3126	1289	1980.4	6684.4	7948.8	2057.1	5085.4
MIR160a,b,c	851	1150	1198	1215	1269	1173	851	1238.4	1665.5	2064.1	1302.0	1908.2
MIR160a-3'	8	18	5	6	7	13	8	19.4	7.0	10.2	7.2	21.1
MIR160b,c-3'	1	2	15	19	2	2	1	2.2	20.9	32.3	2.1	3.3
MIR160d-3'	2	3	4	5	9	5	2	3.2	5.6	8.5	9.2	8.1
MIR160e-3'	216	192	202	183	117	191	216	206.8	280.8	310.9	120.0	310.7
MIR160e-5'	3504	2315	4223	2942	2870	2988	3504	2492.9	5871.1	4997.9	2944.6	4860.9
MIR160f-3'	5	0	1	0	1	0	5	0.0	1.4	0.0	1.0	0.0
MIR162-3'	2	1	1	0	2	0	2	1.1	1.4	0.0	2.1	0.0
MIR164a,b,e	35	30	52	27	84	52	35	32.3	72.3	45.9	86.2	84.6
MIR164a-3'	2278	2769	3748	2412	4319	3174	2278	2981.8	5210.7	4097.6	4431.3	5163.5
MIR164c-3'	8	5	3	3	6	4	8	5.4	4.2	5.1	6.2	6.5
MIR164c-5'	200	177	355	291	455	280	200	190.6	493.5	494.4	466.8	455.5
MIR164f-5'	70	114	63	65	72	91	70	122.8	87.6	110.4	73.9	148.0
MIR166a-5'	487223	215847	708137	454896	352397	611126	487223	232438.0	984502.6	772788.8	361561.0	994186.0
MIR166ab,c	1627	2068	1991	1524	1892	2305	1627	2227.0	2768.0	2589.0	1941.2	3749.8
MIR166b-5'	10523	6500	9153	8438	9475	11034	10523	6999.6	12725.2	14334.7	9721.4	17950.2
MIR166c-5'	19067	13511	6352	9234	8759	16061	19067	14549.5	8831.0	15687.0	8986.8	26128.2
MIR166d-5'	2189	1206	1054	1483	936	1208	2189	1298.7	1465.3	2519.4	960.3	1965.2
MIR166e-3'	2399	1180	4052	2665	2091	3179	2399	1270.7	5633.4	4527.4	2145.4	5171.6
MIR166e-5'	2412	2144	3374	3535	4898	12861	2412	2308.8	4690.8	6005.3	5025.4	20922.4
MIR166f-3'	9532	4146	44367	25599	13413	37264	9532	4464.7	61682.2	43488.2	13761.8	60621.5
MIR166g-3'	696	810	4681	5326	629	875	696	872.3	6507.9	9047.9	645.4	1423.5
MIR166g-5'	8	4	2	6	17	3	8	4.3	2.8	10.2	17.4	4.9
MIR166h-3'	5164	3549	4773	4484	4357	5782	5164	3821.8	6635.8	7617.5	4470.3	9406.2
MIR166h-5'	681	430	349	454	318	374	681	463.1	485.2	771.3	326.3	608.4
MIR166i-5'	27	11	17	24	14	25	27	11.8	23.6	40.8	14.4	40.7
MIR166j-5'	7013	4791	6883	5892	5350	6235	7013	5159.3	9569.2	10009.5	5489.1	10143.2
MIR167a,b,f,k	81	83	4794	3899	67	74	81	89.4	6665.0	6623.7	68.7	120.4
MIR167c,d,e	10361	9898	729063	674268	6432	14235	10361	10658.8	1013595.4	1145463.5	6599.3	23157.6
MIR167c-3'	3	8	7	7	9	8	3	8.6	9.7	11.9	9.2	13.0
MIR167d-3'	104	43	99	67	79	284	104	46.3	137.6	113.8	81.1	462.0
MIR167e-3'	0	1	107	166	74	104	0	1.1	148.8	282.0	75.9	169.2
MIR168-3'	1411	1952	1779	2373	2384	4011	1411	2102.0	2473.3	4031.3	2446.0	6525.1
MIR168-5'	520086	398726	696007	575275	530990	964323	520086	429373.9	967638.6	977291.7	544798.2	1568770.5
MIR169a-3'	118	66	148	131	145	235	118	71.1	205.8	222.5	148.8	382.3
MIR169a-5'	13	6	255	224	4	4	13	6.5	354.5	380.5	4.1	6.5
MIR169b-5'	7	10	344	396	1	4	7	10.8	478.3	672.7	1.0	6.5
MIR169c,f,5'	142	99	7965	8103	21	76	142	106.6	11073.5	13765.6	21.5	123.6
MIR169c-3'	1309	1798	668	770	180	839	1309	1936.2	928.7	1308.1	184.7	1364.9
MIR169d-5'	8	24	5	13	3	9	8	25.8	7.0	22.1	3.1	14.6
MIR169e-3'	0	0	4	1	0	0	0	0.0	5.6	1.7	0.0	0.0
MIR169g,e-5'	0	0	10	12	0	0	0	0.0	13.9	20.4	0.0	0.0
MIR169h,n-5'	1	1	10	17	0	0	1	1.1	13.9	28.9	0.0	0.0
MIR169h-3'	22	16	5	8	1	0	22	17.2	7.0	13.6	1.0	0.0
MIR169i-5'	34	35	7	4	17	6	34	37.7	9.7	6.8	17.4	9.8
MIR169j-3'	249	149	34	69	36	27	249	160.5	47.3	117.2	36.9	43.9
MIR169j-5'	18	22	15	14	6	2	18	23.7	20.9	23.8	6.2	3.3
MIR169k-3'	44	33	4	7	11	0	44	35.5	5.6	11.9	11.3	0.0
MIR169k-5'	104	58	18	27	10	6	104	62.5	25.0	45.9	10.3	9.8
MIR169l-5'	13	11	15	15	10	15	13	11.8	20.9	25.5	10.3	24.4

MIRNA/ Biblioteca	A1	A2	A3	A4	A5	A7	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR169m-5'	3	5	121	101	0	3	3	5.4	168.2	171.6	0.0	4.9
MIR171a-5'	0	0	0	0	1	0	0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0
MIR171b,c,d	230	362	498	592	893	740	230	389.8	692.4	1005.7	916.2	1203.8
MIR171c-5'	4	10	9	4	10	7	4	10.8	12.5	6.8	10.3	11.4
MIR171d-5'	3970	2556	2585	2169	1545	2214	3970	2752.5	3593.9	3684.8	1585.2	3601.8
MIR171f-3'	1	5	13	4	16	16	1	5.4	18.1	6.8	16.4	26.0
MIR172a-3'	2	0	176	156	7	7	2	0.0	244.7	265.0	7.2	11.4
MIR172a-5'	132	72	172	119	262	185	132	77.5	239.1	202.2	268.8	301.0
MIR172b-3'	0	0	5	9	0	0	0	0.0	7.0	15.3	0.0	0.0
MIR172d-3'	0	0	0	0	0	1	0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.6
MIR1878-3'	352	369	726	996	897	881	352	397.4	1009.3	1692.0	920.3	1433.2
MIR1878-5'	3	4	6	13	11	17	3	4.3	8.3	22.1	11.3	27.7
MIR2118a-3'	0	0	1	0	0	0	0	0.0	1.4	0.0	0.0	0.0
MIR2118b-5'	1	0	6	22	0	0	1	0.0	8.3	37.4	0.0	0.0
MIR2275a-3'	2	9	1	5	11	5	2	9.7	1.4	8.5	11.3	8.1
MIR2275b-3'	4	3	6	2	5	0	4	3.2	8.3	3.4	5.1	0.0
MIR2275c-3'	1	5	4	6	12	7	1	5.4	5.6	10.2	12.3	11.4
MIR319a-5'	0	0	2	0	1	2	0	0.0	2.8	0.0	1.0	3.3
MIR319b-3'	419238	417800	541427	670889	909056	872113	419238	449914.0	752730.4	1139723.1	932695.7	1418762.3
MIR319b-5'	7	2	4	8	8	6	7	2.2	5.6	13.6	8.2	9.8
MIR390a-3'	25	22	28	19	32	20	25	23.7	38.9	32.3	32.8	32.5
MIR390a-5'	4	8	140	137	10	21	4	8.6	194.6	232.7	10.3	34.2
MIR393a,b-5'	134	181	15423	22935	946	861	134	194.9	21442.2	38962.6	970.6	1400.7
MIR393b-3'	2822	2382	5589	4875	6666	7699	2822	2565.1	7770.2	8281.8	6839.3	12524.8
MIR394-5'	330	84	43	45	248	81	330	90.5	59.8	76.4	254.4	131.8
MIR395a,b,c	966	1050	1190	3246	29	71	966	1130.7	1654.4	5514.4	29.8	115.5
MIR395c,k-5'	9	27	0	5	0	2	9	29.1	0.0	8.5	0.0	3.3
MIR395d-3'	663	1589	237	621	471	406	663	1711.1	329.5	1055.0	483.2	660.5
MIR395d-5'	0	0	5	26	0	0	0	0.0	7.0	44.2	0.0	0.0
MIR395e-5'	10	18	2	4	1	1	10	19.4	2.8	6.8	1.0	1.6
MIR395f-5'	1	1	0	1	1	1	1	1.1	0.0	1.7	1.0	1.6
MIR395g-5'	16	23	3	3	0	0	16	24.8	4.2	5.1	0.0	0.0
MIR395h,i-5'	9	18	0	5	1	0	9	19.4	0.0	8.5	1.0	0.0
MIR395j-5'	2	2	1	1	0	0	2	2.2	1.4	1.7	0.0	0.0
MIR395n-5'	2	3	0	0	0	0	2	3.2	0.0	0.0	0.0	0.0
MIR395o-5'	0	1	0	0	0	0	0	1.1	0.0	0.0	0.0	0.0
MIR395p-3'	575	877	82	182	31	51	575	944.4	114.0	309.2	31.8	83.0
MIR395p-5'	1	5	0	0	0	0	1	5.4	0.0	0.0	0.0	0.0
MIR396a,b-5'	741404	861460	1047231	1055538	953463	1512027	741404	927675.8	1455935.3	1793174.6	978257.5	2459781.0
MIR396a-3'	1295	1850	1930	1600	3557	5951	1295	1992.2	2683.2	2718.1	3649.5	9681.1
MIR396b-3'	232	98	46	31	35	96	232	105.5	64.0	52.7	35.9	156.2
MIR396c,d-3'	764	353	367	375	606	1413	764	380.1	510.2	637.1	621.8	2298.7
MIR396c,d-5'	3737	3542	7055	8136	5684	7792	3737	3814.3	9808.4	13821.6	5831.8	12676.1
MIR396e-3'	5232	2944	1667	1511	1807	5680	5232	3170.3	2317.6	2566.9	1854.0	9240.3
MIR396e-5'	75038	50140	110197	91270	51899	88562	75038	53994.0	153203.7	155051.8	53248.6	144073.6
MIR397a-5'	58	421	3879	13423	15536	32410	58	453.4	5392.9	22803.3	15940.0	52724.9
MIR397b-3'	32	150	86	234	161	443	32	161.5	119.6	397.5	165.2	720.7
MIR397b-5'	101436	592603	305864	1920955	1029071	2724811	101436	638153.2	425234.0	3263366.8	1055831.7	4432750.4
MIR398a-3'	48	142	74	139	90	302	48	152.9	102.9	236.1	92.3	491.3
MIR398b-5'	41	328	107	3155	3706	12020	41	353.2	148.8	5359.8	3802.4	19554.3
MIR399a-3'	0	0	0	0	1	0	0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0
MIR399b,c-3'	9	8	3	3	7	5	9	8.6	4.2	5.1	7.2	8.1
MIR399d-3'	1988	884	567	548	409	416	1988	951.9	788.3	931.0	419.6	676.8
MIR408-3'	12	43	1456	4502	16	168	12	46.3	2024.2	7648.1	16.4	273.3
MIR408-5'	952	3627	1726	7045	2760	10880	952	3905.8	2399.6	11968.2	2831.8	17699.7
MIR437-3'	0	0	0	2	9	9	0	0.0	0.0	3.4	9.2	14.6
MIR444a-3'	0	0	1	1	2	1	0	0.0	1.4	1.7	2.1	1.6
MIR444b-3'	125	205	341	526	637	406	125	220.8	474.1	893.6	653.6	660.5
MIR444c,d-3'	1321	1618	2949	2623	3613	4592	1321	1742.4	4099.9	4456.0	3707.0	7470.3
MIR5049-3'	1702	1577	3312	3064	1333	1411	1702	1698.2	4604.6	5205.2	1367.7	2295.4
MIR5049-5'	35	16	70	46	47	40	35	17.2	97.3	78.1	48.2	65.1
MIR5054-3'	17	6	13	23	21	54	17	6.5	18.1	39.1	21.5	87.8
MIR5056-5'	0	0	0	0	0	1	0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.6
MIR5059-5'	0	0	0	1	2	1	0	0.0	0.0	1.7	2.1	1.6
MIR5061-3'	0	1	2	1	0	2	0	1.1	2.8	1.7	0.0	3.3
MIR5062a-5'	10	7	7	1	1	7	10	7.5	9.7	1.7	1.0	11.4
MIR5063-3'	0	0	4	0	1	0	0	0.0	5.6	0.0	1.0	0.0
MIR5065-5'	0	1	2	0	1	0	0	1.1	2.8	0.0	1.0	0.0
MIR5066-5'	21	26	55	50	125	116	21	28.0	76.5	84.9	128.3	188.7
MIR5067-3'	6	9	15	16	74	57	6	9.7	20.9	27.2	75.9	92.7
MIR5068-5'	20	20	20	21	40	69	20	21.5	27.8	35.7	41.0	112.2
MIR5070-3'	188	174	301	255	268	519	188	187.4	418.5	433.2	275.0	844.3
MIR5163a-3'	545	315	10258	9949	485	261	545	339.2	14261.4	16901.6	497.6	424.6
MIR5163a-5'	2	3	8	4	4	1	2	3.2	11.1	6.8	4.1	1.6
MIR5163b-3'	6780	3958	14882	10407	9476	4153	6780	4262.2	20690.0	17679.7	9722.4	6756.1
MIR5163b-5'	6	5	9	15	8	14	6	5.4	12.5	25.5	8.2	22.8

MIRNA/ Biblioteca	A1	A2	A3	A4	A5	A7	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR5164-5'	38	59	71	80	97	139	38	63.5	98.7	135.9	99.5	226.1
MIR5165-3'	0	0	50	31	13	20	0	0.0	69.5	52.7	13.3	32.5
MIR5165-5'	156	131	94	80	77	106	156	141.1	130.7	135.9	79.0	172.4
MIR5166-5'	1	1	0	0	1	1	1	1.1	0.0	0.0	1.0	1.6
MIR5167a-3'	207	143	142	114	59	46	207	154.0	197.4	193.7	60.5	74.8
MIR5167a-5'	399	336	184	216	234	331	399	361.8	255.8	366.9	240.1	538.5
MIR5167b-3'	224	208	194	294	383	326	224	224.0	269.7	499.5	393.0	530.3
MIR5167b-5'	9	12	9	9	5	20	9	12.9	12.5	15.3	5.1	32.5
MIR5169a,b,c	12	13	230	362	9	9	12	14.0	319.8	615.0	9.2	14.6
MIR5170-3'	28	39	126	150	143	130	28	42.0	175.2	254.8	146.7	211.5
MIR5171a,b,c	531	413	1906	1955	750	966	531	444.7	2649.9	3321.2	769.5	1571.5
MIR5172-3'	1223	630	1868	1224	464	738	1223	678.4	2597.0	2079.4	476.1	1200.6
MIR5172-5'	185	178	319	366	762	1150	185	191.7	443.5	621.8	781.8	1870.8
MIR5173-3'	12	12	12	8	15	12	12	12.9	16.7	13.6	15.4	19.5
MIR5173-5'	30	22	29	37	46	35	30	23.7	40.3	62.9	47.2	56.9
MIR5174a-5'	20	17	36	33	38	57	20	18.3	50.0	56.1	39.0	92.7
MIR5174b-3'	144	83	526	399	219	407	144	89.4	731.3	677.8	224.7	662.1
MIR5174b-5'	53	53	110	84	52	128	53	57.1	152.9	142.7	53.4	208.2
MIR5174c-3'	250	280	186	222	265	485	250	301.5	258.6	377.1	271.9	789.0
MIR5174c-5'	2	2	4	5	0	4	2	2.2	5.6	8.5	0.0	6.5
MIR5174d-3'	176	216	853	1045	479	705	176	232.6	1185.9	1775.3	491.5	1146.9
MIR5174d-5'	44	46	79	63	51	91	44	49.5	109.8	107.0	52.3	148.0
MIR5174e-5'	6	2	61	34	6	10	6	2.2	84.8	57.8	6.2	16.3
MIR5174f-5'	37	52	43	59	57	72	37	56.0	59.8	100.2	58.5	117.1
MIR5175a-3'	600	481	1838	2528	718	985	600	518.0	2555.3	4294.6	736.7	1602.4
MIR5175b-5'	91	82	111	91	100	148	91	88.3	154.3	154.6	102.6	240.8
MIR5176-3'	17	20	245	325	27	31	17	21.5	340.6	552.1	27.7	50.4
MIR5176-5'	128	110	123	116	121	102	128	118.5	171.0	197.1	124.1	165.9
MIR5177-3'	10	17	8	15	19	17	10	18.3	11.1	25.5	19.5	27.7
MIR5178-3'	227	239	95	128	92	204	227	257.4	132.1	217.4	94.4	331.9
MIR5178-5'	36	29	20	17	15	25	36	31.2	27.8	28.9	15.4	40.7
MIR5179-5'	62	48	58	0	0	0	62	51.7	80.6	0.0	0.0	0.0
MIR5180a,b,c	81	79	636	886	706	789	81	85.1	884.2	1505.2	724.4	1283.6
MIR5181a-3'	139	135	291	351	368	495	139	145.4	404.6	596.3	377.6	805.3
MIR5181a-5'	1209	1534	1091	1205	1186	1486	1209	1651.9	1516.8	2047.1	1216.8	2417.4
MIR5181b-5'	188	180	294	284	248	386	188	193.8	408.7	482.5	254.4	627.9
MIR5181c-3'	606	723	814	843	990	1430	606	778.6	1131.7	1432.1	1015.7	2326.3
MIR5181c-5'	6	9	11	22	3	9	6	9.7	15.3	37.4	3.1	14.6
MIR5181d-3'	197	168	1609	1527	184	162	197	180.9	2236.9	2594.1	188.8	263.5
MIR5181e-3'	68	52	68	66	66	114	68	56.0	94.5	112.1	67.7	185.5
MIR5182-3'	1351	1596	1256	1715	1618	2133	1351	1718.7	1746.2	2913.5	1660.1	3470.0
MIR5183-3'	60	103	289	377	200	334	60	110.9	401.8	640.5	205.2	543.4
MIR5184-3'	4	3	3	1	6	1	4	3.2	4.2	1.7	6.2	1.6
MIR5185a,b,c	19	12	263	536	61	67	19	12.9	365.6	910.6	62.6	109.0
MIR5185a,b,c	82	94	68	70	32	23	82	101.2	94.5	118.9	32.8	37.4
MIR5185i-3'	559	670	305	457	548	346	559	721.5	424.0	776.4	562.3	562.9
MIR5185i-5'	4	7	4	7	1	5	4	7.5	5.6	11.9	1.0	8.1
MIR5185m-3'	35	56	54	139	38	38	35	60.3	75.1	236.1	39.0	61.8
MIR5185m-5'	1	0	0	0	1	0	1	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0
MIR5198-3'	6	6	2	5	10	20	6	6.5	2.8	8.5	10.3	32.5
MIR5199-3'	15	15	8	16	24	20	15	16.2	11.1	27.2	24.6	32.5
MIR5200a,b,c	1	2	68	44	5	1	1	2.2	94.5	74.7	5.1	1.6
MIR5200a-5'	0	0	2	0	3	0	0	0.0	2.8	0.0	3.1	0.0
MIR5200b-5'	0	1	0	0	0	1	0	1.1	0.0	0.0	0.0	1.6
MIR5201-3'	35	34	23	30	34	31	35	36.6	32.0	51.0	34.9	50.4
MIR5201-5'	26	32	52	35	37	32	26	34.5	72.3	59.5	38.0	52.1
MIR5202-3'	9	7	28	21	11	20	9	7.5	38.9	35.7	11.3	32.5
MIR5281a,b,c	202	194	130	129	141	190	202	208.9	180.7	219.1	144.7	309.1
MIR528-3'	464	1382	2175	3944	3010	11961	464	1488.2	3023.8	6700.2	3088.3	19458.3
MIR528-5'	17542	34522	22641	40937	53217	139629	17542	37175.5	31477.1	69544.8	54600.9	227149.9
MIR529-3'	232	144	224	215	451	507	232	155.1	311.4	365.2	462.7	824.8
MIR529-5'	96	125	1455	1139	733	191	96	134.6	2022.8	1935.0	752.1	310.7
MIR530a,b-5'	0	0	2	6	1	2	0	0.0	2.8	10.2	1.0	3.3
MIR531-5'	37	33	25	39	1226	2141	37	35.5	34.8	66.3	1257.9	3483.0
MIR7707-3'	8	7	6	4	7	7	8	7.5	8.3	6.8	7.2	11.4
MIR7707-5'	1	0	11	5	17	15	1	0.0	15.3	8.5	17.4	24.4
MIR7708a-3'	1100	1419	3273	4840	2841	2960	1100	1528.1	4550.4	8222.3	2914.9	4815.4
MIR7708a-5'	1	0	1	4	2	0	1	0.0	1.4	6.8	2.1	0.0
MIR7708b-3'	379	458	526	808	754	693	379	493.2	731.3	1372.7	773.6	1127.4
MIR7708b-5'	23	31	48	41	62	75	23	33.4	66.7	69.7	63.6	122.0
MIR7709-3'	3	6	14	31	37	60	3	6.5	19.5	52.7	38.0	97.6
MIR7709-5'	4	7	5	15	14	9	4	7.5	7.0	25.5	14.4	14.6
MIR7710-3'	1	1	5	13	11	7	1	1.1	7.0	22.1	11.3	11.4
MIR7710-5'	0	0	44	63	54	27	0	0.0	61.2	107.0	55.4	43.9
MIR7711-5'	207	147	270	184	155	271	207	158.3	375.4	312.6	159.0	440.9
MIR7712-3'	0	0	2	7	0	1	0	0.0	2.8	11.9	0.0	1.6

MiRNA/ Biblioteca	A1	A2	A3	A4	A5	A7	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR7712-5'	1	0	0	1	3	3	1	0.0	0.0	1.7	3.1	4.9
MIR7713-3'	2	0	8	5	13	14	2	0.0	11.1	8.5	13.3	22.8
MIR7713-5'	2	0	5	1	13	9	2	0.0	7.0	1.7	13.3	14.6
MIR7714-3'	86	95	160	175	152	112	86	102.3	222.4	297.3	156.0	182.2
MIR7714-5'	1	1	44	61	5	15	1	1.1	61.2	103.6	5.1	24.4
MIR7715-3'	0	0	0	1	2	1	0	0.0	0.0	1.7	2.1	1.6
MIR7715-5'	74	66	30	45	32	69	74	71.1	41.7	76.4	32.8	112.2
MIR7716-3'	0	2	1	0	2	3	0	2.2	1.4	0.0	2.1	4.9
MIR7716-5'	21	21	35	23	51	52	21	22.6	48.7	39.1	52.3	84.6
MIR7717a-3'	882	1149	1776	2399	2078	4022	882	1237.3	2469.1	4075.5	2132.0	6543.0
MIR7717a-5'	7	9	23	25	36	41	7	9.7	32.0	42.5	36.9	66.7
MIR7717b-3'	31	44	87	73	88	73	31	47.4	121.0	124.0	90.3	118.8
MIR7717b-5'	88	65	188	287	193	227	88	70.0	261.4	487.6	198.0	369.3
MIR7717c-3'	27	41	79	70	67	107	27	44.2	109.8	118.9	68.7	174.1
MIR7717c-5'	158	211	134	109	112	101	158	227.2	186.3	185.2	114.9	164.3
MIR7718-3'	126	215	244	365	323	409	126	231.5	339.2	620.1	331.4	665.4
MIR7718-5'	8	19	15	15	78	108	8	20.5	20.9	25.5	80.0	175.7
MIR7719-3'	28	18	20	27	22	28	28	19.4	27.8	45.9	22.6	45.6
MIR7719-5'	0	1	45	66	2	1	0	1.1	62.6	112.1	2.1	1.6
MIR7720-3'	22	31	31	47	39	65	22	33.4	43.1	79.8	40.0	105.7
MIR7720-5'	27	37	74	107	258	300	27	39.8	102.9	181.8	264.7	488.0
MIR7721-3'	4	7	4	11	6	11	4	7.5	5.6	18.7	6.2	17.9
MIR7721-5'	9	15	13	28	23	32	9	16.2	18.1	47.6	23.6	52.1
MIR7722-3'	59	64	27	27	61	87	59	68.9	37.5	45.9	62.6	141.5
MIR7722-5'	0	2	1	3	1	1	0	2.2	1.4	5.1	1.0	1.6
MIR7723a-3'	7	13	30	39	37	43	7	14.0	41.7	66.3	38.0	70.0
MIR7723a-5'	11	25	14	18	82	52	11	26.9	19.5	30.6	84.1	84.6
MIR7723b-3'	2	4	60	81	13	12	2	4.3	83.4	137.6	13.3	19.5
MIR7723b-5'	1	3	0	2	0	2	1	3.2	0.0	3.4	0.0	3.3
MIR7724a,b-3'	0	1	2	3	1	1	0	1.1	2.8	5.1	1.0	1.6
MIR7724a,b-5'	0	2	0	0	2	3	0	2.2	0.0	0.0	2.1	4.9
MIR7725a-3'	46	42	286	393	234	288	46	45.2	397.6	667.6	240.1	468.5
MIR7725a-5'	2	3	3	6	25	27	2	3.2	4.2	10.2	25.7	43.9
MIR7725b-5'	9	3	9	3	6	7	9	3.2	12.5	5.1	6.2	11.4
MIR7726a-3'	7	3	6	11	6	8	7	3.2	8.3	18.7	6.2	13.0
MIR7726a-5'	1313	1300	2521	2430	2402	3771	1313	1399.9	3504.9	4128.1	2464.5	6134.7
MIR7726b-3'	21	16	62	66	41	76	21	17.2	86.2	112.1	42.1	123.6
MIR7726b-5'	2937	2256	5180	5627	3761	5740	2937	2429.4	7201.6	9559.3	3858.8	9337.9
MIR7727-3'	21	23	19	31	22	41	21	24.8	26.4	52.7	22.6	66.7
MIR7727-5'	35	39	96	98	67	94	35	42.0	133.5	166.5	68.7	152.9
MIR7728-3'	0	0	0	0	1	1	0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.6
MIR7728-5'	22	25	40	43	43	45	22	26.9	55.6	73.0	44.1	73.2
MIR7729a,b-3'	26	26	66	61	36	71	26	28.0	91.8	103.6	36.9	115.5
MIR7729a,b-5'	124	114	166	203	122	120	124	122.8	230.8	344.9	125.2	195.2
MIR7730-3'	0	2	5	2	4	8	0	2.2	7.0	3.4	4.1	13.0
MIR7730-5'	4	8	16	8	36	20	4	8.6	22.2	13.6	36.9	32.5
MIR7731-3'	7783	9160	12616	18732	16746	44410	7783	9864.1	17539.7	31822.4	17181.5	72246.6
MIR7731-5'	78	113	154	172	226	133	78	121.7	214.1	292.2	231.9	216.4
MIR7732-3'	235	141	160	188	194	217	235	151.8	222.4	319.4	199.0	353.0
MIR7732-5'	30	24	27	32	38	37	30	25.8	37.5	54.4	39.0	60.2
MIR7733-3'	4	6	5	2	10	15	4	6.5	7.0	3.4	10.3	24.4
MIR7733-5'	6	0	2	2	3	1	6	0.0	2.8	3.4	3.1	1.6
MIR7734-3'	13	14	26	31	20	15	13	15.1	36.1	52.7	20.5	24.4
MIR7734-5'	217	302	173	240	237	365	217	325.2	240.5	407.7	243.2	593.8
MIR7735-3'	15	14	19	24	34	112	15	15.1	26.4	40.8	34.9	182.2
MIR7735-5'	0	0	0	1	1	1	0	0.0	0.0	1.7	1.0	1.6
MIR7736-3'	12	16	21	11	50	56	12	17.2	29.2	18.7	51.3	91.1
MIR7736-5'	14	20	11	6	7	9	14	21.5	15.3	10.2	7.2	14.6
MIR7737-3'	22	20	14	33	31	29	22	21.5	19.5	56.1	31.8	47.2
MIR7737-5'	4	1	9	7	5	8	4	1.1	12.5	11.9	5.1	13.0
MIR7738-3'	5057	5074	7573	11360	7153	7207	5057	5464.0	10528.5	19298.7	7339.0	11724.4
MIR7738-5'	20	19	37	21	22	25	20	20.5	51.4	35.7	22.6	40.7
MIR7739-3'	2	5	4	9	5	6	2	5.4	5.6	15.3	5.1	9.8
MIR7739-5'	33	36	43	32	90	131	33	38.8	59.8	54.4	92.3	213.1
MIR7740-3'	83	155	63	73	59	168	83	166.9	87.6	124.0	60.5	273.3
MIR7740-5'	11	21	14	14	18	38	11	22.6	19.5	23.8	18.5	61.8
MIR7741-5'	8494	10837	7272	11792	9208	19414	8494	11670.0	10110.1	20032.5	9447.5	31582.9
MIR7742-3'	4	11	4	12	14	18	4	11.8	5.6	20.4	14.4	29.3
MIR7742-5'	5	3	8	1	0	2	5	3.2	11.1	1.7	0.0	3.3
MIR7743-3'	2	0	4	4	7	6	2	0.0	5.6	6.8	7.2	9.8
MIR7743-5'	318	390	816	798	558	821	318	420.0	1134.5	1355.7	572.5	1335.6
MIR7744-3'	0	1	0	1	2	3	0	1.1	0.0	1.7	2.1	4.9
MIR7744-5'	129	154	211	208	277	339	129	165.8	293.3	353.4	284.2	551.5
MIR7745-3'	58	44	47	62	56	66	58	47.4	65.3	105.3	57.5	107.4
MIR7745-5'	56	92	62	95	89	79	56	99.1	86.2	161.4	91.3	128.5
MIR7746-3'	2	1	1	6	7	3	2	1.1	1.4	10.2	7.2	4.9

MiRNA/ Biblioteca	A1	A2	A3	A4	A5	A7	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR7746-5'	10	4	2	4	5	0	10	4.3	2.8	6.8	5.1	0.0
MIR7747-3'	0	1	0	1	0	0	0	1.1	0.0	1.7	0.0	0.0
MIR7747-5'	2	1	39	62	0	4	2	1.1	54.2	105.3	0.0	6.5
MIR7748a-3'	121	174	184	187	201	335	121	187.4	255.8	317.7	206.2	545.0
MIR7748a-5'	0	0	0	1	1	0	0	0.0	0.0	1.7	1.0	0.0
MIR7748b-3'	4	5	2	10	7	5	4	5.4	2.8	17.0	7.2	8.1
MIR7748b-5'	132	171	159	168	284	360	132	184.1	221.1	285.4	291.4	585.7
MIR7749-3'	8	6	8	9	26	61	8	6.5	11.1	15.3	26.7	99.2
MIR7749-5'	625	751	554	497	486	1099	625	808.7	770.2	844.3	498.6	1787.9
MIR7750-3'	66	66	34	44	88	125	66	71.1	47.3	74.7	90.3	203.4
MIR7750-5'	5	3	4	10	35	21	5	3.2	5.6	17.0	35.9	34.2
MIR7751-3'	19	18	20	15	14	49	19	19.4	27.8	25.5	14.4	79.7
MIR7751-5'	2	7	0	1	2	3	2	7.5	0.0	1.7	2.1	4.9
MIR7752-3'	97	97	65	129	173	159	97	104.5	90.4	219.1	177.5	258.7
MIR7752-5'	1	0	7	4	10	3	1	0.0	9.7	6.8	10.3	4.9
MIR7753-3'	0	0	2	1	7	19	0	0.0	2.8	1.7	7.2	30.9
MIR7753-5'	0	0	1	0	0	1	0	0.0	1.4	0.0	0.0	1.6
MIR7754-3'	734	812	432	569	430	781	734	874.4	600.6	966.6	441.2	1270.5
MIR7754-5'	0	1	5	8	5	6	0	1.1	7.0	13.6	5.1	9.8
MIR7755-3'	41	50	60	75	100	117	41	53.8	83.4	127.4	102.6	190.3
MIR7755-5'	13	19	36	52	44	42	13	20.5	50.0	88.3	45.1	68.3
MIR7756-3'	32	26	24	26	25	57	32	28.0	33.4	44.2	25.7	92.7
MIR7756-5'	0	0	2	3	2	1	0	0.0	2.8	5.1	2.1	1.6
MIR7757-5'	2424	5133	5756	5801	18042	4955	2424	5527.5	8002.4	9854.9	18511.2	8060.8
MIR7758-3'	393	482	583	419	366	312	393	519.0	810.5	711.8	375.5	507.6
MIR7758-5'	10	9	200	163	25	65	10	9.7	278.1	276.9	25.7	105.7
MIR7759-3'	26	7	11	12	36	7	26	7.5	15.3	20.4	36.9	11.4
MIR7759-5'	42	35	54	35	82	58	42	37.7	75.1	59.5	84.1	94.4
MIR7760-3'	58	64	38	56	48	128	58	68.9	52.8	95.1	49.2	208.2
MIR7760-5'	34	35	91	137	80	181	34	37.7	126.5	232.7	82.1	294.5
MIR7761-3'	50	45	42	49	55	64	50	48.5	58.4	83.2	56.4	104.1
MIR7761-5'	0	0	2	3	1	1	0	0.0	2.8	5.1	1.0	1.6
MIR7762-3'	57	77	79	143	121	207	57	82.9	109.8	242.9	124.1	336.7
MIR7762-5'	84	97	142	168	178	188	84	104.5	197.4	285.4	182.6	305.8
MIR7763-3'	113	90	55	53	82	59	113	96.9	76.5	90.0	84.1	96.0
MIR7763-5'	51	95	51	70	77	149	51	102.3	70.9	118.9	79.0	242.4
MIR7764-3'	63	102	57	124	74	168	63	109.8	79.2	210.7	75.9	273.3
MIR7764-5'	4	5	0	1	6	3	4	5.4	0.0	1.7	6.2	4.9
MIR7765-3'	2	11	113	139	32	42	2	11.8	157.1	236.1	32.8	68.3
MIR7765-5'	11	6	17	23	9	28	11	6.5	23.6	39.1	9.2	45.6
MIR7766-3'	10	8	12	10	13	16	10	8.6	16.7	17.0	13.3	26.0
MIR7766-5'	28	29	41	34	21	42	28	31.2	57.0	57.8	21.5	68.3
MIR7767-3'	0	0	2	0	2	1	0	0.0	2.8	0.0	2.1	1.6
MIR7767-5'	6	1	9	6	9	17	6	1.1	12.5	10.2	9.2	27.7
MIR7768a,b-3'	589	478	526	451	535	1584	589	514.7	731.3	766.2	548.9	2576.9
MIR7768a,b-5'	269	228	105	148	420	283	269	245.5	146.0	251.4	430.9	460.4
MIR7769-3'	60	49	99	126	216	275	60	52.8	137.6	214.1	221.6	447.4
MIR7769-5'	1	3	0	0	3	1	1	3.2	0.0	0.0	3.1	1.6
MIR7770-3'	15	14	17	14	14	14	15	15.1	23.6	23.8	14.4	22.8
MIR7770-5'	22	21	21	26	28	54	22	22.6	29.2	44.2	28.7	87.8
MIR7771-3'	141	184	263	259	394	406	141	198.1	365.6	440.0	404.2	660.5
MIR7771-5'	2	0	0	1	3	1	2	0.0	0.0	1.7	3.1	1.6
MIR7772-3'	0	0	0	0	1	0	0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0
MIR7772-5'	4	5	15	15	23	56	4	5.4	20.9	25.5	23.6	91.1
MIR7773-3'	1074	736	717	0	0	0	1074	792.6	996.8	0.0	0.0	0.0
MIR7773-5'	0	0	22	65	14	13	0	0.0	30.6	110.4	14.4	21.1
MIR7774-3'	8	7	12	10	7	28	8	7.5	16.7	17.0	7.2	45.6
MIR7774-5'	156	211	152	195	186	370	156	227.2	211.3	331.3	190.8	601.9
MIR7775-3'	21	18	24	25	30	23	21	19.4	33.4	42.5	30.8	37.4
MIR7775-5'	5	6	10	17	15	17	5	6.5	13.9	28.9	15.4	27.7
MIR7776-5'	61	36	33	22	27	25	61	38.8	45.9	37.4	27.7	40.7
MIR7777-5'	38	42	43	61	86	89	38	45.2	59.8	103.6	88.2	144.8
MIR7778-3'	0	0	0	0	0	2	0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.3
MIR7778-5'	0	0	0	0	2	1	0	0.0	0.0	0.0	2.1	1.6
MIR7779-3'	10	1	5	1	20	25	10	1.1	7.0	1.7	20.5	40.7
MIR7779-5'	285	277	136	166	261	469	285	298.3	189.1	282.0	267.8	763.0
MIR7780-3'	321	249	278	258	209	509	321	268.1	386.5	438.3	214.4	828.0
MIR7780-5'	0	0	2	0	3	2	0	0.0	2.8	0.0	3.1	3.3
MIR7781-3'	1	0	0	0	0	0	1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MIR7781-5'	25	23	17	14	66	117	25	24.8	23.6	23.8	67.7	190.3
MIR7782-3'	1290	842	62908	53467	1601	1238	1290	906.7	87459.2	90831.1	1642.6	2014.0
MIR7782-5'	56	34	579	452	55	65	56	36.6	805.0	767.9	56.4	105.7
MIR7783-3'	3	2	453	488	8	9	3	2.2	629.8	829.0	8.2	14.6
MIR7783-5'	0	2	3	2	3	2	0	2.2	4.2	3.4	3.1	3.3
MIR7784a,b-3'	456	442	359	355	400	475	456	476.0	499.1	603.1	410.4	772.7
MIR7784a,b-5'	81	128	75	99	92	121	81	137.8	104.3	168.2	94.4	196.8

MIRNA/ Biblioteca	A1	A2	A3	A4	A5	A7	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR7785-3'	17	33	25	30	37	100	17	35.5	34.8	51.0	38.0	162.7
MIR7785-5'	10	11	11	26	12	18	10	11.8	15.3	44.2	12.3	29.3
MIR7786-3'	33	18	47	22	40	25	33	19.4	65.3	37.4	41.0	40.7
MIR7786-5'	1	1	4	4	3	1	1	1.1	5.6	6.8	3.1	1.6
MIR7787-3'	2	1	6	12	6	5	2	1.1	8.3	20.4	6.2	8.1
MIR7787-5'	1	0	1	0	0	1	1	0.0	1.4	0.0	0.0	1.6
MIR827-3'	198	279	179	287	349	206	198	300.4	248.9	487.6	358.1	335.1
MIR827-5'	501	656	290	0	0	0	501	706.4	403.2	0.0	0.0	0.0
MIR845-5'	4	5	41	46	4	9	4	5.4	57.0	78.1	4.1	14.6
MIR9480b-5'	5630	4650	2870	3330	2675	2801	5630	5007.4	3990.1	5657.1	2744.6	4556.7
MIR9481b-3'	0	0	1	0	0	0	0	0.0	1.4	0.0	0.0	0.0
MIR9482-3'	0	0	8	6	0	1	0	0.0	11.1	10.2	0.0	1.6
MIR9483b-5'	0	0	0	0	0	1	0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.6
MIR9484-5'	847	605	403	462	205	297	847	651.5	560.3	784.9	210.3	483.2
MIR9485-5'	107	108	80	102	58	45	107	116.3	111.2	173.3	59.5	73.2
MIR9486a-3'	18	26	11	25	30	70	18	28.0	15.3	42.5	30.8	113.9
MIR9486b-3'	16	29	26	23	26	37	16	31.2	36.1	39.1	26.7	60.2
MIR9487-3'	9	11	4	1	227	351	9	11.8	5.6	1.7	232.9	571.0
MIR9488-5'	8	8	16	18	16	16	8	8.6	22.2	30.6	16.4	26.0
MIR9489-5'	41	65	48	52	46	85	41	70.0	66.7	88.3	47.2	138.3
MIR9490-5'	449	363	973	663	1551	1639	449	390.9	1352.7	1126.3	1591.3	2666.3
MIR9491-5'	70	71	16	18	24	18	70	76.5	22.2	30.6	24.6	29.3
MIR9492-5'	9	8	7	3	6	3	9	8.6	9.7	5.1	6.2	4.9
MIR9493-3'	114	98	1356	1729	190	204	114	105.5	1885.2	2937.3	194.9	331.9
MIR9494-3'	35	23	47	54	25	43	35	24.8	65.3	91.7	25.7	70.0
MIR9495-5'	373	331	182	183	195	226	373	356.4	253.0	310.9	200.1	367.7
MIR9496-5'	116	116	37	47	35	53	116	124.9	51.4	79.8	35.9	86.2
MIR9497-5'	10	5	6	6	11	2	10	5.4	8.3	10.2	11.3	3.3
MIR9498-5'	1	0	21	12	0	0	1	0.0	29.2	20.4	0.0	0.0
MIR9499-5'	34	31	18	14	30	56	34	33.4	25.0	23.8	30.8	91.1

Cuantiles / Mediana Polish

MIRNA/ Biblioteca	A1	A2	A3	A4	A5	A7	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR1122-5'	274.6	216.0	436.9	436.9	648.9	463.1	459.5	459.5	462.5	463.5	462.5	467.5
MIR1127-5'	0.0	0.0	2.0	0.4	0.0	1.0	-1.5	-1.5	1.5	2.5	1.5	6.5
MIR1135-3'	87.3	79.2	128.1	106.3	367.2	367.2	125.0	125.0	128.0	129.0	128.0	133.0
MIR1139-3'	0.0	0.0	0.0	2.3	2.3	2.3	-1.0	-1.0	2.0	3.0	2.0	7.0
MIR1432-5'	385.1	356.1	601.9	300.7	1310.2	672.7	457.5	457.5	460.5	461.5	460.5	465.5
MIR156a-3'	4.5	6.5	36.1	24.0	4.0	5.2	3.0	3.0	6.0	7.0	6.0	11.0
MIR156b,c,d	1599.1	1655.0	29198.8	32345.1	1550.1	1181.6	1117.5	1117.5	1120.5	1121.5	1120.5	1125.5
MIR156b-3'	104.0	175.0	67.1	90.8	90.8	179.3	84.0	84.0	87.0	88.0	87.0	92.0
MIR156d-3'	428.1	395.0	149.3	141.8	223.9	316.8	234.0	234.0	237.0	238.0	237.0	242.0
MIR156e-3'	0.0	5.1	4.6	3.3	20.0	7.3	1.0	1.0	4.0	5.0	4.0	9.0
MIR156f-3'	1.6	0.0	19.3	27.9	1.0	4.6	0.5	0.5	3.5	4.5	3.5	8.5
MIR156g,i-3'	247.7	350.0	117.4	169.8	119.7	217.0	172.5	172.5	175.5	176.5	175.5	180.5
MIR156h-3'	47.6	107.4	25.6	77.4	70.3	149.3	67.0	67.0	70.0	71.0	70.0	75.0
MIR156j-5'	28.1	21.7	45.1	53.5	23.2	14.7	18.0	18.0	21.0	22.0	21.0	26.0
MIR159a-3'	36995.5	50000.5	37782.0	50518.5	50518.5	37782.0	31664.5	31664.5	31667.5	31668.5	31667.5	31672.5
MIR159a-5'	0.0	4.6	10.2	9.8	13.4	11.1	5.5	5.5	8.5	9.5	8.5	13.5
MIR159b-5'	4865.2	1853.1	6129.1	2995.3	3867.8	6129.1	3211.5	3211.5	3214.5	3215.5	3214.5	3219.5
MIR159c-3'	2179.9	3640.6	4736.0	3867.8	2693.9	2880.5	2560.0	2560.0	2563.0	2564.0	2563.0	2568.0
MIR160a,b,c	1370.0	1747.2	1058.0	936.8	1703.8	1278.9	1180.0	1180.0	1183.0	1184.0	1183.0	1188.0
MIR160a-3'	12.0	24.7	4.6	5.2	7.2	12.4	4.5	4.5	7.5	8.5	7.5	12.5
MIR160b,c-3'	1.6	3.3	14.7	17.0	2.3	2.3	1.5	1.5	4.5	5.5	4.5	9.5
MIR160d-3'	3.3	5.1	3.0	3.9	9.8	5.2	1.5	1.5	4.5	5.5	4.5	9.5
MIR160e-3'	315.6	297.5	227.0	179.3	144.4	169.8	187.5	187.5	190.5	191.5	190.5	195.5
MIR160e-5'	5949.3	4822.5	3732.5	2232.6	4058.0	2772.2	2959.0	2959.0	2962.0	2963.0	2962.0	2967.0
MIR160f-3'	9.2	0.9	1.0	0.0	1.1	0.0	-2.0	-2.0	1.0	2.0	1.0	6.0
MIR162-3'	3.9	2.3	1.0	0.0	2.3	0.0	-1.5	-1.5	1.5	2.5	1.5	6.5
MIR164a,b,e	55.8	46.0	53.5	25.6	108.2	43.1	39.5	39.5	42.5	43.5	42.5	47.5
MIR164a-3'	3954.9	5692.8	3127.7	1703.8	5762.1	2995.3	2967.5	2967.5	2970.5	2971.5	2970.5	2975.5
MIR164c-3'	11.8	7.1	2.3	2.3	5.6	4.6	1.5	1.5	4.5	5.5	4.5	9.5
MIR164c-5'	300.4	264.0	381.9	277.7	487.2	232.5	279.5	279.5	282.5	283.5	282.5	287.5
MIR164f-5'	109.8	163.7	65.3	61.1	86.9	78.0	69.5	69.5	72.5	73.5	72.5	77.5
MIR166a-5'	791412.1	492593.6	821051.8	214950.7	499813.2	499813.2	471057.5	471057.5	471060.5	471061.5	471060.5	471065.5
MIR166ab,c,c	3317.7	4019.0	2053.4	1164.1	2577.5	2358.3	1938.5	1938.5	1941.5	1942.5	1941.5	1946.5
MIR166b-5'	31324.1	15445.8	9854.4	6997.8	13828.6	9052.4	9311.0	9311.0	9314.0	9315.0	9314.0	9319.0
MIR166c-5'	75273.6	37568.4	5762.1	7392.0	10570.5	15699.4	11370.5	11370.5	11373.5	11374.5	11373.5	11378.5
MIR166d-5'	3774.0	2073.8	921.8	1058.0	1224.2	1310.2	1203.0	1203.0	1206.0	1207.0	1206.0	1211.0
MIR166e-3'	4109.3	2028.2	3683.9	2096.6	2880.5	3127.7	2530.0	2530.0	2533.0	2534.0	2533.0	2538.0
MIR166e-5'	4575.0	4178.1	2995.3	2880.5	6614.3	11607.2	3451.0	3451.0	3454.0	3455.0	3454.0	3459.0
MIR166f-3'	18685.3	8897.1	32345.1	19231.7	19231.7	32345.1	19502.5	19502.5	19505.5	19506.5	19505.5	19510.5

MIRNA/ Biblioteca	A1	A2	A3	A4	A5	A7	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR166g-3'	1161.2	1217.6	3867.8	4736.0	791.7	936.8	838.5	838.5	841.5	842.5	841.5	846.5
MIR166g-5'	13.0	6.2	1.1	5.2	19.3	3.9	3.0	3.0	6.0	7.0	6.0	11.0
MIR166h-3'	8430.2	6905.3	4058.0	3683.9	6129.1	5012.7	4625.0	4625.0	4628.0	4629.0	4628.0	4633.0
MIR166h-5'	1140.9	681.3	367.2	407.2	353.9	353.9	398.0	398.0	401.0	402.0	401.0	406.0
MIR166i-5'	42.3	15.9	17.6	22.2	15.3	23.8	15.5	15.5	18.5	19.5	18.5	23.5
MIR166j-5'	11251.0	10410.2	6614.3	5123.7	6997.8	5762.1	6057.5	6057.5	6060.5	6061.5	6060.5	6065.5
MIR167a,b,f-3'	120.0	112.2	4222.4	3127.7	78.0	65.3	82.0	82.0	85.0	86.0	85.0	90.0
MIR167c,d,e-3'	28165.4	28820.2	1115890.9	821051.8	8768.9	13828.6	12294.0	12294.0	12297.0	12298.0	12297.0	12302.0
MIR167c-3'	5.4	13.6	7.2	6.2	9.5	8.5	3.5	3.5	6.5	7.5	6.5	11.5
MIR167d-3'	150.1	63.5	103.5	64.1	99.5	244.2	86.0	86.0	89.0	90.0	89.0	94.0
MIR167e-3'	0.0	1.1	108.2	149.3	89.5	90.8	83.5	83.5	86.5	87.5	86.5	91.5
MIR168-3'	3043.2	3833.1	1636.5	1636.5	2995.3	3683.9	2160.5	2160.5	2163.5	2164.5	2163.5	2168.5
MIR168-5'	1064594.7	671449.6	678726.8	499813.2	678726.8	821051.8	553129.0	553129.0	553132.0	553133.0	553132.0	553137.0
MIR169a-3'	172.5	96.7	153.5	114.2	167.1	207.0	134.5	134.5	137.5	138.5	137.5	142.5
MIR169a-5'	22.6	9.3	266.7	227.0	3.9	4.6	9.5	9.5	12.5	13.5	12.5	17.5
MIR169b-5'	10.8	15.8	360.2	360.2	1.0	4.9	8.5	8.5	11.5	12.5	11.5	16.5
MIR169c,f-5'	220.7	143.1	9052.4	6129.1	22.2	67.0	120.5	120.5	123.5	124.5	123.5	128.5
MIR169c-3'	2619.3	3379.2	672.7	648.9	187.8	882.7	798.5	798.5	801.5	802.5	801.5	806.5
MIR169d-5'	12.5	38.3	5.2	11.1	3.3	9.8	5.0	5.0	8.0	9.0	8.0	13.0
MIR169e-3'	0.0	0.0	3.0	1.0	0.0	0.0	-1.5	-1.5	1.5	2.5	1.5	6.5
MIR169g,e-5'	0.4	0.4	10.1	10.2	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	4.0	3.0	8.0
MIR169h,n-5'	2.3	2.3	9.8	15.6	0.0	0.0	1.0	1.0	4.0	5.0	4.0	9.0
MIR169h-3'	35.3	22.8	4.9	7.3	1.0	0.0	3.0	3.0	6.0	7.0	6.0	11.0
MIR169i-5'	54.6	56.1	6.6	3.0	19.2	6.2	9.0	9.0	12.0	13.0	12.0	17.0
MIR169j-3'	397.6	221.3	32.8	65.3	44.1	25.6	49.0	49.0	52.0	53.0	52.0	57.0
MIR169j-5'	27.8	34.2	15.3	12.4	5.9	2.4	11.0	11.0	14.0	15.0	14.0	19.0
MIR169k-3'	68.6	50.2	3.0	6.2	12.4	0.0	5.5	5.5	8.5	9.5	8.5	13.5
MIR169k-5'	153.1	85.9	18.9	26.3	11.1	6.2	19.0	19.0	22.0	23.0	22.0	27.0
MIR169l-5'	22.7	16.8	14.7	13.7	11.1	14.0	11.0	11.0	14.0	15.0	14.0	19.0
MIR169m-5'	5.4	7.5	118.1	91.7	0.0	3.3	4.0	4.0	7.0	8.0	7.0	12.0
MIR171a-5'	0.9	0.9	0.0	0.0	1.0	0.0	-2.5	-2.5	0.5	1.5	0.5	5.5
MIR171b,c,d-3'	350.5	509.5	454.7	523.1	1164.1	703.1	541.5	541.5	544.5	545.5	544.5	549.5
MIR171c-5'	7.0	15.5	9.4	3.0	10.2	7.3	5.0	5.0	8.0	9.0	8.0	13.0
MIR171d-5'	6777.4	5067.3	2358.3	1550.1	1871.5	2232.6	2381.0	2381.0	2384.0	2385.0	2384.0	2389.0
MIR171f-3'	2.4	7.5	13.4	3.3	18.6	15.3	6.5	6.5	9.5	10.5	9.5	14.5
MIR172a-3'	3.0	0.0	185.7	144.4	6.6	7.2	3.0	3.0	6.0	7.0	6.0	11.0
MIR172a-5'	201.7	102.6	179.3	103.5	316.8	156.5	150.5	150.5	153.5	154.5	153.5	158.5
MIR172b-3'	0.0	0.0	4.6	7.6	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	4.0	3.0	8.0
MIR172d-3'	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-3.0	-3.0	0.0	1.0	0.0	5.0
MIR1878-3'	491.2	533.5	703.1	791.7	1181.6	953.9	798.0	798.0	801.0	802.0	801.0	806.0
MIR1878-5'	5.3	6.1	5.6	10.8	12.0	16.0	6.0	6.0	9.0	10.0	9.0	14.0
MIR2118a-3'	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	-2.5	-2.5	0.5	1.5	0.5	5.5
MIR2118b-5'	2.9	0.9	6.2	19.3	0.0	0.0	0.5	0.5	3.5	4.5	3.5	8.5
MIR2275a-3'	5.3	15.1	1.0	4.6	13.1	5.6	1.5	1.5	4.5	5.5	4.5	9.5
MIR2275b-3'	7.4	5.5	5.9	1.7	4.9	0.0	2.5	2.5	5.5	6.5	5.5	10.5
MIR2275c-3'	2.9	8.4	3.9	5.9	13.7	7.6	1.5	1.5	4.5	5.5	4.5	9.5
MIR319a-5'	0.9	0.9	1.4	0.0	1.0	3.0	-1.5	-1.5	1.5	2.5	1.5	6.5
MIR319b-3'	660955.9	807736.1	499813.2	678726.8	821051.8	678726.8	606154.5	606154.5	606157.5	606158.5	606157.5	606162.5
MIR319b-5'	10.0	3.3	2.4	7.2	8.4	5.9	3.0	3.0	6.0	7.0	6.0	11.0
MIR390a-3'	39.0	34.2	27.9	17.0	35.4	19.2	23.5	23.5	26.5	27.5	26.5	31.5
MIR390a-5'	6.0	12.6	141.8	117.4	10.1	20.6	10.5	10.5	13.5	14.5	13.5	18.5
MIR393a,b-5'	210.9	278.5	15699.4	15699.4	1278.9	921.8	898.0	898.0	901.0	902.0	901.0	906.0
MIR393b-3'	4980.0	4953.6	5012.7	4222.4	9052.4	6997.8	5228.5	5228.5	5231.5	5232.5	5231.5	5236.5
MIR394-5'	478.3	113.3	43.4	43.4	300.7	70.3	78.5	78.5	81.5	82.5	81.5	86.5
MIR395a,b,c-3'	1667.8	1623.1	953.9	2693.9	31.8	62.8	1008.0	1008.0	1011.0	1012.0	1011.0	1016.0
MIR395c,k-5'	14.9	43.6	0.0	4.6	0.0	2.4	-1.0	-1.0	2.0	3.0	2.0	7.0
MIR395d-3'	1061.2	2853.5	248.9	537.0	512.4	381.9	542.5	542.5	545.5	546.5	545.5	550.5
MIR395d-5'	1.0	0.9	5.5	24.9	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	4.0	3.0	8.0
MIR395e-5'	17.6	25.7	1.0	3.3	1.0	1.0	-0.5	-0.5	2.5	3.5	2.5	7.5
MIR395f-5'	2.3	2.0	0.0	1.0	1.0	1.0	-2.5	-2.5	0.5	1.5	0.5	5.5
MIR395g-5'	25.1	35.8	2.3	2.3	0.0	0.0	-0.5	-0.5	2.5	3.5	2.5	7.5
MIR395h,l-5'	14.4	25.4	0.0	4.0	1.0	0.0	-0.5	-0.5	2.5	3.5	2.5	7.5
MIR395j-5'	3.8	3.3	1.0	1.0	0.0	0.0	-2.5	-2.5	0.5	1.5	0.5	5.5
MIR395n-5'	3.5	5.4	0.0	0.0	0.0	0.0	-3.0	-3.0	0.0	1.0	0.0	5.0
MIR395o-5'	0.0	1.4	0.0	0.0	0.0	0.0	-3.0	-3.0	0.0	1.0	0.0	5.0
MIR395p-3'	861.3	1386.2	90.8	176.7	34.5	42.8	128.5	128.5	131.5	132.5	131.5	136.5
MIR395p-5'	2.3	7.2	0.0	0.0	0.0	0.0	-3.0	-3.0	0.0	1.0	0.0	5.0
MIR396a,b-5'	1693047.7	11743973.5	1785440.9	1115890.9	1115890.9	1115890.9	1000344.0	1000344.0	1000347.0	1000348.0	1000347.0	1000352.0
MIR396a-3'	2506.9	3691.6	1871.5	1224.2	4736.0	5123.7	1888.5	1888.5	1891.5	1892.5	1891.5	1896.5
MIR396b-3'	371.1	140.5	46.4	31.4	41.5	83.0	65.5	65.5	68.5	69.5	68.5	73.5
MIR396c,d-3'	1258.3	496.3	399.2	331.1	749.0	1636.5	487.0	487.0	490.0	491.0	490.0	495.0
MIR396c,d-5'	6421.5	6536.1	6997.8	6614.3	7392.0	7392.0	6366.5	6366.5	6369.5	6370.5	6369.5	6374.5
MIR396e-3'	8708.3	6055.4	1310.2	1080.4	2358.3	4736.0	2374.0	2374.0	2377.0	2378.0	2377.0	2382.0
MIR396e-5'	207762.2	212423.0	77350.0	77350.0	77350.0	77350.0	81796.0	81796.0	81799.0	81800.0	81799.0	81804.0
MIR397a-5'	89.6	665.8	3414.1	11607.2	29198.8	29198.8	8647.5	8647.5	8650.5	8651.5	8650.5	8655.5
MIR397b-3'	48.5	224.3	91.7	232.5	179.3	436.9	154.0	154.0	157.0	158.0	157.0	162.0

MIRNA/ Biblioteca	A1	A2	A3	A4	A5	A7	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR397b-5'	479306.6	1093061.0	214950.7	1785440.9	1785440.9	1785440.9	810835.5	810835.5	810838.5	810839.5	810838.5	810843.5
MIR398a-3'	74.6	196.3	78.0	119.7	118.1	266.7	111.0	111.0	114.0	115.0	114.0	119.0
MIR398b-5'	64.7	460.7	109.8	2577.5	5012.7	10570.5	1739.5	1739.5	1742.5	1743.5	1742.5	1747.5
MIR399a-3'	0.9	0.9	0.0	0.0	1.0	0.0	-2.5	-2.5	0.5	1.5	0.5	5.5
MIR399b,c-3'	15.6	13.9	2.3	2.4	7.3	5.5	2.0	2.0	5.0	6.0	5.0	10.0
MIR399d-3'	3626.8	1536.6	512.4	499.1	436.9	421.1	554.0	554.0	557.0	558.0	557.0	562.0
MIR408-3'	20.1	64.6	1224.2	3732.5	18.2	144.4	101.5	101.5	104.5	105.5	104.5	109.5
MIR408-5'	1631.8	7289.7	1393.3	5762.1	3683.9	8768.9	3192.0	3192.0	3195.0	3196.0	3195.0	3200.0
MIR437-3'	0.0	0.0	0.0	1.7	9.5	9.5	0.0	0.0	3.0	4.0	3.0	8.0
MIR444a-3'	1.0	1.0	1.0	1.1	2.7	1.7	-1.5	-1.5	1.5	2.5	1.5	6.5
MIR444b-3'	181.5	309.8	353.9	479.8	820.8	399.2	368.0	368.0	371.0	372.0	371.0	376.0
MIR444c,d-3'	2802.4	3098.8	2693.9	2053.4	4886.7	4058.0	2782.5	2782.5	2785.5	2786.5	2785.5	2790.5
MIR5049-3'	3569.3	2749.3	2880.5	2358.3	1761.1	1550.1	1639.5	1639.5	1642.5	1643.5	1642.5	1647.5
MIR5049-5'	57.1	22.9	74.7	44.1	56.8	33.5	38.5	38.5	41.5	42.5	41.5	46.5
MIR5054-3'	25.6	9.7	13.1	20.9	23.2	45.1	17.5	17.5	20.5	21.5	20.5	25.5
MIR5056-5'	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-3.0	-3.0	0.0	1.0	0.0	5.0
MIR5059-5'	0.0	0.0	0.0	1.0	2.0	1.0	-2.0	-2.0	1.0	2.0	1.0	6.0
MIR5061-3'	0.9	2.3	1.4	1.0	0.0	3.0	-2.0	-2.0	1.0	2.0	1.0	6.0
MIR5062a-5'	18.1	11.8	7.2	1.0	1.0	7.6	1.5	1.5	4.5	5.5	4.5	9.5
MIR5063-3'	0.9	0.9	3.3	0.0	1.0	0.0	-1.0	-1.0	2.0	3.0	2.0	7.0
MIR5065-5'	0.6	2.3	1.1	0.0	1.0	0.0	-1.5	-1.5	1.5	2.5	1.5	6.5
MIR5066-5'	32.1	42.4	56.8	47.1	156.5	103.5	49.0	49.0	52.0	53.0	52.0	57.0
MIR5067-3'	9.9	14.6	15.3	14.7	91.7	48.0	12.0	12.0	15.0	16.0	15.0	20.0
MIR5068-5'	31.1	30.1	20.0	18.2	49.7	59.7	20.0	20.0	23.0	24.0	23.0	28.0
MIR5070-3'	265.8	251.1	323.9	244.2	323.9	537.0	258.0	258.0	261.0	262.0	261.0	266.0
MIR5163a-3'	773.0	451.7	10570.5	8768.9	537.0	218.4	513.5	513.5	516.5	517.5	516.5	521.5
MIR5163a-5'	3.3	4.8	7.3	3.0	4.0	1.0	1.5	1.5	4.5	5.5	4.5	9.5
MIR5163b-3'	10218.2	8614.2	13828.6	9052.4	15699.4	3867.8	8126.5	8126.5	8129.5	8130.5	8129.5	8134.5
MIR5163b-5'	9.2	7.1	8.5	13.1	8.5	12.8	6.0	6.0	9.0	10.0	9.0	14.0
MIR5164-5'	62.5	87.7	76.6	76.6	128.1	122.0	72.0	72.0	75.0	76.0	75.0	80.0
MIR5165-3'	0.0	0.0	50.7	30.4	14.0	18.9	11.0	11.0	14.0	15.0	14.0	19.0
MIR5165-5'	238.2	184.0	97.7	74.7	95.4	91.7	94.5	94.5	97.5	98.5	97.5	102.5
MIR5166-5'	2.4	2.4	0.0	0.0	1.0	1.4	-2.5	-2.5	0.5	1.5	0.5	5.5
MIR5167a-3'	308.5	200.0	147.8	99.5	67.0	40.0	124.5	124.5	127.5	128.5	127.5	132.5
MIR5167a-5'	587.1	483.9	202.1	218.4	272.3	281.5	277.0	277.0	280.0	281.0	280.0	285.0
MIR5167b-3'	327.8	313.2	218.4	281.5	407.2	277.7	257.0	257.0	260.0	261.0	260.0	265.0
MIR5167b-5'	15.2	18.4	9.5	7.6	4.6	19.3	7.5	7.5	10.5	11.5	10.5	15.5
MIR5169a,b,c	21.6	19.1	244.2	316.8	9.8	10.2	12.5	12.5	15.5	16.5	15.5	20.5
MIR5170-3'	45.3	59.9	122.0	135.3	165.2	117.4	122.5	122.5	125.5	126.5	125.5	130.5
MIR5171a,b,c	733.6	642.2	1761.1	1393.3	953.9	1058.0	852.5	852.5	855.5	856.5	855.5	860.5
MIR5172-3'	2039.7	931.6	1703.8	953.9	499.1	687.7	975.0	975.0	978.0	979.0	978.0	983.0
MIR5172-5'	260.4	269.5	336.3	323.9	1080.4	1224.2	339.0	339.0	342.0	343.0	342.0	347.0
MIR5173-3'	21.3	18.7	12.4	7.3	17.6	12.1	10.5	10.5	13.5	14.5	13.5	18.5
MIR5173-5'	46.0	35.1	28.8	37.4	56.1	30.4	28.5	28.5	31.5	32.5	31.5	36.5
MIR5174a-5'	31.8	23.7	34.5	34.5	47.1	48.0	31.0	31.0	34.0	35.0	34.0	39.0
MIR5174b-3'	226.2	111.3	479.8	367.2	253.5	407.2	305.5	305.5	308.5	309.5	308.5	313.5
MIR5174b-5'	78.1	77.3	112.1	80.0	61.1	113.1	66.5	66.5	69.5	70.5	69.5	74.5
MIR5174c-3'	404.8	417.9	207.0	223.9	319.4	487.2	256.0	256.0	259.0	260.0	259.0	264.0
MIR5174c-5'	3.9	3.6	3.3	4.6	0.0	4.9	1.0	1.0	4.0	5.0	4.0	9.0
MIR5174d-3'	257.3	332.7	820.8	820.8	523.1	648.9	586.5	586.5	589.5	590.5	589.5	594.5
MIR5174d-5'	70.3	68.9	86.9	59.7	60.5	77.4	53.5	53.5	56.5	57.5	56.5	61.5
MIR5174e-5'	9.8	3.3	62.4	35.5	5.6	10.8	4.5	4.5	7.5	8.5	7.5	12.5
MIR5174f-5'	61.2	75.8	43.1	52.3	65.3	63.1	53.0	53.0	56.0	57.0	56.0	61.0
MIR5175a-3'	921.0	812.3	1667.2	1871.5	921.8	1080.4	846.0	846.0	849.0	850.0	849.0	854.0
MIR5175b-5'	141.0	108.9	113.1	83.0	133.6	125.0	94.0	94.0	97.0	98.0	97.0	102.0
MIR5176-3'	25.7	31.1	264.0	295.5	30.4	28.5	23.5	23.5	26.5	27.5	26.5	31.5
MIR5176-5'	188.5	155.1	119.7	101.2	149.3	89.5	115.0	115.0	118.0	119.0	118.0	123.0
MIR5177-3'	18.3	23.8	7.6	14.0	20.6	16.1	10.5	10.5	13.5	14.5	13.5	18.5
MIR5178-3'	344.5	377.3	99.5	109.8	125.0	183.0	160.0	160.0	163.0	164.0	163.0	168.0
MIR5178-5'	60.8	44.6	20.0	15.3	17.0	23.2	17.0	17.0	20.0	21.0	20.0	25.0
MIR5179-5'	101.0	69.6	59.7	0.0	0.0	0.0	22.5	22.5	25.5	26.5	25.5	30.5
MIR5180a,b,c	117.8	105.5	648.9	749.0	882.7	791.7	668.0	668.0	671.0	672.0	671.0	676.0
MIR5181a-3'	212.6	186.1	316.8	308.7	399.2	499.1	317.5	317.5	320.5	321.5	320.5	325.5
MIR5181a-5'	1992.9	2666.9	936.8	921.8	1636.5	1703.8	1205.0	1205.0	1208.0	1209.0	1208.0	1213.0
MIR5181b-5'	270.7	274.7	319.4	264.0	295.5	360.2	262.5	262.5	265.5	266.5	265.5	270.5
MIR5181c-3'	941.2	1074.2	749.0	703.1	1393.3	1667.2	825.0	825.0	828.0	829.0	828.0	833.0
MIR5181c-5'	9.6	14.6	10.2	18.9	3.0	9.5	7.0	7.0	10.0	11.0	10.0	15.0
MIR5181d-3'	287.7	241.7	1278.9	1181.6	192.7	135.3	189.0	189.0	192.0	193.0	192.0	197.0
MIR5181e-3'	107.5	76.6	69.6	62.4	76.6	101.2	64.0	64.0	67.0	68.0	67.0	72.0
MIR5182-3'	2908.5	2964.3	1080.4	1278.9	2232.6	2053.4	1605.5	1605.5	1608.5	1609.5	1608.5	1613.5
MIR5183-3'	95.2	147.9	308.7	336.3	227.0	295.5	241.5	241.5	244.5	245.5	244.5	249.5
MIR5184-3'	7.4	5.8	2.3	1.0	6.3	1.7	1.5	1.5	4.5	5.5	4.5	9.5
MIR5185a,b,c	28.9	19.0	277.7	487.2	72.1	58.7	58.5	58.5	61.5	62.5	61.5	66.5
MIR5185a,b,c	122.8	119.1	72.1	67.1	36.1	22.2	65.5	65.5	68.5	69.5	68.5	73.5
MIR5185l-3'	800.9	1050.2	331.1	414.0	687.7	313.3	499.0	499.0	502.0	503.0	502.0	507.0
MIR5185l-5'	7.4	12.2	3.3	6.3	1.1	5.6	2.0	2.0	5.0	6.0	5.0	10.0

MIRNA/ Biblioteca	A1	A2	A3	A4	A5	A7	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR5185m-3'	59.4	82.2	56.1	125.0	48.0	32.5	43.0	43.0	46.0	47.0	46.0	51.0
MIR5185m-5'	2.9	1.0	0.0	0.0	1.4	0.0	-2.5	-2.5	0.5	1.5	0.5	5.5
MIR5198-3'	9.6	9.7	1.0	4.0	10.8	19.3	6.0	6.0	9.0	10.0	9.0	14.0
MIR5199-3'	24.4	21.9	7.6	14.7	25.9	20.0	13.5	13.5	16.5	17.5	16.5	21.5
MIR5200a,b-3'	2.6	3.9	70.3	43.1	4.9	1.4	2.0	2.0	5.0	6.0	5.0	10.0
MIR5200a-5'	0.0	0.0	1.0	0.0	3.3	0.0	-0.5	-0.5	2.5	3.5	2.5	7.5
MIR5200b-5'	0.0	1.6	0.0	0.0	0.0	1.0	-3.0	-3.0	0.0	1.0	0.0	5.0
MIR5201-3'	55.2	53.0	23.2	28.5	37.4	27.9	28.5	28.5	31.5	32.5	31.5	36.5
MIR5201-5'	42.2	48.3	55.0	36.1	45.1	29.5	31.5	31.5	34.5	35.5	34.5	39.5
MIR5202-3'	15.6	11.9	28.5	18.6	12.4	20.0	10.5	10.5	13.5	14.5	13.5	18.5
MIR5281a,b-3'	305.1	305.2	125.0	113.1	162.4	165.2	160.0	160.0	163.0	164.0	163.0	168.0
MIR528-3'	672.2	2336.0	2096.6	3414.1	4222.4	9854.4	2589.5	2589.5	2592.5	2593.5	2592.5	2597.5
MIR528-5'	48957.4	76832.6	19231.7	29198.8	214950.7	214950.7	37727.5	37727.5	37730.5	37731.5	37730.5	37735.5
MIR529-3'	357.3	204.8	237.4	217.0	479.8	512.4	226.5	226.5	229.5	230.5	229.5	234.5
MIR529-5'	144.3	177.6	1181.6	882.7	936.8	167.1	456.5	456.5	459.5	460.5	459.5	464.5
MIR530a,b-5'	0.9	0.9	1.7	5.5	1.0	3.0	-0.5	-0.5	2.5	3.5	2.5	7.5
MIR531-5'	61.5	49.2	24.9	39.0	1667.2	2096.6	36.0	36.0	39.0	40.0	39.0	44.0
MIR7707-3'	13.6	12.2	6.2	3.6	7.6	7.6	3.5	3.5	6.5	7.5	6.5	11.5
MIR7707-5'	2.0	0.0	11.1	4.0	19.3	13.7	4.0	4.0	7.0	8.0	7.0	12.0
MIR7708a-3'	1824.3	2551.6	2772.2	4058.0	3732.5	2693.9	2895.0	2895.0	2898.0	2899.0	2898.0	2903.0
MIR7708a-5'	2.3	0.0	1.0	3.3	2.3	0.0	-0.5	-0.5	2.5	3.5	2.5	7.5
MIR7708b-3'	514.7	742.6	463.1	687.7	1058.0	601.9	604.0	604.0	607.0	608.0	607.0	612.0
MIR7708b-5'	38.1	46.7	48.7	40.0	74.7	66.4	41.0	41.0	44.0	45.0	44.0	49.0
MIR7709-3'	5.7	10.1	14.0	31.8	45.7	52.3	19.0	19.0	22.0	23.0	22.0	27.0
MIR7709-5'	7.0	11.0	4.9	13.7	15.6	9.8	5.5	5.5	8.5	9.5	8.5	13.5
MIR7710-3'	1.1	1.6	4.0	11.1	12.1	7.2	1.5	1.5	4.5	5.5	4.5	9.5
MIR7710-5'	0.0	0.0	44.1	58.7	62.4	24.9	30.0	30.0	33.0	34.0	33.0	38.0
MIR7711-5'	311.1	214.4	281.5	185.7	176.7	223.9	193.5	193.5	196.5	197.5	196.5	201.5
MIR7712-3'	1.0	0.9	1.7	6.2	0.0	1.4	-0.5	-0.5	2.5	3.5	2.5	7.5
MIR7712-5'	2.3	0.0	0.0	1.0	3.3	3.3	-1.5	-1.5	1.5	2.5	1.5	6.5
MIR7713-3'	4.7	1.0	8.4	4.6	14.7	13.4	3.5	3.5	6.5	7.5	6.5	11.5
MIR7713-5'	3.9	0.6	5.2	1.0	14.7	10.1	1.5	1.5	4.5	5.5	4.5	9.5
MIR7714-3'	132.5	124.2	167.1	167.1	169.8	99.5	126.5	126.5	129.5	130.5	129.5	134.5
MIR7714-5'	2.3	2.3	44.8	56.1	4.6	14.0	4.5	4.5	7.5	8.5	7.5	12.5
MIR7715-3'	0.0	0.0	0.0	1.0	2.3	1.0	-2.0	-2.0	1.0	2.0	1.0	6.0
MIR7715-5'	111.9	98.5	30.4	43.4	35.5	60.5	51.0	51.0	54.0	55.0	54.0	59.0
MIR7716-3'	1.0	3.9	1.0	0.0	2.4	4.0	-1.5	-1.5	1.5	2.5	1.5	6.5
MIR7716-5'	33.7	32.5	33.5	20.6	59.7	43.4	26.5	26.5	29.5	30.5	29.5	34.5
MIR7717a-3'	1513.4	1691.5	1550.1	1667.2	2772.2	3732.5	1924.0	1924.0	1927.0	1928.0	1927.0	1932.0
MIR7717a-5'	10.8	15.1	23.8	23.2	43.4	34.5	20.5	20.5	23.5	24.5	23.5	28.5
MIR7717b-3'	46.9	65.7	93.3	69.6	112.1	64.1	67.0	67.0	70.0	71.0	70.0	75.0
MIR7717b-5'	138.5	92.4	217.0	266.7	207.0	202.1	187.5	187.5	190.5	191.5	190.5	195.5
MIR7717c-3'	43.6	61.8	88.7	67.0	83.0	93.3	65.0	65.0	68.0	69.0	68.0	73.0
MIR7717c-5'	242.9	320.3	133.6	97.7	141.8	88.7	120.0	120.0	123.0	124.0	123.0	128.0
MIR7718-3'	183.7	327.4	253.5	319.4	360.2	414.0	280.5	280.5	283.5	284.5	283.5	288.5
MIR7718-5'	12.7	28.6	15.6	14.0	97.7	95.4	15.5	15.5	18.5	19.5	18.5	23.5
MIR7719-3'	44.6	26.0	20.6	26.2	24.0	26.3	19.5	19.5	22.5	23.5	22.5	27.5
MIR7719-5'	0.9	2.3	45.7	62.8	2.3	1.1	0.5	0.5	3.5	4.5	3.5	8.5
MIR7720-3'	37.7	47.6	31.4	45.7	48.7	56.8	33.5	33.5	36.5	37.5	36.5	41.5
MIR7720-5'	43.0	59.0	77.4	95.4	308.7	264.0	87.0	87.0	90.0	91.0	90.0	95.0
MIR7721-3'	6.0	10.1	2.4	9.4	5.5	11.1	3.5	3.5	6.5	7.5	6.5	11.5
MIR7721-5'	13.7	20.7	12.8	26.9	24.9	28.8	17.5	17.5	20.5	21.5	20.5	25.5
MIR7722-3'	93.1	88.6	26.3	25.9	69.6	74.7	58.5	58.5	61.5	62.5	61.5	66.5
MIR7722-5'	0.9	3.9	1.0	2.3	1.0	1.1	-1.5	-1.5	1.5	2.5	1.5	6.5
MIR7723a-3'	10.6	19.1	29.5	38.7	44.8	36.1	30.5	30.5	33.5	34.5	33.5	38.5
MIR7723a-5'	19.5	39.6	13.7	16.0	106.3	43.4	19.5	19.5	22.5	23.5	22.5	27.5
MIR7723b-3'	3.3	6.1	60.5	78.0	14.0	12.0	7.0	7.0	10.0	11.0	10.0	15.0
MIR7723b-5'	1.4	4.6	0.0	1.4	0.0	2.3	-2.5	-2.5	0.5	1.5	0.5	5.5
MIR7724a,b-3'	1.0	2.9	1.7	2.4	1.4	2.0	-1.0	-1.0	2.0	3.0	2.0	7.0
MIR7724a,b-5'	0.9	3.9	0.0	0.0	2.4	4.0	-2.0	-2.0	1.0	2.0	1.0	6.0
MIR7725a-3'	72.7	62.5	300.7	353.9	277.7	248.9	255.5	255.5	258.5	259.5	258.5	263.5
MIR7725a-5'	4.5	5.5	2.3	5.5	26.3	24.9	2.5	2.5	5.5	6.5	5.5	10.5
MIR7725b-5'	13.8	4.6	8.5	2.0	5.5	7.2	3.0	3.0	6.0	7.0	6.0	11.0
MIR7726a-3'	11.6	5.5	5.6	9.5	6.2	8.5	3.0	3.0	6.0	7.0	6.0	11.0
MIR7726a-5'	2703.2	2213.1	2232.6	1761.1	3127.7	3414.1	2412.5	2412.5	2415.5	2416.5	2415.5	2420.5
MIR7726b-3'	34.5	23.6	63.1	63.1	52.3	67.1	48.5	48.5	51.5	52.5	51.5	56.5
MIR7726b-5'	5585.7	4669.8	4886.7	4886.7	5123.7	4886.7	4467.5	4467.5	4470.5	4471.5	4470.5	4475.5
MIR7727-3'	32.7	35.2	19.2	29.5	23.9	34.5	22.0	22.0	25.0	26.0	25.0	30.0
MIR7727-5'	58.0	60.4	101.2	88.7	80.0	80.0	75.0	75.0	78.0	79.0	78.0	83.0
MIR7728-3'	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.7	-2.5	-2.5	0.5	1.5	0.5	5.5
MIR7728-5'	36.4	41.1	38.7	41.5	53.5	38.7	37.0	37.0	40.0	41.0	40.0	45.0
MIR7729a,b-3'	41.7	42.6	67.0	55.0	43.1	62.4	45.0	45.0	48.0	49.0	48.0	53.0
MIR7729a,b-5'	178.8	165.5	176.7	202.1	153.5	108.2	121.5	121.5	124.5	125.5	124.5	129.5
MIR7730-3'	0.0	3.0	4.0	1.4	3.6	8.4	0.5	0.5	3.5	4.5	3.5	8.5
MIR7730-5'	6.0	12.9	16.0	7.2	42.8	18.6	10.0	10.0	13.0	14.0	13.0	18.0
MIR7731-3'	13345.7	19028.4	11607.2	13828.6	32345.1	50518.5	14678.0	14678.0	14681.0	14682.0	14681.0	14686.0

MIRNA/ Biblioteca	A1	A2	A3	A4	A5	A7	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR7731-5'	115.3	160.8	162.4	165.2	264.0	119.7	138.0	138.0	141.0	142.0	141.0	146.0
MIR7732-3'	388.6	191.0	169.8	192.7	217.0	192.7	187.5	187.5	190.5	191.5	190.5	195.5
MIR7732-5'	46.8	38.7	26.9	33.5	48.0	31.8	28.5	28.5	31.5	32.5	31.5	36.5
MIR7733-3'	6.4	9.4	4.6	1.4	10.2	13.7	5.0	5.0	8.0	9.0	8.0	13.0
MIR7733-5'	10.0	1.0	1.7	1.7	3.3	1.7	-0.5	-0.5	2.5	3.5	2.5	7.5
MIR7734-3'	23.2	20.4	26.2	32.5	20.9	14.1	15.5	15.5	18.5	19.5	18.5	23.5
MIR7734-5'	322.3	433.7	183.0	237.4	281.5	331.1	235.0	235.0	238.0	239.0	238.0	243.0
MIR7735-3'	23.4	19.8	19.3	21.9	38.7	97.7	18.0	18.0	21.0	22.0	21.0	26.0
MIR7735-5'	1.0	1.0	0.0	1.1	1.4	2.0	-2.5	-2.5	0.5	1.5	0.5	5.5
MIR7736-3'	20.4	23.0	23.1	9.5	58.7	47.1	17.0	17.0	20.0	21.0	20.0	25.0
MIR7736-5'	23.4	31.5	12.0	5.6	7.6	10.2	6.0	6.0	9.0	10.0	9.0	14.0
MIR7737-3'	34.7	29.3	13.7	34.5	34.5	26.9	21.5	21.5	24.5	25.5	24.5	29.5
MIR7737-5'	8.2	2.9	9.5	6.6	5.2	8.9	2.5	2.5	5.5	6.5	5.5	10.5
MIR7738-3'	7168.9	11454.1	8768.9	9854.4	9854.4	6614.3	7174.5	7174.5	7177.5	7178.5	7177.5	7182.5
MIR7738-5'	30.6	27.6	35.4	17.6	23.8	23.1	19.0	19.0	22.0	23.0	22.0	27.0
MIR7739-3'	5.0	7.5	3.3	7.6	5.2	6.3	2.0	2.0	5.0	6.0	5.0	10.0
MIR7739-5'	50.9	56.7	42.8	32.8	117.4	118.1	38.0	38.0	41.0	42.0	41.0	46.0
MIR7740-3'	125.8	234.9	64.1	70.3	67.1	147.8	76.0	76.0	79.0	80.0	79.0	84.0
MIR7740-5'	19.5	33.2	14.0	12.8	20.0	32.8	13.0	13.0	16.0	17.0	16.0	21.0
MIR7741-5'	15117.5	32009.3	7392.0	10570.5	11607.2	19231.7	10021.0	10021.0	10024.0	10025.0	10024.0	10029.0
MIR7742-3'	7.1	17.4	3.3	10.2	16.0	17.6	9.0	9.0	12.0	13.0	12.0	17.0
MIR7742-5'	8.6	5.4	7.6	1.0	0.0	2.7	0.0	0.0	3.0	4.0	3.0	8.0
MIR7743-3'	5.0	1.0	3.6	3.3	7.6	6.6	0.5	0.5	3.5	4.5	3.5	8.5
MIR7743-5'	456.1	595.7	791.7	672.7	703.1	820.8	674.5	674.5	677.5	678.5	677.5	682.5
MIR7744-3'	0.0	1.6	0.0	1.0	1.7	3.3	-2.0	-2.0	1.0	2.0	1.0	6.0
MIR7744-5'	193.5	229.9	232.5	207.0	331.1	308.7	206.0	206.0	209.0	210.0	209.0	214.0
MIR7745-3'	91.0	66.4	48.0	57.4	64.1	57.4	55.5	55.5	58.5	59.5	58.5	63.5
MIR7745-5'	81.0	117.4	62.8	86.9	114.2	69.6	78.5	78.5	81.5	82.5	81.5	86.5
MIR7746-3'	4.7	2.7	1.0	5.6	7.3	4.0	1.5	1.5	4.5	5.5	4.5	9.5
MIR7746-5'	15.7	6.1	1.0	2.7	4.6	0.0	1.0	1.0	4.0	5.0	4.0	9.0
MIR7747-3'	0.0	1.4	0.0	1.0	0.0	0.0	-3.0	-3.0	0.0	1.0	0.0	5.0
MIR7747-5'	3.3	1.1	37.4	56.8	0.0	4.6	1.5	1.5	4.5	5.5	4.5	9.5
MIR7748a-3'	175.2	261.1	198.2	187.8	232.5	300.7	182.0	182.0	185.0	186.0	185.0	190.0
MIR7748a-5'	0.0	0.0	0.0	0.7	1.0	0.0	-2.5	-2.5	0.5	1.5	0.5	5.5
MIR7748b-3'	7.4	8.3	2.0	8.9	7.6	5.6	4.0	4.0	7.0	8.0	7.0	12.0
MIR7748b-5'	197.2	246.5	165.2	156.5	336.3	323.9	167.5	167.5	170.5	171.5	170.5	175.5
MIR7749-3'	13.4	10.0	7.6	7.6	28.8	53.5	7.0	7.0	10.0	11.0	10.0	15.0
MIR7749-5'	1035.8	1175.5	499.1	463.1	601.9	1164.1	588.0	588.0	591.0	592.0	591.0	596.0
MIR7750-3'	105.9	94.5	32.5	42.8	113.1	112.1	66.0	66.0	69.0	70.0	69.0	74.0
MIR7750-5'	8.3	4.6	2.7	8.4	39.0	20.9	5.5	5.5	8.5	9.5	8.5	13.5
MIR7751-3'	29.7	26.6	20.9	14.1	16.1	41.5	17.5	17.5	20.5	21.5	20.5	25.5
MIR7751-5'	3.3	10.2	0.0	1.0	1.7	3.3	-2.0	-2.0	1.0	2.0	1.0	6.0
MIR7752-3'	145.9	127.3	66.4	112.1	183.0	133.6	111.0	111.0	114.0	115.0	114.0	119.0
MIR7752-5'	1.1	0.0	6.3	3.0	10.2	3.3	0.5	0.5	3.5	4.5	3.5	8.5
MIR7753-3'	0.9	0.9	1.4	1.0	7.2	18.2	0.0	0.0	3.0	4.0	3.0	8.0
MIR7753-5'	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	1.0	-2.5	-2.5	0.5	1.5	0.5	5.5
MIR7754-3'	1202.8	1273.0	414.0	512.4	463.1	749.0	649.5	649.5	652.5	653.5	652.5	657.5
MIR7754-5'	0.0	1.4	4.0	7.2	4.6	6.2	1.5	1.5	4.5	5.5	4.5	9.5
MIR7755-3'	65.4	73.9	61.1	72.1	135.3	106.3	64.0	64.0	67.0	68.0	67.0	72.0
MIR7755-5'	22.5	28.2	34.5	48.0	55.0	35.4	33.5	33.5	36.5	37.5	36.5	41.5
MIR7756-3'	49.4	42.9	24.0	24.9	26.9	48.7	24.0	24.0	27.0	28.0	27.0	32.0
MIR7756-5'	0.0	0.0	1.0	2.0	1.7	1.0	-1.0	-1.0	2.0	3.0	2.0	7.0
MIR7757-5'	4726.4	13618.9	5123.7	5012.7	37782.0	4222.4	5443.0	5443.0	5446.0	5447.0	5446.0	5451.0
MIR7758-3'	528.0	873.9	537.0	381.9	396.9	272.3	404.0	404.0	407.0	408.0	407.0	412.0
MIR7758-5'	16.6	14.0	223.9	147.8	26.2	56.1	39.5	39.5	42.5	43.5	42.5	47.5
MIR7759-3'	42.0	11.0	10.8	10.1	43.4	7.6	8.0	8.0	11.0	12.0	11.0	16.0
MIR7759-5'	67.9	55.5	56.1	35.8	105.5	49.7	46.0	46.0	49.0	50.0	49.0	54.0
MIR7760-3'	88.6	89.9	35.8	50.7	57.4	114.2	55.0	55.0	58.0	59.0	58.0	63.0
MIR7760-5'	53.5	55.5	95.4	118.1	101.2	153.5	82.5	82.5	85.5	86.5	85.5	90.5
MIR7761-3'	75.5	66.4	41.5	46.4	63.1	55.0	47.5	47.5	50.5	51.5	50.5	55.5
MIR7761-5'	0.0	0.0	1.0	2.3	1.0	1.0	-1.0	-1.0	2.0	3.0	2.0	7.0
MIR7762-3'	86.3	104.5	83.0	128.1	147.8	187.8	97.5	97.5	100.5	101.5	100.5	105.5
MIR7762-5'	130.8	132.6	144.4	162.4	185.7	162.4	151.5	151.5	154.5	155.5	154.5	159.5
MIR7763-3'	161.5	116.7	57.4	48.7	103.5	50.7	65.5	65.5	68.5	69.5	68.5	73.5
MIR7763-5'	76.2	121.3	52.3	66.4	93.3	128.1	70.0	70.0	73.0	74.0	73.0	78.0
MIR7764-3'	103.0	146.4	58.7	105.5	88.7	141.8	86.5	86.5	89.5	90.5	89.5	94.5
MIR7764-5'	6.1	7.1	0.0	1.0	5.6	3.3	0.0	0.0	3.0	4.0	3.0	8.0
MIR7765-3'	4.5	18.0	114.2	122.0	35.8	35.8	31.5	31.5	34.5	35.5	34.5	39.5
MIR7765-5'	18.8	9.4	17.0	20.0	8.9	25.9	12.5	12.5	15.5	16.5	15.5	20.5
MIR7766-3'	16.6	13.2	12.1	8.5	14.1	14.7	8.5	8.5	11.5	12.5	11.5	16.5
MIR7766-5'	43.9	44.3	39.0	35.4	23.1	35.5	29.5	29.5	32.5	33.5	32.5	37.5
MIR7767-3'	0.0	0.0	1.0	0.0	1.7	1.0	-1.0	-1.0	2.0	3.0	2.0	7.0
MIR7767-5'	9.2	1.6	8.9	4.9	9.4	16.0	6.0	6.0	9.0	10.0	9.0	14.0
MIR7768a,b-3'	904.9	783.7	487.2	396.9	672.7	1761.1	527.5	527.5	530.5	531.5	530.5	535.5
MIR7768a,b-5'	412.5	363.0	106.3	133.6	454.7	237.4	248.5	248.5	251.5	252.5	251.5	256.5
MIR7769-3'	96.9	71.4	105.5	108.2	248.9	227.0	109.0	109.0	112.0	113.0	112.0	117.0

MIRNA/ Biblioteca	A1	A2	A3	A4	A5	A7	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR7769-5'	1.4	4.8	0.0	0.0	3.0	1.0	-1.5	-1.5	1.5	2.5	1.5	6.5
MIR7770-3'	24.4	19.8	18.2	12.4	16.0	13.1	12.5	12.5	15.5	16.5	15.5	20.5
MIR7770-5'	35.0	32.2	21.9	23.8	31.4	44.8	22.0	22.0	25.0	26.0	25.0	30.0
MIR7771-3'	217.7	292.1	272.3	253.5	414.0	396.9	257.5	257.5	260.5	261.5	260.5	265.5
MIR7771-5'	3.3	0.0	0.0	1.0	3.0	1.0	-1.5	-1.5	1.5	2.5	1.5	6.5
MIR7772-3'	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	-2.5	-2.5	0.5	1.5	0.5	5.5
MIR7772-5'	7.0	7.2	14.1	13.4	24.9	46.4	11.5	11.5	14.5	15.5	14.5	19.5
MIR7773-3'	1723.3	1156.3	687.7	0.0	0.7	0.4	355.5	355.5	358.5	359.5	358.5	363.5
MIR7773-5'	0.0	0.0	23.2	60.5	15.3	12.4	8.0	8.0	11.0	12.0	11.0	16.0
MIR7774-3'	12.0	10.7	12.4	8.5	7.2	26.2	7.5	7.5	10.5	11.5	10.5	15.5
MIR7774-5'	231.4	315.9	156.5	198.2	198.2	336.3	187.0	187.0	190.0	191.0	190.0	195.0
MIR7775-3'	33.7	24.7	23.9	23.2	33.5	21.9	21.0	21.0	24.0	25.0	24.0	29.0
MIR7775-5'	8.3	8.8	9.8	15.3	17.0	15.6	8.0	8.0	11.0	12.0	11.0	16.0
MIR7776-5'	98.7	58.0	31.8	19.2	29.5	23.2	27.0	27.0	30.0	31.0	30.0	35.0
MIR7777-5'	63.6	62.2	43.4	56.1	109.8	76.6	49.5	49.5	52.5	53.5	52.5	57.5
MIR7778-3'	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.3	-3.0	-3.0	0.0	1.0	0.0	5.0
MIR7778-5'	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	1.0	-2.0	-2.0	1.0	2.0	1.0	6.0
MIR7779-3'	18.7	2.9	5.5	1.0	21.9	24.0	6.0	6.0	9.0	10.0	9.0	14.0
MIR7779-5'	446.1	403.5	135.3	153.5	313.3	454.7	267.5	267.5	270.5	271.5	270.5	275.5
MIR7780-3'	471.2	392.0	295.5	248.9	244.2	523.1	264.5	264.5	267.5	268.5	267.5	272.5
MIR7780-5'	0.0	0.0	1.0	0.0	3.0	2.3	-0.5	-0.5	2.5	3.5	2.5	7.5
MIR7781-3'	1.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-3.0	-3.0	0.0	1.0	0.0	5.0
MIR7781-5'	40.4	35.5	17.0	12.1	77.4	105.5	24.0	24.0	27.0	28.0	27.0	32.0
MIR7782-3'	2298.3	1304.9	50518.5	37782.0	2096.6	1393.3	1444.0	1444.0	1447.0	1448.0	1447.0	1452.0
MIR7782-5'	84.6	54.4	523.1	399.2	62.8	56.1	56.5	56.5	59.5	60.5	59.5	64.5
MIR7783-3'	5.4	3.3	421.1	454.7	8.5	9.4	4.0	4.0	7.0	8.0	7.0	12.0
MIR7783-5'	0.0	3.3	2.3	1.7	3.3	2.3	0.0	0.0	3.0	4.0	3.0	8.0
MIR7784a,b-3'	656.4	696.6	396.9	313.3	421.1	479.8	419.5	419.5	422.5	423.5	422.5	427.5
MIR7784a,b-5'	116.1	181.3	80.0	89.5	122.0	109.8	92.0	92.0	95.0	96.0	95.0	100.0
MIR7785-3'	26.3	51.7	24.9	28.8	46.4	86.9	29.5	29.5	32.5	33.5	32.5	37.5
MIR7785-5'	17.1	16.8	11.1	23.9	13.7	17.0	10.0	10.0	13.0	14.0	13.0	18.0
MIR7786-3'	52.1	26.1	47.1	19.3	50.7	23.9	25.5	25.5	28.5	29.5	28.5	33.5
MIR7786-5'	1.6	1.9	3.3	3.3	3.3	1.0	0.5	0.5	3.5	4.5	3.5	8.5
MIR7787-3'	4.5	2.4	5.6	10.2	6.2	5.5	2.5	2.5	5.5	6.5	5.5	10.5
MIR7787-5'	1.9	0.0	0.7	0.0	0.0	1.0	-2.5	-2.5	0.5	1.5	0.5	5.5
MIR827-3'	293.0	410.6	187.8	272.3	381.9	185.7	238.5	238.5	241.5	242.5	241.5	246.5
MIR827-5'	687.8	950.6	313.3	0.0	0.4	0.0	142.0	142.0	145.0	146.0	145.0	150.0
MIR845-5'	7.1	7.5	40.0	44.8	4.0	10.2	4.5	4.5	7.5	8.5	7.5	12.5
MIR9480b-5'	9501.6	9698.9	2577.5	2772.2	3414.1	2577.5	3096.5	3096.5	3099.5	3100.5	3099.5	3104.5
MIR9481b-3'	0.9	0.9	1.0	0.0	0.0	0.0	-2.5	-2.5	0.5	1.5	0.5	5.5
MIR9482-3'	0.0	0.0	7.3	4.9	0.0	1.0	0.0	0.0	3.0	4.0	3.0	8.0
MIR9483b-5'	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.7	-3.0	-3.0	0.0	1.0	0.0	5.0
MIR9484-5'	1291.7	915.9	407.2	421.1	237.4	253.5	429.0	429.0	432.0	433.0	432.0	437.0
MIR9485-5'	158.6	152.1	89.5	93.3	66.4	39.0	87.5	87.5	90.5	91.5	90.5	95.5
MIR9486a-3'	27.3	42.9	10.2	23.1	32.5	61.1	23.5	23.5	26.5	27.5	26.5	31.5
MIR9486b-3'	25.3	45.3	25.9	20.0	28.5	31.4	23.0	23.0	26.0	27.0	26.0	31.0
MIR9487-3'	14.4	15.9	3.0	1.0	266.7	319.4	10.0	10.0	13.0	14.0	13.0	18.0
MIR9488-5'	13.4	13.9	16.0	16.0	18.9	15.3	10.5	10.5	13.5	14.5	13.5	18.5
MIR9489-5'	65.4	90.9	49.7	48.0	56.1	72.1	46.5	46.5	49.5	50.5	49.5	54.5
MIR9490-5'	633.4	519.9	882.7	601.9	2053.4	1871.5	814.5	814.5	817.5	818.5	817.5	822.5
MIR9491-5'	110.7	100.3	16.1	16.1	25.6	17.0	17.5	17.5	20.5	21.5	20.5	25.5
MIR9492-5'	14.9	13.6	7.2	2.3	6.2	3.6	3.5	3.5	6.5	7.5	6.5	11.5
MIR9493-3'	163.2	134.3	1164.1	1310.2	202.1	176.7	191.5	191.5	194.5	195.5	194.5	199.5
MIR9494-3'	58.9	37.0	48.0	49.7	27.9	37.4	35.0	35.0	38.0	39.0	38.0	43.0
MIR9495-5'	504.5	476.7	192.7	183.0	218.4	198.2	205.0	205.0	208.0	209.0	208.0	213.0
MIR9496-5'	165.8	168.1	35.5	45.1	40.0	44.1	44.0	44.0	47.0	48.0	47.0	52.0
MIR9497-5'	18.8	8.4	6.2	5.6	12.8	3.0	4.0	4.0	7.0	8.0	7.0	12.0
MIR9498-5'	1.6	0.0	22.2	9.8	0.0	0.0	0.5	0.5	3.5	4.5	3.5	8.5
MIR9499-5'	54.6	47.5	18.6	12.0	32.8	45.7	29.0	29.0	32.0	33.0	32.0	37.0

TMM/ RLE

MIRNA/ Biblioteca	A1	A2	A3	A4	A5	A7	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR1122-5'	193.0	149.0	461.0	475.0	509.0	469.0	193.0	149.0	461.0	475.0	509.0	469.0
MIR1127-5'	0.0	0.0	3.5	1.2	0.0	0.9	0.0	0.0	3.7	1.2	0.0	1.0
MIR1135-3'	102.8	95.3	155.0	155.2	391.4	376.4	99.4	92.1	162.7	148.4	401.6	390.9
MIR1139-3'	0.0	0.0	0.0	3.7	2.4	1.9	0.0	0.0	0.0	3.6	2.4	2.0
MIR1432-5'	418.5	386.5	684.4	420.9	1164.6	683.7	404.7	373.5	718.5	402.5	1195.1	710.2
MIR156a-3'	2.0	4.0	38.0	26.0	4.0	5.0	2.0	4.0	38.0	26.0	4.0	5.0
MIR156b,c,d	1675.9	1920.3	42584.8	54056.9	1328.3	1064.8	1620.6	1855.8	44706.2	51694.7	1363.0	1106.0
MIR156b-3'	115.5	213.2	77.5	125.4	87.8	192.9	111.6	206.0	81.3	119.9	90.1	200.4
MIR156d-3'	501.5	476.6	171.4	190.0	232.5	330.0	485.0	460.6	179.9	181.7	238.5	342.8
MIR156e-3'	0.0	3.0	5.0	4.0	18.0	7.0	0.0	3.0	5.0	4.0	18.0	7.0

MIRNA/ Biblioteca	A1	A2	A3	A4	A5	A7	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR156f-3'	1.0	0.0	19.0	29.0	1.0	4.0	1.0	0.0	19.0	29.0	1.0	4.0
MIR156g,i-3'	310.3	379.6	138.5	219.8	107.9	245.9	300.1	366.8	145.4	210.2	110.7	255.4
MIR156h-3'	31.0	80.0	26.0	80.0	61.0	169.0	31.0	80.0	26.0	80.0	61.0	169.0
MIR156j-5'	32.5	26.0	51.7	74.5	24.9	15.1	31.4	25.1	54.2	71.2	25.6	15.7
MIR159a-3'	17184.0	22542.0	58608.0	85989.0	22804.0	40536.0	17184.0	22542.0	58608.0	85989.0	22804.0	40536.0
MIR159a-5'	0.0	3.0	11.0	12.0	12.0	11.0	0.0	3.0	11.0	12.0	12.0	11.0
MIR159b-5'	2746.0	1165.0	6715.0	3566.0	2864.0	6251.0	2746.0	1165.0	6715.0	3566.0	2864.0	6251.0
MIR159c-3'	1289.0	1839.0	4808.0	4679.0	2005.0	3126.0	1289.0	1839.0	4808.0	4679.0	2005.0	3126.0
MIR160a,b,c	851.0	1150.0	1198.0	1215.0	1269.0	1173.0	851.0	1150.0	1198.0	1215.0	1269.0	1173.0
MIR160a-3'	8.0	18.0	5.0	6.0	7.0	13.0	8.0	18.0	5.0	6.0	7.0	13.0
MIR160b,c-3'	1.0	2.0	15.0	19.0	2.0	2.0	1.0	2.0	15.0	19.0	2.0	2.0
MIR160d-3'	3.6	5.2	4.7	6.2	10.7	4.7	3.5	5.0	4.9	5.9	11.0	4.9
MIR160e-3'	389.6	332.8	237.1	227.2	138.8	180.6	376.8	321.6	248.9	217.3	142.4	187.6
MIR160e-5'	3504.0	2315.0	4223.0	2942.0	2870.0	2988.0	3504.0	2315.0	4223.0	2942.0	2870.0	2988.0
MIR160f-3'	9.0	0.0	1.2	0.0	1.2	0.0	8.7	0.0	1.2	0.0	1.2	0.0
MIR162-3'	3.6	1.7	1.2	0.0	2.4	0.0	3.5	1.7	1.2	0.0	2.4	0.0
MIR164a,b,e	4109.4	4799.0	4399.8	2994.6	5122.3	3001.6	3974.0	4637.7	4619.0	2863.7	5256.1	3117.7
MIR164a-3'	63.1	52.0	61.0	33.5	99.6	49.2	61.1	50.2	64.1	32.1	102.2	51.1
MIR164c-3'	8.0	5.0	3.0	3.0	6.0	4.0	8.0	5.0	3.0	3.0	6.0	4.0
MIR164c-5'	200.0	177.0	355.0	291.0	455.0	280.0	200.0	177.0	355.0	291.0	455.0	280.0
MIR164f-5'	70.0	114.0	63.0	65.0	72.0	91.0	70.0	114.0	63.0	65.0	72.0	91.0
MIR166a-5'	2935.0	3584.1	2337.3	1892.1	2243.9	2179.8	2838.3	3463.6	2453.7	1809.4	2302.5	2264.1
MIR166ab,c	487223.0	215847.0	708137.0	454896.0	352397.0	611126.0	487223.0	215847.0	708137.0	454896.0	352397.0	611126.0
MIR166b-5'	10523.0	6500.0	9153.0	8438.0	9475.0	11034.0	10523.0	6500.0	9153.0	8438.0	9475.0	11034.0
MIR166c-5'	34395.5	23416.3	7456.7	11464.4	10388.0	15188.4	33262.6	22629.1	7828.2	10963.4	10659.5	15776.0
MIR166d-5'	2189.0	1206.0	1054.0	1483.0	936.0	1208.0	2189.0	1206.0	1054.0	1483.0	936.0	1208.0
MIR166e-3'	2399.0	1180.0	4052.0	2665.0	2091.0	3179.0	2399.0	1180.0	4052.0	2665.0	2091.0	3179.0
MIR166e-5'	4351.1	3715.8	3960.8	4388.9	5809.0	12162.2	4207.8	3590.9	4158.1	4197.1	5960.8	12632.8
MIR166f-3'	9532.0	4146.0	44367.0	25599.0	13413.0	37264.0	9532.0	4146.0	44367.0	25599.0	13413.0	37264.0
MIR166g-3'	1255.5	1403.8	5495.1	6612.5	746.0	827.5	1214.2	1356.6	5768.8	6323.5	765.5	859.5
MIR166g-5'	14.4	6.9	2.3	7.4	20.2	2.8	14.0	6.7	2.5	7.1	20.7	2.9
MIR166h-3'	9315.5	6150.9	5603.1	5567.1	5167.3	5467.9	9008.6	5944.1	5882.2	5323.8	5302.4	5679.4
MIR166h-5'	1228.5	745.2	409.7	563.7	377.1	353.7	1188.0	720.2	430.1	539.0	387.0	367.4
MIR166i-5'	27.0	11.0	17.0	24.0	14.0	25.0	27.0	11.0	17.0	24.0	14.0	25.0
MIR166j-5'	12651.0	8303.4	8080.0	7315.2	6345.0	5896.2	12234.2	8024.3	8482.6	6995.5	6510.9	6124.4
MIR167a,b,f,i	146.1	143.8	5627.7	4840.8	79.5	70.0	141.3	139.0	5908.1	4629.2	81.5	72.7
MIR167c,d,e	10361.0	9898.0	729063.0	674268.0	6432.0	14235.0	10361.0	9898.0	729063.0	674268.0	6432.0	14235.0
MIR167c-3'	5.4	13.9	8.2	8.7	10.7	7.6	5.2	13.4	8.6	8.3	11.0	7.9
MIR167d-3'	187.6	74.5	116.2	83.2	93.7	268.6	181.4	72.0	122.0	79.5	96.1	279.0
MIR167e-3'	0.0	1.7	125.6	206.1	87.8	98.3	0.0	1.7	131.9	197.1	90.1	102.2
MIR168-3'	2545.3	3383.1	2088.4	2946.2	2827.4	3793.1	2461.5	3269.3	2192.4	2817.4	2901.3	3939.8
MIR168-5'	520086.0	398726.0	696007.0	575275.0	530990.0	964323.0	520086.0	398726.0	696007.0	575275.0	530990.0	964323.0
MIR169a-3'	212.9	114.4	173.7	162.6	172.0	222.2	205.9	110.5	182.4	155.5	176.5	230.8
MIR169a-5'	13.0	6.0	255.0	224.0	4.0	4.0	13.0	6.0	255.0	224.0	4.0	4.0
MIR169b-5'	12.6	17.3	403.8	491.7	1.2	3.8	12.2	16.7	423.9	470.2	1.2	3.9
MIR169c,f-5'	256.2	171.6	9350.2	10060.2	24.9	71.9	247.7	165.8	9816.0	9620.6	25.6	74.7
MIR169c-3'	2361.3	3116.2	784.2	956.0	213.5	793.4	2283.6	3011.4	823.2	914.2	219.1	824.1
MIR169d-5'	8.0	24.0	5.0	13.0	3.0	9.0	8.0	24.0	5.0	13.0	3.0	9.0
MIR169e-3'	0.0	0.0	4.7	1.2	0.0	0.0	0.0	0.0	4.9	1.2	0.0	0.0
MIR169g,e-5'	0.0	0.0	11.7	14.9	0.0	0.0	0.0	0.0	12.3	14.2	0.0	0.0
MIR169h,n-5'	1.0	1.0	10.0	17.0	0.0	0.0	1.0	1.0	10.0	17.0	0.0	0.0
MIR169h-3'	22.0	16.0	5.0	8.0	1.0	0.0	22.0	16.0	5.0	8.0	1.0	0.0
MIR169i-5'	61.3	60.7	8.2	5.0	20.2	5.7	59.3	58.6	8.6	4.7	20.7	5.9
MIR169j-3'	249.0	149.0	34.0	69.0	36.0	27.0	249.0	149.0	34.0	69.0	36.0	27.0
MIR169j-5'	32.5	38.1	17.6	17.4	7.1	1.9	31.4	36.8	18.5	16.6	7.3	2.0
MIR169k-3'	44.0	33.0	4.0	7.0	11.0	0.0	44.0	33.0	4.0	7.0	11.0	0.0
MIR169k-5'	104.0	58.0	18.0	27.0	10.0	6.0	104.0	58.0	18.0	27.0	10.0	6.0
MIR169l-5'	23.5	19.1	17.6	18.6	11.9	14.2	22.7	18.4	18.5	17.8	12.2	14.7
MIR169m-5'	3.0	5.0	121.0	101.0	0.0	3.0	3.0	5.0	121.0	101.0	0.0	3.0
MIR171a-5'	0.0	0.0	0.0	0.0	1.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.2	0.0
MIR171b,c,d	230.0	362.0	498.0	592.0	893.0	740.0	230.0	362.0	498.0	592.0	893.0	740.0
MIR171c-5'	7.2	17.3	10.6	5.0	11.9	6.6	7.0	16.7	11.1	4.7	12.2	6.9
MIR171d-5'	7161.6	4429.9	3034.6	2692.9	1832.3	2093.7	6925.7	4281.0	3185.7	2575.2	1880.2	2174.7
MIR171f-3'	1.8	8.7	15.3	5.0	19.0	15.1	1.7	8.4	16.0	4.7	19.5	15.7
MIR172a-3'	2.0	0.0	176.0	156.0	7.0	7.0	2.0	0.0	176.0	156.0	7.0	7.0
MIR172a-5'	132.0	72.0	172.0	119.0	262.0	185.0	132.0	72.0	172.0	119.0	262.0	185.0
MIR172b-3'	0.0	0.0	5.0	9.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.0	9.0	0.0	0.0
MIR172d-3'	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
MIR1878-3'	352.0	369.0	726.0	996.0	897.0	881.0	352.0	369.0	726.0	996.0	897.0	881.0
MIR1878-5'	5.4	6.9	7.0	16.1	13.0	16.1	5.2	6.7	7.4	15.4	13.4	16.7
MIR2118a-3'	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0
MIR2118b-5'	1.0	0.0	6.0	22.0	0.0	0.0	1.0	0.0	6.0	22.0	0.0	0.0
MIR2275a-3'	3.6	15.6	1.2	6.2	13.0	4.7	3.5	15.1	1.2	5.9	13.4	4.9
MIR2275b-3'	4.0	3.0	6.0	2.0	5.0	0.0	4.0	3.0	6.0	2.0	5.0	0.0
MIR2275c-3'	1.0	5.0	4.0	6.0	12.0	7.0	1.0	5.0	4.0	6.0	12.0	7.0
MIR319a-5'	0.0	0.0	2.0	0.0	1.0	2.0	0.0	0.0	2.0	0.0	1.0	2.0

MIRNA/ Biblioteca	A1	A2	A3	A4	A5	A7	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR319b-3'	756276.	724101.	635587.9	832939.6	1078126.	824729.7	731364.	699759.4	667250.2	796540.5	1106304.4	856636.2
MIR319b-5'	12.6	3.5	4.7	9.9	9.5	5.7	12.2	3.3	4.9	9.5	9.7	5.9
MIR390a-3'	45.1	38.1	32.9	23.6	38.0	18.9	43.6	36.8	34.5	22.6	38.9	19.6
MIR390a-5'	4.0	8.0	14.0	137.0	10.0	21.0	4.0	8.0	14.0	137.0	10.0	21.0
MIR393a,b-5'	241.7	313.7	18105.3	28474.9	1121.9	814.2	233.8	303.2	19007.2	27230.5	1151.3	845.7
MIR393b-3'	2822.0	2382.0	5589.0	4875.0	6666.0	7699.0	2822.0	2382.0	5589.0	4875.0	6666.0	7699.0
MIR394-5'	330.0	84.0	43.0	45.0	248.0	81.0	330.0	84.0	43.0	45.0	248.0	81.0
MIR395a,b,c	966.0	1050.0	1190.0	3246.0	29.0	71.0	966.0	1050.0	1190.0	3246.0	29.0	71.0
MIR395c,k-5'	9.0	27.0	0.0	5.0	0.0	2.0	9.0	27.0	0.0	5.0	0.0	2.0
MIR395d-3'	663.0	1589.0	237.0	621.0	471.0	406.0	663.0	1589.0	237.0	621.0	471.0	406.0
MIR395d-5'	0.0	0.0	5.0	26.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.0	26.0	0.0	0.0
MIR395e-5'	10.0	18.0	2.0	4.0	1.0	1.0	10.0	18.0	2.0	4.0	1.0	1.0
MIR395f-5'	1.8	1.7	0.0	1.2	1.2	0.9	1.7	1.7	0.0	1.2	1.2	1.0
MIR395g-5'	16.0	23.0	3.0	3.0	0.0	0.0	16.0	23.0	3.0	3.0	0.0	0.0
MIR395h,i-5'	16.2	31.2	0.0	6.2	1.2	0.0	15.7	30.1	0.0	5.9	1.2	0.0
MIR395j-5'	3.6	3.5	1.2	1.2	0.0	0.0	3.5	3.3	1.2	1.2	0.0	0.0
MIR395n-5'	2.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MIR395o-5'	0.0	1.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.7	0.0	0.0	0.0	0.0
MIR395p-3'	1037.3	1520.0	96.3	226.0	36.8	48.2	1003.1	1468.9	101.1	216.1	37.7	50.1
MIR395p-5'	1.8	8.7	0.0	0.0	0.0	0.0	1.7	8.4	0.0	0.0	0.0	0.0
MIR396a,b-5'	741404.	861460.	1047231.	1055538.	953463.0	1512027.	741404.	861460.0	1047231.0	1055538.0	953463.0	1512027.0
MIR396a-3'	2336.1	3206.3	2265.7	1986.5	4218.5	5627.7	2259.1	3098.5	2378.5	1899.7	4328.8	5845.4
MIR396b-3'	232.0	98.0	46.0	31.0	35.0	96.0	232.0	98.0	46.0	31.0	35.0	96.0
MIR396c,d-3'	764.0	353.0	367.0	375.0	606.0	1413.0	764.0	353.0	367.0	375.0	606.0	1413.0
MIR396c,d-5'	6741.3	6138.7	8282.0	10101.2	6741.1	7368.6	6519.2	5932.4	8694.5	9659.8	6917.3	7653.7
MIR396e-3'	5232.0	2944.0	1667.0	1511.0	1807.0	5680.0	5232.0	2944.0	1667.0	1511.0	1807.0	5680.0
MIR396e-5'	75038.0	50140.0	110197.0	91270.0	51899.0	88562.0	75038.0	50140.0	110197.0	91270.0	51899.0	88562.0
MIR397a-5'	104.6	729.6	4553.6	16665.3	18425.5	30649.1	101.2	705.1	4780.4	15937.0	18907.0	31834.8
MIR397b-3'	32.0	150.0	86.0	234.0	161.0	443.0	32.0	150.0	86.0	234.0	161.0	443.0
MIR397b-5'	101436.	592603.	305864.0	1920955.	1029071.	2724811.	101436.	592603.0	305864.0	1920955.0	1029071.0	2724811.0
MIR398a-3'	86.6	246.1	86.9	172.6	106.7	285.6	83.7	237.8	91.2	165.0	109.5	296.6
MIR398b-5'	41.0	328.0	107.0	3155.0	3706.0	12020.0	41.0	328.0	107.0	3155.0	3706.0	12020.0
MIR399a-3'	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MIR399b,c-3'	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0
MIR399d-3'	16.2	13.9	3.5	3.7	8.3	4.7	15.7	13.4	3.7	3.6	8.5	4.9
MIR408-3'	1988.0	884.0	567.0	548.0	409.0	416.0	1988.0	884.0	567.0	548.0	409.0	416.0
MIR408-5'	21.6	74.5	1709.2	5589.4	19.0	158.9	20.9	72.0	1794.4	5345.2	19.5	165.0
MIR437-3'	1717.3	6286.1	2026.2	8746.7	3273.3	10288.9	1660.8	6074.7	2127.1	8364.5	3358.9	10686.9
MIR444a-3'	0.0	0.0	0.0	2.5	10.7	8.5	0.0	0.0	0.0	2.4	11.0	8.8
MIR444b-3'	0.0	0.0	1.0	1.0	2.0	1.0	0.0	0.0	1.0	1.0	2.0	1.0
MIR444c,d-3'	225.5	355.3	400.3	653.1	755.5	383.9	218.1	343.3	420.2	624.5	775.2	398.8
MIR5049-3'	1321.0	1618.0	2949.0	2623.0	3613.0	4592.0	1321.0	1618.0	2949.0	2623.0	3613.0	4592.0
MIR5049-5'	3070.3	2733.1	3888.0	3804.1	1580.9	1334.3	2969.2	2641.3	4081.7	3637.9	1622.2	1386.0
MIR5054-3'	63.1	27.7	82.2	57.1	55.7	37.8	61.1	26.8	86.3	54.6	57.2	39.3
MIR5056-5'	17.0	6.0	13.0	23.0	21.0	54.0	17.0	6.0	13.0	23.0	21.0	54.0
MIR5059-5'	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
MIR5061-3'	0.0	0.0	0.0	1.0	2.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	2.0	1.0
MIR5062a-5'	0.0	1.0	2.0	1.0	0.0	2.0	0.0	1.0	2.0	1.0	0.0	2.0
MIR5063-3'	10.0	7.0	7.0	1.0	1.0	7.0	10.0	7.0	7.0	1.0	1.0	7.0
MIR5065-5'	0.0	0.0	4.7	0.0	1.2	0.0	0.0	0.0	4.9	0.0	1.2	0.0
MIR5066-5'	0.0	1.0	2.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	2.0	0.0	1.0	0.0
MIR5067-3'	37.9	45.1	64.6	62.1	148.2	109.7	36.6	43.5	67.8	59.4	152.1	113.9
MIR5068-5'	10.8	15.6	17.6	19.9	87.8	53.9	10.5	15.1	18.5	19.0	90.1	56.0
MIR5070-3'	36.1	34.7	23.5	26.1	47.4	65.3	34.9	33.5	24.6	24.9	48.7	67.8
MIR5163a-3'	188.0	174.0	301.0	255.0	268.0	519.0	188.0	174.0	301.0	255.0	268.0	519.0
MIR5163a-5'	983.1	545.9	12042.0	12352.1	575.2	246.8	950.8	527.6	12641.9	11812.4	590.2	256.4
MIR5163b-3'	2.0	3.0	8.0	4.0	4.0	1.0	2.0	3.0	8.0	4.0	4.0	1.0
MIR5163b-5'	12230.6	6859.7	17470.2	12920.8	11238.4	3927.4	11827.8	6629.1	18340.5	12356.1	11532.1	4079.3
MIR5164-5'	6.0	5.0	9.0	15.0	8.0	14.0	6.0	5.0	9.0	15.0	8.0	14.0
MIR5165-3'	38.0	59.0	71.0	80.0	97.0	139.0	38.0	59.0	71.0	80.0	97.0	139.0
MIR5165-5'	281.4	227.0	110.3	99.3	91.3	100.2	272.1	219.4	115.8	95.0	93.7	104.1
MIR5166-5'	1.8	1.7	0.0	0.0	1.2	0.9	1.7	1.7	0.0	0.0	1.2	1.0
MIR5167a-3'	373.4	247.8	166.7	141.5	70.0	43.5	361.1	239.5	175.0	135.4	71.8	45.2
MIR5167a-5'	399.0	336.0	184.0	216.0	234.0	331.0	399.0	336.0	184.0	216.0	234.0	331.0
MIR5167b-3'	224.0	208.0	194.0	294.0	383.0	326.0	224.0	208.0	194.0	294.0	383.0	326.0
MIR5167b-5'	9.0	12.0	9.0	9.0	5.0	20.0	9.0	12.0	9.0	9.0	5.0	20.0
MIR5169a,b-5'	12.0	13.0	230.0	362.0	9.0	9.0	12.0	13.0	230.0	362.0	9.0	9.0
MIR5170-3'	28.0	39.0	126.0	150.0	143.0	130.0	28.0	39.0	126.0	150.0	143.0	130.0
MIR5171a,b-5'	531.0	413.0	1906.0	1955.0	750.0	966.0	531.0	413.0	1906.0	1955.0	750.0	966.0
MIR5172-3'	2206.2	1091.9	2192.9	1519.7	550.3	697.9	2133.5	1055.2	2302.1	1453.2	564.7	724.9
MIR5172-5'	185.0	178.0	319.0	366.0	762.0	1150.0	185.0	178.0	319.0	366.0	762.0	1150.0
MIR5173-3'	21.6	20.8	14.1	9.9	17.8	11.3	20.9	20.1	14.8	9.5	18.3	11.8
MIR5173-5'	54.1	38.1	34.0	45.9	54.6	33.1	52.3	36.8	35.7	43.9	56.0	34.4
MIR5174a-5'	20.0	17.0	36.0	33.0	38.0	57.0	20.0	17.0	36.0	33.0	38.0	57.0
MIR5174b-3'	144.0	83.0	526.0	399.0	219.0	407.0	144.0	83.0	526.0	399.0	219.0	407.0
MIR5174b-5'	95.6	91.9	129.1	104.3	61.7	121.0	92.5	88.8	135.6	99.7	63.3	125.7

MIRNA/ Biblioteca	A1	A2	A3	A4	A5	A7	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR5174c-3'	250.0	280.0	186.0	222.0	265.0	485.0	250.0	280.0	186.0	222.0	265.0	485.0
MIR5174c-5'	3.6	3.5	4.7	6.2	0.0	3.8	3.5	3.3	4.9	5.9	0.0	3.9
MIR5174d-3'	176.0	216.0	853.0	1045.0	479.0	705.0	176.0	216.0	853.0	1045.0	479.0	705.0
MIR5174d-5'	44.0	46.0	79.0	63.0	51.0	91.0	44.0	46.0	79.0	63.0	51.0	91.0
MIR5174e-5'	6.0	2.0	61.0	34.0	6.0	10.0	6.0	2.0	61.0	34.0	6.0	10.0
MIR5174f-5'	37.0	52.0	43.0	59.0	57.0	72.0	37.0	52.0	43.0	59.0	57.0	72.0
MIR5175a-3'	1082.4	833.6	2157.7	3138.6	851.5	931.5	1046.7	805.6	2265.1	3001.5	873.8	967.5
MIR5175b-5'	91.0	82.0	111.0	91.0	100.0	148.0	91.0	82.0	111.0	91.0	100.0	148.0
MIR5176-3'	30.7	34.7	287.6	403.5	32.0	29.3	29.7	33.5	301.9	385.9	32.9	30.4
MIR5176-5'	230.9	190.6	144.4	144.0	143.5	96.5	223.3	184.2	151.6	137.7	147.3	100.2
MIR5177-3'	10.0	17.0	8.0	15.0	19.0	17.0	10.0	17.0	8.0	15.0	19.0	17.0
MIR5178-3'	227.0	239.0	95.0	128.0	92.0	204.0	227.0	239.0	95.0	128.0	92.0	204.0
MIR5178-5'	64.9	50.3	23.5	21.1	17.8	23.6	62.8	48.6	24.6	20.2	18.3	24.6
MIR5179-5'	111.8	83.2	68.1	79.5	130.5	151.3	108.2	80.4	71.5	76.0	133.9	157.2
MIR5180a,b-3'	81.0	79.0	636.0	886.0	706.0	789.0	81.0	79.0	636.0	886.0	706.0	789.0
MIR5181a-3'	250.7	234.0	341.6	435.8	436.4	468.1	242.5	226.1	358.6	416.7	447.8	486.2
MIR5181a-5'	1209.0	1534.0	1091.0	1205.0	1186.0	1486.0	1209.0	1534.0	1091.0	1205.0	1186.0	1486.0
MIR5181b-5'	339.1	312.0	345.1	352.6	294.1	365.0	328.0	301.5	362.3	337.2	301.8	379.1
MIR5181c-3'	1093.2	1253.1	955.6	1046.6	1174.1	1352.3	1057.2	1210.9	1003.2	1000.9	1204.8	1404.6
MIR5181c-5'	10.8	15.6	12.9	27.3	3.6	8.5	10.5	15.1	13.6	26.1	3.7	8.8
MIR5181d-3'	197.0	168.0	1609.0	1527.0	184.0	162.0	197.0	168.0	1609.0	1527.0	184.0	162.0
MIR5181e-3'	122.7	90.1	79.8	81.9	78.3	107.8	118.6	87.1	83.8	78.4	80.3	112.0
MIR5182-3'	1351.0	1596.0	1256.0	1715.0	1618.0	2133.0	1351.0	1596.0	1256.0	1715.0	1618.0	2133.0
MIR5183-3'	108.2	178.5	339.3	468.1	237.2	315.9	104.7	172.5	356.2	447.6	243.4	328.1
MIR5184-3'	4.0	3.0	3.0	1.0	6.0	1.0	4.0	3.0	3.0	1.0	6.0	1.0
MIR5185a,b-3'	34.3	20.8	308.7	665.5	72.3	63.4	33.1	20.1	324.1	636.4	74.2	65.8
MIR5185a,b-5'	82.0	94.0	68.0	70.0	32.0	23.0	82.0	94.0	68.0	70.0	32.0	23.0
MIR5185l-3'	559.0	670.0	305.0	457.0	548.0	346.0	559.0	670.0	305.0	457.0	548.0	346.0
MIR5185l-5'	7.2	12.1	4.7	8.7	1.2	4.7	7.0	11.7	4.9	8.3	1.2	4.9
MIR5185m-3'	63.1	97.1	63.4	172.6	45.1	35.9	61.1	93.8	66.5	165.0	46.2	37.3
MIR5185m-5'	1.8	0.0	0.0	0.0	1.2	0.0	1.7	0.0	0.0	0.0	1.2	0.0
MIR5198-3'	10.8	10.4	2.3	6.2	11.9	18.9	10.5	10.0	2.5	5.9	12.2	19.6
MIR5199-3'	15.0	15.0	8.0	16.0	24.0	20.0	15.0	15.0	8.0	16.0	24.0	20.0
MIR5200a,b-3'	1.0	2.0	68.0	44.0	5.0	1.0	1.0	2.0	68.0	44.0	5.0	1.0
MIR5200a-5'	0.0	0.0	2.3	0.0	3.6	0.0	0.0	0.0	2.5	0.0	3.7	0.0
MIR5200b-5'	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0
MIR5201-3'	35.0	34.0	23.0	30.0	34.0	31.0	35.0	34.0	23.0	30.0	34.0	31.0
MIR5201-5'	46.9	55.5	61.0	43.5	43.9	30.3	45.4	53.6	64.1	41.6	45.0	31.4
MIR5202-3'	16.2	12.1	32.9	26.1	13.0	18.9	15.7	11.7	34.5	24.9	13.4	19.6
MIR5281a,b-3'	364.4	336.2	152.6	160.2	167.2	179.7	352.4	324.9	160.2	153.2	171.6	186.6
MIR528-3'	464.0	1382.0	2175.0	3944.0	3010.0	11961.0	464.0	1382.0	2175.0	3944.0	3010.0	11961.0
MIR528-5'	17542.0	34522.0	22641.0	40937.0	53217.0	139629.0	17542.0	34522.0	22641.0	40937.0	53217.0	139629.0
MIR529-3'	418.5	249.6	263.0	266.9	534.9	479.5	404.7	241.2	276.1	255.3	548.9	498.0
MIR529-5'	96.0	125.0	1455.0	1139.0	733.0	191.0	96.0	125.0	1455.0	1139.0	733.0	191.0
MIR530a,b-5'	0.0	0.0	2.0	6.0	1.0	2.0	0.0	0.0	2.0	6.0	1.0	2.0
MIR531-5'	66.7	57.2	29.3	48.4	1454.0	2024.7	64.5	55.3	30.8	46.3	1492.0	2103.0
MIR7707-3'	8.0	7.0	6.0	4.0	7.0	7.0	8.0	7.0	6.0	4.0	7.0	7.0
MIR7707-5'	1.8	0.0	12.9	6.2	20.2	14.2	1.7	0.0	13.6	5.9	20.7	14.7
MIR7708a-3'	1984.3	2459.3	3842.2	6009.1	3369.4	2799.2	1919.0	2376.6	4033.6	5746.5	3457.4	2907.5
MIR7708a-5'	1.0	0.0	1.0	4.0	2.0	0.0	1.0	0.0	1.0	4.0	2.0	0.0
MIR7708b-3'	683.7	793.8	617.5	1003.2	894.2	655.3	661.2	767.1	648.2	959.3	917.6	680.7
MIR7708b-5'	41.5	53.7	56.3	50.9	73.5	70.9	40.1	51.9	59.2	48.7	75.5	73.7
MIR7709-3'	3.0	6.0	14.0	31.0	37.0	60.0	3.0	6.0	14.0	31.0	37.0	60.0
MIR7709-5'	7.2	12.1	5.9	18.6	16.6	8.5	7.0	11.7	6.2	17.8	17.0	8.8
MIR7710-3'	1.8	1.7	5.9	16.1	13.0	6.6	1.7	1.7	6.2	15.4	13.4	6.9
MIR7710-5'	0.0	0.0	51.7	78.2	64.0	25.5	0.0	0.0	54.2	74.8	65.7	26.5
MIR7711-5'	373.4	254.8	317.0	228.4	183.8	256.3	361.1	246.2	332.7	218.5	188.6	266.2
MIR7712-3'	0.0	0.0	2.0	7.0	0.0	1.0	0.0	0.0	2.0	7.0	0.0	1.0
MIR7712-5'	1.8	0.0	0.0	1.2	3.6	2.8	1.7	0.0	0.0	1.2	3.7	2.9
MIR7713-3'	3.6	0.0	9.4	6.2	15.4	13.2	3.5	0.0	9.9	5.9	15.8	13.8
MIR7713-5'	3.6	0.0	5.9	1.2	15.4	8.5	3.5	0.0	6.2	1.2	15.8	8.8
MIR7714-3'	86.0	95.0	160.0	175.0	152.0	112.0	86.0	95.0	160.0	175.0	152.0	112.0
MIR7714-5'	1.0	1.0	44.0	61.0	5.0	15.0	1.0	1.0	44.0	61.0	5.0	15.0
MIR7715-3'	0.0	0.0	0.0	1.0	2.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	2.0	1.0
MIR7715-5'	133.5	114.4	35.2	55.9	38.0	65.3	129.1	110.5	37.0	53.4	38.9	67.8
MIR7716-3'	0.0	3.5	1.2	0.0	2.4	2.8	0.0	3.3	1.2	0.0	2.4	2.9
MIR7716-5'	37.9	36.4	41.1	28.6	60.5	49.2	36.6	35.2	43.1	27.3	62.1	51.1
MIR7717a-3'	882.0	1149.0	1776.0	2399.0	2078.0	4022.0	882.0	1149.0	1776.0	2399.0	2078.0	4022.0
MIR7717a-5'	7.0	9.0	23.0	25.0	36.0	41.0	7.0	9.0	23.0	25.0	36.0	41.0
MIR7717b-3'	31.0	44.0	87.0	73.0	88.0	73.0	31.0	44.0	87.0	73.0	88.0	73.0
MIR7717b-5'	88.0	65.0	188.0	287.0	193.0	227.0	88.0	65.0	188.0	287.0	193.0	227.0
MIR7717c-3'	27.0	41.0	79.0	70.0	67.0	107.0	27.0	41.0	79.0	70.0	67.0	107.0
MIR7717c-5'	285.0	365.7	157.3	135.3	132.8	95.5	275.6	353.4	165.1	129.4	136.3	99.2
MIR7718-3'	126.0	215.0	244.0	365.0	323.0	409.0	126.0	215.0	244.0	365.0	323.0	409.0
MIR7718-5'	8.0	19.0	15.0	15.0	78.0	108.0	8.0	19.0	15.0	15.0	78.0	108.0
MIR7719-3'	28.0	18.0	20.0	27.0	22.0	28.0	28.0	18.0	20.0	27.0	22.0	28.0

MIRNA/ Biblioteca	A1	A2	A3	A4	A5	A7	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR7719-5'	0.0	1.0	45.0	66.0	2.0	1.0	0.0	1.0	45.0	66.0	2.0	1.0
MIR7720-3'	22.0	31.0	31.0	47.0	39.0	65.0	22.0	31.0	31.0	47.0	39.0	65.0
MIR7720-5'	27.0	37.0	74.0	107.0	258.0	300.0	27.0	37.0	74.0	107.0	258.0	300.0
MIR7721-3'	4.0	7.0	4.0	11.0	6.0	11.0	4.0	7.0	4.0	11.0	6.0	11.0
MIR7721-5'	16.2	26.0	15.3	34.8	27.3	30.3	15.7	25.1	16.0	33.2	28.0	31.4
MIR7722-3'	59.0	64.0	27.0	27.0	61.0	87.0	59.0	64.0	27.0	27.0	61.0	87.0
MIR7722-5'	0.0	3.5	1.2	3.7	1.2	0.9	0.0	3.3	1.2	3.6	1.2	1.0
MIR7723a-3'	12.6	22.5	35.2	48.4	43.9	40.7	12.2	21.8	37.0	46.3	45.0	42.2
MIR7723a-5'	11.0	25.0	14.0	18.0	82.0	52.0	11.0	25.0	14.0	18.0	82.0	52.0
MIR7723b-3'	2.0	4.0	60.0	81.0	13.0	12.0	2.0	4.0	60.0	81.0	13.0	12.0
MIR7723b-5'	1.8	5.2	0.0	2.5	0.0	1.9	1.7	5.0	0.0	2.4	0.0	2.0
MIR7724a,b-3'	0.0	1.7	2.3	3.7	1.2	0.9	0.0	1.7	2.5	3.6	1.2	1.0
MIR7724a,b-5'	0.0	3.5	0.0	0.0	2.4	2.8	0.0	3.3	0.0	0.0	2.4	2.9
MIR7725a-3'	83.0	72.8	335.7	487.9	277.5	272.4	80.2	70.3	352.5	466.6	284.8	282.9
MIR7725a-5'	3.6	5.2	3.5	7.4	29.6	25.5	3.5	5.0	3.7	7.1	30.4	26.5
MIR7725b-5'	9.0	3.0	9.0	3.0	6.0	7.0	9.0	3.0	9.0	3.0	6.0	7.0
MIR7726a-3'	12.6	5.2	7.0	13.7	7.1	7.6	12.2	5.0	7.4	13.1	7.3	7.9
MIR7726a-5'	2368.6	2253.1	2959.4	3017.0	2848.7	3566.1	2290.5	2177.3	3106.9	2885.1	2923.2	3704.1
MIR7726b-3'	21.0	16.0	62.0	66.0	41.0	76.0	21.0	16.0	62.0	66.0	41.0	76.0
MIR7726b-5'	5298.1	3909.9	6080.9	6986.2	4460.5	5428.1	5123.6	3778.5	6383.8	6680.9	4577.1	5638.1
MIR7727-3'	21.0	23.0	19.0	31.0	22.0	41.0	21.0	23.0	19.0	31.0	22.0	41.0
MIR7727-5'	35.0	39.0	96.0	98.0	67.0	94.0	35.0	39.0	96.0	98.0	67.0	94.0
MIR7728-3'	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0
MIR7728-5'	39.7	43.3	47.0	53.4	51.0	42.6	38.4	41.9	49.3	51.1	52.3	44.2
MIR7729a,b-3'	26.0	26.0	66.0	61.0	36.0	71.0	26.0	26.0	66.0	61.0	36.0	71.0
MIR7729a,b-5'	124.0	114.0	166.0	203.0	122.0	120.0	124.0	114.0	166.0	203.0	122.0	120.0
MIR7730-3'	0.0	3.5	5.9	2.5	4.7	7.6	0.0	3.3	6.2	2.4	4.9	7.9
MIR7730-5'	7.2	13.9	18.8	9.9	42.7	18.9	7.0	13.4	19.7	9.5	43.8	19.6
MIR7731-3'	7783.0	9160.0	12616.0	18732.0	16746.0	44410.0	7783.0	9160.0	12616.0	18732.0	16746.0	44410.0
MIR7731-5'	78.0	113.0	154.0	172.0	226.0	133.0	78.0	113.0	154.0	172.0	226.0	133.0
MIR7732-3'	235.0	141.0	160.0	188.0	194.0	217.0	235.0	141.0	160.0	188.0	194.0	217.0
MIR7732-5'	54.1	41.6	31.7	39.7	45.1	35.0	52.3	40.2	33.3	38.0	46.2	36.3
MIR7733-3'	7.2	10.4	5.9	2.5	11.9	14.2	7.0	10.0	6.2	2.4	12.2	14.7
MIR7733-5'	6.0	0.0	2.0	2.0	3.0	1.0	6.0	0.0	2.0	2.0	3.0	1.0
MIR7734-3'	23.5	24.3	30.5	38.5	23.7	14.2	22.7	23.4	32.0	36.8	24.3	14.7
MIR7734-5'	217.0	302.0	173.0	240.0	237.0	365.0	217.0	302.0	173.0	240.0	237.0	365.0
MIR7735-3'	15.0	14.0	19.0	24.0	34.0	112.0	15.0	14.0	19.0	24.0	34.0	112.0
MIR7735-5'	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	1.0
MIR7736-3'	12.0	16.0	21.0	11.0	50.0	56.0	12.0	16.0	21.0	11.0	50.0	56.0
MIR7736-5'	25.3	34.7	12.9	7.4	8.3	8.5	24.4	33.5	13.6	7.1	8.5	8.8
MIR7737-3'	22.0	20.0	14.0	33.0	31.0	29.0	22.0	20.0	14.0	33.0	31.0	29.0
MIR7737-5'	4.0	1.0	9.0	7.0	5.0	8.0	4.0	1.0	9.0	7.0	5.0	8.0
MIR7738-3'	9122.5	8793.9	8890.0	14104.0	8483.3	6815.4	8822.0	8498.3	9332.9	13487.6	8705.1	7079.1
MIR7738-5'	20.0	19.0	37.0	21.0	22.0	25.0	20.0	19.0	37.0	21.0	22.0	25.0
MIR7739-3'	2.0	5.0	4.0	9.0	5.0	6.0	2.0	5.0	4.0	9.0	5.0	6.0
MIR7739-5'	59.5	62.4	50.5	39.7	106.7	123.9	57.6	60.3	53.0	38.0	109.5	128.7
MIR7740-3'	149.7	268.6	74.0	90.6	70.0	158.9	144.8	259.6	77.6	86.7	71.8	165.0
MIR7740-5'	11.0	21.0	14.0	14.0	18.0	38.0	11.0	21.0	14.0	14.0	18.0	38.0
MIR7741-5'	15322.6	18781.9	8536.7	14640.3	10920.5	18359.2	14817.9	18150.5	8962.0	14000.5	11206.0	19069.5
MIR7742-3'	4.0	11.0	4.0	12.0	14.0	18.0	4.0	11.0	4.0	12.0	14.0	18.0
MIR7742-5'	9.0	5.2	9.4	1.2	0.0	1.9	8.7	5.0	9.9	1.2	0.0	2.0
MIR7743-3'	3.6	0.0	4.7	5.0	8.3	5.7	3.5	0.0	4.9	4.7	8.5	5.9
MIR7743-5'	573.6	675.9	957.9	990.8	661.8	776.4	554.8	653.2	1005.6	947.5	679.1	806.4
MIR7744-3'	0.0	1.0	0.0	1.0	2.0	3.0	0.0	1.0	0.0	1.0	2.0	3.0
MIR7744-5'	129.0	154.0	211.0	208.0	277.0	339.0	129.0	154.0	211.0	208.0	277.0	339.0
MIR7745-3'	104.6	76.3	55.2	77.0	66.4	62.4	101.2	73.7	57.9	73.6	68.2	64.8
MIR7745-5'	101.0	159.4	72.8	117.9	105.6	74.7	97.7	154.1	76.4	112.8	108.3	77.6
MIR7746-3'	2.0	1.0	1.0	6.0	7.0	3.0	2.0	1.0	1.0	6.0	7.0	3.0
MIR7746-5'	10.0	4.0	2.0	4.0	5.0	0.0	10.0	4.0	2.0	4.0	5.0	0.0
MIR7747-3'	0.0	1.7	0.0	1.2	0.0	0.0	0.0	1.7	0.0	1.2	0.0	0.0
MIR7747-5'	3.6	1.7	45.8	77.0	0.0	3.8	3.5	1.7	48.1	73.6	0.0	3.9
MIR7748a-3'	218.3	301.6	216.0	232.2	238.4	316.8	211.1	291.4	226.8	222.0	244.6	329.1
MIR7748a-5'	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	0.0
MIR7748b-3'	4.0	5.0	2.0	10.0	7.0	5.0	4.0	5.0	2.0	10.0	7.0	5.0
MIR7748b-5'	238.1	296.4	186.7	208.6	336.8	340.4	230.3	286.4	196.0	199.5	345.6	353.6
MIR7749-3'	14.4	10.4	9.4	11.2	30.8	57.7	14.0	10.0	9.9	10.7	31.6	59.9
MIR7749-5'	625.0	751.0	554.0	497.0	486.0	1099.0	625.0	751.0	554.0	497.0	486.0	1099.0
MIR7750-3'	119.1	114.4	39.9	54.6	104.4	118.2	115.1	110.5	41.9	52.2	107.1	122.8
MIR7750-5'	9.0	5.2	4.7	12.4	41.5	19.9	8.7	5.0	4.9	11.9	42.6	20.6
MIR7751-3'	34.3	31.2	23.5	18.6	16.6	46.3	33.1	30.1	24.6	17.8	17.0	48.1
MIR7751-5'	2.0	7.0	0.0	1.0	2.0	3.0	2.0	7.0	0.0	1.0	2.0	3.0
MIR7752-3'	97.0	97.0	65.0	129.0	173.0	159.0	97.0	97.0	65.0	129.0	173.0	159.0
MIR7752-5'	1.8	0.0	8.2	5.0	11.9	2.8	1.7	0.0	8.6	4.7	12.2	2.9
MIR7753-3'	0.0	0.0	2.0	1.0	7.0	19.0	0.0	0.0	2.0	1.0	7.0	19.0
MIR7753-5'	0.0	0.0	1.2	0.0	0.0	0.9	0.0	0.0	1.2	0.0	0.0	1.0
MIR7754-3'	1324.1	1407.3	507.1	706.4	510.0	738.6	1280.5	1360.0	532.4	675.6	523.3	767.1

MIRNA/ Biblioteca	A1	A2	A3	A4	A5	A7	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR7754-5'	0.0	1.0	5.0	8.0	5.0	6.0	0.0	1.0	5.0	8.0	5.0	6.0
MIR7755-3'	41.0	50.0	60.0	75.0	100.0	117.0	41.0	50.0	60.0	75.0	100.0	117.0
MIR7755-5'	23.5	32.9	42.3	64.6	52.2	39.7	22.7	31.8	44.4	61.7	53.5	41.3
MIR7756-3'	57.7	45.1	28.2	32.3	29.6	53.9	55.8	43.5	29.6	30.9	30.4	56.0
MIR7756-5'	0.0	0.0	2.3	3.7	2.4	0.9	0.0	0.0	2.5	3.6	2.4	1.0
MIR7757-5'	4372.7	8896.2	6757.0	7202.2	21397.5	4685.8	4228.7	8597.1	7093.6	6887.5	21956.8	4867.1
MIR7758-3'	393.0	482.0	583.0	419.0	366.0	312.0	393.0	482.0	583.0	419.0	366.0	312.0
MIR7758-5'	18.0	15.6	234.8	202.4	29.6	61.5	17.4	15.1	246.5	193.5	30.4	63.8
MIR7759-3'	26.0	7.0	11.0	12.0	36.0	7.0	26.0	7.0	11.0	12.0	36.0	7.0
MIR7759-5'	42.0	35.0	54.0	35.0	82.0	58.0	42.0	35.0	54.0	35.0	82.0	58.0
MIR7760-3'	104.6	110.9	44.6	69.5	56.9	121.0	101.2	107.2	46.8	66.5	58.4	125.7
MIR7760-5'	61.3	60.7	106.8	170.1	94.9	171.2	59.3	58.6	112.1	162.7	97.4	177.8
MIR7761-3'	50.0	45.0	42.0	49.0	55.0	64.0	50.0	45.0	42.0	49.0	55.0	64.0
MIR7761-5'	0.0	0.0	2.0	3.0	1.0	1.0	0.0	0.0	2.0	3.0	1.0	1.0
MIR7762-3'	102.8	133.5	92.7	177.5	143.5	195.8	99.4	129.0	97.4	169.8	147.3	203.3
MIR7762-5'	151.5	168.1	166.7	208.6	211.1	177.8	146.5	162.5	175.0	199.5	216.6	184.7
MIR7763-3'	113.0	90.0	55.0	53.0	82.0	59.0	113.0	90.0	55.0	53.0	82.0	59.0
MIR7763-5'	51.0	95.0	51.0	70.0	77.0	149.0	51.0	95.0	51.0	70.0	77.0	149.0
MIR7764-3'	63.0	102.0	57.0	124.0	74.0	168.0	63.0	102.0	57.0	124.0	74.0	168.0
MIR7764-5'	4.0	5.0	0.0	1.0	6.0	3.0	4.0	5.0	0.0	1.0	6.0	3.0
MIR7765-3'	2.0	11.0	113.0	139.0	32.0	42.0	2.0	11.0	113.0	139.0	32.0	42.0
MIR7765-5'	11.0	6.0	17.0	23.0	9.0	28.0	11.0	6.0	17.0	23.0	9.0	28.0
MIR7766-3'	18.0	13.9	14.1	12.4	15.4	15.1	17.4	13.4	14.8	11.9	15.8	15.7
MIR7766-5'	50.5	50.3	48.1	42.2	24.9	39.7	48.8	48.6	50.5	40.4	25.6	41.3
MIR7767-3'	0.0	0.0	2.3	0.0	2.4	0.9	0.0	0.0	2.5	0.0	2.4	1.0
MIR7767-5'	6.0	1.0	9.0	6.0	9.0	17.0	6.0	1.0	9.0	6.0	9.0	17.0
MIR7768a,b-3'	1062.5	828.4	617.5	559.9	634.5	1497.9	1027.5	800.6	648.2	535.5	651.1	1555.9
MIR7768a,b-5'	269.0	228.0	105.0	148.0	420.0	283.0	269.0	228.0	105.0	148.0	420.0	283.0
MIR7769-3'	108.2	84.9	116.2	156.4	256.2	260.1	104.7	82.1	122.0	149.6	262.9	270.1
MIR7769-5'	1.8	5.2	0.0	0.0	3.6	0.9	1.7	5.0	0.0	0.0	3.7	1.0
MIR7770-3'	27.1	24.3	20.0	17.4	16.6	13.2	26.2	23.4	21.0	16.6	17.0	13.8
MIR7770-5'	39.7	36.4	24.7	32.3	33.2	51.1	38.4	35.2	25.9	30.9	34.1	53.0
MIR7771-3'	141.0	184.0	263.0	259.0	394.0	406.0	141.0	184.0	263.0	259.0	394.0	406.0
MIR7771-5'	2.0	0.0	0.0	1.0	3.0	1.0	2.0	0.0	0.0	1.0	3.0	1.0
MIR7772-3'	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0
MIR7772-5'	4.0	5.0	15.0	15.0	23.0	56.0	4.0	5.0	15.0	15.0	23.0	56.0
MIR7773-3'	1937.4	1275.6	841.7	814.5	808.8	688.4	1873.6	1232.7	883.6	778.9	830.0	715.1
MIR7773-5'	0.0	0.0	22.0	65.0	14.0	13.0	0.0	0.0	22.0	65.0	14.0	13.0
MIR7774-3'	14.4	12.1	14.1	12.4	8.3	26.5	14.0	11.7	14.8	11.9	8.5	27.5
MIR7774-5'	281.4	365.7	178.4	242.1	220.6	349.9	272.1	353.4	187.3	231.5	226.4	363.4
MIR7775-3'	37.9	31.2	28.2	31.0	35.6	21.8	36.6	30.1	29.6	29.7	36.5	22.6
MIR7775-5'	9.0	10.4	11.7	21.1	17.8	16.1	8.7	10.0	12.3	20.2	18.3	16.7
MIR7776-5'	110.0	62.4	38.7	27.3	32.0	23.6	106.4	60.3	40.7	26.1	32.9	24.6
MIR7777-5'	38.0	42.0	43.0	61.0	86.0	89.0	38.0	42.0	43.0	61.0	86.0	89.0
MIR7778-3'	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0
MIR7778-5'	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	1.0
MIR7779-3'	18.0	1.7	5.9	1.2	23.7	23.6	17.4	1.7	6.2	1.2	24.3	24.6
MIR7779-5'	285.0	277.0	136.0	166.0	261.0	469.0	285.0	277.0	136.0	166.0	261.0	469.0
MIR7780-3'	321.0	249.0	278.0	258.0	209.0	509.0	321.0	249.0	278.0	258.0	209.0	509.0
MIR7780-5'	0.0	0.0	2.0	0.0	3.0	2.0	0.0	0.0	2.0	0.0	3.0	2.0
MIR7781-3'	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MIR7781-5'	45.1	39.9	20.0	17.4	78.3	110.6	43.6	38.5	21.0	16.6	80.3	114.9
MIR7782-3'	1290.0	842.0	62908.0	53467.0	1601.0	1238.0	1290.0	842.0	62908.0	53467.0	1601.0	1238.0
MIR7782-5'	56.0	34.0	579.0	452.0	55.0	65.0	56.0	34.0	579.0	452.0	55.0	65.0
MIR7783-3'	5.4	3.5	531.8	605.9	9.5	8.5	5.2	3.3	558.3	579.4	9.7	8.8
MIR7783-5'	0.0	3.5	3.5	2.5	3.6	1.9	0.0	3.3	3.7	2.4	3.7	2.0
MIR7784a,b-3'	822.6	766.0	421.4	440.7	474.4	449.2	795.5	740.3	442.4	421.5	486.8	466.6
MIR7784a,b-5'	81.0	128.0	75.0	99.0	92.0	121.0	81.0	128.0	75.0	99.0	92.0	121.0
MIR7785-3'	17.0	33.0	25.0	30.0	37.0	100.0	17.0	33.0	25.0	30.0	37.0	100.0
MIR7785-5'	18.0	19.1	12.9	32.3	14.2	17.0	17.4	18.4	13.6	30.9	14.6	17.7
MIR7786-3'	33.0	18.0	47.0	22.0	40.0	25.0	33.0	18.0	47.0	22.0	40.0	25.0
MIR7786-5'	1.8	1.7	4.7	5.0	3.6	0.9	1.7	1.7	4.9	4.7	3.7	1.0
MIR7787-3'	3.6	1.7	7.0	14.9	7.1	4.7	3.5	1.7	7.4	14.2	7.3	4.9
MIR7787-5'	1.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	1.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0
MIR827-3'	198.0	279.0	179.0	287.0	349.0	206.0	198.0	279.0	179.0	287.0	349.0	206.0
MIR827-5'	501.0	656.0	290.0	473.0	1321.0	852.0	501.0	656.0	290.0	473.0	1321.0	852.0
MIR845-5'	4.0	5.0	41.0	46.0	4.0	9.0	4.0	5.0	41.0	46.0	4.0	9.0
MIR9480b-5'	5630.0	4650.0	2870.0	3330.0	2675.0	2801.0	5630.0	4650.0	2870.0	3330.0	2675.0	2801.0
MIR9481b-3'	0.0	0.0	1.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.2	0.0	0.0	0.0
MIR9482-3'	0.0	0.0	8.0	6.0	0.0	1.0	0.0	0.0	8.0	6.0	0.0	1.0
MIR9483b-5'	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.7	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.7
MIR9484-5'	1527.9	1048.5	473.1	573.6	243.1	280.9	1477.6	1013.3	496.7	548.5	249.5	291.7
MIR9485-5'	193.0	187.2	93.9	126.6	68.8	42.6	186.7	180.9	98.6	121.1	70.6	44.2
MIR9486a-3'	18.0	26.0	11.0	25.0	30.0	70.0	18.0	26.0	11.0	25.0	30.0	70.0
MIR9486b-3'	28.9	50.3	30.5	28.6	30.8	35.0	27.9	48.6	32.0	27.3	31.6	36.3
MIR9487-3'	16.2	19.1	4.7	1.2	269.2	331.9	15.7	18.4	4.9	1.2	276.3	344.8

MIRNA/ Biblioteca	A1	A2	A3	A4	A5	A7	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR9488-5'	14.4	13.9	18.8	22.3	19.0	15.1	14.0	13.4	19.7	21.4	19.5	15.7
MIR9489-5'	41.0	65.0	48.0	52.0	46.0	85.0	41.0	65.0	48.0	52.0	46.0	85.0
MIR9490-5'	810.0	629.1	1142.2	823.1	1839.5	1550.0	783.3	608.0	1199.1	787.2	1887.5	1609.9
MIR9491-5'	126.3	123.1	18.8	22.3	28.5	17.0	122.1	118.9	19.7	21.4	29.2	17.7
MIR9492-5'	9.0	8.0	7.0	3.0	6.0	3.0	9.0	8.0	7.0	3.0	6.0	3.0
MIR9493-3'	114.0	98.0	1356.0	1729.0	190.0	204.0	114.0	98.0	1356.0	1729.0	190.0	204.0
MIR9494-3'	63.1	39.9	55.2	67.0	29.6	40.7	61.1	38.5	57.9	64.1	30.4	42.2
MIR9495-5'	672.9	573.7	213.7	227.2	231.3	213.7	650.7	554.4	224.3	217.3	237.3	222.0
MIR9496-5'	209.3	201.0	43.4	58.4	41.5	50.1	202.4	194.3	45.6	55.8	42.6	52.1
MIR9497-5'	18.0	8.7	7.0	7.4	13.0	1.9	17.4	8.4	7.4	7.1	13.4	2.0
MIR9498-5'	1.0	0.0	21.0	12.0	0.0	0.0	1.0	0.0	21.0	12.0	0.0	0.0
MIR9499-5'	61.3	53.7	21.1	17.4	35.6	53.0	59.3	51.9	22.2	16.6	36.5	55.0

Apéndice E. Análisis TPM

MIRNA	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR396a,b-5'	315619.8942	317239.606	319013.059	199381.4354	199388.9881	199382.3688
MIR168-5'	198463.0354	122140.8505	121271.2853	89303.95729	121275.8791	146701.8441
MIR1122-5'	51.19126511	39.2917409	78.0629622	78.0629622	115.9463836	82.74462584
MIR1127-5'	0	0	0.357349335	0.071469867	0	0.178675504
MIR1135-3'	16.2745719	14.40697166	22.8882249	18.99311715	65.61182319	65.60964502
MIR1139-3'	0	0	0	0.410951735	0.410967302	0.410953659
MIR1432-5'	71.79080915	64.77680063	107.5442823	53.7274725	234.1084171	120.1950114
MIR156a-3'	0.838895459	1.182390351	6.450155494	4.288192018	0.714725743	0.92911262
MIR156b-3'	19.38780616	31.83358638	11.98907018	16.2236598	16.22427436	32.03651784
MIR156b,c,d,e,f,g,h,i-5'	298.1061618	301.0547741	5217.085879	5779.249986	276.9740935	211.1229754
MIR156d-3'	79.80692131	71.85295211	26.67612785	25.33606784	40.00677346	56.60439962
MIR156e-3'	0	0.92772166	0.82190347	0.589626403	3.573628714	1.304331178
MIR156f-3'	0.298273941	0	3.448421081	4.985023221	0.178681436	0.821907318
MIR156g,i-3'	46.17653448	63.66717276	20.97640596	30.33895853	21.38816785	38.77258434
MIR156h-3'	8.873649742	19.53672673	4.574071486	13.82941926	12.56130493	26.67625273
MIR156j-5'	5.238436087	3.947364711	8.058227501	9.559094708	4.145409309	2.626529907
MIR159a-3'	6896.745988	9095.401347	6750.686285	9026.376187	9026.71811	6750.717887
MIR159a-5'	0	0.836768556	1.822481608	1.751011741	2.394331239	1.983298093
MIR159b-5'	906.9764858	337.0903938	1095.114904	535.1842314	691.104057	1095.120031
MIR159c-3'	406.3796024	662.2477404	846.203225	691.0778787	481.3499197	514.6747889
MIR160a-3'	2.237054557	4.493083335	0.82190347	0.929108271	1.286506337	2.215576248
MIR160a,b,c,d-5'	255.3970619	317.8265264	189.0377981	167.3824285	304.4374302	228.5081019
MIR160b,c-3'	0.298273941	0.600290486	2.626517611	3.037469346	0.410967302	0.410953659
MIR160d-3'	0.615190003	0.92772166	0.536024002	0.696831203	1.75107807	0.92911262
MIR160e-3'	58.83453484	54.11709685	40.55914951	32.03636787	25.80159932	30.33910056
MIR160e-5'	1109.075723	877.2426875	666.9031962	398.9090625	725.0892661	495.3242318
MIR160f-3'	1.71507516	0.163715587	0.178674667	0	0.196549579	0
MIR162-3'	0.727042731	0.418384278	0.178674667	0	0.410967302	0
MIR164a-3'	737.2772555	1035.55566	558.8407573	304.4258984	1029.580301	535.1867367
MIR164a,b,e-5'	10.40230369	8.367685563	9.559094708	4.574071486	19.33333134	7.700914216
MIR164c-3'	2.199770314	1.291534076	0.410951735	0.410951735	1.00061604	0.821907318
MIR164c-5'	56.0009324	48.02323888	68.23585549	49.61795515	87.05359548	41.54205465
MIR164f-5'	20.46904919	29.77804623	11.66745578	10.91702218	15.52741676	13.9366893
MIR166a-5'	147536.0037	89605.8338	146701.1573	38406.24484	89307.34016	89304.37535
MIR166a,b,c,d,i-3'	618.4896586	731.0810495	366.8905621	207.9951804	460.5514005	421.3704408
MIR166b-5'	5839.47672	2809.686906	1760.731643	1250.329588	2470.914102	1617.442131
MIR166c-5'	14032.59582	6833.92518	1029.541301	1320.763142	1888.752116	2805.098205
MIR166d-5'	703.5536581	377.2370939	164.7023084	189.0377981	218.7418136	234.1006452
MIR166e-3'	766.0606908	368.9421708	658.2196074	374.6093077	514.6918756	558.8433734
MIR166e-5'	852.8770498	760.0223272	535.1842314	514.6723795	1181.85262	2073.922308
MIR166f-3'	3483.336292	1618.437722	5779.249986	3436.217602	3436.347767	5779.27704
MIR166g-3'	216.4723126	221.4889987	691.0778787	846.203225	141.4620927	167.383212
MIR166g-5'	2.42347577	1.127818489	0.196542134	0.929108271	3.448551709	0.696834465
MIR166h-3'	1571.56811	1256.116937	725.0618004	658.2196074	1095.156388	895.6466982
MIR166h-5'	212.687962	123.9326994	65.60933788	72.75632458	63.2353601	63.23326082
MIR166i-5'	7.885617313	2.892308705	3.144674147	3.966577617	2.733825966	4.252476992
MIR166j-5'	2097.425068	1893.680005	1181.807853	915.4753935	1250.376951	1029.546121
MIR167a,b,f-5'	22.37054557	20.40987652	754.4359158	558.8407573	13.93715199	11.6675104
MIR167c-3'	1.006674551	2.473924427	1.286457606	1.107782938	1.697473639	1.518741783
MIR167c,d,e,g-5'	5250.628034	5242.573293	199381.4354	146701.1573	1566.839642	2470.832073
MIR167d-3'	27.98182408	11.5510442	18.49282808	11.45304618	17.77880285	43.63255804
MIR167e-3'	0	0.200096829	19.33259902	26.67612785	15.9919885	16.22373575
MIR168-3'	567.3170356	697.2646854	292.4010933	292.4010933	535.2045044	658.2226887
MIR169a-3'	32.15765925	17.5903303	27.42656145	20.40464702	29.85766791	36.9858293
MIR169a-5'	4.213119415	1.691727733	47.6525338	40.55914951	0.696857599	0.821907318
MIR169b-5'	2.013349101	2.874118085	64.35861521	64.35861521	0.178681436	0.875509969
MIR169c-3'	488.2930834	614.6974577	120.1944488	115.9419917	33.55637363	157.7168673
MIR169c,f-5'	41.14316172	26.03077835	1617.434559	1095.114904	3.966727873	11.97125876

MIRNA	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR169d-5'	2.330265163	6.967007762	0.929108271	1.983288808	0.589648738	1.751019938
MIR169e-3'	0	0	0.536024002	0.178674667	0	0
MIR169g,e-5'	0.074568485	0.072762483	1.804614141	1.822481608	0	0
MIR169h-3'	6.580668821	4.14746154	0.87550587	1.304325072	0.178681436	0
MIR169h,n-5'	0.42876879	0.418384278	1.751011741	2.787324812	0	0
MIR169i-5'	10.17859823	10.20493826	1.179252805	0.536024002	3.430683566	1.107788124
MIR169j-3'	74.12107431	40.25584381	5.860529092	11.66745578	7.879851315	4.574092899
MIR169j-5'	5.182509723	6.22119231	2.733722412	2.215565876	1.054220471	0.428821209
MIR169k-3'	12.78849522	9.131691636	0.536024002	1.107782938	2.215649803	0
MIR169k-5'	28.54108772	15.62574326	3.376951214	4.699143753	1.983363936	1.107788124
MIR169l-5'	4.231761537	3.056024292	2.626517611	2.447842944	1.983363936	2.501457054
MIR169m-5'	1.006674551	1.364296559	21.10147822	16.384467	0	0.589629163
MIR171a-5'	0.167779092	0.163715587	0	0	0.178681436	0
MIR171b,c,d,e-3'	65.34063518	92.68121292	81.24337128	93.46471853	208.0030593	125.6267468
MIR171c-5'	1.304948491	2.819546222	1.679541874	0.536024002	1.822550644	1.304331178
MIR171d-5'	1263.451129	921.7733272	421.3684682	276.963602	334.4023069	398.9109299
MIR171f-3'	0.447410911	1.364296559	2.394240544	0.589626403	3.323474704	2.733735209
MIR172a-3'	0.559263639	0	33.17988574	25.80062198	1.179297476	1.286463628
MIR172a-5'	37.60115867	18.66357693	32.03636787	18.49282808	56.60627883	27.96271635
MIR172b-3'	0	0	0.82190347	1.357927472	0	0
MIR172d-3'	0	0	0	0	0	0.178675504
MIR1878-3'	91.57009986	97.04696191	125.6261587	141.4567342	211.1299844	170.4385631
MIR1878-5'	0.988032429	1.109627868	1.000578138	1.929686408	2.144177229	2.858808062
MIR2118a-3'	0.186421213	0.181906208	0.178674667	0	0	0
MIR2118b-5'	0.540621518	0.163715587	1.107782938	3.448421081	0	0
MIR2275a-3'	0.988032429	2.746783739	0.178674667	0.82190347	2.340726808	1.000582822
MIR2275b-3'	1.379516977	1.000484143	1.054180538	0.303746935	0.875539035	0
MIR2275c-3'	0.540621518	1.528012146	0.696831203	1.054180538	2.447935669	1.357933829
MIR319a-5'	0.167779092	0.163715587	0.250144534	0	0.178681436	0.536026512
MIR319b-3'	123216.2007	146932.2109	89303.95729	121271.2853	146706.7144	121271.853
MIR319b-5'	1.864212131	0.600290486	0.428819202	1.286457606	1.50092406	1.054185473
MIR390a-3'	7.270427309	6.22119231	4.985023221	3.037469346	6.325322824	3.430569674
MIR390a-5'	1.118527278	2.292018219	25.33606784	20.97640596	1.804682501	3.68071538
MIR393a,b-5'	39.31623384	50.6608789	2805.085074	2805.085074	228.5156881	164.7030795
MIR393b-3'	928.3776411	901.0905914	895.6425054	754.4359158	1617.495829	1250.335441
MIR394-5'	89.16526621	20.60997335	7.754480567	7.754480567	53.72950772	12.56088792
MIR395a,b,c,e,f,g,h,j,k,l,m,n,o,q-3'	310.9132991	295.251966	170.4377653	481.3316866	5.682069656	11.22082164
MIR395c,k-5'	2.777676075	7.931110664	0	0.82190347	0	0.428821209
MIR395d-3'	197.8301913	519.0693642	44.47212472	95.94829641	91.55636766	68.23617492
MIR395d-5'	0.186421213	0.163715587	0.982710671	4.448999219	0	0
MIR395e-5'	3.28101335	4.674989543	0.178674667	0.589626403	0.178681436	0.178675504
MIR395f-5'	0.42876879	0.363812416	0	0.178674667	0.178681436	0.178675504
MIR395g-5'	4.679172448	6.512242242	0.410951735	0.410951735	0	0
MIR395h,l-5'	2.684465468	4.62041768	0	0.71469867	0.178681436	0
MIR395j-5'	0.70840061	0.600290486	0.178674667	0.178674667	0	0
MIR395n-5'	0.652474246	0.982293523	0	0	0	0
MIR395o-5'	0	0.254668691	0	0	0	0
MIR395p-3'	160.5645908	252.1583854	16.2236598	31.57181374	6.164509532	7.647311565
MIR395p-5'	0.42876879	1.309724697	0	0	0	0
MIR396a-3'	467.339339	671.524957	334.3896401	218.7335279	846.2352795	915.4796791
MIR396b-3'	69.18091217	25.55782221	8.290504569	5.610384557	7.415279582	14.83006682
MIR396c,d-3'	234.5738124	90.28005097	71.32692724	59.15918239	133.8323953	292.4024621
MIR396c,d-5'	1197.10382	1188.957165	1250.329588	1181.807853	1320.813173	1320.769325
MIR396e-3'	1623.41185	1101.514851	234.0995493	193.0401107	421.3844298	846.2071863
MIR396e-5'	38731.28135	38641.0624	13820.48553	13820.48553	13821.00905	13820.55022
MIR397a-5'	16.70334069	121.1131532	610.0131821	2073.9126	5217.283505	5217.110302
MIR397b-3'	9.041428834	40.80156243	16.384467	41.54186018	32.03758142	78.06332764
MIR397b-5'	89352.9178	198834.5815	38406.24484	319013.059	319025.1434	319014.5524
MIR398a-3'	13.90702249	35.70818861	13.93662406	21.38735769	21.10227756	47.65275688
MIR398b-5'	12.06145249	83.80418997	19.61847848	460.5339553	895.6764328	1888.689414
MIR399a-3'	0.167779092	0.163715587	0	0	0.178681436	0
MIR399b,c-3'	2.908170924	2.52849629	0.410951735	0.428819202	1.304374481	0.982715271
MIR399d-3'	676.1124555	279.517079	91.55289959	89.17652652	78.06591926	75.24025468
MIR408-3'	3.747066383	11.75114103	218.7335279	666.9031962	3.25200213	25.80074276
MIR408-5'	304.2021355	1326.041684	248.9474141	1029.541301	658.244541	1566.787626
MIR437-3'	0	0	0	0.303746935	1.697473639	1.697417287
MIR444a-3'	0.186421213	0.181906208	0.178674667	0.196542134	0.482439876	0.303748357
MIR444b-3'	33.83545017	56.3545432	63.2329648	85.72810543	146.6617224	71.32726114
MIR444c,d-3'	522.4268075	563.690957	481.3316866	366.8905621	873.1625719	725.0651947
MIR5049-3'	665.3932358	500.1147373	514.6723795	421.3684682	314.6758764	276.9648985
MIR5049-5'	10.64465127	4.165652161	13.34699766	7.879552834	10.14910555	5.985629379
MIR5054-3'	4.772383054	1.764490216	2.340638143	3.734300549	4.145409309	8.058265224
MIR5056-5'	0	0	0	0	0	0.178675504
MIR5059-5'	0	0	0	0.178674667	0.357362871	0.178675504
MIR5061-3'	0.167779092	0.418384278	0.250144534	0.178674667	0	0.536026512
MIR5062a-5'	3.374223956	2.146493253	1.286457606	0.178674667	0.178681436	1.357933829

MIRNA	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR5063-3'	0.167779092	0.163715587	0.589626403	0	0.178681436	0
MIR5065-5'	0.111852728	0.418384278	0.196542134	0	0.178681436	0
MIR5066-5'	5.984120939	7.712823214	10.14872111	8.415576836	27.96364469	18.49291465
MIR5067-3'	1.845570009	2.655830635	2.733722412	2.626517611	16.38508765	8.576424185
MIR5068-5'	5.797699726	5.475376857	3.573493349	3.251878947	8.880467355	10.66692758
MIR5070-3'	49.55075843	45.6766488	57.87272478	43.63235379	57.87491703	95.94874557
MIR5163a-3'	144.1035977	82.1670341	1888.680572	1566.780291	95.95193098	39.02273004
MIR5163a-5'	0.615190003	0.873149798	1.304325072	0.536024002	0.714725743	0.178675504
MIR5163b-3'	1904.889239	1566.976456	2470.820506	1617.434559	2805.191332	691.0811138
MIR5163b-5'	1.71507516	1.291534076	1.518734673	2.340638143	1.518792204	2.287046449
MIR5164-5'	11.65132582	15.95317443	13.68647953	13.68647953	22.88909191	21.79841147
MIR5165-3'	0	0	9.058805639	5.43170989	2.5015401	3.376967023
MIR5165-5'	44.40553295	33.47074225	17.45651501	13.34699766	17.04620897	16.3845437
MIR5166-5'	0.447410911	0.436574899	0	0	0.178681436	0.250145705
MIR5167a-3'	57.51094423	36.38124158	26.40811585	17.77812941	11.97165619	7.147020154
MIR5167a-5'	109.4478942	88.024414	36.11015029	39.02254737	48.65495494	50.29715434
MIR5167b-3'	61.10887364	56.97302431	39.02254737	50.29691888	72.75908062	49.61818742
MIR5167b-5'	2.833602439	3.347074225	1.697409341	1.357927472	0.821934604	3.448437225
MIR5169a,b-5'	4.026698202	3.474408571	43.63235379	56.60413464	1.75107807	1.822490139
MIR5170-3'	8.444880952	10.89618185	21.79830943	24.1746825	29.51817318	20.97650415
MIR5171a,b-3'	136.7586019	116.8201667	314.6639568	248.9474141	170.4442215	189.0386831
MIR5172-3'	380.2433483	169.4638233	304.4258984	170.4377653	89.17990456	122.875144
MIR5172-5'	48.54408388	49.02372303	60.08829066	57.87272478	193.0474231	218.7345518
MIR5173-3'	3.970771838	3.401646087	2.215565876	1.304325072	3.144793269	2.161973597
MIR5173-5'	8.575375801	6.384907897	5.145830422	6.682432562	10.02402854	5.431735317
MIR5174a-5'	5.928194575	4.311177127	6.164276026	6.164276026	8.415895622	8.576424185
MIR5174b-3'	42.1684784	20.24616094	85.72810543	65.60933788	45.29574395	72.75666517
MIR5174b-5'	14.55949674	14.06134987	20.02943022	14.29397339	10.91743572	20.20819949
MIR5174c-3'	75.46330705	76.01860428	36.98565616	40.00525804	57.07085057	87.05070548
MIR5174c-5'	0.727042731	0.654862348	0.589626403	0.82190347	0	0.875509969
MIR5174d-3'	47.96617812	60.52019536	146.656167	146.656167	93.46825902	115.9425345
MIR5174d-5'	13.10541128	12.53333772	15.5268286	10.66687765	10.81022686	13.829484
MIR5174e-5'	1.826927888	0.600290486	11.14929925	6.342950694	1.00061604	1.929695442
MIR5174f-5'	11.40897824	13.78849056	7.700878166	9.344685107	11.66789775	11.27442429
MIR5175a-3'	171.6939372	147.7624127	297.8864055	334.3896401	164.7085474	193.0410144
MIR5175b-5'	26.28539104	19.80958604	20.20810489	14.8299974	23.87183981	22.33443798
MIR5176-3'	4.791025176	5.657283065	47.1701122	52.79836423	5.431915646	5.09225186
MIR5176-5'	35.14039866	28.21365284	21.38735769	18.08187634	26.67713835	15.9914576
MIR5177-3'	3.411508199	4.329367748	1.357927472	2.501445344	3.680837576	2.876675612
MIR5178-3'	64.2221079	68.63321224	17.77812941	19.61847848	22.33517946	32.69761721
MIR5178-5'	11.33440975	8.113016872	3.573493349	2.733722412	3.037584407	4.14527169
MIR5179-5'	18.82854252	12.66067207	10.66687765	0	0	0
MIR5180a,b-5'	21.9604189	19.19110493	115.9419917	133.8273259	157.7221033	141.4573964
MIR5181a-3'	39.6331499	33.85274529	56.60413464	55.15686984	71.32962914	89.17694398
MIR5181a-5'	371.5188355	485.1256658	167.3824285	164.7023084	292.4121695	304.4273235
MIR5181b-5'	50.46422238	49.96963531	57.06868878	47.1701122	52.80036425	64.35891649
MIR5181c-3'	175.4596457	195.4036485	133.8273259	125.6261587	248.9568444	297.8878
MIR5181c-5'	1.789643645	2.655830635	1.822481608	3.376951214	0.536044307	1.697417287
MIR5181d-3'	53.633383	43.96673045	228.5070322	211.121987	34.43191266	24.17479567
MIR5181e-3'	20.0402804	13.93401552	12.43575685	11.14929925	13.68699798	18.08196099
MIR5182-3'	542.2060982	539.224572	193.0401107	228.5070322	398.9241734	366.8922796
MIR5183-3'	17.74729948	26.90392815	55.15686984	60.08829066	40.56068591	52.79861139
MIR5184-3'	1.379516977	1.055056006	0.410951735	0.178674667	1.125693045	0.303748357
MIR5185a,b,c,d,e,f,g,h,i,j,k-3'	5.387573058	3.45621795	49.61795515	87.05029797	12.88293151	10.48825208
MIR5185a,b,c,d,e,f,g,h,i,j,k-5'	22.89252496	21.66502936	12.88244352	11.98907018	6.450399829	3.966596186
MIR5185i-3'	149.3047495	191.0378995	59.15918239	73.97131232	122.8792233	55.97903536
MIR5185i-5'	1.379516977	2.219255736	0.589626403	1.125650405	0.196549579	1.000582822
MIR5185m-3'	11.07342006	14.95269029	10.02364884	22.33433343	8.576708914	5.806953876
MIR5185m-5'	0.540621518	0.181906208	0	0	0.25015401	0
MIR5198-3'	1.789643645	1.764490216	0.178674667	0.71469867	1.929759506	3.448437225
MIR5199-3'	4.548677599	3.983745953	1.357927472	2.626517611	4.627849185	3.573510077
MIR5200a-5'	0	0	0.178674667	0	0.589648738	0
MIR5200a,b-3'	0.484695154	0.709434211	12.56082912	7.700878166	0.875539035	0.250145705
MIR5200b-5'	0	0.291049933	0	0	0	0.178675504
MIR5201-3'	10.29045096	9.641029018	4.145252284	5.092228022	6.682685696	4.985046558
MIR5201-5'	7.866975191	8.786069841	9.827106709	6.450155494	8.058532751	5.270927364
MIR5202-3'	2.908170924	2.164683874	5.092228022	3.323348814	2.215649803	3.573510077
MIR528-3'	125.3123394	424.9329016	374.6093077	610.0131821	754.4644941	1760.739885
MIR528-5'	9126.697896	13976.32691	3436.217602	5217.085879	38407.69968	38406.42463
MIR5281a,b-3'	56.87711211	55.51777465	22.33433343	20.20810489	29.01786516	29.51719324
MIR529-3'	66.60829943	37.25439138	42.41736605	38.77240283	85.73135285	91.55332818
MIR529-5'	26.90058105	32.30654252	211.121987	157.7161289	167.388769	29.8566767
MIR530a,b-5'	0.167779092	0.163715587	0.303746935	0.982710671	0.178681436	0.536026512
MIR531-5'	11.4649046	8.949785428	4.448999219	6.96831203	297.8976896	374.6110614
MIR7707-3'	2.535328498	2.219255736	1.107782938	0.643228803	1.357978911	1.357933829
MIR7707-5'	0.372842426	0	1.983288808	0.71469867	3.448551709	2.447854403

MIRNA	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR7708a-3'	340.088219	464.15188	495.3219131	725.0618004	666.9284588	481.3339399
MIR7708a-5'	0.42876879	0	0.178674667	0.589626403	0.410967302	0
MIR7708b-3'	95.95099836	135.08355	82.74423849	122.8745688	189.044959	107.5447858
MIR7708b-5'	7.102648218	8.495019908	8.701456304	7.146986697	13.34750325	11.86405346
MIR7709-3'	1.062600914	1.8372527	2.501445344	5.681854424	8.165741612	9.344728852
MIR7709-5'	1.304948491	2.000968287	0.87550587	2.447842944	2.787430397	1.751019938
MIR7710-3'	0.205063334	0.291049933	0.71469867	1.983288808	2.162045372	1.286463628
MIR7710-5'	0	0	7.879552834	10.48820298	11.14972159	4.449020046
MIR7711-5'	57.99563938	39.00069097	50.29691888	33.17988574	31.57300969	40.00544531
MIR7712-3'	0.186421213	0.163715587	0.303746935	1.107782938	0	0.250145705
MIR7712-5'	0.42876879	0	0	0.178674667	0.589648738	0.589629163
MIR7713-3'	0.876179701	0.181906208	1.500867206	0.82190347	2.626617105	2.394251752
MIR7713-5'	0.727042731	0.109143725	0.929108271	0.178674667	2.626617105	1.804622589
MIR7714-3'	24.70081073	22.59275102	29.85653693	29.85653693	30.34010778	17.77821263
MIR7714-5'	0.42876879	0.418384278	8.004625101	10.02364884	0.821934604	2.501457054
MIR7715-3'	0	0	0	0.178674667	0.410967302	0.178675504
MIR7715-5'	20.86053374	17.91776148	5.43170989	7.754480567	6.343190968	10.80986798
MIR7716-3'	0.186421213	0.709434211	0.178674667	0	0.428835446	0.714702015
MIR7716-5'	6.28239488	5.911951756	5.985601359	3.680698149	10.66728171	7.754516868
MIR7717a-3'	282.1298639	307.6943506	276.963602	297.8864055	495.3406761	666.9063182
MIR7717a-5'	2.013349103	2.746783739	4.252457085	4.145252284	7.75477431	6.164304883
MIR7717b-3'	8.743154893	11.95123786	16.67034647	12.43575685	20.03018894	11.4530998
MIR7717b-5'	25.81933801	16.80813361	38.77240283	47.6525338	36.98705719	36.11031933
MIR7717c-3'	8.12796489	11.24180365	15.848443	11.97120272	14.83055916	16.67042451
MIR7717c-5'	45.28171265	58.26455839	23.87093557	17.45651501	25.33702758	15.84851719
MIR7718-3'	34.24557684	59.55609246	45.29402819	57.06868878	64.36105314	73.9716586
MIR7718-5'	2.367549406	5.202517546	2.787324812	2.501445344	17.45717627	17.04564307
MIR7719-3'	8.314386103	4.729561405	3.680698149	4.681276287	4.288354457	4.699165752
MIR7719-5'	0.167779092	0.418384278	8.165432302	11.22076911	0.410967302	0.196543054
MIR7720-3'	7.028079733	8.658735495	5.610384557	8.165432302	8.701785919	10.14876862
MIR7720-5'	8.016112162	10.73246627	13.82941926	17.04556327	55.1589592	47.17033302
MIR7721-3'	1.118527278	1.8372527	0.428819202	1.679541874	0.982747896	1.983298093
MIR7721-5'	2.553970619	3.765458503	2.287035743	4.806348554	4.449167749	5.145854511
MIR7722-3'	17.35581494	16.11689002	4.699143753	4.627673886	12.43622793	13.34706014
MIR7722-5'	0.167779092	0.709434211	0.178674667	0.410951735	0.178681436	0.196543054
MIR7723a-3'	1.976064858	3.474408571	5.270902689	6.91470963	8.00492832	6.450185689
MIR7723a-5'	3.635213655	7.203485832	2.447842944	2.858794679	18.99383662	7.754516868
MIR7723b-3'	0.615190003	1.109627868	10.80981738	13.93662406	2.5015401	2.144106046
MIR7723b-5'	0.260989698	0.836768556	0	0.250144534	0	0.410953659
MIR7724a,b-3'	0.186421213	0.527528003	0.303746935	0.428819202	0.25015401	0.357351008
MIR7724a,b-5'	0.167779092	0.709434211	0	0	0.428835446	0.714702015
MIR7725a-3'	13.55282219	11.36913799	53.7274725	63.2329648	49.6198347	44.47233291
MIR7725a-5'	0.838895459	1.000484143	0.410951735	0.982710671	4.699321759	4.449020046
MIR7725b-5'	2.57261274	0.836768556	1.518734673	0.357349335	0.982747896	1.286463628
MIR7726a-3'	2.162486072	1.000484143	1.000578138	1.697409341	1.107824901	1.518741783
MIR7726a-5'	503.9338232	402.5766287	398.9090625	314.6639568	558.8619265	610.0160377
MIR7726b-3'	6.431531851	4.292986506	11.27437151	11.27437151	9.345039088	11.98912631
MIR7726b-5'	1041.29297	849.4656096	873.1294973	873.1294973	915.5100722	873.1335847
MIR7727-3'	6.095973667	6.403098518	3.430553615	5.270902689	4.270486314	6.164304883
MIR7727-5'	10.81243036	10.98713496	18.08187634	15.848443	14.29451486	14.29404031
MIR7728-3'	0	0	0	0	0.178681436	0.125072853
MIR7728-5'	6.785732156	7.476345144	6.91470963	7.414998698	9.559456811	6.914741999
MIR7729a,b-3'	7.773764585	7.749204456	11.97120272	9.827106709	7.701169879	11.14935144
MIR7729a,b-5'	33.3321129	30.10547741	31.57181374	36.11015029	27.42760038	19.33268952
MIR7730-3'	0	0.545718624	0.71469867	0.250144534	0.643253169	1.500874232
MIR7730-5'	1.118527278	2.346590082	2.858794679	1.286457606	7.647565448	3.323364372
MIR7731-3'	2487.921583	3461.384086	2073.9126	2470.820506	5779.468906	9026.418442
MIR7731-5'	21.49436587	29.25051823	29.01676599	29.51705506	47.17189903	21.38745781
MIR7732-3'	72.4432834	34.74408571	30.33895853	34.43060841	38.77387155	34.43076959
MIR7732-5'	8.724512771	7.039770245	4.806348554	5.985601359	8.576708914	5.681881023
MIR7733-3'	1.193095764	1.709918354	0.82190347	0.250144534	1.822550644	2.447854403
MIR7733-5'	1.864212131	0.181906208	0.303746935	0.303746935	0.589648738	0.303748357
MIR7734-3'	4.324972143	3.710886641	4.681276287	5.806926692	3.734442006	2.519324604
MIR7734-5'	60.08355697	78.89272236	32.69746414	42.41736605	50.29882415	59.15945933
MIR7735-3'	4.362256386	3.601742916	3.448421081	3.912975217	6.914971562	17.45659673
MIR7735-5'	0.186421213	0.181906208	0	0.196542134	0.25015401	0.357351008
MIR7736-3'	3.802992746	4.183842781	4.127384818	1.697409341	10.48860028	8.415616232
MIR7736-5'	4.362256386	5.730045548	2.144096009	1.000578138	1.357978911	1.822490139
MIR7737-3'	6.468816093	5.329851891	2.447842944	6.164276026	6.164509532	4.806371054
MIR7737-5'	1.528653947	0.527528003	1.697409341	1.179252805	0.929143466	1.590211984
MIR7738-3'	1336.435034	2083.571896	1566.780291	1760.731643	1760.79834	1181.813385
MIR7738-5'	5.70448912	5.020611338	6.325083227	3.144674147	4.25261817	4.127404139
MIR7739-3'	0.932106065	1.364296559	0.589626403	1.357927472	0.929143466	1.125655674
MIR7739-5'	9.488839745	10.31408199	7.647275766	5.860529092	20.97720055	21.10157701
MIR7740-3'	23.4517886	42.72976823	11.45304618	12.56082912	11.98952434	26.40823947
MIR7740-5'	3.635213655	6.039286102	2.501445344	2.287035743	3.573628714	5.860556527
MIR7741-5'	2818.222688	5822.69038	1320.763142	1888.680572	2073.991161	3436.233688

MIRNA	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR7742-3'	1.323590613	3.165168017	0.589626403	1.822481608	2.858902971	3.144688868
MIR7742-5'	1.603222432	0.982293523	1.357927472	0.178674667	0	0.48242386
MIR7743-3'	0.932106065	0.181906208	0.643228803	0.589626403	1.357978911	1.179258325
MIR7743-5'	85.02671528	108.361528	141.4567342	120.1944488	125.6309174	146.6568536
MIR7744-3'	0	0.291049933	0	0.178674667	0.303758441	0.589629163
MIR7744-5'	36.07250473	41.82023719	41.54186018	36.98565616	59.16142336	55.15712804
MIR7745-3'	16.96433039	12.0785722	8.576384037	10.25592591	11.45348003	10.25597392
MIR7745-5'	15.10011826	21.35578881	11.22076911	15.5268286	20.40541996	12.43581507
MIR7746-3'	0.876179701	0.491146761	0.178674667	1.000578138	1.304374481	0.714702015
MIR7746-5'	2.926813045	1.109627868	0.178674667	0.482421602	0.821934604	0
MIR7747-3'	0	0.254668691	0	0.178674667	0	0
MIR7747-5'	0.615190003	0.200096829	6.682432562	10.14872111	0	0.821907318
MIR7748a-3'	32.66099653	47.49571088	35.41331909	33.55510254	41.5434338	53.72772401
MIR7748a-5'	0	0	0	0.125072267	0.178681436	0
MIR7748b-3'	1.379516977	1.509821525	0.357349335	1.59020454	1.357978911	1.000582822
MIR7748b-5'	36.76226322	44.83988024	29.51705506	27.96258545	60.09056683	57.8729957
MIR7749-3'	2.498044255	1.819062079	1.357927472	1.357927472	5.146025348	9.559139457
MIR7749-5'	193.0950925	213.8307474	89.17652652	82.74423849	107.5483562	207.996154
MIR7750-3'	19.74200646	17.19013665	5.806926692	7.647275766	20.20887038	20.02952398
MIR7750-5'	1.547296068	0.836768556	0.482421602	1.500867206	6.968575993	3.734318031
MIR7751-3'	5.536710028	4.83870513	3.734300549	2.519312811	2.876771115	7.41503341
MIR7751-5'	0.615190003	1.85544332	0	0.178674667	0.303758441	0.589629163
MIR7752-3'	27.19885499	23.15666026	11.86399792	20.02943022	32.69870274	23.87104732
MIR7752-5'	0.205063334	0	1.125650405	0.536024002	1.822550644	0.589629163
MIR7753-3'	0.167779092	0.163715587	0.250144534	0.178674667	1.286506337	3.25189417
MIR7753-5'	0	0	0.071469867	0	0	0.178675504
MIR7754-3'	224.2274351	231.5666026	73.97131232	91.55289959	82.74737288	133.8279524
MIR7754-5'	0	0.254668691	0.71469867	1.286457606	0.821934604	1.107788124
MIR7755-3'	12.19194733	13.44286876	10.91702218	12.88244352	24.17559825	18.99320606
MIR7755-5'	4.194477294	5.129755062	6.164276026	8.576384037	9.827478964	6.325112837
MIR7756-3'	9.209207925	7.803776318	4.288192018	4.448999219	4.806530621	8.701497038
MIR7756-5'	0	0	0.178674667	0.357349335	0.303758441	0.178675504
MIR7757-5'	881.1012214	2477.362455	915.4753935	895.6425054	6750.942004	754.4394475
MIR7758-3'	98.4304005	158.9678351	95.94829641	68.23585549	70.91866183	48.6533397
MIR7758-5'	3.094592137	2.54668691	40.00525804	26.40811585	4.681453616	10.02369577
MIR7759-3'	7.829690949	2.000968287	1.929686408	1.804614141	7.75477431	1.357933829
MIR7759-5'	12.65800037	10.09579454	10.02364884	6.396553094	18.85089147	8.880172542
MIR7760-3'	16.51691948	16.35336809	6.396553094	9.058805639	10.25631441	20.40474254
MIR7760-5'	9.973534899	10.09579454	17.04556327	21.10147822	18.08256129	27.42668984
MIR7761-3'	14.07480159	12.0785722	7.414998698	8.290504569	11.27479859	9.827152712
MIR7761-5'	0	0	0.178674667	0.410951735	0.178681436	0.178675504
MIR7762-3'	16.08815069	19.00919872	14.8299974	22.8882249	26.4091162	33.55525963
MIR7762-5'	24.38389467	24.12076317	25.80062198	29.01676599	33.18114261	29.01690183
MIR7763-3'	30.10702591	21.22845446	10.25592591	8.701456304	18.4935286	9.058848046
MIR7763-5'	14.20529644	22.06522302	9.344685107	11.86399792	16.67097795	22.88833204
MIR7764-3'	19.20138495	26.63106883	10.48820298	18.85017741	15.84904335	25.33618645
MIR7764-5'	1.1371694	1.291534076	0	0.178674667	1.00061604	0.589629163
MIR7765-3'	0.838895459	3.274311742	20.40464702	21.79830943	6.396795398	6.396583038
MIR7765-5'	3.504718806	1.709918354	3.037469346	3.573493349	1.590264778	4.62769555
MIR7766-3'	3.094592137	2.401161944	2.161963476	1.518734673	2.519408244	2.626529907
MIR7766-5'	8.183891253	8.058445009	6.96831203	6.325083227	4.127541165	6.342980387
MIR7767-3'	0	0	0.178674667	0	0.303758441	0.178675504
MIR7767-5'	1.71507516	0.291049933	1.59020454	0.87550587	1.679605496	2.858808062
MIR7768a,b-3'	168.6925557	142.5598951	87.05029797	70.9159755	120.1990018	314.6654299
MIR7768a,b-5'	76.89875039	66.03195346	18.99311715	23.87093557	81.24644882	42.41756462
MIR7769-3'	18.06421555	12.98810324	18.85017741	19.33259902	44.47380935	40.55933938
MIR7769-5'	0.260989698	0.873149798	0	0	0.536044307	0.178675504
MIR7770-3'	4.548677599	3.601742916	3.251878947	2.215565876	2.858902971	2.340649101
MIR7770-5'	6.524742457	5.857379894	3.912975217	4.252457085	5.610597081	8.004662573
MIR7771-3'	40.58389808	53.13480332	48.65311194	45.29402819	73.97411438	70.91630748
MIR7771-5'	0.615190003	0	0	0.178674667	0.536044307	0.178675504
MIR7772-3'	0	0	0	0	0.178681436	0
MIR7772-5'	1.304948491	1.309724697	2.519312811	2.394240544	4.449167749	8.290543379
MIR7773-3'	321.2596765	210.3381482	122.8745688	0	0.125077005	0.071470202
MIR7773-5'	0	0	4.145252284	10.80981738	2.733825966	2.215576248
MIR7774-3'	2.237054557	1.946396424	2.215565876	1.518734673	1.286506337	4.681298201
MIR7774-5'	43.1378687	57.46417107	27.96258545	35.41331909	35.41466056	60.08857195
MIR7775-3'	6.28239488	4.493083335	4.270324552	4.145252284	5.985828096	3.912993535
MIR7775-5'	1.547296068	1.600774629	1.751011741	2.733722412	3.037584407	2.78733786
MIR7776-5'	18.39977373	10.55056006	5.681854424	3.430553615	5.271102353	4.14527169
MIR7777-5'	11.85638915	11.31456613	7.754480567	10.02364884	19.61922164	13.6865436
MIR7778-3'	0	0	0	0	0	0.410953659
MIR7778-5'	0	0	0	0	0.357362871	0.178675504
MIR7779-3'	3.486076684	0.527528003	0.982710671	0.178674667	3.913123442	4.288212093
MIR7779-5'	83.16250315	73.39915488	24.1746825	27.42656145	55.98089381	81.24375161
MIR7780-3'	87.8416756	71.30723349	52.79836423	44.47212472	43.6340066	93.46515607
MIR7780-5'	0	0	0.178674667	0	0.536044307	0.410953659

MIRNA	A1	A2	A3	A4	A5	A7
MIR7781-3'	0.260989698	0	0	0	0	0
MIR7781-5'	7.531417008	6.45767038	3.037469346	2.161963476	13.82994312	18.85026566
MIR7782-3'	428.451874	237.3694107	9026.376187	6750.686285	374.6234981	248.9485795
MIR7782-5'	15.77123463	9.895697709	93.46471853	71.32692724	11.22119416	10.02369577
MIR7783-3'	1.006674551	0.600290486	75.23990246	81.24337128	1.518792204	1.679549736
MIR7783-5'	0	0.600290486	0.410951735	0.303746935	0.589648738	0.410953659
MIR7784a,b-3'	122.3668843	126.7158644	70.9159755	55.97877331	75.24275258	85.72850675
MIR7784a,b-5'	21.64350284	32.97959549	14.29397339	15.99138274	21.79913516	19.61857032
MIR7785-3'	4.902877904	9.404550948	4.448999219	5.145830422	8.290818617	15.52690129
MIR7785-5'	3.187802743	3.056024292	1.983288808	4.270324552	2.447935669	3.037483566
MIR7786-3'	9.712545201	4.747752026	8.415576836	3.448421081	9.059148791	4.270344542
MIR7786-5'	0.298273941	0.345621795	0.589626403	0.589626403	0.589648738	0.178675504
MIR7787-3'	0.838895459	0.436574899	1.000578138	1.822481608	1.107824901	0.982715271
MIR7787-5'	0.354200305	0	0.125072267	0	0	0.178675504
MIR827-3'	54.62141543	74.69068896	33.55510254	48.65311194	68.2384403	33.18004107
MIR827-5'	128.2205103	172.9200412	55.97877331	0	0.071472574	0
MIR845-5'	1.323590613	1.364296559	7.146986697	8.004625101	0.714725743	1.822490139
MIR9480b-5'	1771.299798	1764.29012	460.5339553	495.3219131	610.0362897	460.5361112
MIR9481b-3'	0.167779092	0.163715587	0.178674667	0	0	0
MIR9482-3'	0	0	1.304325072	0.87550587	0	0.178675504
MIR9483b-5'	0.186421213	0.181906208	0	0	0	0.303748357
MIR9484-5'	240.8002809	166.6078958	72.75632458	75.23990246	42.41897284	45.29424023
MIR9485-5'	29.56640439	27.66793422	15.99138274	16.67034647	11.86444733	6.968344651
MIR9486a-3'	5.089299117	7.803776318	1.822481608	4.127384818	5.807146661	10.91707329
MIR9486b-3'	4.716456691	8.240351217	4.627673886	3.573493349	5.092420918	5.610410821
MIR9487-3'	2.684465468	2.892308705	0.536024002	0.178674667	47.6543389	57.06895593
MIR9488-5'	2.498044255	2.52849629	2.858794679	2.858794679	3.377079135	2.733735209
MIR9489-5'	12.19194733	16.5352743	8.880130971	8.576384037	10.02402854	12.88250383
MIR9490-5'	118.0791964	94.57303748	157.7161289	107.5442823	366.9044601	334.3912055
MIR9491-5'	20.63682829	18.24519265	2.876662146	2.876662146	4.574244754	3.037483566
MIR9492-5'	2.777676075	2.473924427	1.286457606	0.410951735	1.107824901	0.643231814
MIR9493-3'	30.42394197	24.43000372	207.9951804	234.0995493	36.11151816	31.57196153
MIR9494-3'	10.98020945	6.730529692	8.576384037	8.880130971	4.985212056	6.682463844
MIR9495-5'	94.04950199	86.7146893	34.43060841	32.69746414	39.02402556	35.41348487
MIR9496-5'	30.90863713	30.57843355	6.342950694	8.058227501	7.147257428	7.87958972
MIR9497-5'	3.504718806	1.528012146	1.107782938	1.000578138	2.287122377	0.536026512
MIR9498-5'	0.298273941	0	3.966577617	1.751011741	0	0
MIR9499-5'	10.17859823	8.640544875	3.323348814	2.144096009	5.860751091	8.165470526

Apéndice F. Resultados de ANOVA en Minitab.

Contenido Relativo de Agua en hojas

1. Vegetativa; 2. Transición cronológica; 3. Transición fisiológica; 4. Floración.

1 Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	0.0386791	0.0386791	171.40	<0.0001
Error	6	0.0013540	0.0002257		
Total	7	0.0400331			

2 Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	0.0461261	0.0461261	352.29	<0.0001
Error	6	0.0007856	0.0001309		
Total	7	0.0469117			

3 Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	0.0546702	0.0546702	129.82	<0.0001
Error	6	0.0025267	0.0004211		
Total	7	0.0571969			

4 Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	0.126874	0.126874	289.21	<0.0001
Error	6	0.002632	0.000439		
Total	7	0.129506			

Parámetros fisiológicos/ Hojas

1. Vegetativa; 2. Transición cronológica; 3. Transición fisiológica; 4. Floración.

1 **Analysis of Variance**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	110.45	110.450	21.49	0.0002
Error	18	92.50	5.139		
Total	19	202.95			

2 **Analysis of Variance**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	572.45	572.450	19.72	0.0003
Error	18	522.50	29.028		
Total	19	1094.95			

3 **Analysis of Variance**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	11956.1	11956.1	123.90	<0.0001
Error	18	1736.9	96.5		
Total	19	13693.0			

4 **Analysis of Variance**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	25205	25205.0	130.30	<0.0001
Error	18	3482	193.4		
Total	19	28687			

Parámetros fisiológicos/ Altura

1. Vegetativa; 2. Transición cronológica; 3. Transición fisiológica; 4. Floración.

1 **Analysis of Variance**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	7.92	7.92	19.80	0.0002
Error	20	8.00	0.40		
Total	21	15.92			

2 **Analysis of Variance**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	7.920	7.92000	1.49	0.2371
Error	20	106.618	5.33091		
Total	21	114.538			

3 **Analysis of Variance**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	59.565	59.5655	14.58	0.0011
Error	20	81.709	4.0855		
Total	21	141.275			

4 **Analysis of Variance**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	7.92	7.92	19.80	0.0002
Error	20	8.00	0.40		
Total	21	15.92			

Parámetros fisiológicos/ Ramificaciones

1. Vegetativa; 2. Transición cronológica; 3. Transición fisiológica; 4. Floración.

1 Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	7.2	7.20000	16.20	0.0008
Error	18	8.0	0.44444		
Total	19	15.2			

2 Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	61.25	61.2500	47.32	<0.0001
Error	18	23.30	1.2944		
Total	19	84.55			

3 Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	7.2	7.20000	2.61	0.1234
Error	18	49.6	2.75556		
Total	19	56.8			

4 Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	54.45	54.4500	18.12	0.0005
Error	18	54.10	3.0056		
Total	19	108.55			

Expresión Relativa

1. Vegetativa; 2. Transición cronológica; 3. Transición fisiológica; 4. Floración.

1 Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	8.7823	8.78227	20.49	0.0002
Error	20	8.5709	0.42855		
Total	21	17.3532			

2 Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	53.789	53.7891	10.90	0.0036
Error	20	98.689	4.9345		
Total	21	152.478			

3 Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	684.33	684.331	27.94	<0.0001
Error	20	489.92	24.496		
Total	21	1174.25			

4 Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	1	1152.03	1152.03	33.85	<0.0001
Error	20	680.65	34.03		
Total	21	1832.68			