

TESIS
DOCTORAL

Enero
2021



María José
López Galiano

Identificación de miARNs con valor predictivo como
biomarcadores de estrés en plantas de interés agronómico



Programa de doctorado en
biomedicina y biotecnología

Identificación de miARNs con valor predictivo como biomarcadores de estrés biótico y abiótico en plantas de interés agronómico

María José López Galiano

Enero 2021

Dirigida por:

María Dolores Real García
Inmaculada García Robles



VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

Facultad de
Ciencias Biológicas



VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

Facultad de
Ciencias Biológicas





VNIVERSITAT
E VALÈNCIA

***Identificación de miARNs con valor predictivo
como biomarcadores de estrés biótico y abiótico en
plantas de interés agronómico***

Tesis Doctoral

Programa de Doctorado en Biomedicina y Biotecnología

Facultad de Ciencias Biológicas

Departamento de Genética

Maria José López Galiano

Enero 2021

Tesis doctoral dirigida por:

Dra. María Dolores Real García

Dra. Inmaculada García Robles



VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

Departamento de Genética



Dra. MARÍA DOLORES REAL GARCÍA, Catedrática de Universidad y Vicerrectora, y Dra. INMACULADA GARCÍA ROBLES, profesora titular de Universidad, del Departamento de Genética de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universitat de València,

Informan

Que Dña MARIA JOSÉ LÓPEZ GALIANO, graduada en Biología por la Universitat de València, ha realizado bajo nuestra supervisión el trabajo de investigación original recogido en la presente memoria titulada “Identificación de miRNAs con valor predictivo como biomarcadores de estrés biótico y abiótico en plantas de interés agronómico”.

Revisado el presente trabajo, expresan su conformidad para la presentación del mismo en el Departamento de Genética de la Universitat de València, por considerar que reúne los requisitos necesarios para ser sometidos a discusión ante el Tribunal correspondiente, para optar al Grado de Doctor por la Universitat de València dentro del Programa Oficial de Doctorado en Biomedicina y Biotecnología.

En Valencia, a 8 de enero de 2021

Esta tesis ha sido posible gracias al proyecto AGL2013-49023-C3-3-R aprobado por el Ministerio de Ciencia e Innovación. Para su realización, la autora ha sido beneficiaria de un contrato para la formación de personal investigador de carácter predoctoral financiado por la Universitat de València en el marco del subprograma “Atracció de Talent” en 2016.

Agradecimientos

Puedo decir, que después de 5 años, ha finalizado una etapa muy importante en mi vida. Creo que no hace falta decir que no es fácil enfrentarse a todos los retos que supone hacer una tesis, por lo que me gustaría aprovechar este apartado para agradecer a todas aquellas personas que han permitido, de una forma u otra, que esto sea posible.

En primer lugar, me gustaría agradecer a Loles, Carol y a Inma por acogerme en su grupo, y por darme la oportunidad de poder desarrollar una tesis doctoral bajo su supervisión. Gracias por la confianza que habéis depositado en mí y por haberme enseñado tanto durante todos estos años.

A mis compañeros de BIOMOL por todo el apoyo que me han brindado a durante este período. Gracias a mi compi de batallas Aida, porque sin ti el *wash solution* de las extracciones de RNA no sería el mismo. Gracias por ser tan buena compañera y amiga.

No me olvido de los GMDiers y de todas esas anécdotas que hemos compartido. Gracias Cristina, porque nos has dado mucha vidilla con tus historias, porque todos estos años sin tí hubieran sido muy aburridos. No me olvido del tripartido y de sus aliados, porque demostrasteis que se puede compaginar la ciencia con las ideas más descabelladas.

Al personal de administración y profesores del departamento de Genética, al igual que a los servicios de invernadero y genómica del SCSIE. Gracias en especial a Amparo y Vicente por su gran implicación y ayuda.

A los investigadores de los grupos “Bioquímica y Biotecnología” de la Universidad Jaime I y “Biotecnología de Alimentos” del Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, por su inestimable colaboración.

Gracias a la Dra. Blanca San Segundo por permitirme realizar una estancia en su laboratorio. A Bea, Ferran, Mire, Sonia, Jorge, Ornella y Marisa, por haberme enseñado tanto, y sobre todo, por haberme tratado como una más.

Mención especial als biòlegs de la comarca (Eric, Javi, Aure, Marta y Salomé), por todas las historietas que hemos vivido en nuestros años de estudiantes, por las que estamos viviendo y por aquellas que nos quedan por vivir.

Me gustaría agradecer especialmente el apoyo de mi familia, en especial de mis padres y mi hermano. Gracias por vuestro esfuerzo para que me fuera posible llegar hasta aquí. Por escucharme y confiar en mí. También a Iván, por toda la ayuda y apoyo ofrecido en estos años. Por aguantarme en mis malos momentos.

Por último, pero no menos importante, me gustaría mencionar a mi abuelo. Por su gran interés, aunque poco entendía de las cosas moleculares que hacía en el laboratorio. Por las horas que empleó paseando por el campo para que su nieta tuviera plantas suficientes para su herbario. Porque me vio iniciarme en el mundo de la investigación, pero le faltó poco para verme finalizar esta etapa. Esta tesis te la dedico.

A mi abuelo

Índice

Resumen	1
Introducción.....	3
1. Respuesta a estrés en plantas.....	5
1.1. Mecanismos de defensa frente a estreses bióticos	5
1.2. Mecanismos de defensa frente a estreses abióticos	9
1.3. Efecto del cambio climático en la respuesta al estrés en plantas.....	12
2. ARNs pequeños en plantas	13
2.1. miARNs en plantas	13
2.2. Función de los miARNs en respuesta a estrés.....	16
2.3. Aplicaciones biotecnológicas de los miARNs	19
3. Familia <i>Solanaceae</i>	20
3.1. Descripción.....	20
3.2. Importancia de las solanáceas	20
3.3. Estreses bióticos y abióticos como factores limitantes en el desarrollo y producción en cultivos de solanáceas	22
Objetivos	25
Material y Métodos.....	29
1. Material vegetal y condiciones de crecimiento	31
2. Condiciones de estrés	31
3. Extracción de ARN.....	33
4. Aislamiento de la fracción de ARN pequeño y análisis por RT-PCR.....	33
5. Construcción de librerías de ARN pequeño para los experimentos de secuenciación masiva.....	34
6. Identificación de miARNs a partir de análisis de secuenciación masiva	35
7. Expresión diferencial de miARNs	35
8. Análisis de expresión de miARNs mediante RT-qPCR	35
9. Predicción bioinformática de miARNs reguladores de la expresión génica	37
10. Predicción de dianas génicas de los miARNs y análisis funcional	37
11. Análisis de expresión génica mediante RT-qPCR	37

12. Edición génica de plantas de tomate empleando la tecnología CRISPR/Cas9	39
13. Cuantificación de aminoácidos y poliaminas	40
14. Determinación de los niveles de hormonas.....	40
15. Ensayo de inmunoprecipitación de cromatina (ChIP).....	41
16. Análisis proteómico del jugo intestinal de CPB.....	42
Capítulo 1: Identificación de miARNs implicados en respuesta a estrés en plantas de tomate	43
1.1. Introducción	45
1.2. Resultados y discusión	46
1.2.1. Identificación y validación de miARNs en respuesta a estrés	46
1.2.2. Predicción y validación de las dianas génicas de los miARNs expresados diferencialmente en la respuesta de defensa	56
1.2.3. Implicación de los miARNs en respuesta a estrés.....	61
1.2.4. miARNs y sus dianas génicas en respuesta a estrés.....	65
1.2.5. Nuevas aproximaciones para la validación funcional de miARNs.....	68
Capítulo 2: Especificidad de la respuesta al estrés por sequía ejercida por miARNs en plantas de tomate	75
2.1. Introducción	77
2.2. Resultados y discusión	79
2.2.1. Expresión de <i>miR159</i> y sus potenciales dianas en plantas de tomate sometidas a estrés por sequía	79
2.2.2. Evaluación de la especificidad de la interacción <i>sly-miR159</i> y <i>SIMYB33</i>	83
Capítulo 3: miARNs y mecanismos de regulación epigenéticos en genes biomarcadores de respuesta a patógenos en plantas solanáceas	85
3.1. Introducción	87
3.2. Resultados y discusión	89
3.2.1. Expresión de <i>SIWRKY75</i> en diversas condiciones de estrés biótico y abiótico en plantas de tomate y berenjena.....	89
3.2.2. Perfil hormonal de las plantas de tomate sometidas a estreses bióticos y abióticos.....	90
3.2.3. Predicción de miARNs reguladores de <i>SIWRKY75</i>	92
3.2.4. Expresión de <i>sly-miR1127-3p</i> en plantas de tomate sometidas a estreses bióticos	94

3.2.5. Estudio de la marca epigenética de histonas H3K4me3 en <i>WRKY75</i> tras la infección por <i>B. cinerea</i> en plantas tomate	95
3.2.6. Análisis del procesado del transcrito de <i>SIWRKY75</i> en respuesta a <i>B. cinerea</i> y <i>P. syringae</i>	96
Capítulo 4: Análisis del efecto del ácido hexanoico en la inducción de defensas frente estreses bióticos y abióticos en plantas de berenjena	99
4.1. Introducción	101
4.2. Resultados y discusión	102
4.2.1 Expresión del gen “ <i>Miraculin-like Protease Inhibitor</i> ” en plantas de berenjena	102
4.2.2 Regulación de la expresión del gen “ <i>Miraculin-like Protease Inhibitor</i> ” en plantas de berenjena.....	106
Conclusiones	109
Bibliografía.....	113
Anexo	137
Material suplementario Capítulo 1	139
Material suplementario Capítulo 3	240

Resumen

Las plantas son organismos sésiles que en su ambiente natural deben hacer frente a una serie de condiciones bióticas y abióticas que les son adversas. En el escenario de cambio climático en el que nos encontramos actualmente, es importante conocer cómo las plantas responden a estos factores para así poder mitigar las posibles pérdidas económicas y escasez de productos agrarios. Los cambios producidos en los patrones de precipitación y temperatura, no solo están afectando a la disponibilidad de agua para el riego o al desarrollo y calibre de frutos, sino que también inducen cambios en los patrones de dispersión de patógenos y plagas, facilitando su llegada más temprana a los cultivos o el contacto con nuevos patógenos. Por estos motivos, el desarrollo de nuevas estrategias que permitan la detección temprana del estrés en plantas es muy importante para la elaboración de proyectos alternativos de protección vegetal. Con esta finalidad, la identificación de genes o de elementos reguladores de la expresión génica que puedan ser usados como biomarcadores de la situación estresante puede ser de gran utilidad en este escenario.

Uno de los elementos reguladores de la expresión génica que mayor interés está suscitando, por su acción a nivel post-transcripcional, son los miARNs. Se trata de ARNs monocatenarios, de entre 20 y 24 nucleótidos, que actúan uniéndose de forma muy específica a su ARN mensajero diana ocasionando su efecto regulador en un momento y tejido concreto. Dada su especificidad, conocer el estatus de la planta estresada a nivel de expresión de miARNs y de sus dianas, podría ser muy informativo al revelar cómo la planta es capaz de ejecutar y coordinar la respuesta de defensa, convirtiéndose en potenciales biomarcadores de estrés. En este contexto, se plantea un experimento a gran escala en la solanácea de interés agronómico tomate sometida a seis condiciones distintas de estrés para la identificación de miARNs implicados en respuesta de defensa. Las condiciones de estrés aplicadas se corresponden con tres condiciones bióticas generadas por el daño ocasionado por el insecto plaga *Leptinotarsa decemlineata* (escarabajo de la patata; CPB, por sus siglas en inglés de “Colorado Potato Beetle”), la bacteria patógena *Pseudomonas syringae* y el hongo necrótrofo *Botrytis cinerea*, y tres condiciones abióticas, sequía, incremento de temperatura y tratamiento con el inductor de las defensas ácido hexanoico (Hx). Los resultados de esta aproximación para la identificación de miARNs biomarcadores de respuesta a estrés quedan resumidos en el capítulo 1. En el proceso de secuenciación masiva se identificaron 104 miARNs pertenecientes a 37 familias distintas y se predijeron 61 miARNs noveles, de los cuales 41 miARNs se expresaban de forma diferencial en respuesta a estrés. La predicción de dianas de estos miARNs reveló un total de 279 probables dianas génicas. Once miARNs fueron seleccionados para su validación por RT-qPCR, analizándose también mediante la misma técnica la expresión de algunas de las dianas génicas de 4 de ellos. Por otro lado, se puso a punto la técnica CRISPR/Cas9 para la validación funcional de los miARNs, *sly-miR171a*, implicado en defensa frente al insecto plaga CPB, y *sly-miR6022*, implicado en respuesta a sequía. Los resultados mostraron que, aunque el proceso de generación de los vectores CRISPR/Cas9 y la regeneración de plántas se había logrado, no se

consiguió generar en última instancia mutaciones en el gen *MIR* que permitieran llevar a cabo la validación funcional de los miARNs bajo estudio.

Dada la especificidad en el modo de acción de los miARNs, en el capítulo 2 se analiza la respuesta específica coordinada por el miARN *sly-miR159*, mediante el análisis de la regulación ejercida por este miARN sobre los factores de transcripción *MYB* (homólogos del oncogén viral de mieloblastosis V-Myb) en dos condiciones de estrés diferentes, sequía y daño ocasionado por el insecto CPB. Los resultados mostraron que, en condiciones de sequía, *sly-miR159* regula específicamente la expresión del factor de transcripción *SIMYB33* para generar un ambiente osmoprotector en la planta de tomate, y que esta respuesta es diferente de la observada frente al daño ocasionado por el insecto herbívoro.

En el tercer capítulo, se analiza la implicación del factor de transcripción *WRKY75* en la respuesta de defensa en plantas de tomate. Se observó que este gen se expresaba de forma diferencial únicamente en los estreses bióticos bajo estudio, destacando una fuerte inducción en la infección ocasionada por el hongo *B. cinerea*, y que podría tratarse de un elemento regulador de la vía del ácido jasmónico. Se identificó por primera vez el miARN *sly-miR1127-3p* como elemento regulador del factor de transcripción *WRKY75* en respuesta a la infección fúngica, y se propuso que su modo de acción podría relacionarse con mecanismos de regulación epigenéticos junto con la presencia de la marca H3K4me3.

Finalmente, en el último capítulo, se abordan los mecanismos que subyacen en el efecto de “priming” generado por Hx en la solanácea berenjena. No se conocen en profundidad las bases del efecto de “priming” generado por Hx, por lo que la detección de biomarcadores de este efecto es de gran importancia. En plantas de berenjena tratadas con este agente inductor de defensas, se caracterizó el gen *MLP* (“*Miraculin-like Protease Inhibitor*”) como un gen marcador de este efecto en las plantas dañadas por el insecto CPB, además de ser un gen de respuesta al daño generado por *B. cinerea* y a condiciones de sequía.

Los resultados presentados en esta tesis muestran la gran coordinación fisiológica y molecular que llevan a cabo las plantas para superar las condiciones desfavorables a las que están sometidas. Los mecanismos de regulación génica mediados por miARN se erigen como unos componentes clave de esta plasticidad mostrada por la planta en condiciones de estrés, debido a que estos elementos génicos median la expresión de genes de defensa, de genes implicados en desarrollo y de factores de transcripción, y que a su vez actúan de forma coordinada con las vías de señalización hormonal. Por otro lado, el efecto de “priming” generado en la planta por el tratamiento con Hx emerge como una nueva alternativa con múltiples aplicaciones en campo, incluida su aplicación contra los insectos herbívoros.

Introducción

1. Respuesta a estrés en plantas

Los cultivos vegetales deben enfrentarse a la acción del conjunto de factores ambientales que son característicos de la zona en la que se cultivan, además de estar sometidos a la infección de diversos tipos de patógenos y al ataque de plagas de insectos.

La situación de estrés vegetal se define como aquellas condiciones bióticas y abióticas a las que son sometidas las plantas que, dependiendo de su duración e intensidad, afectan en mayor o menor medida el crecimiento y desarrollo vegetal. Los estreses abióticos son los ocasionados por factores físico-químicos, siendo la sequía, la salinidad y la temperatura los que afectan en mayor medida al desarrollo de cultivos a nivel mundial (Wang *et al.*, 2003; Cramer *et al.*, 2011). Por otro lado, los estreses bióticos son causados por la acción de otros seres vivos, tales como animales (herbívoros, insectos plaga, etc.), microorganismos (bacterias, hongos, etc.), otras plantas (por alelopatía, competencia, etc.) y virus (Atkinson y Urwin, 2012).

1.1. Mecanismos de defensa frente a estreses bióticos

Frente a los organismos que son potencialmente patogénicos o dañinos, las plantas son capaces de desarrollar una respuesta de defensa para evitar ser dañadas. Esta capacidad para defenderse es también conocida como inmunidad innata, siendo el sistema de defensa constitutivo el primer mecanismo defensivo (Freeman y Beattie, 2008). En esta forma de defensa intervienen las barreras físicas y químicas preexistentes en la planta previamente al ataque. Entre las barreras estructurales encontramos la pared celular, cutículas, ceras, espinas y tricomas, que pueden actuar limitando la accesibilidad de los insectos herbívoros a la planta, su alimentación y la ovoposición, o dificultando la invasión de microorganismos patógenos (Santamaria *et al.*, 2013). Todo este conjunto de barreras estructurales se completa con una serie de barreras químicas relacionadas con la síntesis de sustancias que actúan atrapando a los insectos herbívoros y patógenos, como resinas, aceites y látex, así como la síntesis de metabolitos. Estos últimos operan como agentes repelentes de insectos herbívoros, reducen la palatabilidad y afectan a su crecimiento y desarrollo (Santamaria *et al.*, 2013; Mitchell *et al.*, 2016). Todos estos elementos presentan una acción directa, no obstante, también pueden actuar de manera indirecta, como es el caso, por ejemplo, de las sustancias volátiles y el néctar, que pueden tener un efecto atrayente de los depredadores naturales de los insectos herbívoros (Freeman y Beattie, 2008; Mazid *et al.*, 2011; Santamaria *et al.*, 2013; Mitchell *et al.*, 2016).

Estos mecanismos de defensa constitutivos pueden no ser suficientes para hacer frente al daño o infección, por lo que, a su vez, la planta ha desarrollado una respuesta que contempla un conjunto de mecanismos de defensa activa inducidos por la presencia y el reconocimiento de moléculas específicas del organismo patógeno (Zhang *et al.*, 2018).

Cuando se produce el ataque por insectos herbívoros, las plantas son capaces de detectar componentes presentes en las secreciones orales, entre los que encontramos enzimas salivares, (β -glucosidasas, glucosa oxidasas, oxireductasas y proteasas), péptidos (inceptinas), o ácidos grasos (caeliferinas), además de componentes de los fluidos de la ovoposición (Freeman y Beattie, 2008; Bonaventure, 2012; Fürstenberg-Hägg *et al.*, 2013). Este reconocimiento inicial del insecto herbívoro por parte de la planta, provoca cambios en el potencial de membrana de las células vegetales, seguidos de un potencial de acción que conlleva el aumento de los niveles intracelulares de Ca^{2+} , molécula que actúa como segundo mensajero para la activación de proteínas sensibles a calcio y diversas vías de transducción de señales (Bonaventure, 2012; Santamaría *et al.*, 2013). Una de estas vías está mediada por calmodulina y proteinquinas dependientes de calcio (CDPKs), las cuáles actúan provocando cambios en los patrones de fosforilación de otras proteínas cuya función se relaciona con la activación de factores de transcripción, como los pertenecientes a la familia *WRKY* o *MYC*, que ocasionan alteraciones en los patrones de expresión génica (Bonaventure, 2012; Santamaría *et al.*, 2013). Otra de estas vías de transducción de señales está mediada por proteinquinas activadas por mitógenos (MAPKs) que inducen la biosíntesis de las fitohormonas ácido jasmónico (JA) y etileno (ET), lo que conlleva a su vez cambios en la expresión génica. Cabe destacar que esta activación no ocurre de forma separada, sino que ambas vías están interrelacionadas para conseguir una respuesta más eficiente (figura 1) (Zhang y Klessig, 2001; Bonaventure, 2012; Santamaría *et al.*, 2013).

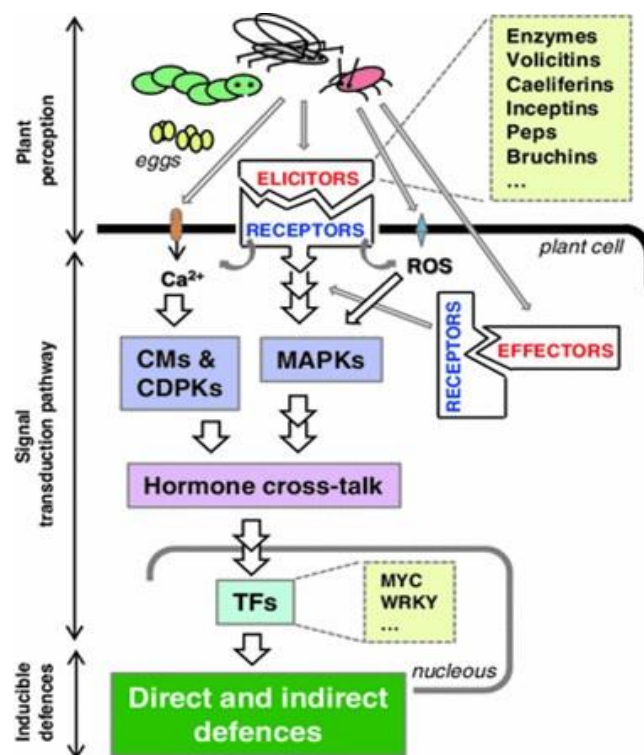


Figura 1. Percepción y activación de las defensas directas e indirectas en plantas frente a insectos (tomada de: Santamaría *et al.*, 2013).

En la respuesta frente a insectos herbívoros, también cobran gran importancia las fitohormonas y los metabolitos secundarios. En referencia a las primeras cabe destacar el JA, el ácido salicílico (SA) y el ET (Bonaventure, 2012; War *et al.*, 2012). Las fitohormonas participan también en las vías de transducción de señales pero, en función del tipo de insecto atacante, pueden actuar de forma sinérgica o antagónica (Santamaria *et al.*, 2013).

El ataque por insectos herbívoros, en su mayor parte por la masticación, induce una respuesta mediada principalmente por JA. Entre los efectos que produce esta hormona a nivel defensivo se puede destacar la inducción de la formación de tricomas, la síntesis de enzimas antioxidantes como la peroxidasa, la polifenol oxidasa y la lipooxigenasa, y la producción de alcaloides y lectinas (Fürstenberg-Hägg *et al.*, 2013). Estos últimos actúan dañando las membranas epiteliales lumbales de los insectos herbívoros, interfiriendo así en la digestión y absorción de los nutrientes (War *et al.*, 2012; Fürstenberg-Hägg *et al.*, 2013). Otra de sus funciones destacadas es la inducción de la síntesis de inhibidores de proteasas que, una vez ingeridos por los insectos, actuarían evitando la proteólisis de las proteínas con actividad insecticida sintetizadas por la planta y adquiridas durante la alimentación (War *et al.*, 2012; Fürstenberg-Hägg *et al.*, 2013). Por otro lado, el JA también participa en la biosíntesis de compuestos orgánicos volátiles y del néctar extrafloral, los cuales actúan atrayendo a enemigos naturales del insecto herbívoro (War *et al.*, 2012; Fürstenberg-Hägg *et al.*, 2013). Si el insecto es chupador o perforador, la fitohormona cuya síntesis se activa preferentemente es el SA. Esta fitohormona, que actúa de forma antagónica al JA, además de mediar la liberación de compuestos volátiles, induce la síntesis de H₂O₂ el cual actúa dañando activamente el sistema digestivo de los insectos herbívoros, lo que conlleva efectos en su crecimiento y desarrollo. En el caso del ET, además de participar en la maduración del fruto, trabaja conjuntamente con el JA induciendo la síntesis de compuestos orgánicos volátiles y de inhibidores de proteasas (Robert-Seilaniantz *et al.*, 2011; War *et al.*, 2012; Fürstenberg-Hägg *et al.*, 2013; Santamaria *et al.*, 2013).

Por otra parte, cabe destacar el papel de los metabolitos secundarios en defensa contra insectos herbívoros pudiendo actuar tanto de forma constitutiva o bien inducida, funcionando como atrayentes, repelentes, inhibidores de la alimentación o de la ovoposición, como sustancias tóxicas y como reguladores del desarrollo (War *et al.*, 2012; Santamaría *et al.*, 2013). Clásicamente, los metabolitos secundarios se han clasificado en terpenoides, alcaloides y compuestos fenólicos, cada uno de los cuales presenta un modo de acción distinto contra los insectos. En el caso de los alcaloides, actúan interfiriendo con la replicación del ADN, alterando el transporte a través de las membranas celulares y como agonistas de la acetilcolina. Los terpenoides presentan acción repelente y disuasoria, interfieren en la producción de la hormona juvenil e inhiben la síntesis de quitina y de diversas enzimas digestivas. Tanto los terpenoides como los compuestos fenólicos, además de presentar una acción repelente y disuasoria, también reducen la digestibilidad y alteran la estructura de las membranas epiteliales lumbales (Robert-Seilaniantz *et al.*, 2011; Mithöfer y Boland, 2012; War *et al.*, 2012; Santamaria *et al.*, 2013; Fürstenberg-Hägg *et al.*, 2013).

En el caso de los microorganismos patógenos, los patrones moleculares identificados por la planta reciben el nombre de PAMPs (“Pathogen-Associated Molecular Patterns”) y son reconocidos por los receptores de reconocimiento de patrones PRR. Los PAMPs son moléculas esenciales para la supervivencia de los microorganismos y están conservados en diferentes especies, convirtiéndose en una forma muy eficiente de detectar la presencia de patógenos por la planta. Entre ellos encontramos poligalacturonidos, quitina, β -glucanos, flagelina, glicolípidos y lipopolisacáridos, que forman parte de las membranas o paredes celulares de los patógenos (Gómez-Gómez, 2004; Bittel y Robatzek, 2007). La percepción de los PAMPs por los PRRs desencadena la activación de la respuesta inmune conocida como PTI (“PAMP-triggered immunity”) (Gómez-Gómez, 2004; Bittel y Robatzek, 2007; León y Montesano, 2013). Este reconocimiento, al igual que ocurre cuando se produce el ataque por insectos herbívoros, conlleva el aumento de los niveles intracelulares de Ca^{2+} y la activación de las vías de transducción mediadas por MAPKs, lo que implica la inducción de la expresión de genes implicados en defensa, como los factores de transcripción *WRKY* o algunas defensinas, la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y óxido nítrico, la deposición de calosa para reforzar la pared celular y el cierre de los estomas para evitar la entrada de los patógenos (Zhang y Klessig, 2001; Jones y Dangl, 2006; Bittel y Robatzek, 2007; Freeman y Beattie, 2008).

No obstante, determinados patógenos han sido capaces de desarrollar mecanismos para evadir esta defensa mediante la producción de efectores codificados en los genes de avirulencia (*Avr*), los cuales actúan interfiriendo con la respuesta PTI (Jones y Dangl, 2006). Algunos de estos efectores también son capaces de mimetizar determinadas hormonas vegetales para evadir la respuesta de defensa generada por su reconocimiento (Jones y Dangl, 2006; He *et al.*, 2007). El bloqueo de la señalización por SA es muy relevante al ser crítica en el establecimiento de la resistencia local y sistémica contra patógenos biótrofos, mientras que el JA y ET promueven la defensa contra patógenos necrótrofos (Jones y Dangl, 2006). A su vez, las plantas son capaces de reconocer algunos efectores a través de otro tipo de receptores, los receptores NB-LRR (“Nucleotidebinding Leucine-rich Repeat”), codificados por los genes *R*, los cuales desencadenan respuestas efectoras que constituyen la segunda forma de actuación de la inmunidad innata denominada respuesta ETI (“Effector-Triggered Immunity”). La respuesta ETI se asocia frecuentemente a la respuesta hipersensible (HR) en la cual se produce muerte celular programada, en lugar de infección, para evitar su propagación (Jones y Dangl, 2006). Por último, los patógenos son capaces de modificar sus efectores para eludir la respuesta ETI y la muerte celular asociada a la HR, lo que a su vez hará que la planta desarrolle nuevas estrategias para reconocerlos y hacerles frente, generando una compleja red de reconocimiento y evasión entre la planta y el patógeno conocido como modelo de zigzag (figura 2) (Jones y Dangl, 2006; He *et al.*, 2007; Boller y He, 2009).

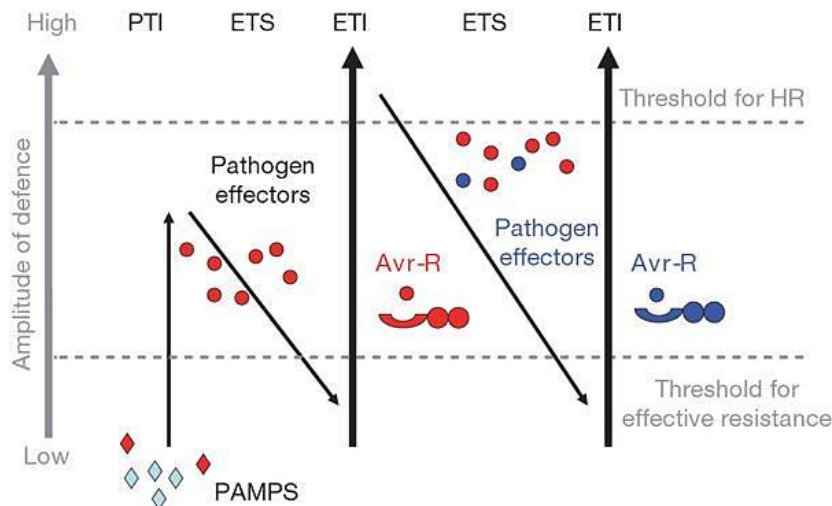


Figura 2. Modelo de zigzag del sistema de defensa de plantas (tomada de: Jones y Dangl, 2006).

1.2. Mecanismos de defensa frente a estreses abióticos

Los estreses abióticos son uno de los factores que más pérdidas ocasionan en los cultivos. No obstante, las plantas han evolucionado para adaptarse a los ambientes diversos a los que están expuestas pudiendo detectar los cambios y traducirlos en una respuesta que, al igual que ocurre cuando las plantas son atacadas por insectos herbívoros y microorganismos patógenos, implica cambios a nivel fisiológico, morfológico, bioquímico y molecular.

A nivel morfológico, las plantas han sido capaces de modificar algunas de sus características para tolerar los estreses ambientales a los que están sometidas. La primera barrera física de defensa entre el ambiente y la planta es la cutícula, que puede estar reforzada con deposiciones de cera o con tricomas. Esta barrera, además de su función de defensa frente al ataque de patógenos e insectos herbívoros, puede actuar disminuyendo la pérdida de agua, reduciendo la incidencia de las radiaciones UV o ayudar en la detoxificación frente a metales pesados (Emamverdian *et al.*, 2015; He *et al.*, 2018). De igual modo, las plantas son capaces de variar su crecimiento y desarrollo como mecanismo de adaptación a las condiciones ambientales adversas. En ocasiones modulan su crecimiento vegetativo y reproductivo esencialmente a través de dos mecanismos, un desarrollo fenológico rápido y la plasticidad en el desarrollo. El desarrollo fenológico rápido se basa en un crecimiento acelerado de la planta a costa de una producción mínima de semillas, mientras que el fenómeno de plasticidad consiste en adaptar el desarrollo dependiendo de la detección de condiciones ambientales favorables o no para su crecimiento. Por ejemplo, en una estación seca las plantas tendrían una ratio de crecimiento menor y producirían pocas flores, frutos y semillas, mientras que, en una estación húmeda, que sería detectada como favorable, las plantas crecerían en mayor proporción y tendrían mayor producción (Basu *et al.*, 2016). Otros cambios morfológicos que mediarían la tolerancia han sido identificados en climas caracterizados por altas temperaturas y baja precipitación, donde se ha

observado que las plantas pueden desarrollar raíces más profundas, reducir el área foliar, aumentar la deposición de ceras en las hojas o engrosar las cutículas, para evitar la pérdida de agua (Hasanuzzaman *et al.*, 2013). Así mismo, pueden modificar la orientación y enrollamiento de las hojas para reducir la absorción de luz solar y la pérdida de agua (Anjum *et al.*, 2011; Hasanuzzaman *et al.*, 2013; He *et al.*, 2018).

A nivel molecular es complicado conocer como la planta responde de forma individual a cada uno de los estreses abióticos a los que se debe enfrentar, puesto que muchos de ellos están interconectados, como es el caso de la sequía, la salinidad y la temperatura. Los estreses abióticos, en general, pueden provocar daños a nivel celular afectando a las membranas, además de ocasionar daños a nivel oxidativo por la producción de ROS, desnaturalización de proteínas y estrés osmótico (Wang *et al.*, 2003; He *et al.*, 2018). Todos estos efectos conducen a una senescencia prematura de las hojas, así como necrosis, clorosis y disminución de la capacidad fotosintética, ocasionando una reducción en el crecimiento de las plantas, y por ende, en la producción de los cultivos (Wang *et al.*, 2003; Anjum *et al.*, 2011; He *et al.*, 2018). En consecuencia, las plantas han desarrollado diversas estrategias para hacerles frente que involucran moléculas de señalización como el Ca^{2+} , óxido nítrico, ROS, fitohormonas y poliaminas, así como factores de transcripción, formando una compleja red reguladora (He *et al.*, 2018). Uno de los fenómenos observado en los vegetales expuestos a estreses abióticos consiste en la síntesis de ácidos grasos que ayudan al remodelado y fluidez de la membrana celular, ampliamente afectada sobre todo en estrés por temperatura (Los y Murata, 2004). También inducen la síntesis de proteínas antioxidantes para hacer frente al estrés oxidativo originado por las ROS, como peroxidasas, catalasas y superóxido dismutasas (Gechev *et al.*, 2006; Sharma *et al.*, 2012). Las chaperonas, entre las que encontramos las proteínas de choque térmico, son fundamentales para prevenir la agregación de proteínas desnaturalizadas, ayudar al plegamiento o presentarlas a los lisosomas o proteosomas para su proteólisis, restaurando así la homeostasis celular (Kregel, 2002; Wang *et al.*, 2004). Por último, destacar el papel de los compuestos osmoprotectores. Estos son compuestos orgánicos e inorgánicos pequeños sin carga, de alta solubilidad y baja toxicidad, que se acumulan en el interior de las células para estabilizar las proteínas y membranas, y actúan como antioxidantes y para reestablecer el balance iónico y la homeostasis celular, además de poder ejercer un efecto señalizador en diversas cascadas de regulación para desencadenar la expresión de genes de respuesta a estrés. Entre ellos encontramos algunos azúcares, aminoácidos y derivados como la rafinosa, inositol, manitol o la prolina (figura 3) (Slama *et al.*, 2015; Yancey, 2005).

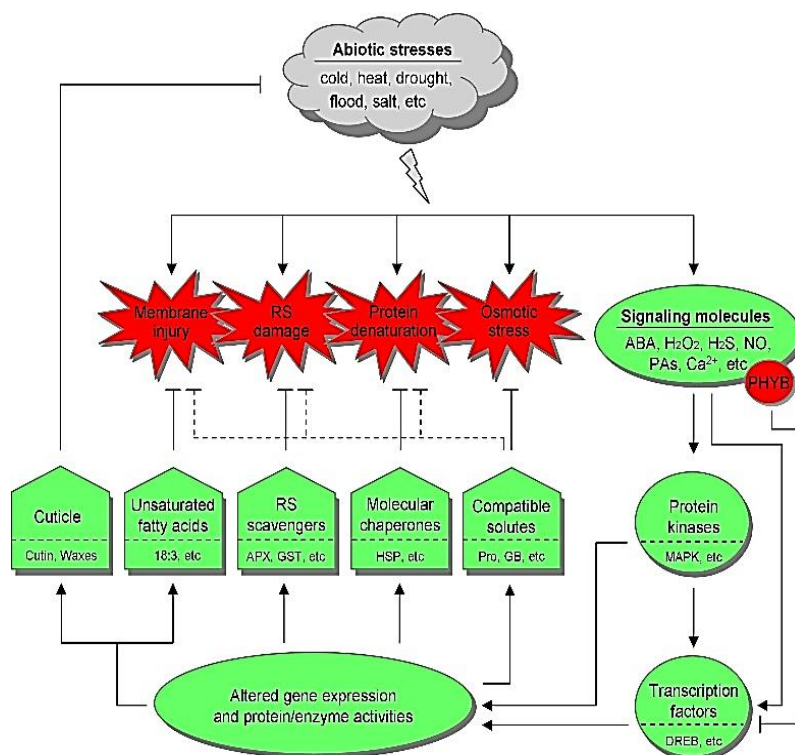


Figura 3. Esquema de defensa general frente a los estreses abióticos (tomada de: He *et al.*, 2018)

Entre las hormonas vegetales implicadas en defensa frente a estreses abióticos, destacan el ácido abscísico (ABA), JA y SA (Wani *et al.*, 2016). Los niveles de ABA se incrementan al producirse el estrés, activando múltiples vías de transducción de señales, por lo que es considerado un mensajero esencial en la respuesta adaptativa para la tolerancia a estreses abióticos. En el caso del estrés por déficit de agua, el ABA inicia una actividad antitranspirante mediante el cierre de estomas y la reducción de la expansión foliar (Wilkinson *et al.*, 2012). Esta hormona también está implicada en algunas modificaciones morfológicas, como el crecimiento robusto de raíces, además de regular la producción de compuestos osmoprotectores y enzimas antioxidantes, e inducir la expresión de factores de transcripción como los *WRKY* y proteínas de respuesta como las proteínas LEA o deshidrinas (He *et al.*, 2016; Wani *et al.*, 2016; He *et al.*, 2018). El papel del JA es fundamental en respuesta a estrés salino y por contaminación con metales pesados, y actúa mediando la síntesis de enzimas antioxidantes (Dar *et al.*, 2015; Wani *et al.*, 2016; He *et al.*, 2018). En el caso del ET, sus niveles endógenos se elevan al detectarse la situación de estrés, sobre todo en estrés por salinidad y temperatura, modulando la expresión de genes de defensa. Puede actuar de forma cooperativa con otras hormonas como el JA y SA en la activación de vías de transducción de señales y regulación génica, y también con el ABA para regular los fenómenos de crecimiento y desarrollo, o la apertura estomatal (Kazan, 2015; Wani *et al.*, 2016; He *et al.*, 2018).

1.3. Efecto del cambio climático en la respuesta al estrés en plantas

En los últimos años, una de las preocupaciones de la comunidad científica y la sociedad, a nivel mundial, es el impacto que conllevará el cambio climático en la agricultura y la disponibilidad de productos agrarios para el consumo. Algunos de los sucesos que se relacionan con este fenómeno y que generan mayor inquietud, son los cambios producidos en los patrones de precipitación y temperatura en todo el mundo y cómo estos hechos afectarán la susceptibilidad de las plantas a los distintos estreses y a la productividad agrícola.

En lo referente al incremento de temperatura, algunos estudios realizados apuntan que la temperatura global del planeta ha aumentado aproximadamente 0.5°C por década desde 1980. Este hecho podría provocar un aumento de temperatura de entre 1.1 y 6.4°C en menos de 100 años (Sanderson *et al.*, 2011), si no se lleva a cabo una adecuada política climática internacional. Además, el calentamiento no se produce de forma uniforme en todo el mundo, por lo que es difícil predecir qué regiones sufrirán este incremento con mayor intensidad y en qué período se producirán sus consecuencias. Al igual que con la temperatura, la variación en los patrones de precipitación tampoco ocurre uniformemente. Según algunos modelos predictivos, la tendencia observada es que en las regiones más secas se intensifica la falta de precipitación, mientras que en las regiones más húmedas se incrementa (Lobell *et al.*, 2011; Sanderson *et al.*, 2011). Europa ya registra datos acerca de estos cambios donde se puede observar una disminución de los valores de precipitación anual, intensificándose los fenómenos de sequía sobre todo en el período primaveral y estival, sumado a un incremento de la media de temperatura. Cabe destacar que la zona del Mediterráneo es la que registra los cambios más preocupantes (Klein-Tank *et al.*, 2002; Jones y Moberg, 2003; Olesen *et al.*, 2011).

Todas estas variables climáticas afectan a las plantas de numerosas maneras mediante diversos mecanismos que influyen sobre su desarrollo. Algunos de los cambios producidos son de gran importancia en productividad agrícola, como la disminución del tamaño de la planta, el adelanto en la época de floración, y por ende, la producción de fruto y su calibre (Scaven y Rafferty, 2013; Springate y Kover, 2014). Otra de las consecuencias del cambio climático, que suele pasar más desapercibida, es la reubicación de muchas especies animales y de insectos, y en consecuencia, también de las plagas de cultivos (Chen *et al.*, 2011). Los cambios en el clima pueden afectar de forma directa a la dinámica de la población de los insectos plaga mediante la influencia que éstos tienen en su fisiología y comportamiento (Parmesan, 2007; Merrill *et al.*, 2008), o de forma indirecta mediante la presencia de nuevas plantas hospedantes y la ausencia de competidores naturales (Harrington *et al.*, 2001; Bale *et al.*, 2002). Cuando el ambiente cambia, muchas especies de insectos deben adaptarse rápidamente a las nuevas condiciones. Entre las principales estrategias que desarrollan se encuentra la reducción del tiempo de generación a favor de obtener un mayor tamaño poblacional y la modificación de su tasa de fecundidad, fenología y hábitat para responder vertiginosamente ante los cambios ambientales detectados. Todas estas adaptaciones conllevan, en su mayoría, cambios en su abundancia y distribución, y

propician la llegada temprana de plagas de insectos a sus hábitats y la sincronización entre la plaga y el cultivo, lo que se traduce en grandes pérdidas agrícolas y económicas (Porter *et al.*, 1991; Bale *et al.*, 2002). De igual modo, las alteraciones climáticas afectan también a la distribución y abundancia de otros patógenos de plantas como hongos, bacterias y virus (Chakraborty y Newton, 2011; Luck *et al.*, 2011). Todo lo anteriormente mencionado tendría un impacto negativo en el rendimiento del cultivo y en las estrategias de gestión de las plagas y patógenos utilizadas actualmente, ocasionando la reducción de la disponibilidad y calidad del producto agrario. Por estos motivos, es imprescindible profundizar en el conocimiento de los mecanismos empleados por las plantas para responder a los factores estresantes, para el desarrollo y la aplicación de nuevas estrategias de protección vegetal (Porter *et al.*, 1991).

2. ARNs pequeños en plantas

El descubrimiento de ARNs pequeños en estudios enfocados en el desarrollo de larvas de *Caenorhabditis elegans* supuso una gran revolución en la investigación de los mecanismos de regulación de la expresión génica, ya que permitió descubrir que en la modulación de la expresión génica también participan mecanismos de regulación post-transcripcional mediados por ARNs pequeños (Lee *et al.*, 1993). Dentro de los ARNs pequeños encontramos dos grupos principales, los microARNs (miARNs) y los ARN de interferencia (siRNAs), los cuales presentan algunas diferencias relacionadas con el proceso de biogénesis y la naturaleza de sus precursores. Los siARNs provienen de ARNs de doble cadena, mientras que los miARNs provienen de ARNs de simple cadena que adoptan una estructura de horquilla característica de este grupo (He y Hannon, 2004; Vaucheret, 2006; Axtell, 2013; Li *et al.*, 2017).

2.1. miARNs en plantas

Los miARNs son ARNs monocatenarios no codificantes de unos 20-24 nucleótidos de tamaño que actúan inhibiendo la expresión de sus ARNs mensajeros (mARN) diana al unirse de forma específica a ellos, y realizan su acción en un tejido, en una etapa del crecimiento y en un momento concreto (Axtell, 2005). Debido a la especificidad de su acción, los miARNs son considerados importantes elementos reguladores de la expresión génica a nivel post-transcripcional, tanto en las distintas etapas del desarrollo de la planta como en respuesta a estrés. La mayoría de miARNs de plantas fueron identificados y descritos en trabajos realizados en *Arabidopsis thaliana* y *Oriza sativa* partiendo de estudios de clonación y secuenciación, y se ha constatado que algunos miARNs están conservados entre especies (Llave, 2002; Reinhart *et al.*, 2002; Axtell, 2005; Cuperus *et al.*, 2011).

Los estudios realizados acerca de la evolución de los miARNs han revelado que hay un gran número de ellos que han surgido recientemente a nivel evolutivo. Este hecho hace que algunos investigadores clasifiquen los miARNs en conservados y no conservados. En el primer caso, se trata de aquellos miARNs conservados en distintas especies vegetales que presentan ratios de expresión elevados, y en el segundo, aquellos miARNs identificados en un número limitado de especies que modulan su expresión solo en condiciones específicas. En base a la similitud de secuencia, los miARNs se agrupan en familias adquiriendo así un número característico de la familia y una letra (Ambros *et al.*, 2003; Cuperus *et al.*, 2011; Qin *et al.*, 2014; Taylor *et al.*, 2014).

Respecto a su biogénesis, los miARNs están codificados en los genes *MIR*, generalmente localizados en regiones intergénicas, aunque también pueden encontrarse en regiones intrónicas o incluso en exones (Kim y Nam, 2006; Voinnet, 2009). Los genes *MIR* son transcritos por la ARN polimerasa II generando el pri-miARN, que presenta estructura de horquilla imperfecta, la cual es estabilizada por la acción de proteínas DAWDLE (DDL). Posteriormente es procesado por endonucleasas pertenecientes a la familia “Dicer-like” (DCL), concretamente por DCL1 (Axtell *et al.*, 2011). Este procesado ocurre en colaboración con las proteínas “Serrate” (SR), “Hyponastic leaves 1” (HYL1) y “Cap binding complex” (CBC), las cuales ayudan a mantener la estabilidad y la precisión en la acción de corte de la endonucleasa, generándose así el pre-miARN que presenta la estructura de horquilla (Chapman y Carrington, 2007; Voinnet, 2009). Este pre-miARN vuelve a ser procesado por DCL1, originando la liberación de un dúplex formado por el miARN y una cadena transitoria llamada miARN*, la cual se localiza en los “D-bodies”. Este dúplex es reconocido por la metiltransferasa “Hua Enhancer1” (HEN1), la cual introduce un grupo metilo en la posición 2'-OH del terminal 3' de la ribosa de cada cadena de ARN (Budak y Akpinar, 2015). Diversos estudios proponen que esta modificación estabiliza el miRNA y lo protege de posibles modificaciones y de la degradación por exonucleasas (Li *et al.*, 2005; Budak y Akpinar, 2015). Todo este procesado tiene lugar en el núcleo, y posteriormente el dúplex generado es transportado al citoplasma por la proteína nuclear de membrana HASTY (Axtell *et al.*, 2011). Una vez en el citoplasma, el dúplex miARN/miARN* se separa y la cadena guía se asocia a proteínas Argonautas (AGO), generalmente a AGO1, generándose así un complejo de silenciamiento inducido por ARN llamado RISC (“RNA-induced silencing complex”) (Voinnet, 2009). Las proteínas AGO tienen un dominio PIWI que presenta actividad catalítica de endonucleasa capaz de cortar al mRNA diana que es complementario al miRNA (Chapman y Carrington, 2007; Yang y Li, 2012; Wang *et al.*, 2019).

En relación con el modo de acción de los miRNAs, cabe destacar que en plantas está asociado a un alto grado de complementariedad entre la secuencia del miARN y su mRNA diana. El mecanismo principal por el que se produce la regulación de la expresión génica es por el corte y degradación que ocasiona el reconocimiento específico y la unión del miARN al mRNA. Este hecho se debe a que, al producirse la unión, las proteínas AGO asociadas al complejo RISC actúan catalizando la hidrólisis del mRNA en las posiciones 10-11 de la zona de apareamiento con el miARN, ocasionando así la degradación de la diana (Budak y Akpinar, 2015; Wang *et al.*, 2019). Además, se ha observado que, en ocasiones, el miARN se puede unir a su diana quedando bases

desapareadas provocando que no se pueda degradar por la acción anteriormente descrita. En este caso, como consecuencia de estar el miARN formando parte del complejo RISC, se produce el bloqueo de la traducción, y por tanto, se inhibe la expresión de la diana génica (figura 4) (Voinnet, 2009; Axtell *et al.*, 2011; Yang y Li, 2012).

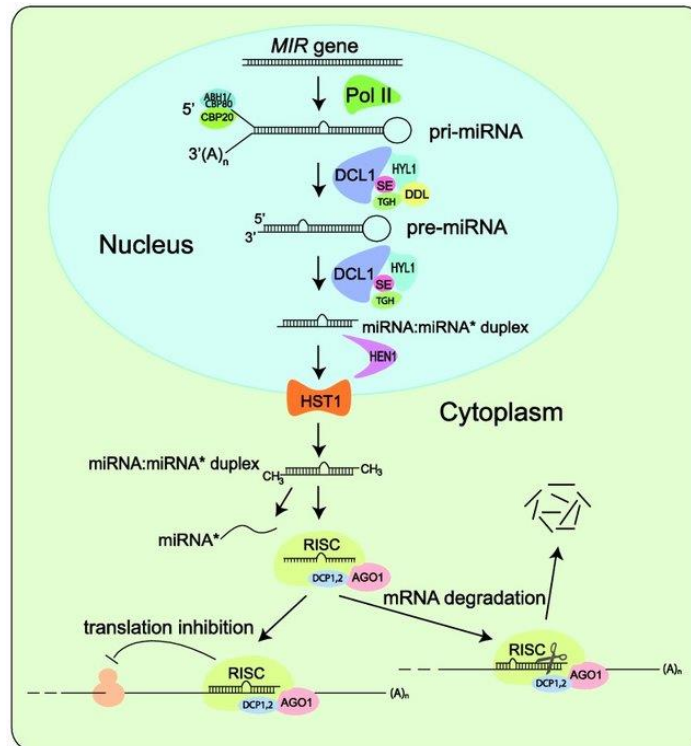


Figura 4. Esquema simplificado de la biogénesis de los miARNs en plantas (tomada de: Yang y Li, 2012).

No obstante, diversos estudios sugieren que la biogénesis de los miARNs no conservados y su modo de acción son ligeramente distintos a lo descrito anteriormente. Además de poder ser procesados por DCL1, los pri-miARNs pueden ser procesados por otras enzimas de la familia DCL, como por ejemplo DCL3 y DCL4, que originan miARNs de 24 y 21 nucleótidos respectivamente (Axtell *et al.*, 2011). La DCL por la que son procesados determinará con qué proteínas AGO interactuará el dúplex miARN/miARN* para formar el complejo de silenciamiento RISC. Si el pri-miARN es procesado por DCL4, el miARN generado interactuará con proteínas AGO1, al igual que el procesamiento por DCL1, mientras que si es procesado por DCL3 interactuará con proteínas AGO4 (Rajagopalan *et al.*, 2006; Montgomery *et al.*, 2008a).

En relación al modo de acción, los miARNs generados por DCL4 y los generados por DCL1 que tienen 21 nucleótidos, actuarán produciendo el corte del mRNA diana al igual que se ha descrito anteriormente (Montgomery *et al.*, 2008a; Qin *et al.*, 2014). En el caso de que el miARN generado por DCL1 sea de 22 nucleótidos, este originará un siARN secundario que ocasionará la digestión del mRNA regulando así su expresión (Qin *et al.*, 2014). Finalmente, el modo de acción

de los miARNs de 24 nucleótidos generados por DCL3 se relaciona con la metilación del ADN (figura 5) (Wu, 2013; Qin *et al.*, 2014).

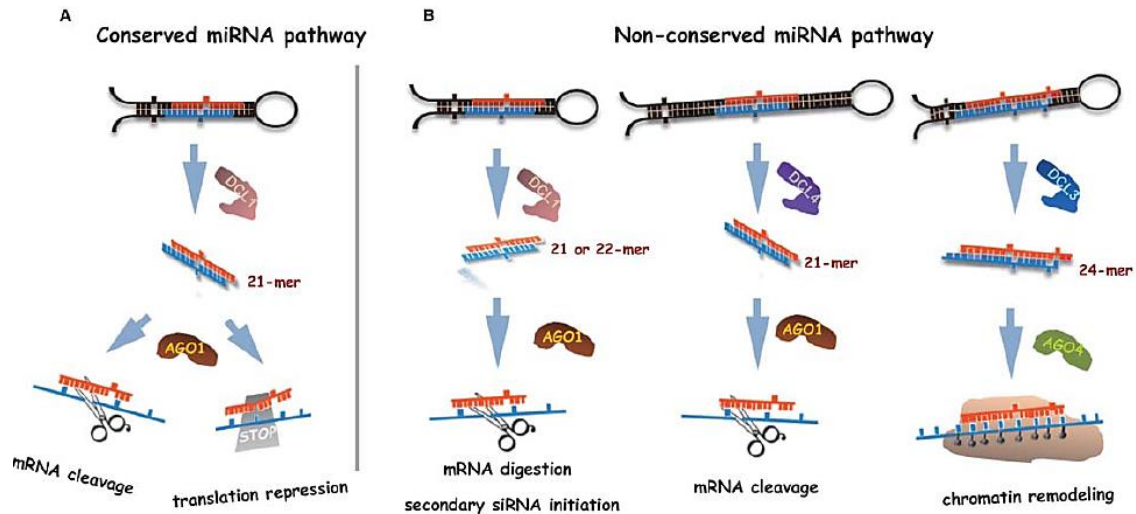


Figura 5. Comparativa del proceso de biogénesis de miARNs conservados y no conservados (tomada de: Qin *et al.*, 2014).

2.2. Función de los miARNs en respuesta a estrés

La primera evidencia del papel regulador de los miARNs en plantas proviene de estudios realizados en *A. thaliana* con los miARNs conservados *ath-miR319* y *ath-miR172*, los cuales afectan a la morfogénesis de las hojas y flores al regular la expresión de los factores de transcripción “*Teosinte branched1/Cycloidea/Proliferating cell nuclear antigen factor*” (TCP) y “*Apetala2*” (AP2) (Kidner y Martienssen, 2005). Desde entonces, y gracias al desarrollo de ensayos de pérdida y ganancia de función, se ha avanzado considerablemente en el conocimiento del papel de los miARNs como elementos reguladores en etapas de crecimiento y desarrollo, y está bien establecido que muchos de ellos tienen como dianas factores de transcripción (Rhoades *et al.*, 2002; Mallory *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2006; Wu, 2013).

Una gran parte de los procesos implicados en el desarrollo de la planta regulados por miARNs se relacionan con características de gran importancia en agricultura como la floración, maduración del fruto o la producción de grano (Chen, 2004; Miura *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2012; Karlova *et al.*, 2013; Meng *et al.*, 2013; Xu *et al.*, 2013; Karlova *et al.*, 2014). Asimismo, la realización de estudios aplicando estreses específicos a diferentes plantas modelo, ha permitido identificar y caracterizar algunos miARNs que modulan su expresión para hacer frente a los estreses a los que son sometidas. A priori, los miARNs inducidos en estas situaciones de estrés actuarían modulando negativamente la expresión de sus dianas génicas implicadas en defensa,

mientras que los miARNs cuya expresión se reprime en estas situaciones, actuarían como reguladores positivos de estos procesos (Karlova *et al.*, 2013; Xu *et al.*, 2013).

Respecto a la implicación de los miARNs en respuesta a estrés, en estudios realizados en *A. thaliana* se han identificado diversos miARNs expresados diferencialmente en situación de sequía, entre los que se encuentran *miR156*, *miR158*, *miR159*, *miR165*, *miR167*, *miR168*, *miR169*, *miR171*, *miR319*, *miR393*, *miR394* y *miR396*, estando *miR168*, *miR171* y *miR396* también involucrados en respuesta a salinidad y frío (Liu *et al.*, 2008; Khraiwesh *et al.*, 2012). En trigo, planta modelo en monocotiledóneas, se han identificado miARNs implicados en respuesta a altas temperaturas entre los que encontramos *miR156*, *miR159*, *miR160*, *miR166*, *miR168*, *miR169*, *miR172*, *miR393* y *miR827* (Mingming *et al.*, 2010). La implicación de los miARNs en la resistencia inducida por PAMPs (PTI) se demostró en *Arabidopsis* tras el tratamiento con el péptido flg22 (“flagellin22”), observándose la inducción de *miR393*. La expresión de este miARN ocasionaba la represión de genes que codifican para receptores de auxina (“F-Box auxin receptors”), originándose así la resistencia a la infección por *Pseudomonas syringae* (Navarro *et al.*, 2006). Este estudio permitió poner de manifiesto el vínculo existente entre los miARNs, la señalización hormonal e inmunidad innata en plantas, y el hecho de que los miARNs pueden ejercer su acción de forma directa o indirecta. El *miR393* también participa en la respuesta de defensa frente a infecciones fúngicas, regulando la expresión de genes que codifican para receptores de auxina (Baldrich *et al.*, 2015). En plantas sometidas a infección fúngica se han detectado asimismo otros miARNs participantes en la respuesta de defensa, como el *miR159*, *miR160*, *miR167*, *miR171* o el *miR408* entre otros (Gupta *et al.*, 2014; Baldrich *et al.*, 2015). Además de la infección ocasionada por bacterias y hongos, el daño ocasionado por insectos herbívoros es otro de los estreses bióticos que más pérdidas ocasionan en los distintos cultivos, y, por tanto, también materia de estudio. Algunos de los trabajos realizados en tabaco con secreciones orales de larvas de *Manduca sexta*, han permitido identificar determinados miARNs expresados diferencialmente tras el ataque de insectos, como el *miR156*, *miR159*, *miR168*, *miR396* o el *miR894* (Pandey *et al.*, 2008).

Muchos de los miARNs expresados diferencialmente en respuesta a estrés tienen como dianas factores de transcripción implicados en defensa, algunos de cuales también desempeñan un papel en la reprogramación de diversos procesos metabólicos y fisiológicos. Este hecho ha sugerido que el crecimiento y desarrollo de la planta pueden ser modulados durante la situación estrés, y que por tanto, hay una movilización de los recursos que previamente se destinaban al crecimiento para generar una respuesta adaptativa al estrés (Mallory *et al.*, 2005; Williams *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2016a). Como ejemplo de estas situaciones encontramos que la represión de *miR169* permite la expresión del factor de transcripción *NFYA5*, el cual está implicado en la regulación de genes de respuesta frente a estrés por sequía y en el cierre de estomas cuando su expresión se produce en las células guardia (Li *et al.*, 2008). La acumulación de los miARNs *miR160*, *miR166* y *miR393* modula características morfológicas y la homeostasis hormonal, regulando la expresión de los genes *HD-ZIPIII*, *ARF10* y *TIR1*. Por ejemplo, se ha descrito que *HD-ZIPIII* regula el patrón de la vasculatura y el establecimiento de la polaridad abaxial-adaxial

en los órganos laterales (Williams *et al.*, 2005). Los ARFs (factores de transcripción de respuesta a auxinas), además de estar implicados en la regulación de la identidad de los órganos florales y la germinación de semillas, en situaciones de estrés regulan la expresión de genes inducidos por auxinas, como por ejemplo *GH3*, mediante la unión a promotores sensibles a esta hormona. En estudios relacionados se ha observado que el aumento o disminución de los niveles de expresión de *ARF10* y *GH3-like* ocasionan defectos en el desarrollo, al igual que si se alteran los niveles de expresión de *miR160* (Mallory *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2016a). Por otro lado, la sobreexpresión de *miR156* y *miR159* ayuda a la planta a adaptarse al estrés modulando características morfológicas a través de la regulación de los factores de transcripción *SBP* y *MYB*, respectivamente. Estudios de sobreexpresión y represión del *miR156* han dado lugar a plantas en las que se ha alterado el proceso de floración y la transición de fase juvenil a adulta y de fase vegetativa a reproductiva, funciones que son reguladas por genes *SBP* (Shikata *et al.*, 2009; Xu *et al.*, 2016). En el caso del *miR159*, su sobreexpresión reduce la acumulación de ARNs mensajeros de los factores de transcripción *MYB*, ocasionando esterilidad en las plantas y malformaciones en las hojas. Además de su papel en el desarrollo, algunos de los factores de transcripción *MYB* se inducen en situaciones de estrés como sequía, calor, salinidad, daño ocasionado por insectos herbívoros, infección por bacterias como *Pseudomonas*, etc. (Dubos *et al.*, 2010; Ambawat *et al.*, 2013). Toda esta reprogramación transcripcional pone de manifiesto la compleja red de regulación en la que están implicados los miARNs para hacer frente a las condiciones estresantes que deben superar las plantas (figura 6).

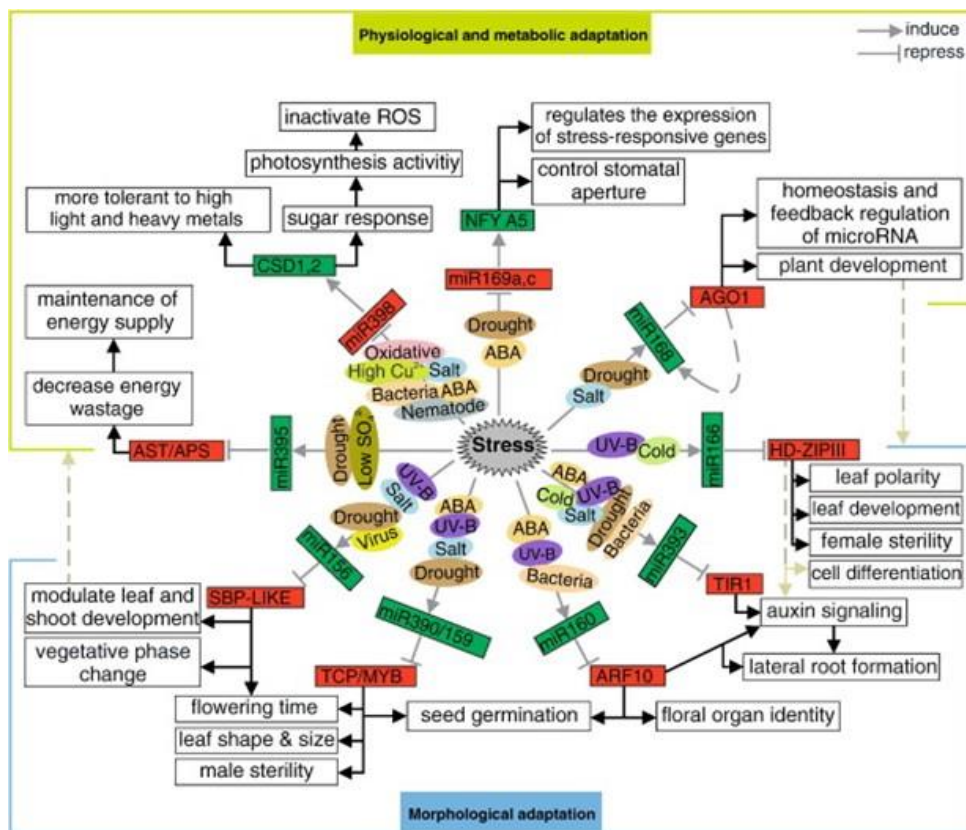


Figura 6. Red de regulación de los miARNs implicados en respuesta a estrés en *Arabidopsis* (tomada de: Khraiweh *et al.*, 2012).

2.3. Aplicaciones biotecnológicas de los miARNs

En la mayoría de los cultivos de interés agronómico se producen grandes pérdidas ocasionadas por factores ambientales y también por plagas y agentes patógenos. En el caso de los estreses bióticos, tradicionalmente se han empleado medidas de control químico, pero su impacto negativo sobre la salud y el medio ambiente ha provocado que, actualmente, el desarrollo de una agricultura sostenible sea un objetivo prioritario para la sociedad.

En este contexto, la detección temprana del estado de estrés generado en la planta es crítica para conseguir una protección vegetal más eficiente. Para este fin, juega un papel muy importante la identificación de biomarcadores, considerándose como tal cualquier cambio morfológico, fisiológico o bioquímico que pueda ser utilizado para revelar el estatus de las plantas frente a estreses abióticos y bióticos, y que idealmente también puedan servir para predecir la evolución de la planta sometida a estrés. Los cambios adaptativos que se producen en respuesta a situaciones estresantes pueden investigarse a diferentes niveles, desde nivel molecular a fenotipo, siendo la respuesta transcriptómica un proceso molecular clave ya que permite a la planta regular la expresión génica para adaptarse a la situación estresante a la que está siendo sometida. Por ello, la identificación de biomarcadores reguladores de expresión génica y de las dianas que permitan evaluar la respuesta de las plantas frente a estreses, constituye una importante herramienta para diseccionar los factores que condicionan la generación del estrés y la utilización de estrategias agronómicas apropiadas que propicien las condiciones adecuadas para contrarrestar los efectos nocivos ocasionados.

En este ámbito, el descubrimiento de los miARNs como elementos reguladores de la expresión génica, junto con desarrollo de las tecnologías de secuenciación masiva, han ayudado en gran medida a la identificación de genes implicados en defensa y también de sus miARNs reguladores, permitiendo el estudio de nuevas aplicaciones con potencial protector frente a las condiciones de estrés. Algunas de estas metodologías alternativas se basan en la sobreexpresión de miARNs para mejorar la tolerancia a estrés. Por ejemplo, en Zhang *et al.* (2011) se centran en el estudio de *sly-miR169* como miARN de interés para conseguir la tolerancia a sequía. Para ello, realizan una sobreexpresión de *sly-miR169* en plantas de tomate que posteriormente son sometidas a sequía, ocasionando una reducción de la abertura estomatal y disminuyendo así la transpiración y pérdida de agua, y por ende, mejorando la tolerancia a este estrés. Un estudio similar se plantea en Zhang *et al.* (2018) para conseguir la tolerancia a sequía. La diferencia radica en que este trabajo se basa en la inhibición de la expresión del *miR166* en plantas de arroz provocando enrollamiento foliar y cambios en la estructura del xilema, consiguiéndose así mayor tolerancia frente a esta condición. También se podrían establecer nuevos métodos de control de las infecciones víricas mediante la aplicación de miARNs artificiales (amiARNs) que tienen como diana transcritos víricos implicados en la virulencia, tal y como se propone en Ali *et al.* (2013). Por otro lado, el empleo de técnicas de edición génica en genes *MIR*, como es el sistema CRISPR/Cas, abre un amplio abanico de posibilidades para los estudios de validación funcional

de miARNs y su posterior aplicación para el desarrollo de plantas tolerantes a diferentes condiciones de estrés (Zhou *et al.*, 2017; Basso *et al.*, 2019; Farhat *et al.*, 2019). De esta forma, se evidencia la gran importancia que podrían tener los miARNs en la elaboración de estrategias alternativas para la protección vegetal de forma dirigida.

3. Familia *Solanaceae*

3.1. Descripción

Las solanáceas son una familia de plantas del orden Solanales, pertenecientes a las dicotiledóneas (Magnoliopsida), constituida por más de 95 géneros y alrededor de 3000 especies. A pesar de su gran riqueza en especies, éstas no están distribuidas uniformemente en los géneros que la forman, encontrándose alrededor del 60% de ellas en los géneros *Solanum*, *Lycianthes*, *Cestrum*, *Nolana*, *Physalis*, *Lycium*, *Nicotiana* y *Brunfelsia*, siendo el primero de estos el que mayor número de especies presenta (Yadav *et al.*, 2016).

Las plantas pertenecientes a esta familia muestran una gran diversidad morfológica y ecológica formando parte de ella desde plantas herbáceas a árboles, aunque estos últimos en menor medida. Por estas razones, las solanáceas se pueden encontrar en una gran variedad de hábitats, desde desiertos a climas tropicales, aunque la mayor diversidad se localiza en América del sur (Knapp *et al.*, 2004). En relación con su morfología, aunque hay características variables entre especies, hay otras que se conservan como, por ejemplo, las hojas que, aunque pueden variar en tamaño y forma, son siempre alternadas y no tienen estípulas. En relación con la inflorescencia, esta es cimosa y axilar, aunque en ocasiones puede reducirse a una única flor. Las flores son bisexuales y su corola está formada generalmente por 5 pétalos dispuestos de forma radial simétrica presentando forma tubular o de campana. Las anteras no se encuentran fusionadas, y el gineceo está formado por un pistilo con dos lóculos y varios óvulos. Respecto al fruto, este puede ser carnoso o en forma de cápsula seca y generalmente proviene del cáliz (Yadav *et al.*, 2016).

3.2. Importancia de las solanáceas

Numerosas especies pertenecientes a la familia *Solanaceae* presentan gran valor económico en diversos sectores tales como la industria, el ámbito farmacéutico o la producción agrícola.

En el ámbito industrial, encontramos numerosas solanáceas de gran relevancia como *Nicotiana tabacum*, planta de gran valor para la industria tabaquera. En ornamentación también se utilizan plantas de esta familia, ampliamente comercializadas por su morfología y por la coloración de

sus flores, destacando entre ellas especies pertenecientes a los géneros *Petunia*, *Schizanthus*, *Salpiglossis* y *Browallia* (Yadav *et al.*, 2016).

A nivel farmacológico destacan especies como *Atropa belladonna* y plantas pertenecientes a los géneros *Mandragora* y *Datura*, por la producción de atropina, escopolamina y estramonio (Yamada y Tabata, 1997; Yadav *et al.*, 2016).

Las solanáceas sobre todo destacan por su importancia en el área de la agricultura, ya que son cultivadas a nivel mundial, cosechándose millones de toneladas al año. En esta familia predomina el cultivo de tres especies, la patata (*Solanum tuberosum*), el tomate (*Solanum lycopersicum*) y la berenjena (*Solanum melongena*), por su gran valor nutricional y por ser fuente de vitaminas y antioxidantes en la dieta diaria (Hanif *et al.*, 2006; San José *et al.*, 2013). De las tres especies, la patata es el cultivo que mayor producción presenta a nivel mundial, superando los 300 millones de toneladas en 2018 (figura 7A). La mayor producción de este cultivo se localiza en Europa y Asia, superando entre ambos el 80% de producción mundial (figura 7B). En España también hay una gran producción de patata, no obstante, la de tomate es mayor (figura 7C), situando a España entre uno de los 10 países con mayor producción de tomate fresco a nivel mundial (FAO 2019).

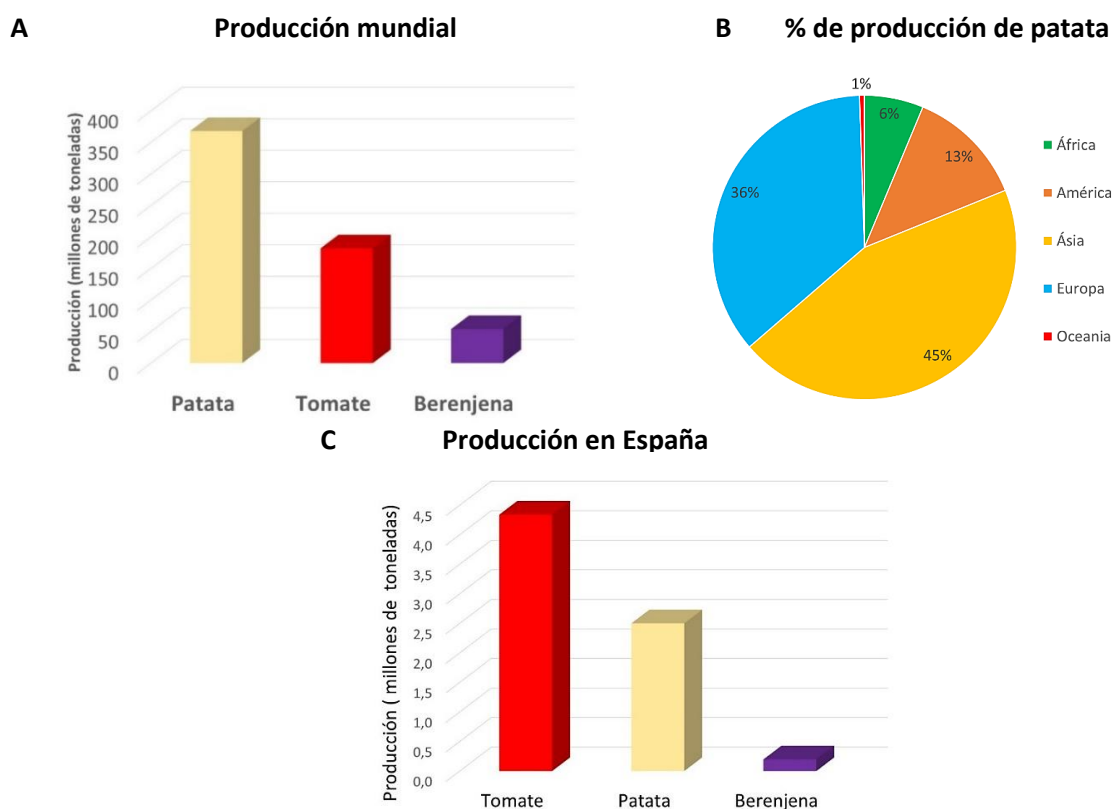


Figura 7. A) Producción mundial en toneladas de los cultivos de patata, tomate y berenjena. B) Porcentaje de producción del cultivo de patata a nivel mundial entre los años 2000-2018. C) Producción de patata, tomate y berenjena en promedio del año 2000 a 2018 en España. Datos obtenidos de la FAO (www.fao.org).

Aparte de la relevancia en los ámbitos anteriormente mencionados, a principios del siglo XX numerosas plantas de esta familia fueron las primeras especies vegetales empleadas para la realización de estudios mendelianos. Las petunias se convirtieron en modelo de estudio de las bases genética y bioquímicas de la floración, mientras que la planta de tabaco fue la primera de la familia en la que se pudieron realizar transformaciones estables empleando *Agrobacterium tumefaciens* y la generación así de plantas transgénicas. No obstante, la planta de tomate fue la que adoptó el papel principal en los estudios genéticos de desarrollo y fruto debido a la generación de mapas genéticos (Gebhardt, 2016).

En los últimos años, el desarrollo de las tecnologías de secuenciación masiva y de las herramientas bioinformáticas para el procesamiento masivo de datos ha permitido anotar el genoma de algunas de las plantas de esta familia, tales como el tomate, la patata o el pimiento (Xu *et al.*, 2011; Tomato Genome Consortium, 2012; Sharma *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2014) y tener borradores del genoma de tabaco y berenjena (Bombarely *et al.*, 2012; Hirakawa *et al.*, 2014). Este hecho ha favorecido en gran medida la realización de estudios para la identificación de genes implicados en procesos de desarrollo, de producción de fruto e implicados en respuesta a estrés, además de facilitar una mayor comprensión de los mecanismos de regulación génica subyacentes a estos procesos.

3.3. Estreses bióticos y abióticos como factores limitantes en el desarrollo y producción en cultivos de solanáceas

Las solanáceas son una familia de plantas con gran relevancia en agricultura a nivel mundial y, al igual que otros cultivos de interés agronómico, están sometidas a diversos factores bióticos y abióticos que afectan a su crecimiento y productividad.

Entre los estreses abióticos que mayor repercusión tienen en su producción, se encuentran la sequía y la temperatura (Sato *et al.*, 2000; Pervez *et al.*, 2009). Los cultivos de solanáceas son sensibles al estrés hídrico y a altas temperaturas en diferentes fases de su desarrollo. Entre los efectos generales ocasionados destaca una reducción en la germinación de las semillas, la disminución de la altura de la planta y de su rendimiento, el cual está directamente relacionado con la disminución del número de flores, frutos, y de su calibre (Sato *et al.*, 2000; Pervez *et al.*, 2009; Jensen *et al.*, 2010; Wahb-Allah *et al.*, 2011).

En relación con los factores bióticos, esta familia también puede verse afectada por gran cantidad de microorganismos patógenos. Entre ellos podemos destacar algunos virus como el *Tomato yellow leaf curl virus*, el virus más devastador en las regiones tropicales y subtropicales del tomate cultivado, pudiendo ocasionar pérdidas cercanas al 100% en algunos casos (Moriones y Navas-Castillo, 2000). Respecto a las infecciones bacterianas, *Ralstonia solanacearum* es la causante de la marchitez bacteriana, afectando principalmente al cultivo de la patata aunque también al de tomate (Hayward, 1991; Tans-Kersten *et al.*, 2001). Además, también se pueden destacar las infecciones producidas por *P. syringae*, sobre todo por el

patovar tomato, causante de la mancha negra del tomate (Preston, 2001; López-Gresa *et al.*, 2011). Los hongos también son patógenos de esta familia. *Oidium neolycopersici* y *Botrytis cinerea* son los que mayor incidencia y pérdidas ocasionan en los cultivos de tomate, afectando también a otros cultivos de solanáceas (Jones *et al.*, 2001; Williamson *et al.*, 2007). Por otro lado, las solanáceas son además susceptibles al daño ocasionado por plagas de insectos herbívoros, destacando como tal a *Leptinotarsa decemlineata* (CPB). Se trata de un insecto coleóptero que pasa por distintas fases larvarias hasta llegar a convertirse en el escarabajo adulto después de atravesar un estado de pupa. Cabe destacar que es un insecto muy voraz, tanto en estados de larva como de adulto, pudiendo devastar campos enteros en cuestión de días. Este coleóptero se alimenta preferentemente de plantas de patata, aunque también lo hace de plantas de tomate y de berenjena (Overney *et al.*, 1997; Alyokhin *et al.*, 2008).

Tal y como se ha comentado anteriormente, el cambio climático está afectando a los patrones de precipitación e incrementando la temperatura media global, por lo que también se verá afectada la distribución y abundancia de patógenos y plagas. Todos estos cambios modificarían las condiciones ambientales en las que las solanáceas son cultivadas, además de favorecer la llegada de patógenos y plagas, teniendo un efecto negativo sobre estos cultivos y ocasionando una merma en su producción. De ahí que deban establecerse nuevas medidas de protección agronómica, requiriéndose para ello una mayor profundización en el estudio de cómo las solanáceas responden a todos esos factores que afectan a su desarrollo y producción.

Objetivos

En la actualidad, el desarrollo sostenible en agricultura se reconoce como uno de los objetivos prioritarios para la humanidad. El uso de agroquímicos, especialmente de plaguicidas, está siendo limitado por las resistencias generadas en campo y por los problemas de salud y ambientales que generan, por lo que se están buscando alternativas, algunas de las cuales están enfocadas a la detección temprana de estado de estrés biótico y abiótico en cultivos. Además, en la situación de cambio climático en la que nos encontramos inmersos, es crítico el desarrollo de estrategias de protección vegetal eficientes que permitan minimizar pérdidas, optimizar tratamientos y disminuir la dependencia de plaguicidas.

En este contexto se desarrolla la presente tesis doctoral, la cual tiene como objetivo principal la identificación de miRNAs y otros biomarcadores de respuesta a estreses bióticos y abióticos en plantas de tomate y otras solanáceas. Bajo este objetivo general, subyacen una serie de objetivos específicos orientados a su consecución:

Objetivo 1: Identificación de miARNs en respuesta a estreses bióticos y abióticos en plantas de tomate.

Objetivo 2: Estudio de la especificidad de la respuesta a estrés por sequía ejercida por miARNs en plantas de tomate.

Objetivo 3: Identificación de miARNs y de los mecanismos de regulación epigenéticos en genes biomarcadores de respuesta a patógenos en plantas solanáceas.

Objetivo 4: Análisis del efecto del ácido hexanoico en la inducción de defensas frente estreses bióticos y abióticos en plantas de berenjena.

Material y Métodos

1. Material vegetal y condiciones de crecimiento

Las plantas de tomate *Solanum lycopersicum* Mill. cv. Ailsa Craig se crecieron durante cuatro semanas en una cámara de cultivo en unas condiciones de 60% de humedad relativa, con un fotoperiodo de 16/8 h (luz/oscuridad) y un ciclo de temperatura 26/18°C (día/noche), regándose cada dos días con agua destilada durante la primera semana de crecimiento y posteriormente con la solución nutritiva Hoagland (Hoagland y Arnon, 1950).

Las plantas de berenjena *Solanum melongena* var. *Esculentum* cv. Black Round se crecieron durante cuatro semanas en unas condiciones de 60% de humedad relativa, siguiendo un fotoperiodo de 16/8 h (luz/oscuridad) y un ciclo de temperatura $22 \pm 4/20 \pm 4$ °C (día/noche), regándose cada dos días con agua destilada durante la primera semana de crecimiento y posteriormente con la solución nutritiva Hoagland (Hoagland y Arnon, 1950).

2. Condiciones de estrés

En los experimentos llevados a cabo con plantas de tomate, para cada condición de estrés se realizaron 3 réplicas biológicas con su correspondiente grupo control. Cada réplica biológica se definió como la mezcla de material vegetal proveniente de la 3ª y 4ª hoja de 25 plantas.

En los experimentos llevados a cabo con plantas de berenjena, para cada condición de estrés se realizaron 3 réplicas biológicas con su correspondiente grupo control. Cada réplica biológica se definió como la mezcla de material vegetal proveniente de la 3ª y 4ª hoja de 1 planta.

2.1. Daño ocasionado por insectos herbívoros

Para el estrés ocasionado por insectos herbívoros, se depositaron sobre la 3ª y 4ª hoja de las plantas de tomate o berenjena 15 larvas de CPB de diferentes estadios, substituyéndose por otras aquellas larvas no cooperativas (mudando o no comiendo). Transcurridas 3 h, se recogió el material vegetal, se cortó, se congeló en nitrógeno líquido y se almacenó a -80°C.

2.2. Infección producida por bacterias

Para el estrés ocasionado por bacterias, las plantas de tomate se inocularon con la bacteria *P. syringae* pathovar tomato DC3000, crecida a 28°C en medio King's B (King *et al.*, 1954) con rifampicina (50 mg/mL). Para la inoculación, se preparó una suspensión bacteriana de 5×10^5 unidades formadoras de colonias (UFC)/mL, tal y como se ha descrito en trabajos previos

(Katagiri *et al.*, 2002). La inoculación con el patógeno se realizó sumergiendo las hojas 3ª y 4ª en la suspensión bacteriana y, tras 48 h, las hojas se cortaron, congelaron en nitrógeno líquido y almacenaron a -80°C.

2.3. Infección producida por hongos

Para el estrés ocasionado por hongos, se recogieron los conidios del hongo *B. cinerea* tras realizarse un cultivo durante 10-15 días en medio "Potato Dextrose Agar" (Duchefa, Haarlem, Nederland, EU) suplementado con 40 mg/mL de hojas de tomate o berenjena, y cultivado en oscuridad durante 2 h en el medio "Gambor B5" (Duchefa, Haarlem, Nederland, EU) suplementado con sacarosa 10 mM y KH_2PO_4 10 mM. Las plantas de tomate o berenjena se trataron con 1×10^6 esporas/mL provenientes del cultivo previo del hongo en un ambiente con una humedad relativa del 100%. Transcurridas 24 h, se recogieron las hojas 3ª y 4ª, se congelaron en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80°C.

2.4. Estrés hídrico

Para el estrés ocasionado por sequía, las plantas de tomate o berenjena se privaron de riego durante una semana y posteriormente se recogieron las hojas 3ª y 4ª, se congelaron en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80°C.

2.5. Tratamiento con ácido hexanoico

Para el tratamiento con ácido hexanoico (Hx), se regaron las plantas de tomate o berenjena contenidas en macetas de 748 cm³ con 50 mL de Hx 20 mM, o bien con 50 mL de H₂O, en el caso de las plantas no tratadas usadas como controles. Tras 48 h de tratamiento, se recogieron las hojas 3ª y 4ª, se congelaron en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80°C.

2.6. Tratamiento con ácido hexanoico y daño ocasionado por insectos herbívoros

Plantas de berenjena contenidas en macetas de 748 cm³ se regaron con 50 mL de Hx 20 mM para la inducción de la defensa, o con agua en el caso de las plantas del grupo control. Tras 48 h, las plantas tratadas y sin tratar se dividieron en dos grupos, infestándose uno de estos grupos con larvas de CPB. Para la infestación se pusieron 15 larvas de diferentes estadios en la 3ª y 4ª

hoja, sustituyéndose por otras las larvas no cooperativas (mudando o no comiendo). Tras 3 h de estrés, el material vegetal se cortó, congeló en nitrógeno líquido y almacenó a -80°C .

2.7. Tratamiento combinado con ácido salicílico y ácido hexanoico

Plantas de berenjena contenidas en macetas de 748 cm^3 se regaron con 50 mL de ácido salicílico (SA) 0.1 mM en EtOH (1:1000) o agua con EtOH (1:1000) para el grupo establecido como no tratado. Tras 24 h, las plantas tratadas y sin tratar se dividieron en dos grupos, regándose uno de los grupos con 50 mL de Hx 20 mM, y el otro con 50 mL de H_2O . Tras 48 h de tratamiento, se recogieron las hojas 3ª y 4ª, se congelaron en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80°C .

3. Extracción de ARN

El ARN total se extrajo de las muestras procedentes de la 3ª y 4ª hoja de las plantas usando el kit comercial “RiboPure RNA isolation” (*Life Technologies*, Carlsbad, California, USA) y siguiendo el protocolo del fabricante. Para eliminar el ADN genómico contaminante presente en las preparaciones, se realizó un tratamiento con “Turbo DNase” (*Life Technologies*, Carlsbad, California, USA), siguiendo las instrucciones del fabricante. La calidad de ARN obtenido para los experimentos de secuenciación masiva se analizó empleando el “Nano RNA Chip Kit” en el Bioanalyzer 2100 (*Agilent Technologies*, Palo Alto, California, USA), obteniéndose el valor RIN para cada muestra igual a superior a 7. Para el resto de experimentos, la calidad del ARN se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% y se cuantificó empleando el “NanoDrop 2000” (*Thermo Scientific*, Waltham, Massachusetts, USA).

4. Aislamiento de la fracción de ARN pequeño y análisis por RT-PCR

El aislamiento de la fracción de ARN pequeño procedente de las muestras de ARN total de las plantas de tomate se llevó a cabo con el kit “Nucleospin® miRNA” (*Macherey-Nagel*, Bethlehem, Pennsylvania, USA), siguiendo las instrucciones del fabricante.

Para la amplificación de los fragmentos pequeños pertenecientes a los transcritos de *SIMYB33* y *SIWRKY75*, se usó el kit “PrimeScript RT reagent” (Takara, Shiga, Japan) para la síntesis del cADN, incorporando en la reacción hexámeros aleatorios $2.5\ \mu\text{M}$ y oligo(dT) $50\ \text{ng}/\mu\text{L}$. Para llevar a cabo la PCR, se emplearon 10 ng de cADN junto con cebadores específicos para el transcrito, diseñados con la herramienta “PRIMER3PLUS” (<http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>) (tabla 1). El gen *RPS18* (ribosomal protein S18, GeneBank:

3950409) se usó como gen de referencia y cada muestra analizada provenía de tres réplicas biológicas.

Tabla 1. Cebadores usados para analizar los fragmentos pequeños procedentes de los transcritos *SIMYB33* y *SIWRKY75* por RT-PCR.

Gen	Identificador*	Identificación*	Cebadores secuencia_concentración	Tm	Tamaño amplificado (pb)
<i>SIMYB33</i>	SIMYB33	O	Fw TATGGGCATCCAGTCTCTCC_200 nM	58.3	199
			Rv TGGGACTGGAAAAGATCGTC_200 nM	57.2	
<i>SIMYB33</i>	Solyc01g009070.2.1	F	Fw ATGACGGTCTTTGCTTGCT_200 nM	56.8	200
			Rv CTGTCTGGTTTTGGAGTGAAGG_200 nM	59.1	
<i>18S</i>	ID: 107882131	RPS18	Fw GGGCATTTCGATTTTCATAGTCAGAG_200 nM	59.6	105
			Rv CGGTTCTTGATTAATGAAAACATCCT_200 nM	58.5	
<i>SIWRKY75</i>	Solyc05g015850.2.1	Fw1_Rv1 exón 1	Fw TTTCCATCAGCATCATCGTCG_200 nM	58.8	150
			Rv TTCCATGCTTGCCATTAGTCC_200 nM	58.6	
		Fw1_Rv2 procesado	Fw TTTCCATCAGCATCATCGTCG_200 nM	58.8	468
			Rv AAAATGTGCTCAAAGTTATCCGTAG_200nM	58.2	
		Fw1_Rv2 longitud total	Fw TTTCCATCAGCATCATCGTCG_200 nM	58.8	2367
			Rv AAAATGTGCTCAAAGTTATCCGTAG_200nM	58.2	

*El identificador proporcionado permite la consulta de estos genes en <https://solgenomics.net/> y <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> y la identificación hace referencia al nombre designado a los cebadores usados en los respectivos experimentos.

5. Construcción de librerías de ARN pequeño para los experimentos de secuenciación masiva

Para la preparación de las librerías de ARN pequeño (sARN) se emplearon las muestras de ARN procedentes de las plantas de tomate sometidas a 6 condiciones de estrés (sequía, temperatura, tratamiento con Hx, daño ocasionado por CPB e infección por *P. syringae* y *B. cinerea*), más el correspondiente grupo control, generándose en total 36 librerías. Previamente a la construcción de las librerías, se llevó a cabo un enriquecimiento de la fracción de sARN presente en las muestras de ARN total procedente del tejido vegetal usando “Pure Link miRNA Isolation kit” (*Invitrogen*, Carlsbad, California, USA), además de evaluarse la cantidad y calidad de los sARNs presentes en las muestras, empleando el “Small RNA Chip Kit” (*Agilent*, Santa Clara, California, USA) en el Bioanalyzer 2100 (*Agilent Technologies*, Palo Alto, California, USA). Las librerías se construyeron utilizando el kit “SOLID Total RNA-Seq” (*Life Technologies*, Carlsbad, California, USA), añadiéndose etiquetas para permitir su posterior identificación. Tras la síntesis del cADN, este se amplificó de forma clonal mediante PCR de emulsión usando el sistema “SOLID EZ beads

System” (*Life Technologies*, Carlsbad, California, USA). El producto obtenido se cargó en el “5500xl Genetic Analyzer System” (*Life Technologies*, Carlsbad, California, USA), empleándose el módulo ECC (Exact Call Chemistry) para realizar la secuenciación de fragmentos de ADN de 50 pb de longitud.

6. Identificación de miARNs a partir de análisis de secuenciación masiva

Los datos brutos obtenidos de secuenciación masiva se procesaron usando “XSQ Tools” (*Life Technologies*, Carlsbad, California, USA), generando ficheros FASTQ. La secuencia de los adaptadores se eliminó empleando el programa “Cutadapt” (versión 1.8.3), se filtraron las secuencias descartando las lecturas sin recortar y las lecturas de menos de 15 nucleótidos y se evaluó su calidad usando la herramienta “FASTQC” (v.0.11.5) (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk>). Para el análisis de sARN, incluyendo la identificación de miARNs y la predicción de miARNs noveles, se utilizó “sRNAtoolbox webserver” (<http://bioinfo5.ugr.es/srnatoolbox>), usando como base de datos “miRBase” (release 22.1, <http://www.mirbase.org/>) y como genoma de referencia para el mapeo el de *S. lycopersicum* (SL2_4.0, <https://solgenomics.net/>).

7. Expresión diferencial de miARNs

El análisis de expresión diferencial de miARNs identificados mediante secuenciación masiva se efectuó con el paquete “DESeq package” de la herramienta “sRNAtoolbox” (<http://bioinfo5.ugr.es/srnatoolbox>), aplicando un p -value ajustado (p -adj) < 0.1 (Benjamini y Hochberg, 1995).

8. Análisis de expresión de miARNs mediante RT-qPCR

El ARN total procedente de las distintas muestras vegetales se poliadeniló partiendo de 1000 ng de este en un volumen final de 10 μ L, incluyendo 1 μ L de tampón 10x para la poly(A), ATP 1 mM y 1 unidad de poly(A) polimerasa (*New England Biolabs*, Ipswich, Massachusetts, USA), incubándose 30 min a 37°C. Para la síntesis de cADN, se utilizaron 500 ng de ARN poliadenilado y se siguió el protocolo descrito en Balcells *et al.* (2011). La retrotranscripción se llevó a cabo empleando el kit “PrimeScript™ RT reagent” (*Takara*, Kusatsu, Japan) en un volumen final de 10 μ L, incluyendo 2 μ L de 5x “PrimeScript buffer”, 0.5 μ L de “PrimeScript™ RT Enzyme Mix I” y 1 μ M de “Universal RT-primer” incubándose 15 min a 37°C, seguido de la inactivación de la enzima a 85°C durante 5 s. La secuencia del cebador empleado es

5'-CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTTTVN-3' donde V es A, C y G, y N es A, C, G y T. La RT-qPCR se llevó a cabo partiendo de 10 ng de cADN, en el equipo "StepOnePlus Real-Time PCR thermocycler" (Life Technologies, Carlsbad, California, USA), y usando "Power SYBR Green PCR Master Mix" (Applied Biosystems, Foster City, California, USA). Los ciclos de temperatura fueron los siguientes: un ciclo inicial de 10 min a 95°C, para la activación de la polimerasa, seguido de un paso de desnaturalización a 95°C durante 15 s, y un paso de hibridación y elongación a 60°C durante 1 min, un total de 40 ciclos. Para la validación y análisis de expresión por RT-qPCR de los miARN, se diseñaron cebadores específicos según se propone en Balcells *et al.* (2011), cuya secuencia y concentración de trabajo se incluye en la tabla 2.

Tabla 2. Cebadores empleados en la RT-qPCR para el análisis de expresión de miARNs.

Identificación	Cebadores secuencia_concentración	Tm	Tamaño amplificado (pb)
sly-miR159	Fw CGCAGTTTGGATTGAAGGGAG_250 nM Rv CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTTAGAG_250 nM	59.5 58.0	50
sly-miR167c-3p	Fw AGGTCATGCTCGGACAGC_250 nM Rv CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTAGTGAG_250 nM	59.4 59.7	48
sly-miR168a-5p	Fw CGCAGTCGCTTGGTGCAGGTC_250 nM Rv GGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTGTCCC_250 nM	66.6 60.1	49
sly-miR171a	Fw GCAGTGATTGAGCCGTGC_250 nM Rv AGGTCCCAGTTTTTTTTTTTTTTGATATTG_250 nM	59.5 59.7	49
sly-miR172c	Fw CGCAGAGAATCTTGATGATGCT_250 nM Rv AGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTCTGC_250 nM	58.9 59.1	49
sly-miR408b-3p	Fw GCAGATGCACTGCCTCTTC_250 nM Rv TCCAGTTTTTTTTTTTTTTGCCAGG_250 nM	58.9 59.1	45
sly-miR482d-5p	Fw GCAGGGAGTGGGTGGGAT_250 nM Rv CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTTCC_250 nM	61.0 59.8	49
sly-miR1127	Fw CGCAGACAAGTATTTCTGGACG_250 nM Rv CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTCCT_250 nM	59.7 59.4	49
sly-miR6022	Fw CGCAGTGAAGGGAGAATATCC_250 nM Rv CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTCCT_250 nM	60.5 59.1	50
sly-miR9471a-3p	Fw CAGTTGGCTGAGTGAGCATC_150 nM Rv GGTCCAGTTTTTTTTTTTTTCCGT_150 nM	58.9 58.9	46
sly-newmiR21-3p	Fw CAGACCGCAGAAGCATCAAT_250 nM Rv CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTGGAC_250 nM	58.6 59.9	48
sly-newmiR22-3p	Fw CGCAGGTTGCATATGTCAGG_250 nM Rv AGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTAAAGCT_250 nM	59.9 58.9	50
sly-newmiR36-3p	Fw GCAGGGGAGAAGGGGTG_250 nM Rv TCCAGTTTTTTTTTTTTTTGAGGAGG_250 nM	58.9 58.9	45
small RNA U6	Fw GGGACATCCGATAAAATTGGAAC_200 nM Rv TGGACATTCTCGATTGTGC_200 nM	60.0 59.5	88

Se analizaron 3 réplicas biológicas, realizándose 3 réplicas técnicas por muestra y empleándose el gen *U6* snRNA (GenBank: X51447.1) para la normalización de la expresión de los miARNs. Los cebadores para la amplificación de gen *U6* snRNA se diseñaron con la herramienta “PRIMER3PLUS” (<http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>) (tabla 2). El análisis de datos se llevó a cabo con el programa LinRegPCR (Ruijter *et al.*, 2009) y se aplicó el estadístico Student’s *t*-test ($p < 0.05$) para analizar las diferencias existentes entre grupos.

9. Predicción bioinformática de miARNs reguladores de la expresión génica

La predicción de posibles miARNs reguladores de la expresión de *SIWRKY75* y de su probable sitio de unión se realizó mediante el programa “psRNATarget” (<http://plantgrn.noble.org/psRNATarget/>).

Para la predicción de la estructura secundaria de miARNs se usó el programa “RNAfold web server” (<http://rna.tbi.univie.ac.at/>).

10. Predicción de dianas génicas de los miARNs y análisis funcional

Las dianas génicas de los miARNs expresados diferencialmente en condiciones de estrés se predijeron con las herramientas “psRNATarget” (<http://plantgrn.noble.org/psRNATarget/>) y “miRNAconsTarget tool” (<http://bioinfo5.ugr.es/srnatoolbox>), manteniéndose los parámetros por defecto.

El análisis de enriquecimiento ontológico de las dianas génicas predichas se llevó a cabo con la herramienta “Panther” (<http://pantherdb.org/>) asociándose los resultados obtenidos a tres componentes: procesos biológicos, componentes celulares y funciones moleculares.

11. Análisis de expresión génica mediante RT-qPCR

Para el análisis de expresión génica, se realizó la transcripción reversa partiendo de ARN total, siguiendo las instrucciones del kit “RetroScript” (Ambion, Carlsbad, California, USA) e incluyendo en la reacción hexámeros aleatorios 2.5 μ M y oligo(dT) 50 ng/ μ L. La amplificación se llevó a cabo en el termociclador “StepOnePlus Real-Time PCR system” (Applied Biosystems, Foster City, California, USA), aplicándose los siguientes ciclos de tiempo y temperatura: desnaturalización a 95°C durante 15 s, e hibridación y elongación a 60°C durante 1 min, un total de 40 ciclos. Para cada grupo, se analizaron tres réplicas biológicas, realizándose 3 réplicas técnicas de cada una de ellas y normalizándose con los datos de expresión del gen *RPS18* (ribosomal protein S18,

Gene ID: 107882131). Los cebadores empleados para analizar la expresión génica se diseñaron con la herramienta “PRIMER3PLUS” (<http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>) y quedan mostrados en la tabla 3. El análisis de datos se llevó a cabo con el programa LinRegPCR (Ruijter *et al.*, 2009) y se aplicó el estadístico Student’s *t*-test ($p < 0.05$) para analizar las diferencias existentes entre grupos.

Tabla 3. Cebadores usados para analizar la expresión génica por RT-qPCR.

Gen	Identificador*	Cebadores		Tm	Tamaño amplificado (pb)
		secuencia	concentración		
Kinesin	Solyc02g086840.2	Fw ACTCAATGCCGAATTTGCC	200nM	59.5	124
		Rv G TACTCAACGGACTCCTCGG	200nM	59.5	
PRR	Solyc01g108180.2.1	Fw AGATGCACGCAGAGTTTTTG	200nM	57.3	122
		Rv GCATCTGATCATACAAAGTCAACC	200nM	58.2	
GDP	Solyc12g014570.1.1	Fw AGAAGCTCCCAGCCCAATAC	200nM	59.5	136
		Rv TGAGGATTGACCGTTGGAG	200nM	59.4	
RLP1	Solyc01g101100.2.1	Fw CTCCTGTGAGCCAAATACC	250nM	58.0	102
		Rv AAGAAGAATTCGTCTCGTGG	250nM	58.0	
GRAS40	Solyc08g078800.1.1	Fw TCTGCAGTTGCCTTTCTTT	300nM	57.9	191
		Rv TGTGAATTTGCTCAGCATCC	300nM	56.7	
ABC transporter	Solyc08g081890.2.1	Fw GAAGCCGATAATGCCTGTG	300nM	56.5	189
		Rv CGAGTACAACGTCCCAACT	300nM	57.9	
SIMYB33	Solyc01g009070.2.1	Fw TATGGGCATCCAGTCTCTCC	300nM	58.5	199
		Rv TGGGACTGAAAAGATCGTC	300nM	57.2	
SIMYB65	Solyc06g073640.2.1	Fw TCTGCTGCATCGGTGTTAG	300nM	56.7	164
		Rv TCTGGCCTGGGACAGATAAG	300nM	58.5	
SIMYB104	Solyc11g072060.1.1	Fw TTTTCGGAATTGTTTGAAGC	300nM	55.1	110
		Rv TGAAGAAGTTGCCGACAATG	300nM	56.7	
SIMYB97	Solyc10g019260.1.1	Fw CATGTCCCCTTGGAAGATTTAG	300nM	56.5	181
		Rv CTAGTGGCAAAGCAAAGTCATC	300nM	57.9	
SIMYB120	Solyc01g090530.1.1	Fw CACATTCCAGTCCAAACCAAC	300nM	57.6	116
		Rv CCTAGTTCGGAAGCACTGAG	300nM	59.5	
SIP5CS	ID: U60267.1	Fw TGCTCAACAGCCGGATATG	200nM	60.2	126
		Rv AAAGTGTGACCAAGGGGCTC	200nM	60.2	
SIWRKY75	Solyc05g015850.2.1	Fw ATTCCAAGGAGCTATTATCGATG	300nM	58.3	156
		Rv CTACGGATAA CTTTGAGCACATTTT	300nM	58.2	
SmeWRKY75	Sme2.5_02226.1_g00005.1	Fw GGAGGAAATATGGACAGAAGGC	300nM	58.5	71
		Rv CTTGATGTGTGCACCGGTAG	300nM	58.9	
SmeWRKY53	Sme2.5_00013.1_g00025.1	Fw CACTCTGCAGGTTCCACTTTTG	300nM	60.0	109
		Rv GATTGACTGTTGAGCCACTCC	300nM	59.0	
Miraculin protease inhibitor (MLP)	Sme2.5_12387.1_g00002.1	Fw GACGGGTGAGTTGAAGG	200nM	57.3	124
		Rv AAATAACTTTACAAAACCTGCACACAC	200nM	58.3	

*El identificador proporcionado permite la consulta de estos genes en <https://solgenomics.net/> y <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>.

12. Edición génica de plantas de tomate empleando la tecnología CRISPR/Cas9

Las guías para la edición de los miARNs *sly-miR171a* y *sly-miR6022* se diseñaron con la herramienta en línea 'Breking-Cas' (<http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/breakingcas/>) (tabla 4). Para la hibridación de las cadenas pertenecientes a cada guía se preparó una reacción con 50 μ M de ambas en un volumen total de 50 μ L y se incubaron 5 min a 95 °C.

Tabla 4. Secuencia de las sgARNs generadas para los miARNs *sly-miR171a* y *sly-miR6022*.

miARN	sgARN	Secuencia
<i>sly-miR171a</i>	Guía1	GAGAAACTGAGATATTGGCA
	Guía2	CAGTAACTTTGATATTGGCC
<i>sly-miR6022</i>	Guía1	CTAAATAACTTAGTGATGGA
	Guía2	GGATGGTATTGTTCCGTTCA

Los vectores "pEn-C1.1" y pDe-CAS9-D10A" empleados fueron cedidos por el laboratorio "Isoprenoid metabolism in tomato: Involvement in development and stress response", perteneciente al "Centre for Research in Agricultural Genomics" (CRAG), localizado en Barcelona. Para la creación del vector final CRISPR/Cas9 específico para cada miARN, se siguió el protocolo propuesto en Schiml *et al.* (2016).

Para transformar cotiledones de tomate (50 por construcción) se usó el método de transformación mediado por *A. tumefaciens*. Para la obtención y aclimatación a invernadero de las plantas regenerantes, se inició el proceso de cultivo "in vitro" tal y como se describe en Wittmann *et al.* (2015). A partir de estas plantas, se extrajo el ADN genómico usando el kit "Plant/Fungi DNA Isolation kit" (Norgen, Thorold, California, USA), siguiendo el protocolo del fabricante. La presencia de la edición genética se detectó por PCR, usando cebadores específicos flanqueantes a la región bajo estudio (tabla 5), y posteriormente los productos fueron secuenciados usando los mismos cebadores para su confirmación. El análisis de expresión del gen que codifica para la proteína Cas9 se hizo por PCR usando cebadores específicos (tabla 5) y analizando los productos obtenidos mediante electroforesis en gel de agarosa 2%. Para ello se realizó una extracción de ARN a partir de muestras de las hojas de las plantas transformantes usando el kit "NucleoSpin® miRNA" (Macherey-Nagel, Dueren, Deutschland, EU). Para la síntesis de cADN se partió de 500 ng de ARN y se siguieron las instrucciones del kit "RetroScript" (Ambion, Carlsbad, California, USA), incluyendo en la reacción hexámeros aleatorios 2.5 μ M y oligo(dT) 50 ng/ μ L.

Tabla 5. Cebadores usados para el genotipado de las plantas de tomate editadas con la herramienta CRISPR/Cas9 y para evaluar la expresión del gen que codifica para la proteína Cas9.

Identificación	Cebadores secuencia_concentración	Tm	Tamaño amplificado (pb)
genotipadomiR171	Fw GCACTCTAAACACACCACCC_200 nM	58.8	379
	Rv GGAACAAACCCTAGATGGTAATGC_200 nM	59.7	
genotipadomiR60200	Fw GATTCATGAGCACACCTGCAC_200 nM	59.9	368
	Rv CGGGGTCTATTCTTGAATCTCTC_200 nM	58.1	
Cas9	Fw TTCGATCTCGCTGAGGATGC_200 nM	60.0	112
	Rv CAGCGAGGAACAAATCAGCG_200 nM	59.9	

13. Cuantificación de aminoácidos y poliaminas

Después de someter plantas de tomate a las distintas condiciones de estrés, se cortaron las hojas 3ª y 4ª, se congelaron en nitrógeno líquido, se trituraron y se liofilizaron.

Para el análisis de aminoácidos, se homogeneizó 0.1 g de tejido liofilizado procedente de cada muestra en 800 µL de solución de extracción compuesta por: 400 µL de H₂O destilada, 200 µL de cloroformo y 200 µL de metanol. Previo a la extracción, se añadió una mezcla de patrones internos (100 ng of Phe ¹³C₉¹⁵N y 100 ng de Thr ¹³C₄¹⁵N). Las muestras se filtraron y se añadió ácido perfluoroheptanoico 1 mM. Se tomaron alícuotas de 20 µL de cada muestra y se inyectaron en la columna "XSelect HSS C18" (5 µm 2.1 x 100 mm) de un sistema de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) conectado con un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo (TQD, Waters, Manchester, UK).

El análisis de poliaminas se llevó a cabo según se describe en Sánchez-López *et al.* (2009), utilizando como controles internos una mezcla de [¹³C₄]-putrescina y 1,7-diaminaheptano. Para cada condición se analizaron tres muestras, conteniendo cada una de ellas material vegetal de diez réplicas biológicas, y se llevaron a cabo tres experimentos de forma independiente.

14. Determinación de los niveles de hormonas

Los niveles de hormonas vegetales JA, OPDA, SA y ABA se determinaron a partir de las muestras de hojas congeladas y trituradas. A 50 mg de material vegetal se añadió 1 mL de H₂O:MeOH (90:10), conteniendo este a su vez un estándar interno (ácido dihidrojamónico, [²H₆]ABA y [²H₄]SA). Las muestras homogeneizadas se centrifugaron a 15000 *xg* a 4°C durante 15 min. Se recuperó el sobrenadante y el pH se ajustó a 2.8 con ácido acético al 6%. Se descartó la fase acuosa, y la fracción orgánica se secó al vacío. El residuo sólido se resuspendió en 1 mL de H₂O:MeOH (90:10) y se tomaron alícuotas de 20 µL que se inyectaron en el sistema "Acquity

ultra-performance liquid chromatography system" (UPLC, Waters, Manchester, UK), interconectado con un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo (TQD, Waters, Manchester, UK). Para la cuantificación hormonal y la calibración de los estándares de las muestras vegetales se utilizó el programa "MassLynx™ Software version 4.1".

Para el análisis estadístico se usó el programa "Statgraphics-plus software of Windows V.5" (Statistical Graphics Corp.). Las medias se expresaron con sus correspondientes errores estándar y se compararon con el estadístico de "Fisher" con un intervalo de confianza del 95%.

15. Ensayo de inmunoprecipitación de cromatina (ChIP)

Para la inmunoprecipitación se utilizó anti-H3K4me3 (Merck Millipore, Massachusetts, USA). El aislamiento de cromatina y su inmunoprecipitación se llevó a cabo tal y como se describe en Crespo-Salvador *et al.* (2017). Para el aislamiento de la cromatina, las hojas de plantas de tomate de 5 semanas de edad se fijaron al vacío en formaldehído 1%. Tras sonicación y purificación, la cromatina solubilizada se inmunoprecipitó empleando 2.5 µL de anticuerpo e incubando a 4°C durante 16 h. Los complejos formados por las proteínas unidas a los anticuerpos se aislaron con las perlas magnéticas "Protein G-Dynabeads" (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA). Posteriormente, las perlas se lavaron y calentaron a 65°C y se procedió a la purificación del ADN con el kit "GeneJET PCR Purification" (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA). Se realizaron 3 réplicas de este experimento.

La cantidad de ADN correspondiente a las regiones específicas del gen se cuantificó por qPCR usando cebadores específicos de cada región (tabla 6). Para la normalización de la expresión se usó el gen *EF1α* y el análisis estadístico se realizó como se describe en Crespo-Salvador *et al.* (2017).

Tabla 6. Cebadores usados para el análisis por qPCR del gen *SIWRKY75*.

Gen	Identificador	Identificación	Cebadores secuencia_concentración	Tm	Tamaño amplificado (pb)
SIWRKY75	Solyc05g015850.2.1	Región TTS	Fw AGCCGCCACACTAGTCCAAC_300 nM	62.5	133
			Rv TGAGAATGTAAAAGTGAGACGTTTTG_300 nM	60.5	
SIWRKY75	Solyc05g015850.2.1	Exón 1	Fw TTTCCATCAGCATCATCGTCG_300 nM	58.8	150
			Rv TTCCATGCTTGCCATTAGTCC_300 nM	58.6	
SIWRKY75	Solyc05g015850.2.1	3' UTR	Fw TCAATGCCTAAGGCTTATATCTTATCT_300 nM	57.9	164
			Rv GATAATTCCCAAATATGAATGACTACCT_300 nM	57.6	
EF1α	Solyc03g112150.1.1	EF1α	Fw GACAGGCGTTCAGGTAAGGA_300 nM	59.4	112
			Rv GGGTATTAGCAAAGGTCTC_300 nM	55.8	

*El identificador proporcionado permite la consulta de estos genes en <https://solgenomics.net/>.

16. Análisis proteómico del jugo intestinal de CPB

Se extrajo jugo intestinal de larvas de CPB del tercer estadio, alimentadas con plantas de berenjena tratadas y no tratadas con Hx, presionando suavemente el abdomen hasta que se obtuvo un regurgitado. De cada una de las larvas se recolectaron 2 μ L, se congeló la muestra en nitrógeno líquido y se almacenó a -80°C . Para el análisis proteómico, se emplearon dos réplicas de 20 larvas cada una por condición.

Para la precipitación de proteínas, las muestras se incubaron a 5°C durante 16 h con ácido tricloroacético al 10%. Posteriormente, se centrifugaron a 15000 rpm durante 1 h a 10°C , y el precipitado obtenido se lavó con acetona y se disolvió en tampón bicarbonato trietilamonio 0.5 M pH 8.5 (SIGMA, Kawasaki, Japan) suplementado con 80 μ L de urea 4.0 M. Las muestras proteicas (20 μ g), reducidas y alquiladas, se digirieron con tripsina y los péptidos obtenidos fueron analizados en el espectrómetro de masas "nanoESI qTOF" (5600 TripleTOF, ABSCIEX). Los espectros MS/MS se analizaron utilizando "Software ProteinPilot" (Applied Biosystems, Foster City, California, USA), consultándose la base de datos de proteínas de solanáceas del NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/>).

**Capítulo 1: Identificación de miARNs
implicados en respuesta a estrés en plantas
de tomate**

Capítulo 1: Identificación de miARNs implicados en respuesta a estrés en plantas de tomate

Parte de los resultados contenidos en este capítulo están incluidos en la siguiente publicación:

- López-Galiano, M. J., Sentandreu, V., Martínez-Ramírez, A. C., Rausell, C., Real, M. D., Camañes, G., Ruíz-Rivero, O., Crespo-Salvador, O., y García-Robles, I. (2019). Identification of stress associated microRNAs in *Solanum lycopersicum* by high-throughput sequencing. *Genes*, 10(6), 475–499. <https://doi.org/10.3390/genes10060475>.

1.1. Introducción

En su ambiente natural, las plantas deben hacer frente de forma continua a estreses abióticos agravados por el cambio climático, así como bióticos asociados a patógenos, insectos o herbívoros. La respuesta a todos estos factores implica modificaciones en los patrones de expresión génica y en los perfiles hormonales, lo que conlleva alteraciones en su desarrollo y crecimiento para conseguir así su adaptación a las diferentes condiciones de estrés (Freeman y Beattie, 2008; Santamaria *et al.*, 2013; He *et al.*, 2018).

El desarrollo de las tecnologías de secuenciación masiva, junto con la disponibilidad de los genomas de referencia de plantas modelo, ha permitido el abordaje del estudio de la regulación génica en situaciones de estrés desde una perspectiva ómica, ofreciendo una visión más amplia y completa de la respuesta ejercida por la planta para la adaptación a la condición adversa (Gupta *et al.*, 2013; Kumar y Khurana, 2014). Aunque este tipo de estudios inicialmente se centraron en el análisis proteómico y de expresión génica, la mejora de la tecnología posibilitó la identificación de perfiles de sARNs, incluyendo entre ellos los miARNs (Mingming *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2011).

Debido al papel fundamental de los miARNs en procesos de desarrollo y a sus funciones trans-reguladoras, se configuran como los candidatos ideales para regular la diafonía existente entre las vías de señalización hormonal y de expresión génica (Curaba *et al.* 2014), incluyendo la regulación que ejerce esta clase de sARNs sobre la expresión de factores de transcripción que, a su vez, también son elementos reguladores de la expresión génica. Además de las funciones cruciales de los miARN en procesos esenciales como el mantenimiento de la integridad del genoma, la transducción de señales y la homeostasis hormonal, también participan en la respuesta a condiciones de estrés abiótico y biótico (Zhang *et al.*, 2006; Khraiwesh *et al.*, 2012; Kamthan *et al.*, 2015). Por lo tanto, el análisis comparativo de los perfiles de miARNs de plantas sometidas a diversas condiciones adversas, constituye una buena estrategia para poder obtener una visión integrada de la regulación en respuesta estrés.

El tomate es uno de los cultivos más importantes en el mundo. Tradicionalmente, la planta de tomate ha sido modelo de investigación del desarrollo del fruto y, desde la finalización de la secuenciación de su genoma en 2012, ofrece un buen sistema para estudiar la regulación génica en respuesta a estrés. Se trata de un cultivo gravemente afectado por estreses abióticos y bióticos, ocasionando la disminución y la calidad del cultivo. Recientemente, la importancia de los sARNs como elementos reguladores de la expresión génica ha propiciado la reorientación de algunos estudios en tomate hacia la identificación de miARNs en respuesta a estrés (Jin *et al.*, 2011; Zuo *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2017b), no obstante, no hay precedentes de trabajos de identificación de miARNs a gran escala aplicado a diversas condiciones de estrés. Por este motivo, en la presente tesis doctoral se planteó realizar un experimento de secuenciación masiva incluyendo en el análisis 6 condiciones de estrés. Se seleccionaron como estreses abióticos más representativos, por su relevancia en el cambio climático, la sequía y la temperatura, y como estreses bióticos, la infección ocasionada por la bacteria patógena *P. syringae*, el hongo necrótrofo *B. cinerea* y el daño ocasionado por el insecto herbívoro plaga CPB. Además, se incluyó en el análisis el tratamiento con Hx, debido a sus propiedades demostradas como agente de “priming” (Finiti *et al.*, 2014; Llorens *et al.*, 2016).

1.2. Resultados y discusión

1.2.1. Identificación y validación de miARNs en respuesta a estrés

La secuenciación masiva de las muestras correspondientes a las 6 condiciones de estrés abordadas en esta tesis doctoral (sequía, temperatura, tratamiento con Hx, daño generado por el insecto plaga CPB y la infección ocasionada por la bacteria *P. syringae* y el hongo *B. cinerea*), dio como resultado un número de lecturas comprendido entre 0.46 y 9.5 millones, de entre 15 y 47 nucleótidos de longitud, de cada una de las 36 librerías generadas (tabla 1).

Tabla 1. Conjunto de datos obtenidos del proceso de secuenciación masiva de las muestras de plantas de tomate sometidas a estrés.

Librería	Réplicas	Lecturas brutas	Lecturas en análisis	Lecturas únicas en análisis	Lecturas mapeadas en el genoma	Lecturas únicas mapeadas en el genoma	Lecturas coincidentes con miARNs
CPB	CPB_control_1	2017580	1310283	202324	1007231	154699	87227
	CPB_control_2	2094577	1375345	213714	1073497	165203	108260
	CPB_control_3	1207208	781673	127111	598432	96578	88872
	CPB_1	1287488	892095	131365	678481	99049	70026
	CPB_2	1778426	1252398	178292	969344	136223	83870
	CPB_3	2165134	1479772	214253	1124057	163047	102550
<i>P. syringae</i>	Ps_control_1	2160524	1362621	221596	1027304	166724	220908
	Ps_control_2	1588889	922728	164896	667568	123168	171207
	Ps_control_3	1787979	1051329	173251	783434	129463	191246
	Ps_1	974244	549162	93482	405265	67620	253642
	Ps_2	1114462	590372	104438	441541	74500	291917
	Ps_3	464118	233552	42425	177202	29989	217635
<i>B. cinerea</i>	Bc_control_1	1663364	1228666	148546	931181	109353	71292
	Bc_control_2	1764492	1224461	169339	949056	125720	98452
	Bc_control_3	2321326	1651189	218069	1265836	163405	89453

Librería	Réplicas	Lecturas brutas	Lecturas en análisis	Lecturas únicas en análisis	Lecturas mapeadas en el genoma	Lecturas únicas mapeadas en el genoma	Lecturas coincidentes con miARNs
	Bc_1	2452194	1789008	212957	1326215	154640	132166
	Bc_2	11464935	9559569	760151	7069617	537263	89613
	Bc_3	782598	556187	75621	388166	53376	67491
Sequía	Sequía_control_1	2686918	1922203	238355	1465597	181605	62462
	Sequía_control_2	2980066	2139770	272662	1630658	205056	98298
	Sequía_control_3	2865419	2197332	245822	1726340	190059	52195
	Sequía_1	2827918	2059550	259159	1571717	198434	85571
	Sequía_2	2720161	2081553	259423	1535046	198495	84087
	Sequía_3	2950568	2118453	298178	1531771	224812	117450
Temperatura	Temperatura_control_1	1801710	1048696	191165	775561	143566	145078
	Temperatura_control_2	3224186	2180523	310215	1667525	234701	107871
	Temperatura_control_3	1969244	1183052	206622	895057	156249	197825
	Temperatura_1	2719328	1900640	268834	1375793	201450	104117
	Temperatura_2	2578226	1839653	304566	1412749	234794	86406
	Temperatura_3	1653823	1157590	167601	915105	128069	43457

Librería	Réplicas	Lecturas brutas	Lecturas en análisis	Lecturas únicas en análisis	Lecturas mapeadas en el genoma	Lecturas únicas mapeadas en el genoma	Lecturas coincidentes con miARNs
Hx	Hx_control_1	3589204	2863643	316033	2223853	238842	60636
	Hx_control_2	2633355	2006288	227564	1569173	171024	82970
	Hx_control_3	1334918	918326	145154	714753	109633	101580
	Hx_1	2284032	1643993	226204	1228535	166947	144444
	Hx_2	3098489	2407326	276169	1852663	210496	64147
	Hx_3	2363533	1830552	235801	1387512	177399	79684

De las lecturas obtenidas, fueron eliminadas las secuencias correspondientes a adaptadores y las lecturas de baja calidad, para obtener un conjunto de datos de alta calidad para el análisis bioinformático esquematizado en la figura 1.

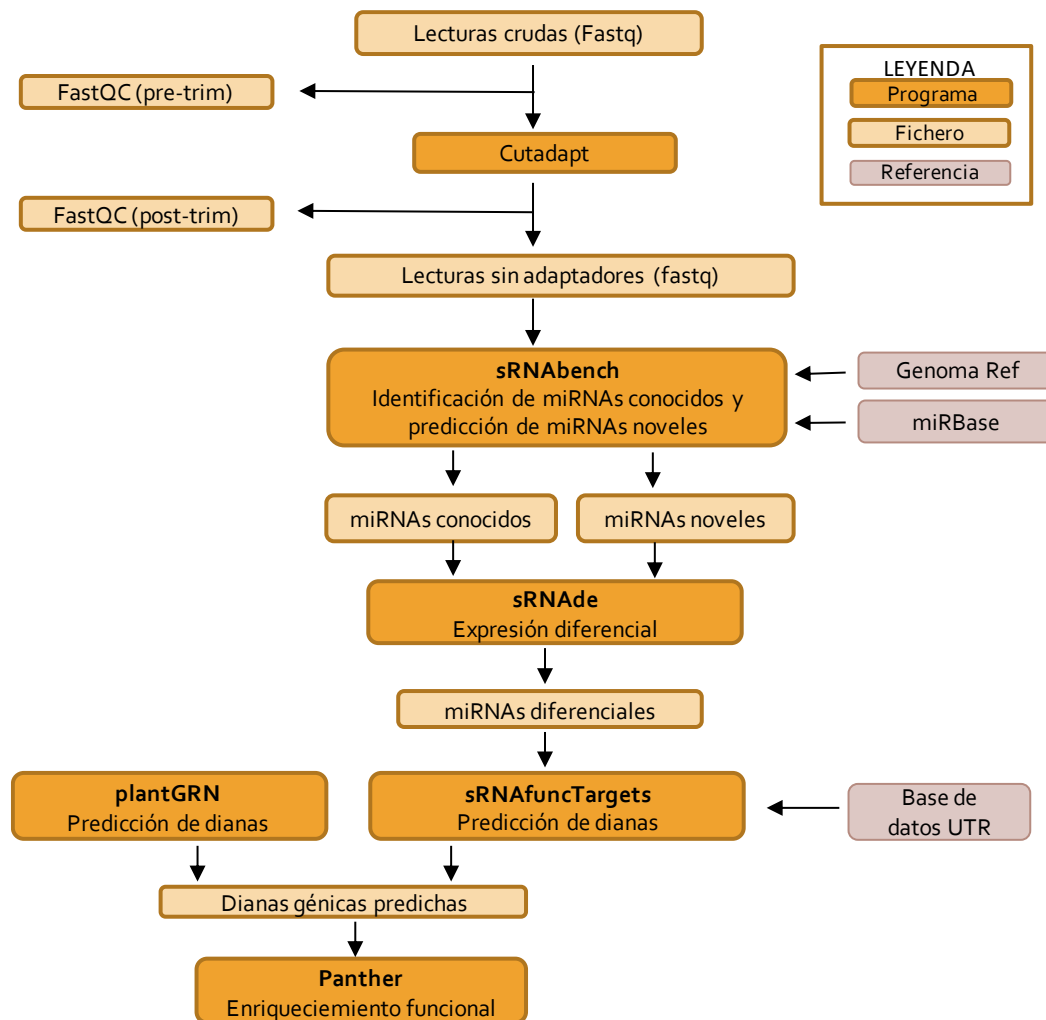


Figura 1. Esquematización del procesado de los datos obtenidos en el proceso de secuenciación.

La distribución del tamaño de los sARNs se muestra en la figura 2. Las lecturas de 19 a 24 nucleótidos representaron más del 40% del total, siendo las más abundantes en todas las librerías.

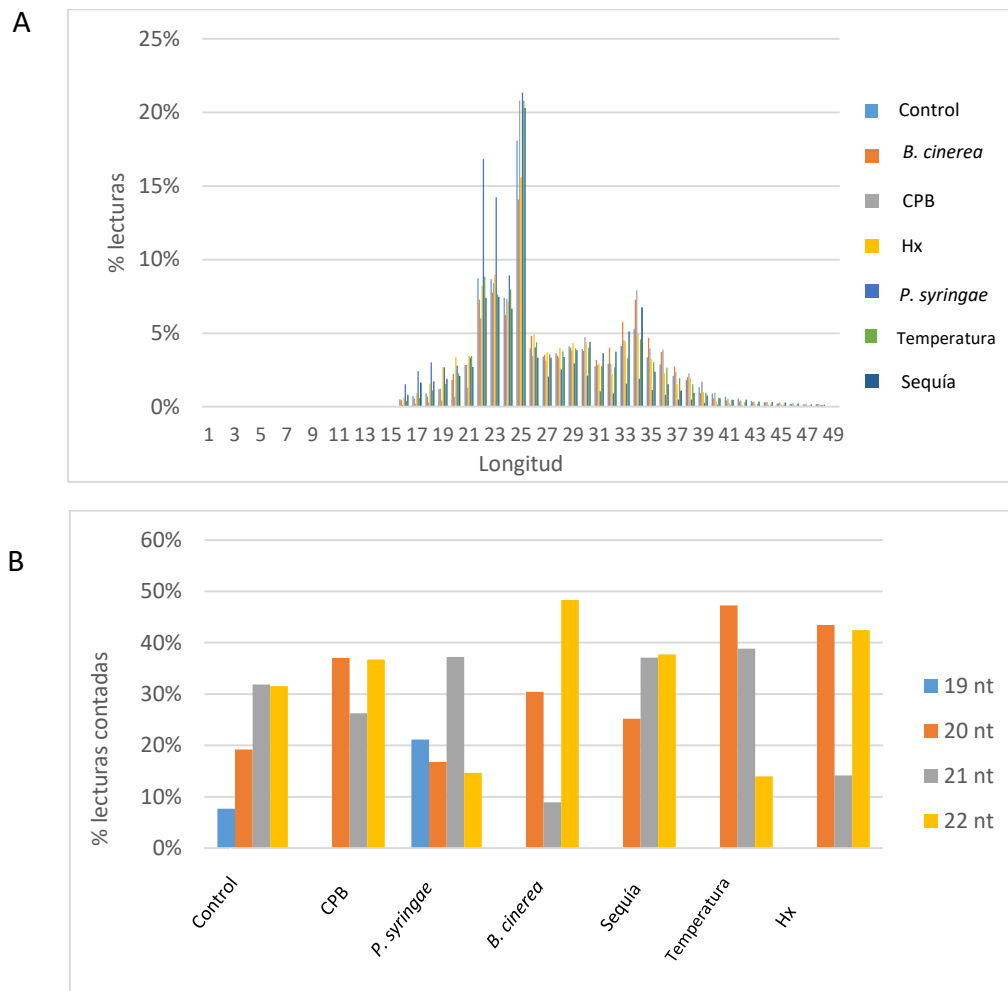


Figura 2. Distribución por tamaño de las lecturas obtenidas de las 36 librerías. A) Longitud de las lecturas para cada condición de estrés. B) Distribución de las lecturas de 19 a 22 nucleótidos en las plantas control y sometidas a estrés.

Para clasificar en diferentes categorías el sARN secuenciado e identificar el correspondiente a miARNs, las secuencias de alta calidad de las 36 librerías fueron mapeadas contra bases de datos específicas (miRBase y bases de datos de cADN, tARN y rARN). Todas las lecturas incluidas en el grupo de miARNs se correspondían con lecturas de 19-22 nucleótidos. Cabe destacar que el estrés en que se identificó un mayor porcentaje de miARNs fue el generado por *P. syringae*, con un 26% de lecturas incluidas en este grupo. El resto de estreses mostraron un rango de entre el 12% y el 8% de lecturas pertenecientes a esta categoría (figura 3).

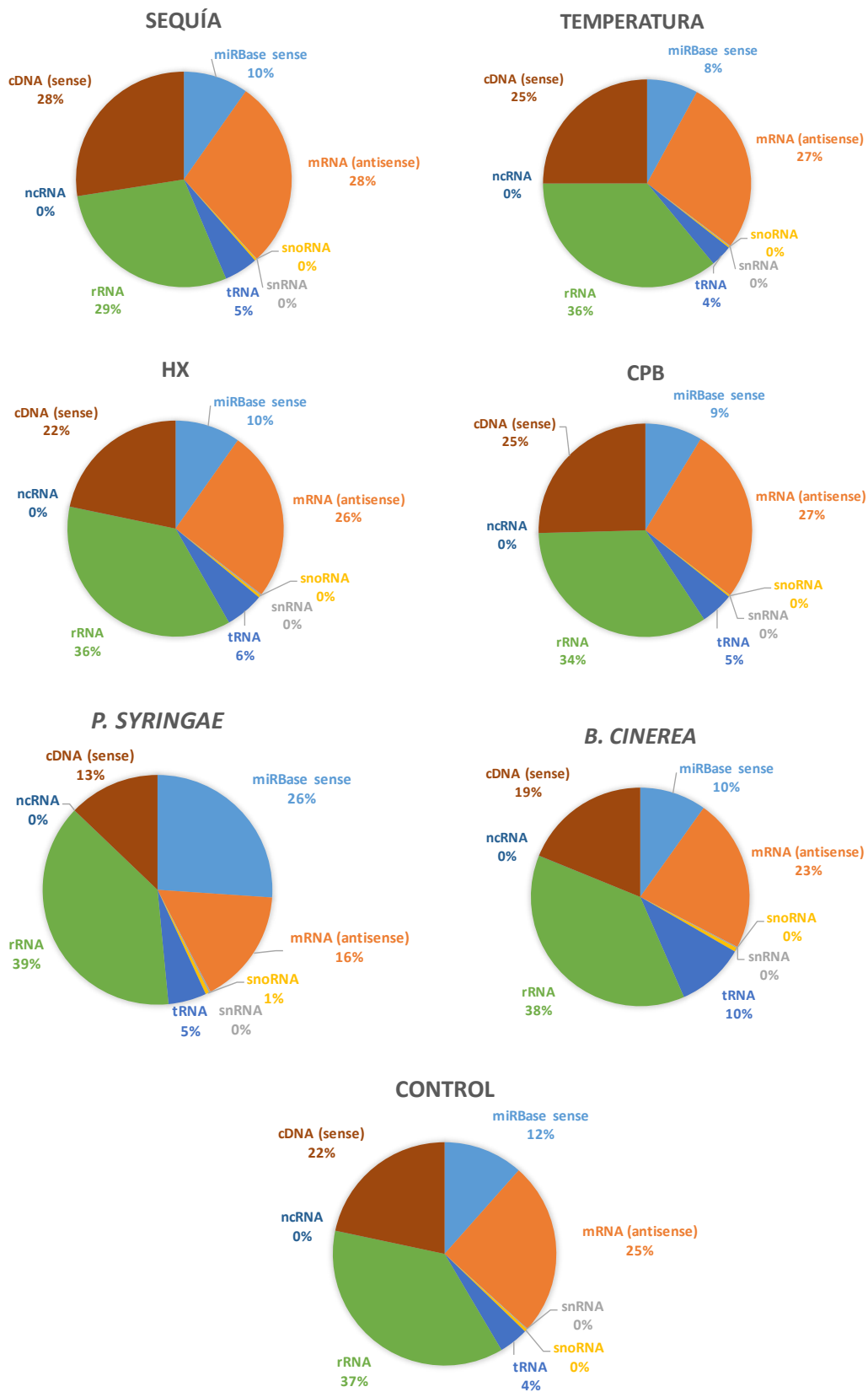


Figura 3. Frecuencia de los sRNAs presentes en los distintos estreses bajo estudio. snoRNA: small nucleolar RNA; miRNA: microRNA; tRNA: transfer RNA; rRNA: ribosomal RNA; snRNA: small nuclear RNA, ncRNA: non coding RNA, cda (sense).

A continuación, se seleccionaron aquellas lecturas clasificadas como posibles miARNs y se procedió a la identificación de miRNAs conservados, empleando la base de datos de miRNAs depositada en “miRBase 22.1” e introduciendo como especies para el mapeo *S. lycopersicum*, *S. tuberosum*, *A. thaliana* y *N. tabacum*. El número de predicciones que se obtuvo fue superior a 80 miARNs en los estreses ocasionados por *P. syringae*, *B. cinerea*, sequía y temperatura, 65 en el estrés causado por el daño generado por CPB y 29 en el tratamiento con Hx (tabla 2). Se identificaron un total de 100 miARNs pertenecientes a 37 familias distintas en las 36 librerías, siendo *sly-miR159*, *sly-miR167a* y *sly-miR482e-3p* los que presentaron un mayor número de lecturas (tabla S1) y cuyas características se muestran en la tabla S2. Este análisis se completó realizando una predicción de miARNs noveles con la herramienta en línea “sRNAtoolbox webserver”. Se obtuvieron 62 secuencias diferentes, correspondientes a posibles nuevos miARNs (tabla S3) que, agrupándolas según el tipo de estrés bajo estudio, dió un total de entre 30 y 13 miARNs noveles por condición (tabla 2).

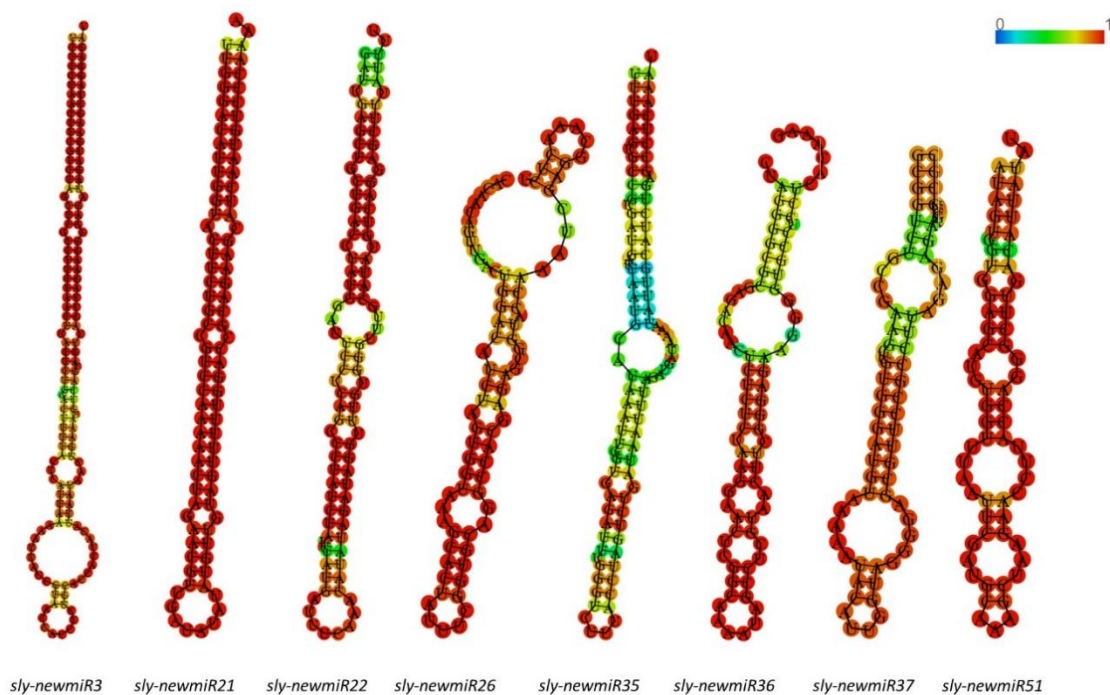
Tabla 2. Número de miARNs conocidos y noveles identificados en las 6 condiciones de estrés.

Librería	miARNs conocidos	miARNs noveles
Control	100	23
CPB	65	13
<i>P. syringae</i>	86	30
<i>B. cinerea</i>	84	21
Sequía	88	19
Temperatura	87	25
Hx	29	28

Todos los miARNs noveles predichos se seleccionaron con los parámetros predeterminados del programa “sRNAtoolbox webserver”, incluyendo las lecturas de los brazos 3p y 5p de las secuencias maduras, la formación del dúplex y la presencia en el genoma de tomate de la secuencia premiR con capacidad de plegarse en una estructura con forma de horquilla característica. Solo los miARNs que cumplían estos criterios se consideraron miARNs noveles. La secuencia de los precursores de estos miARNs se encontraba entre los 54 y 200 nucleótidos y la MFE (“minimum free energy”) varió entre -7.2 y -152.7 Kcal/mol. La secuencia y características de 8 de estos miARNs noveles se muestran en la tabla 3, y su estructura secundaria en forma de horquilla se representa en la figura 4.

Tabla 3. Características principales de 8 miARNs noveles representativos identificados en *S. lycopersicum*.

Nombre	Secuencia	Longitud	% GC	Sly Crom	Posición inicio	Posición final	Cadena	MFE (kcal/mol)
<i>sly-newmiR3-5p</i>	UAACUUCGUCUAGCUCGCCUUC	22	50.0	10	1709804	1709946	+	-57.1
<i>sly-newmiR21-3p</i>	ACCGCAGAAGCAUCAAUGUCC	21	52.4	3	10204269	10204358	+	-56.1
<i>sly-newmiR22-3p</i>	GUUUGCAU AUGUCAGGAGCUUU	22	40.9	3	61786104	61786202	+	-37.0
<i>sly-newmiR26-3p</i>	GCGGUACCAAUCGAGGCAA	20	55.0	4	30503172	30503253	-	-21.4
<i>sly-newmiR35-5p</i>	GUGCCGUGAUGAUUAAUGCAUAA	23	39.1	6	37102293	37102390	+	-20.9
<i>sly-newmiR36-3p</i>	GGGAGAAGGGGUGCCUCCUCA	21	66.7	7	56792405	56792486	+	-26.5
<i>sly-newmiR37-5p</i>	CUGCCGAAGCUGUGGGAUGU	20	60.0	8	44161949	44162021	+	-19.1
<i>sly-newmiR51-3p</i>	GGUGGAGCAUGUGGUUAAUUCG	23	50.0	2	33096229	33096295	-	-15.9


 Figura 4. Estructura en forma de horquilla de 8 miARNs noveles representativos identificados en *S. lycopersicum* realizado en el programa "RNAfold web server" (<http://rna.tbi.univie.ac.at/>). El gradiente de color indica la probabilidad de complementariedad.

Para determinar qué miARNs conocidos y noveles estaban implicados de forma específica en la respuesta de defensa frente a las distintas condiciones de estrés, se realizó un análisis estadístico aplicando como criterio de selección que presentaran un *p*valor ajustado < 0.1. Se observó una reducción importante respecto al número de partida de miARNs identificados en la secuenciación, ya que solo 41 se expresaban de forma diferencial respecto al grupo control. Entre los estreses bióticos, la infección con *P. syringae* fue la condición en la que se observó un mayor número de miARNs expresados diferencialmente, siendo el estrés generado por *B. cinerea* el que menos miARNs diferenciales presentó, tanto entre los estreses bióticos como abióticos. Además, cabe destacar que todos los miARNs expresados de forma diferencial en el tratamiento con Hx eran predicciones noveles (tabla S4).

Respecto a los miARNs expresados diferencialmente, se pudo concluir que no existía un perfil general de miARNs de respuesta conjunta a estreses bióticos y/o abióticos. La gran mayoría de miARNs diferenciales solo se expresaban en una condición de estrés, aunque sí que se encontraron miARNs diferenciales en varias condiciones: *sly-miR167c-3p* expresado en respuesta a dos estreses bióticos (*B. cinerea* y *P. syringae*); *sly-newmiR26-3p* expresado en dos estreses abióticos (sequía y Hx); miARNs expresados en ambos tipos de estreses, como *sly-newmiR6-3p* (CPB y temperatura), *sly-newmiR8-3p* (*P. syringae* y sequía) y *sly-newmiR33-3p* (*P. syringae*, CPB y Hx) (figura 5).

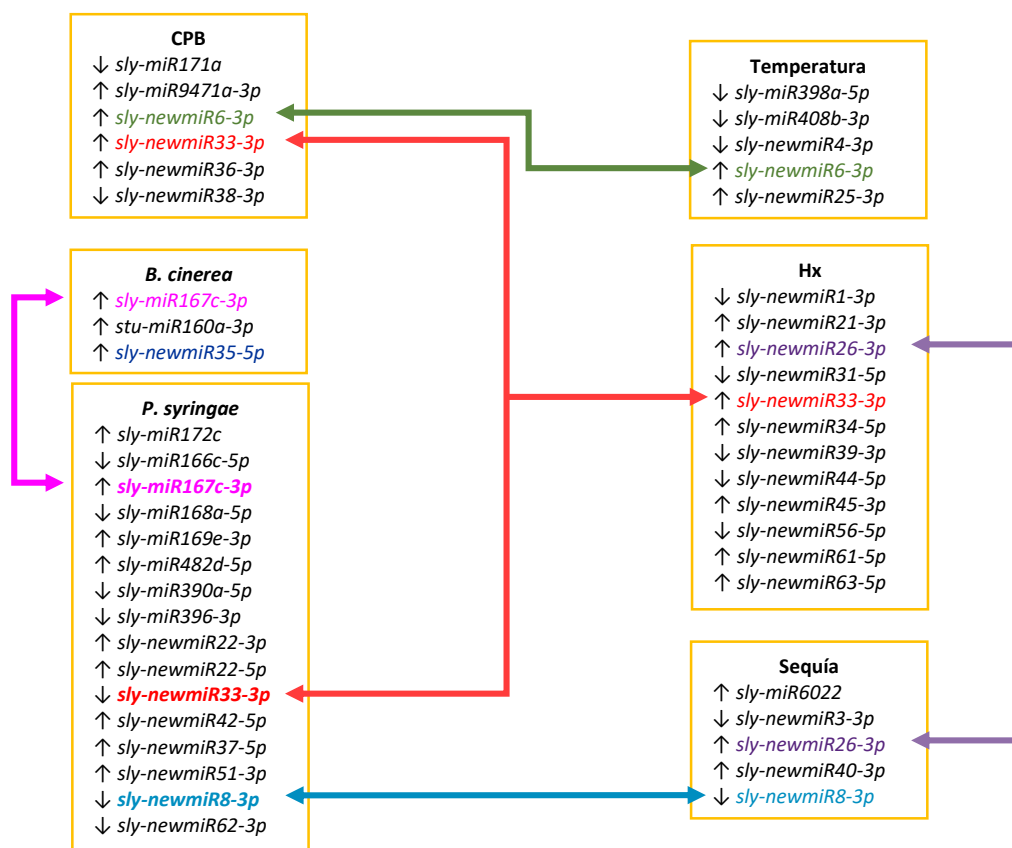


Figura 5. Datos de expresión diferencial de los miRNAs y tendencia de expresión (indicado con flechas) en las plantas sometidas a los distintos estreses respecto a las del grupo control.

Una vez obtenidos todos los datos de identificación y expresión diferencial, se procedió a la validación mediante RT-qPCR de 11 miRNAs seleccionados al azar de entre los 41 cuya expresión estaba significativamente incrementada o disminuida. Los miRNAs elegidos fueron 8 conocidos (*sly-miR408b-3p*, *sly-miR167c-3p*, *sly-miR171a*, *sly-miR6022*, *sly-miR172c*, *sly-miR168a-5p*, *sly-miR482d-5p* y *sly-miR9471a-3p*) y 3 noveles (*sly-newmiR21-3p*, *sly-newmiR22-3p* y *sly-newmiR36-3p*). Todos ellos mostraron la misma tendencia de expresión en RT-qPCR que en la secuenciación, a excepción de *sly-miR9471a-3p* que la mostró invertida, hecho que no puede descartarse que sea debido a los distintos algoritmos empleados en cada tecnología para la normalización y análisis de datos (Blondal *et al.*, 2017). Por otro lado, *sly-miR167c-3p*, expresado de forma diferencial en el estrés ocasionado por *P. syringae* y *B. cinerea*, se validó en ambas condiciones (figura 6). Por lo tanto, el 91% de los miARNs seleccionados fueron validados (tabla S5).

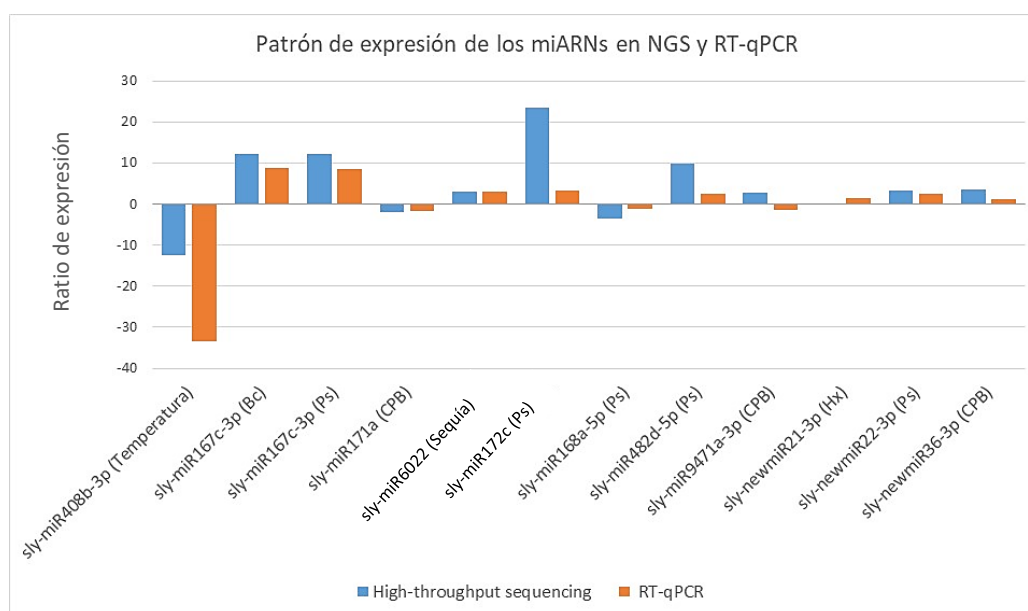


Figura 6. Niveles de expresión obtenidos mediante RT-qPCR y secuenciación de los 11 miARNs seleccionados. La expresión relativa se corresponde con los niveles de expresión del miARN obtenidos en las plantas estresadas respecto a los obtenidos las plantas del grupo control.

1.2.2. Predicción y validación de las dianas génicas de los miARNs expresados diferencialmente en la respuesta de defensa

Para comprender en mayor medida cómo podían estar actuando estos miARNs en la respuesta de defensa, se realizó una predicción bioinformática de las posibles dianas génicas para cada condición de estrés. Las secuencias de los 41 miRNAs diferencialmente expresados identificados se utilizaron para buscar sus dianas en el genoma de tomate con las herramientas en línea

“psRNATarget” y “sRNAtoolbox”, usando como genoma de referencia SL2_4.0 de *S. lycopersicum*. Se identificaron un total de 87 dianas para los miARNs ya descritos y 94 para los noveles, observándose que una gran proporción de ellas podrían responder de forma específica al estrés por estar reguladas por miARNs expresados de forma diferencial solo en una condición estresante (tabla 4). Más del 82% de las dianas identificadas (146) se clasificaron como reguladas negativamente por miARNs, mientras que el resto (30) podían estar reprimidas traduccionalmente. La información sobre los genes diana, incluido el ID y la anotación funcional, se muestra en la tabla S6.

Tabla 4. Número de dianas génicas predichas para los miARNs conocidos y noveles expresados diferencialmente en cada condición de estrés.

Librería	Dianas de miARNs conocidos	Dianas de miARNs noveles	Dianas totales	Dianas específicas de estrés
CPB	6	19	25	16
<i>P. syringae</i>	50	55	105	69
<i>B. cinerea</i>	4	3	7	6
Sequía	18	23	41	25
Temperatura	10	3	13	11
Hx	0	26	26	16

Se ha descrito que algunos de los genes predichos están implicados en metabolismo, crecimiento y respuesta a estrés, como los factores de transcripción de la familia *GRAS* o algunos transportadores de membrana (Bisgrove *et al.*, 1994; Wu *et al.*, 2007; Bozorov *et al.*, 2012). Además, algunas de ellas podrían estar potencialmente reguladas por varios miARNs pertenecientes a familias distintas (tabla S6). El análisis ontológico realizado en “Panther” (<http://pantherdb.org/>) con las dianas predichas, reveló que en la mayoría de condiciones de estrés bajo estudio se producía un enriquecimiento significativo en genes implicados en actividad catalítica y de unión (figura 7) (tabla S7).

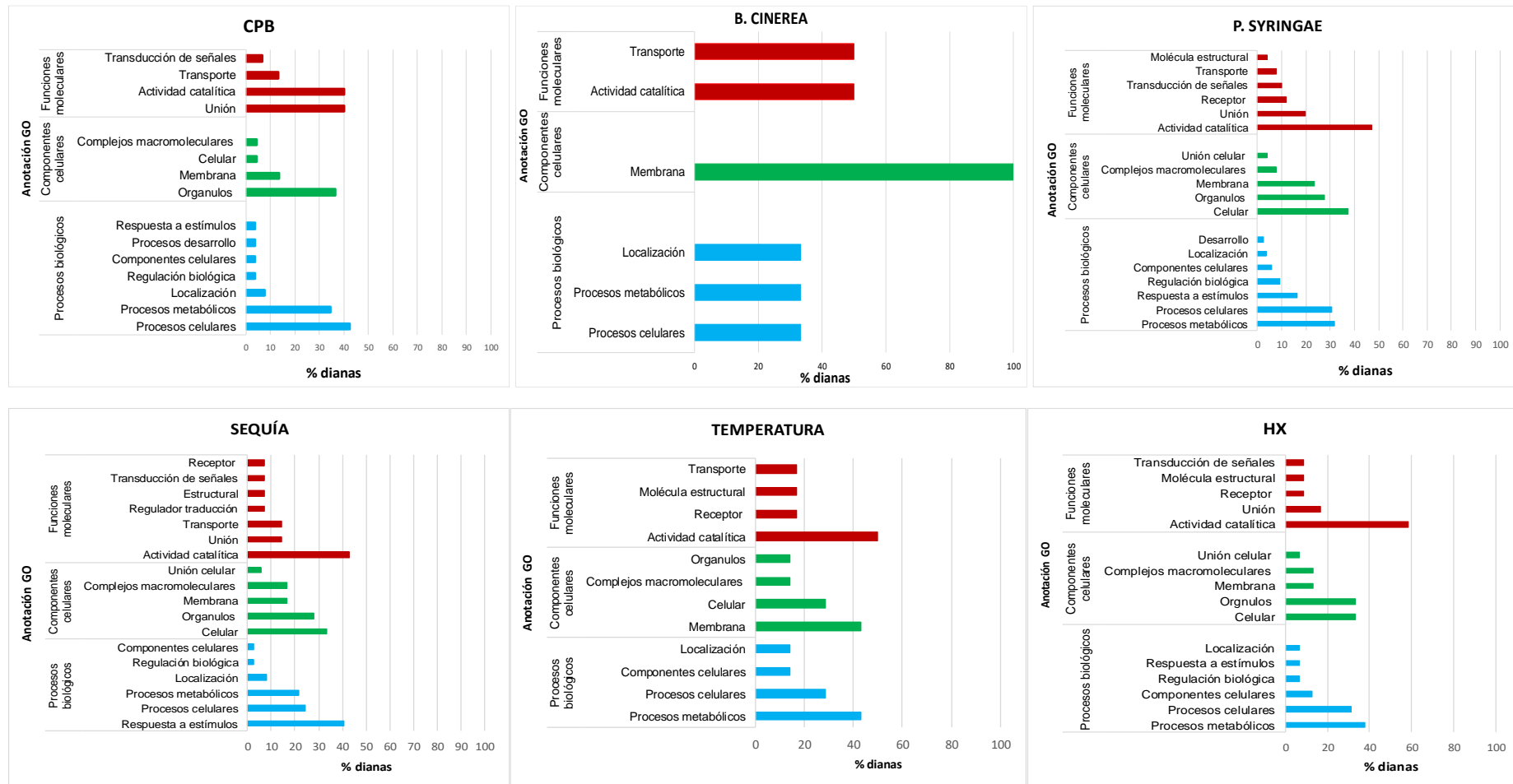


Figura 7. Análisis ontológico realizado en "Panther" (<http://pantherdb.org/>) de las dianas génicas predichas para los miARNs expresados diferencialmente en las distintas condiciones de estrés bajo estudio.

Entre las dianas predichas, se seleccionaron para su validación mediante RT-qPCR aquellas de las que existiesen trabajos previos que vincularan el gen con la respuesta a estrés y que su miARN regulador se hubiera validado previamente mediante por RT-qPCR en la presente tesis doctoral. Los miARNs seleccionados fueron *sly-miR167c-3p*, *sly-miR171a-3p*, *sly-miR172c* y *sly-newmiR22-3p*, y como dianas de interés, los genes que codifican para una proteína similar a la cadena ligera de kinesina, una proteína PPR (proteína con repeticiones pentatricopeptidicas), un factor de transcripción *GRAS* (“Gibberellic-acid insensitive (GAI), Repressor of gai (RGA) and Scarecrow (SCR)”), un transportador ABC (“ATP-binding cassette transporter”), una GDP (“Glycerophosphoryl Diester Phosphodiesterase”) y una RLP (“Receptor-like Protein Kinase”) (tabla 5). En todos los casos se observó un patrón de expresión invertido entre ambos (figura 8), acción característica de la regulación de genes por degradación mediada por miARNs (Li *et al.*, 2014a).

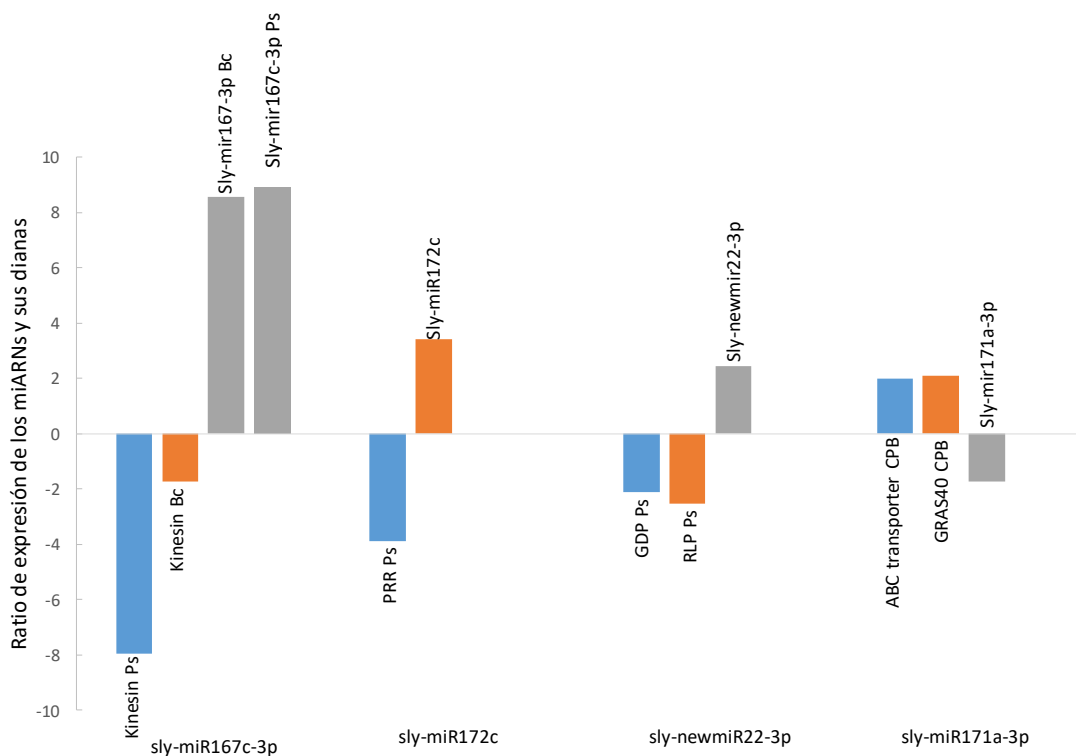


Figura 8. Niveles de expresión determinados por RT-qPCR de 4 miARNs y sus dianas génicas.

Tabla 5. Dianas predichas para 4 miARNs con los programas “psRNA target web server” y “sRNAtoolbox”.

miRNA	Diana	Expectation	inicio	Final miRNA	Inicio diana	Final diana	Secuencia miARN alineada	Secuencia diana alineada	Inhibición	Descripción diana
<i>sly-miR167c-3p</i>	Solyc02g086840.2	3.5	1	20	740	759	GGUCAUGCUCGGACAGCCUC	GGGGCUUUCUGAGCAUGAUA	Escisión	Kinesin light chain-like protein
<i>sly-miR172c</i>	Solyc01g108180.2.1	4.5	1	20	2010	2029	AGAAUCUUGAUGAUGCUGCA	CUCAGGAUCAUCAAGAGUCU	Escisión	Pentatricopeptide repeat-containing protein (PPR)
<i>sly-miR171a</i>	Solyc08g078800.1.1	0.5	1	21	396	416	UGAUUGAGCCGUGCCAAUAUC	GAUUAUUGGCGGGCUCAAUCA	Escisión	GRAS family transcription factor (GRAS40)
	Solyc08g081890.2.1	2.5	1	20	3647	3666	UGAUUGAGCCGUGCCAAUAU	AUAUUGGCAUGGCUCUAUCG	Escisión	Multidrug resistance protein ABC transporter family
<i>sly-newmiR22-3p</i>	Solyc12g014570.1.1	3.0	1	22	1419	1440	GUUUGCAUAUGUCAGGAGCUUU	GGAAUUCUUGACAUUGCAAAA	Escisión	Glycerophosphoryl diester phosphodiesterase family protein (GDP)
	Solyc01g101100.2.1	3.0	1	20	1270	1288	GUUUGCAUAUGUCAGGAGCU	GGCUCCUGA-AUAUGCAAAU	Traducción	Receptor-like protein kinase (RLP1)

*Expectation: Complementariedad entre el sARN y su transcrito diana. Los valores oscilan de 0 a 5, siendo mejores los valores bajos.

1.2.3. Implicación de los miARNs en respuesta a estrés

- miARNs de respuesta a incremento de temperatura

En respuesta al estrés por incremento de temperatura se encontraron expresados diferencialmente tres miARNs noveles y dos conservados, siendo los dos últimos *sly-miR398a-5p* y *sly-miR408b-3p*. En el estudio de secuenciación masiva llevado a cabo por Zhou *et al.* (2016), se detectó la disminución de la expresión de *sly-miR408b-3p* en respuesta a incrementos de temperatura moderados y agudos, mientras que *sly-miR398a-5p* únicamente disminuyó su expresión de forma significativa en incrementos agudos de temperatura. En *Capsicum annuum*, otra planta solanácea, los miARNs pertenecientes a las familias *miR398* y *miR408* también reducen su expresión en respuesta a temperatura (Xu *et al.*, 2015). En *Arabidopsis* han sido ampliamente estudiados *miR398* y *miR408*, junto con sus dianas las superóxido dismutasas *CSD1* y *CSD2*, y la chaperona *CCS1*, en respuesta a diversas condiciones de estrés abiótico (frío, salinidad, sequía y estrés oxidativo y osmótico), demostrando una correlación negativa entre los miARNs y sus dianas (Zu, *et al.*, 2011; Ma, *et al.*, 2015).

- miARNs de respuesta a sequía

En el estrés por déficit de agua, se identificaron y expresaron de forma diferencial cuatro miARNs noveles y uno conocido, *sly-miR6022*. En el estudio llevado a cabo por Candar-Cakir *et al.* (2016) detectaron a *miR6022* entre las familias de miARNs con mayor cantidad de lecturas en dos cultivares distintos de tomate sensibles a sequía, encontrándose sobreexpresado en respuesta a privación de agua. En el análisis de miARNs en otros cultivares de tomate sensibles a sequía (Liu *et al.*, 2017) también se identificó a *sly-miR6022*, aunque en esos cultivares no mostró una expresión diferencial estadísticamente significativa entre las muestras control y estresadas. Esto sugiere que pueden existir diferencias entre especies, incluso entre cultivares, en la respuesta a estrés mediada por miARNs. En referencia a sus posibles dianas génicas, algunos trabajos proponen a las proteínas RLP, que contienen repeticiones ricas en leucina (LRR), como mensajeros diana de esta familia de miARNs, que además de estar implicadas en respuesta a estreses abióticos (Zhou *et al.*, 2016), también lo estarían en respuesta a patógenos (Li *et al.*, 2016b).

- miARNs de respuesta a *P. syringae*

Algunos miARNs como *miR160*, *miR167* y *miR393*, se han relacionado con la resistencia frente a enfermedades mediante la coordinación de las vías de regulación mediadas por hormonas (Huang *et al.*, 2016). Estos tres miARNs se identificaron en el experimento de secuenciación

masiva, no obstante, solo *miR160* respondió a la infección producida por *B. cinerea*, regulando genes de respuesta a auxinas (*ARFs*). Además, también se identificó el miARN novel *sly-newmiR35-5p*, el cual presentaba un incremento de su expresión al producirse la infección, al igual que *sly-miR160a-3p* y *sly-miR167c-3p*, corroborando su implicación en la respuesta frente al daño producido por el hongo *B. cinerea* en hojas de tomate.

El perfil de expresión de miARNs identificado en respuesta a *P. syringae* en la presente tesis es similar a los obtenidos en plantas de *Arabidopsis* sometidas a la misma condición estresante (Zhang *et al.*, 2011). En concreto, Zhang *et al.* (2011) detectaron que *miR166*, *miR390* y *miR396* reprimían su expresión en las plantas estresadas, *miR167*, *miR169* y *miR172* la incrementaban, mientras que, *miR168* y *miR482* no fueron detectados en *Arabidopsis*.

Las auxinas son consideradas fitohormonas formadoras de patrones responsables del crecimiento de las plantas y de los principales procesos de desarrollo. Muchos de estos procesos están regulados por *ARFs* (Li *et al.*, 2016a), que, a su vez, suelen estar regulados por las familias de miARNs *miR167* y *miR390*. Mientras que *ARF6* y *ARF8* son dianas de *miR167*, la expresión de *ARF2*, *ARF3* y *ARF4* está regulada por *miR390* a través de un sARN de interferencia (“TAS3-derived ta-siRNA”) en *Arabidopsis* (Williams *et al.*, 2005; Cabrera *et al.*, 2016; Felippes *et al.*, 2017). *Sly-miR167c-3p* no solo incrementa su expresión en respuesta a la infección producida por *P. syringae* (en la presente tesis) o en *Arabidopsis* (Fahlgren *et al.*, 2007), sino que también responde a la infección producida por el hongo *Fusarium oxysporum* en hojas de tomate (Ouyang *et al.*, 2014). En el caso de *miR390*, no tiene como diana directa un mRNA sino que desencadena la producción de tasiARNs del locus TAS3 que actúan degradando los mRNA *ARF3* y *ARF4* de forma similar a como lo haría un miARN (Montgomery *et al.*, 2008b; Rubio-Somoza *et al.*, 2011).

miR167 y *miR390* también han sido descritos como miARNs de respuesta a ABA (Tian *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2016), una fitohormona involucrada en defensa en etapas de infección temprana producida por bacterias (Melotto *et al.*, 2006). En nuestro trabajo, las hojas de tomate que fueron infectadas por *P. syringae*, mostraron un incremento en los niveles de expresión de *miR167*, *miR390*, así como *miR169*, también relacionado con ABA (Li *et al.*, 2008; Ni *et al.*, 2013).

De esta forma, las familias de miARN involucradas en la señalización mediada por auxinas y ABA, podrían configurar una red reguladora para la adaptación molecular de las plantas de tomate en respuesta a la infección por *P. syringae*.

La expresión de *sly-miR482d-5p* también se incrementó en plantas de tomate infectadas por *P. syringae*. La familia *miR482* es muy diversa (al menos tiene 31 isoformas) y su abundancia varía mucho entre especies y familias de plantas, presentando el género *Solanum* un gran número de miARNs pertenecientes a esta familia. En *Arabidopsis* y *Nicotiana benthamiana*, todas las variantes de *miR482* presentan como dianas genes que codifican proteínas de resistencia a enfermedades (“Resistance-like genes”) con sitios de unión a nucleótidos (NBS) y repeticiones ricas en leucina (LRR) (Cuperus *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2012). Por el contrario, en patata, *stu-miR482d-5p* tiene como diana un gen que codifica PPO (Chi *et al.*, 2015). En la

presente tesis doctoral las dianas predichas para *sly-miR482d-5p* no presentaban funciones relacionadas con defensa.

En las plantas de tomate infectadas con *P. syringae*, la expresión de *sly-miR168* se redujo. Se ha descrito que *miR168*, mediante la regulación de AGO1, ejerce una función reguladora en la biogénesis de otros miARNs (Gazzani *et al.*, 2009). Por lo tanto, *miR168* actuaría como regulador inicial modulando los niveles de otros miARNs, coordinando a su vez la respuesta frente a estrés y los programas de desarrollo.

Los factores de transcripción regulados por miARNs son nodos importantes que coordinan el crecimiento de las plantas y los procesos relacionados con la diferenciación, la respuesta a estrés y la diafonía de las vías de señalización. Es conocido que *miR396* tiene como dianas factores de regulación del crecimiento (*GRFs*), implicados en la regulación del crecimiento de las hojas, que *miR172* se une al extremo 3' del factor de transcripción *AP2*, involucrado en la floración, y que *miR166* regula factores de transcripción "*Homeodomain Leucine Zipper*" (*HD-ZIP*) que regulan el desarrollo de los meristemas apicales de los brotes (Li *et al.*, 2016c). Además, los miembros de la familia de factores de transcripción *NF-Y*, que desempeñan un papel crucial en desarrollo y en respuesta a condiciones ambientales adversas, son también dianas de *miR169* (Ni *et al.*, 2013).

Las plantas de tomate sometidas al estrés generado por *P. syringae* mostraron perfiles alterados de todos los miARN mencionados previamente, lo que indicaría que la adaptación fisiológica al ataque de patógenos requiere una expresión integrada de genes responsables de la defensa y del crecimiento.

- miARNs de respuesta a CPB

Muy pocos estudios han abordado la identificación de miARNs mediante técnicas de secuenciación masiva en plantas atacadas por insectos masticadores. En las plantas de tomate dañadas por larvas de CPB, se han detectado y expresado de forma diferencial 2 miARNs conservados (*sly-miR171a* y *sly-miR9471a-3p*) y 4 noveles (*sly-newmiR6-3p*, *sly-newmiR33-3p*, *sly-newmiR36-3p* y *sly-newmiR38-3p*).

En la bibliografía se ha descrito que, en hojas de *Nicotiana attenuata*, *miR171* incrementó sus niveles en respuesta al daño por la mordida y a las secreciones orales de *M. sexta*, mientras que, las proteínas GRAS disminuyeron sus niveles (Bozorov *et al.*, 2012). Este miARN, además, se considera independiente de JA (Bozorov *et al.*, 2012). Por el contrario, el perfil de miARNs identificados por Gao *et al.* (2014) en respuesta a herida en *Aquilaria sinensis*, mostró una reducción de la expresión de *miR171* en los tallos dañados respecto a los que no lo fueron. De forma similar, en nuestro estudio, *sly-miR171a* estaba reprimido en las plantas de tomate infestadas por CPB.

Con respecto a *sly-miR9471a-3p*, este se encuentra entre las familias de miARN más abundantes detectadas en plantas de tomate infectadas con *Alternaria alternata*, aunque no se ha descrito

una expresión diferencial en las plantas dañadas en comparación con las del grupo control (Sarkar *et al.*, 2017).

- miARNs de respuesta a Hx

Como resultado de la exposición al estrés, las plantas a menudo se vuelven más resistentes a su exposición futura a través de un proceso de adquisición de memoria llamado “priming”, que también puede ser mediado por compuestos naturales como Hx (Aranega-Bou *et al.*, 2014). El efecto de “priming” permite a las plantas responder a los factores bióticos y abióticos de una forma más rápida evitando los costes que podría tener la activación de forma permanente de la defensa completa (Conrath *et al.*, 2015). En la secuenciación masiva llevada a cabo en esta tesis, no se detectaron miARNs conservados expresados diferencialmente después del tratamiento con Hx, pero sí se identificaron doce miARN noveles sensibles a Hx.

Se dispone de muy limitada información sobre los mecanismos moleculares que subyacen al proceso de “priming”, pero los niveles sostenidos de moléculas de señalización después del estrés inicial que impulsan la extensa reprogramación transcripcional de los genes de defensa ante un desafío posterior, como la acetilación de histonas y la metilación epigenética del ADN, se han propuesto como reguladores críticos del “priming” de defensa (Crisp *et al.*, 2016; Espinas *et al.*, 2016; Lämke *et al.*, 2017). Recientemente, ha sido descrito el papel de los miARNs en la memoria de estrés basado en sus funciones como inhibidores de la traducción. Se ha observado que la inducción de algunas isoformas de *miR156* en respuesta al estrés por calor, junto con la represión de sus genes diana, era necesaria para mantener la expresión de los genes memoria y para la memoria fisiológica del estrés por calor (Stief *et al.*, 2014). Por otro lado, Soto-Suárez *et al.* (2017) proporcionaron evidencias acerca de que los miARNs podían ejercer un efecto de “priming” en la respuesta de defensa, al demostrar que los niveles reducidos de *miR396* junto con los niveles aumentados de sus genes diana, sensibilizaban a las plantas para generar respuestas de defensa más robustas durante la infección por patógenos, incluso en ausencia de estos. Además, las plantas modificadas para una actividad *miR396* disminuida no presentaban diferencias a nivel transcriptómico ni de desarrollo respecto a las plantas control.

- miARNs expresados diferencialmente en varios estreses

En las plantas de tomate infectadas con *P. syringae* se han detectado ocho miARNs conservados expresados de forma diferencial, uno de los cuales también está implicado en la respuesta frente a la infección por el hongo *B. cinera*, *sly-miR167c-3p*. Se han detectado además siete miARNs noveles, dos de los cuales también responden a otras condiciones de estrés. *Sly-newmiR8-3p*, además de responder a la infección producida por la bacteria *P. syringae*, también responde a sequía disminuyendo su expresión, mientras que *sly-newmiR33-3p* responde a la infección

bacteriana, al daño generado por CPB y al tratamiento con Hx (figura 11). Entre los ocho miARN conocidos que responden a *P. syringae* identificados, cinco miARNs (*sly-miR166c-5p*, *sly-miR168a-5p*, *sly-miR172c*, *sly-miR390a-5p* y *sly-miR396-3p*) pertenecen a familias altamente conservadas en plantas, dos están moderadamente conservados (*sly-miR167c-3p* y *sly-miR169e-3p*), y *sly-miR482d-5p* es un miARN no conservado en plantas. Las familias de miARNs alta y moderadamente conservadas presentan niveles elevados de expresión y desempeñan funciones relevantes en el desarrollo, regulando la expresión de múltiples dianas génicas en numerosas especies vegetales (Zhang *et al.*, 2006). El análisis realizado en esta tesis, reveló que varias familias de miARNs tienen como dianas genes implicados en vías esenciales que regulan principalmente la señalización mediada por auxinas (*miR167* y *miR390*), procesos de desarrollo y reprogramación (*miR166*, *miR169*, *miR172* y *miR396*) y la defensa frente a estrés (*miR167*, *miR169* y *miR390*), en especial la respuesta mediada por ABA.

El inductor de defensas Hx protege de forma muy eficiente al tomate de las infecciones producidas por *B. cinerea* y *P. syringae* (Vicedo *et al.*, 2009). En plantas de tomate tratadas con Hx, aunque no se detectaron miARNs conservados expresados diferencialmente, dos de los doce miARNs noveles detectados (*sly-newmiR26-3p* y *sly-newmiR33-3p*) estaban implicados en la respuesta frente a otros estreses (CPB y *P. syringae*, y sequía, respectivamente) (figura 5). Estos resultados sugieren que el tratamiento con Hx podría ejercer su efecto de “priming” al desencadenar la expresión persistente de una red compleja de miARNs (no todos ellos necesariamente involucrados en cascadas de señalización de estrés conocidas) que, tras la exposición a estrés, regularían de una forma más eficiente respuestas posteriores. Se necesitaría llevar a cabo más estudios para descubrir el papel de cada miARN novel sensible a Hx y de sus genes diana, y descifrar cómo contribuyen al efecto de “priming” en defensa.

1.2.4. miARNs y sus dianas génicas en respuesta a estrés

El análisis de la predicción de dianas génicas utilizando las secuencias de los 41 miARNs expresados diferencialmente, dio como resultado un total de 181 genes diana (87 para los miARNs conservados y 94 para los miARNs noveles). La mayoría de estas dianas (82%) estarían reguladas negativamente por escisión, por lo que se esperaría un patrón de expresión opuesto entre el miARN y su diana. Se seleccionaron 5 de ellas para su validación por RT-qPCR, incluyendo las relacionadas con los estreses ocasionados por la infección de *P. syringae* y la infestación por larvas de CPB, dos condiciones en las que hay menos información disponible en la bibliografía acerca de los miARNs implicados en su defensa. Para la validación de dianas, se seleccionaron aquellas cuyos miARNs se habían validado en este trabajo por secuenciación masiva y RT-qPCR (tabla 5). Para *sly-miR171a*, expresado diferencialmente en el estrés generado por CPB, se seleccionaron un factor de transcripción de la familia *GRAS* y un gen que codifica para un transportador ABC. Para *sly-miR172c*, se escogió un gen que codifica para una proteína con repeticiones pentatricopeptídicas (*PPR*). Para el miARN novel *sly-newmiR22-3p*, implicado en

respuesta a *P. syringae*, fueron escogidas las dianas *GDPDL3* y *RLP1*, y para *sly-miR167c-3p*, implicado en la respuesta frente a la infección por *B. cinerea* y *P. syringae*, una proteína similar a la cadena ligera de kinesina.

La expresión de *sly-miR171a*, analizada por RT-qPCR, mostró una reducción en plantas de tomate (0.61 veces) (tabla S5) tras el daño generado por larvas de CPB. Entre las 5 dianas predichas, tres de ellas eran factores de transcripción de la familia *GRAS*: *GRAS8*, *GRAS24* y *GRAS40*. En tomate, Huang *et al.* (2015) demostraron la regulación de *GRAS24* y *GRAS40* por *sly-miR171a* mediante el análisis 5'-RACE, y en *Arabidopsis* se había demostrado previamente que los homólogos *AtSCL6*, *AtSCL22* y *AtSCL27* eran post-transcripcionalmente regulados por *ath-miR171* (Llave *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2010). Huang *et al.* (2017) establecieron la implicación de *GRAS24* en la regulación de la homeostasis de giberelinas y auxinas, y Mayrose *et al.* (2006) mostraron que los niveles de transcripción de ocho genes *GRAS* de tomate se incrementaban tras someter a las plantas a estrés mecánico. Asimismo, se ha descrito la inducción de homólogos *GRAS* en *N. attenuata* y *Solanum nigra* tras el ataque del insecto *M. sexta* (Schmidt *et al.*, 2005). En la presente tesis se analizó la expresión por RT-qPCR de tres genes de la familia *GRAS* predichos como dianas de *sly-miR171a*. La expresión de los genes *GRAS8* y *GRAS24* no se vio afectada después del ataque de larvas de CPB (figura 9) pero la expresión de *GRAS40* aumentó el doble (figura 8), lo que podría explicar su participación en la respuesta frente al ataque de insectos herbívoros en tomate.

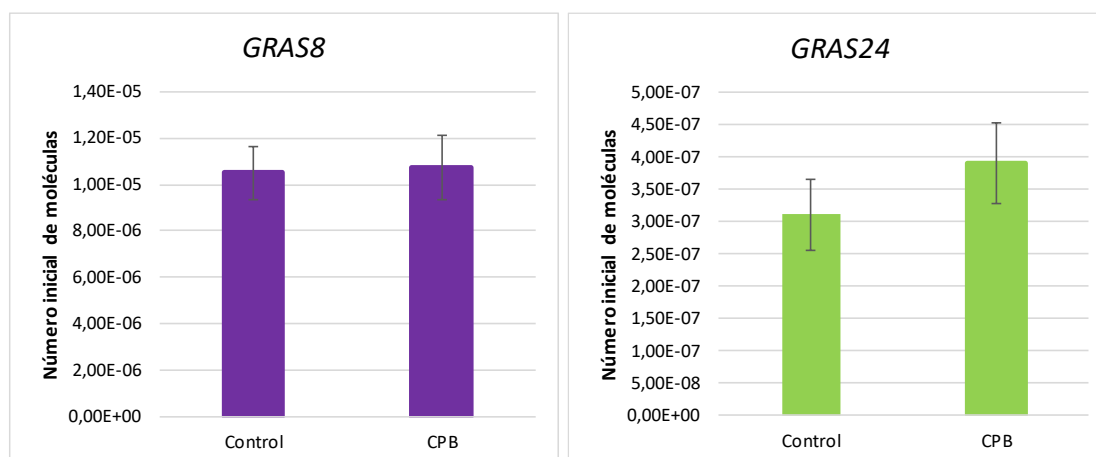


Figura 9. Niveles de expresión determinados por RT-qPCR de los genes *GRAS8* y *GRAS24* en plantas de tomate dañadas por CPB.

La otra diana predicha de *sly-miR171a* fue un gen que codifica para un transportador ABC. Estos transportadores utilizan la energía liberada por la hidrólisis de ATP para realizar el intercambio de compuestos a través de las membranas biológicas, incluso contra gradientes electroquímicos (Wilkins, 2015). Las secreciones orales de los insectos herbívoros masticadores contienen compuestos que las plantas pueden reconocer y desencadenar una respuesta de defensa en la que las plantas acumulan metabolitos secundarios y proteínas inhibitoras para detener la invasión de patógenos y el ataque de insectos (Bisgrove *et al.*, 1994; Wu *et al.*, 2007). Hay

evidencias que indican que los transportadores ABC median la secreción de compuestos de defensa de la planta a su superficie, al apoplasto o a la rizosfera (Kretschmar *et al.*, 2011). En *N. tabacum*, Bienert *et al.* (2012) mostró que la expresión del transportador *ABCG5/PDR5* en hojas era muy baja, pero fue inducida tras la herida producida por el herbívoro *M. sexta*. En la presente tesis, el transportador ABC de tomate aumentó su expresión (1.98 veces) (figura 8) en hojas tras el ataque producido por CPB, lo que relacionaría a este transportador con *sly-miR171a* en la respuesta frente al ataque por insectos herbívoros en tomate.

La expresión de *sly-miR172c* se incrementó en las plantas de tomate después de la infección con *P. syringae* (3.84 veces) (tabla S5). Una proteína PPR, que pertenece al grupo de proteínas con repeticiones en tándem, es una de las dianas predichas para este miARN. En *Arabidopsis*, las proteínas PPR son una de las familias de proteínas más grandes, con al menos 466 genes en su genoma (Small y Peeters, 2000; Lurin *et al.*, 2004). En plantas, muchas proteínas con repeticiones, como PPR, LRR o WD40, participan en el metabolismo primario y secundario, incluida la respuesta a estreses bióticos y abióticos (Schaper y Anisimova, 2015; Sharma y Pandey, 2016). En *S. tuberosum*, la expresión del gen que codifica para PPR disminuía tras la infección con la bacteria *R. solanacearum* (Park *et al.*, 2016), y en *Arabidopsis*, la ausencia de esta proteína conllevó un aumento en la sensibilidad a un patógeno fúngico necrotrófico e hipersensibilidad a estreses abióticos, como la salinidad, glucosa y ABA (Laluk *et al.*, 2011). En el análisis de expresión por RT-qPCR llevado a cabo en la presente tesis, se observa la reducción de la expresión del gen que codifica para PPR en plantas de tomate tras la infección con *P. syringae* (3.42 veces) (figura 8).

En el caso de *sly-newmiR22-3p*, su expresión aumentó 2.46 veces tras producirse la infección por *P. syringae* (tabla S5). Dos de las dianas predichas para este miARN fueron un receptor similar a una proteína Kinasa (RLP1), con un motivo LRR, y una Glicerofosforil diéster fosfodiesterasa (GDPDL3). Los RLPs forman una de las familias de proteínas vegetales más grandes y están implicados en vías de respuesta hormonal y a estrés, y en procesos de desarrollo (Sharma y Pandey, 2016). Algunos de los miembros de esta familia y algunas proteínas GDPDL participan en la formación de la pared celular vegetal, que actúa como barrera protectora frente a los estreses bióticos y abióticos (Hayashi *et al.*, 2008; Draeger *et al.*, 2015). En los experimentos que hemos llevado a cabo se detectó una reducción de la expresión de los genes *RLP1* y *GDPDL3* (-2,11 y -2,52 veces, respectivamente) (figura 8), lo que explicaría la implicación de este miRNA novel de tomate y de sus dianas en la respuesta a la infección por *P. syringae*.

La expresión de *sly-miR167c-3p* se incrementó tras la infección de plantas de tomate por *B. cinerea* y *P. syringae* (8.91 y 8.57 veces, respectivamente) (tabla S5) y solo se predice una diana para este miARN, una proteína similar a una cadena ligera de kinesina. La kinesina es una proteína motora que se mueve a lo largo de los microtúbulos del citoesqueleto. Se ha propuesto que el citoesqueleto de actina en las plantas está asociado con la forma de la célula vegetal, el desarrollo de la planta y la respuesta a estrés (Day *et al.*, 2011). Respecto a esto último, se ha observado que en situaciones de estrés biótico y abiótico pueden verse afectadas la actividad y

reorganización del citoesqueleto de actina (Day *et al.*, 2011; Rodríguez-Milla y Salinas, 2009). En *Arabidopsis*, Shimono *et al.* (2016) mostraron que las plantas con una kinesina mutante tenían menos síntomas tras la infección por *P. syringae*, por lo que especularon con la posibilidad de que la kinesina tuviera una función integradora, apoyando el tráfico celular durante la invasión del patógeno y la señalización inmune. En nuestro trabajo, el gen *Kinesina* mostró una reducción de sus niveles tras la infección por *P. syringae* (-7.96 veces) y por *B. cinerea* (-1.74 veces) (figura 8).

Todos estos resultados ponen de manifiesto la gran integración y adaptación molecular y fisiológica que ocurre en la planta de tomate para hacer frente a situaciones de estrés.

1.2.5. Nuevas aproximaciones para la validación funcional de miARNs

Dado que los miARNs tienen una función relevante como elementos reguladores de la expresión génica, resulta esencial poder validarlos funcionalmente para determinar en mayor medida su participación en la respuesta a estrés. El avance de las nuevas tecnologías ha permitido el desarrollo de nuevas aproximaciones para llevar a cabo estudios de validación funcional de genes, destacando entre ellas las técnicas de edición del genoma, siendo el sistema CRISPR/Cas9 uno de los más empleados (Bortesi y Fischer, 2015). Las siglas CRISPR/Cas9 provienen de “Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats”, en español “Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas y Regularmente Interespaciadas” asociadas a la endonucleasa Cas9. Este sistema originariamente constituye un mecanismo de defensa adaptativo de bacterias y arqueas para protegerse de infecciones víricas (Lander, 2016; Mojica y Rodríguez-Valera, 2016). Actualmente esta técnica se está aplicando para la edición genómica de forma dirigida de células eucariotas (Rath *et al.*, 2015). Su funcionamiento se basa en la generación de un ARN guía (sgARN), el diseño del cual está basado en un fragmento de la secuencia del gen que se desea mutar para que, al transformar las células receptoras con esta construcción, la proteína Cas9 dirija el corte a esa región específica del genoma. Cas9 no actúa al azar sino que, para realizar el corte, además de reconocer la secuencia complementaria al sgARN, debe reconocer un PAM, motivo adyacente de protoespaciador (Song *et al.*, 2016). La proteína Cas9 más empleada es la de *Streptococcus pyogenes*, la cual necesita reconocer el PAM 5'-NGG-3' para realizar su acción (Liu *et al.*, 2017a). Una vez se ha realizado el corte, la maquinaria de la célula actúa para reparar el daño ocasionado. La reparación se puede producir por recombinación no homologa (NHEJ) o por reparación dirigida por homología (HDR), ocasionando pequeñas inserciones, deleciones o la integración de un fragmento de ADN tomando como molde el ADN que se ha introducido en el vector. En ambos casos, se produce la pérdida o modificación de la función previamente realizada por el gen diana (Bortesi y Fischer, 2015; Schaeffer y Nakata, 2015).

Aunque esta es una técnica muy potente para la validación funcional de genes, su aplicación en el análisis de pérdida de función de los miRNAs no ha sido muy explorada, debido al pequeño tamaño de los genes *MIR*. Teniendo en cuenta las posibilidades que ofrece la técnica CRISPR/Cas9, se realizó una estancia predoctoral en el 'Centre for Research in Agricultural Genomics' (CRAG), en Barcelona en el laboratorio investigación "Plant immune responses to pathogen infection", dirigido por la Dra. Blanca San Segundo de los Mozos. En los últimos años, este grupo de investigación ha conseguido poner a punto la metodología CRISPR/Cas9 aplicada a la edición de genes *MIR* para el silenciamiento de miARNs en plantas de arroz. Para iniciar la puesta a punto de este tipo de ensayos para la edición de genes *MIR* en plantas de tomate, se escogieron dos miARNs candidatos: *sly-miR6022*, único miARN no novel expresado de forma diferencial en el estrés por sequía en la secuenciación masiva; y *sly-miR171a*, perteneciente a una familia de miARNs conservada implicada en respuesta a estrés (Bej y Basak, 2014) e identificado en la secuenciación masiva en el grupo de plantas dañadas por CPB.

A nivel experimental, para aumentar la probabilidad de obtener mutaciones en el gen *MIR* bajo estudio, se decidió utilizar la estrategia de generar un vector con dos sgARNs para dirigir el corte de la Cas9 y evitar "off targets" (cortes en otras regiones del genoma similares a la diana), tal y como se propone en Lowder *et al.* (2015). Las sgARNs fueron diseñadas utilizando el programa "Breking-Cas" (<http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/breakingcas/>), obteniéndose múltiples alternativas (tabla 6).

Tabla 6. Secuencia y características de las sgARNs generadas para los miARNs *sly-miR171a* y *sly-miR6022* mediante el programa informático "Breking-Cas" (<http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/breakingcas/>).

miARN	Inicio	Final	Cadena	Secuencia	OffTargets	Genes	Puntuación
<i>sly-miR171a</i>	98	117	-	GAGAACTGAGATATTGGCA	28	19	96.5
<i>sly-miR171a</i>	6	25	+	CAGTAACTTTGATATTGGCC	20	14	93.8
<i>sly-miR171a</i>	27	46	-	TTTTGTTGTCTGAGTGAACC	30	21	91.8
<i>sly-miR171a</i>	103	122	-	TGAAAGAGAACTGAGATAT	89	32	88.5
<i>sly-miR171a</i>	1	20	+	TGAAACAGTAACTTTGATAT	56	15	83.7
<i>sly-miR171a</i>	44	63	+	AAATGTAACTATATTTGAA	235	72	61.6
<i>sly-miR6022</i>	157	176	+	TGGGTAGAGGACTCTGTAGT	2	3	99.9
<i>sly-miR6022</i>	106	125	-	CAAGTCGCGTTAGGTTCCATA	3	1	99.6
<i>sly-miR6022</i>	153	172	-	CAGAGTCCTCTACCCATGAT	7	1	98.7
<i>sly-miR6022</i>	152	171	-	AGAGTCCTCTACCCATGATT	13	2	98.3
<i>sly-miR6022</i>	181	200	+	CTAAATAACTTAGTGATGGA	43	17	90.2
<i>sly-miR6022</i>	215	234	-	TGAACGGAACAATACCATCC	30	31	76

De todas las posibles guías, se decidió escoger las dos mejores priorizando aquellas que cortaban dentro de la región del miARN maduro o en la región opuesta de la horquilla, y que tuvieran un número bajo de "offtargets" (tabla 7). Las guías seleccionadas para *sly-miR6022* presentaban como característica que ambas cortaban la secuencia del miRNA maduro, mientras que las guías

diseñadas para *sly-miR171a*, una de ellas cortaba en esta región y la otra corta en el lado opuesto del precursor.

Tabla 7. Características de las sgARNs diseñadas para *sly-miR171a* y *sly-miR6022* proporcionadas por el programa informático “Breking-Cas” (<http://bioinfoq.cnb.csic.es/tools/breakingcas/>).

miARN	sgARN	Secuencia	Inicio	Final	Cadena	Puntuación
<i>sly-miR171a</i>	Guía1	GAGAACTGAGATATTGGCA(CGG)	98	117	-	96.5
	Guía2	CAGTAACTTTGATATTGGCC(TGG)	6	25	+	93.8
<i>sly-miR6022</i>	Guía1	CTAAATACTTAGTGATGGA(AGG)	181	200	+	90.2
	Guía2	GGATGGTATTGTTCCGTTCA(GGG)	215	234	+	96.3

Hay dos tipos de vectores para el desarrollo de la tecnología CRISPR/Cas9, los de entrada y los de destino, con variaciones en los elementos génicos que contienen cada uno de ellos, ya que depende del organismo a transfectar y del objetivo del experimento. Generalmente presentan estas características: ambos tipos de vectores contienen genes que confieren resistencia a antibióticos para poder facilitar la selección de las bacterias transformadas con el vector, dianas para enzimas de restricción, la sgARN es introducida inicialmente en el vector de entrada, y finalmente, se incorpora en el vector de destino, que además contiene el gen codificante para la Cas9 y un gen de resistencia a antibióticos que permitirá la posterior selección de las plantas transformadas.

El vector de entrada usado en las construcciones CRISPR/Cas9 para los miARNs *sly-miR171a* y *sly-miR6022* fue “pEn-C1.1”, el cual presenta como característica un gen que proporciona resistencia a espectinomicina y dianas de restricción para la enzima *BbsI*, aprovechadas para introducir las guías mediante digestión. La adecuada introducción de las guías 1 y 2 en el vector se comprobó por PCR, obteniéndose en todas ellas el amplificado esperado de 370 pb (figura 10).

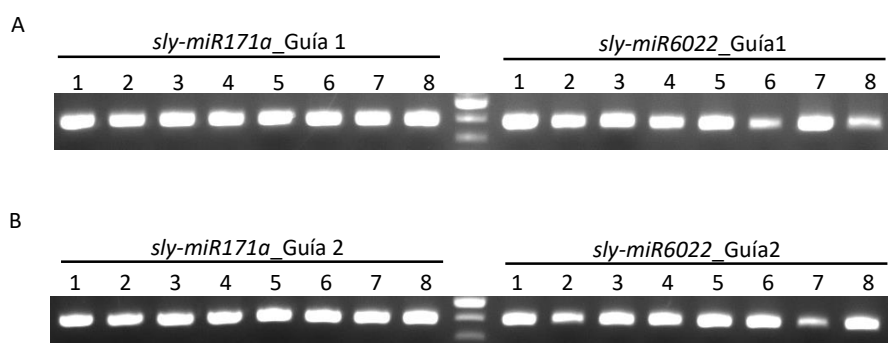


Figura 10. Comprobación por PCR de la presencia de las guías de ARN en el vector “pEn-C1.1” para los miARNs *sly-miR171a* y *sly-miR6022*. A) sgARN guía 1. B) sgARN guía 2.

Respecto al vector de destino utilizado, “pDe-Cas9-Kan”, contiene la secuencia para la expresión de la Cas9 procedente de *S. pyogenes*, dianas para las enzimas *Mlu* y *Bsu36I*, que permiten la introducción de una de las guías (guía 1) por digestión, y por otro lado, regiones “attR” y que permiten la entrada de otra guía (guía 2) por recombinación (LR) (figura 11). Para introducir la primera guía, por una parte, se debe digerir el vector “pDe-Cas9-Kan” con ambas enzimas para linealizarlo y generar extremos cohesivos, y por otra, el vector “pEn-C1.1”. Este vector primeramente se digirió con la enzima *Mlu* y el fragmento de 535 pb que contenía la guía se seleccionó mediante electroforesis (figura 12), se purificó y se digirió con la enzima *Bsu36I* para, posteriormente, poder ligarlo al vector “pDe-Cas9-Kan” de forma direccional. Cabe señalar que el vector “pDe-Cas9-Kan” presenta un gen que confiere resistencia al antibiótico kanamicina, que permite la selección mediante cultivo “in vitro” de las plantas transformadas.

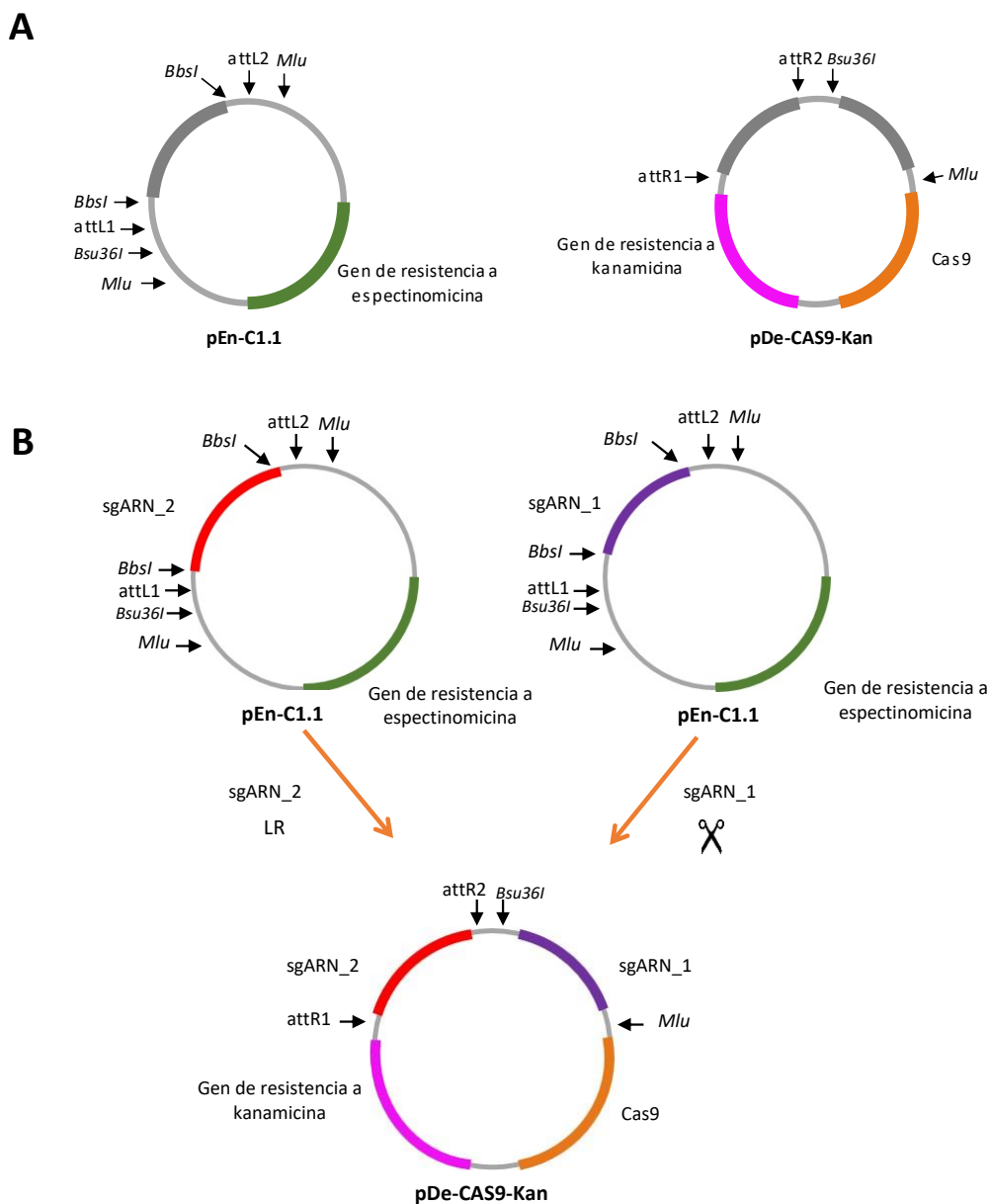


Figura 11. Representación simplificada de los vectores CRISPR/Cas9 generados para transformar plantas de tomate. A) Vectores “pEn-C1.1” y “pDe-CAS9-Kan” con la región a introducir la sgARN marcada en gris. B) Vectores “pEn-C1.1” y “pDe-CAS9-Kan” finales con las sgARN.

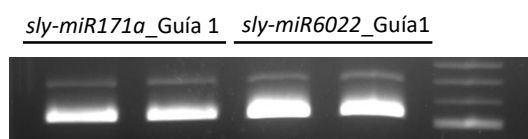


Figura 12. Análisis mediante electroforesis del producto obtenido por digestión con la enzima *Mlu* de los vectores “pEn-C1.1” con la guía 1 para el silenciamiento de los miARNs *sly-miR171a* y *sly-miR6022*.

Una vez generados los vectores CRISPR/Cas9 finales, se siguió el protocolo propuesto en Wittmann *et al.* (2015) para transformar con *A. tumefaciens* un total de 50 cotiledones por construcción e iniciar el cultivo “in vitro” para la selección y regeneración de las plántas transformadas. Tras el desarrollo de raíces, se procedió a su adaptación a las condiciones de invernadero, continuando el estudio con 7 plantas transformadas con la construcción generada para silenciar *sly-miR6022*, y 8 plantas transformadas con la construcción generada para silenciar *sly-miR171a*. Tras dos meses, se realizó una extracción de ADN genómico y se diseñaron oligonucleótidos específicos de la región flanqueante del gen *MIR* para llevar a cabo el genotipado de estas plantas por PCR. Los amplificadores analizados mediante electroforesis mostraron un tamaño de 379 pb en las plantas transformadas con la construcción para el miARN *sly-miR171a*, y de 368 pb en las transformadas con la construcción del otro miARN (figura 13). El tamaño de los fragmentos amplificados correspondía al esperado en plantas sin editar genéticamente. No obstante, el sistema CRISPR/Cas9 puede generar mutaciones puntuales que no serían detectables mediante electroforesis, por lo que estos amplificadores se secuenciaron en busca de pequeñas inserciones o deleciones. Las secuencias obtenidas mostraron que ninguna de las plantas transformadas presentaba inicialmente mutaciones en el gen *MIR* bajo estudio.

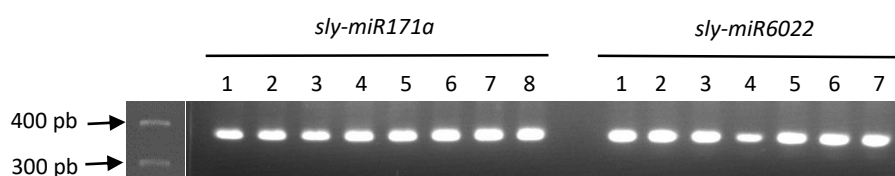


Figura 13. Genotipado por PCR de las plantas transformadas con las construcciones CRISPR/Cas9 generadas y análisis de los fragmentos amplificados mediante electroforesis.

La ausencia de plantas transformantes podría deberse a distintas causas, tales como una tasa de mutación baja, un número reducido de plantas adaptadas a condiciones de invernadero y analizadas, o alguna alteración relacionada con la acción de la Cas9. En relación a esta última posibilidad, se analizó la expresión por RT-PCR del gen *Cas9* de 7 plantas transformadas con cada construcción, observándose en todos los casos que no había expresión al no detectarse el producto de 112 pb correspondiente a su amplificado (figura 14).

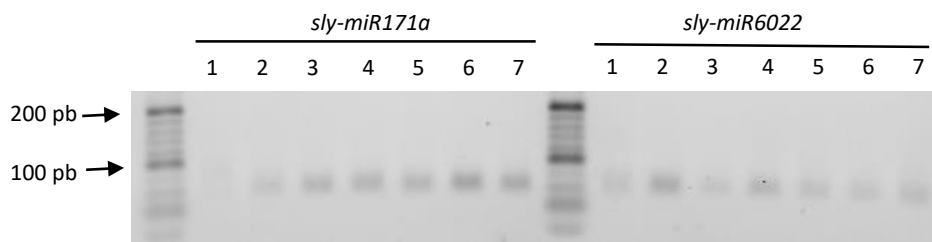


Figura 14. Análisis por RT-PCR de la expresión del gen *Cas9* en las plantas de tomate transformadas.

Por tanto, estos resultados explicarían que, aunque las plantas de tomate fueron transformadas al adquirir la resistencia a kanamicina, la proteína *Cas9* no estaría expresándose y, por consiguiente, no fue posible la edición génica dirigida.

La tecnología CRISPR/*Cas9* es una metodología muy útil para la validación funcional de genes y podría suponer una gran revolución para la validación funcional de miARNs. La puesta a punto de esta tecnología para la validación funcional de los miARNs de tomate *sly-miR171a* y *sly-miR6022* no pudo lograrse, por lo que se valorarán, en estudios posteriores, otras alternativas para poder llevar a cabo esta validación.

Capítulo 2: Especificidad de la respuesta al estrés por sequía ejercida por miARNs en plantas de tomate

Capítulo 2: Especificidad de la respuesta al estrés por sequía ejercida por miARNs en plantas de tomate

Para la realización de algunos de los experimentos contenidos en este capítulo, se ha colaborado con el grupo de investigación “Bioquímica y Biotecnología” de la Universidad Jaime I de Castellón, y los resultados han sido publicados en:

- López-Galiano, M. J., García-Robles, I., González-Hernández, A. I., Camañes, G., Vicedo, B., Real, M. D., y Rausell, C. (2019). Expression of *miR159* is altered in tomato plants undergoing drought stress. *Plants*, 8(7), 201–212. <https://doi.org/10.3390/plants8070201>

2.1. Introducción

Debido a su naturaleza sécil, las plantas están continuamente expuestas a una multitud de estreses bióticos y abióticos. Para hacer frente a estas situaciones se produce una reprogramación muy sofisticada a nivel de expresión génica, regulada en muchas ocasiones por miARNs (Zhang *et al.*, 2006; Khraiwesh *et al.*, 2012; Kamthan *et al.*, 2015). Debido a que las plantas en su ambiente natural no están sometidas a una única condición desfavorable, sino que la situación habitual se corresponde con una combinación de factores, es frecuente observar la implicación de un mismo miARN en la respuesta frente a varias de estas situaciones (Zhu *et al.*, 2011; Khraiwesh *et al.*, 2012; Sunkar *et al.*, 2012; Millar *et al.*, 2019). Conocer en mayor medida cómo se produce esta coordinación es una cuestión de gran interés, puesto que puede proporcionar información nueva que permita mejorar la tolerancia de los cultivos a enfermedades y estreses ambientales.

En el contexto actual de cambio climático, la escasez de agua es una gran amenaza para la agricultura, limitando severamente el rendimiento de los cultivos. Por lo tanto, adquirir conocimientos sobre cómo las plantas regulan su adaptación a este estrés es fundamental para encontrar formas de mejorar su rendimiento en entornos eventualmente más secos. Para hacer frente a la sequía, las plantas activan una compleja cascada de eventos a nivel celular que incluye una extensa reprogramación metabólica y transcripcional de genes para proteger a las células del estrés osmótico y limitar la pérdida de agua. La respuesta de las plantas al déficit de agua involucra genes relacionados con diversas categorías funcionales, como genes que codifican proteínas que participan en la protección directa de otras proteínas y membranas (osmoprotectores, captadores de radicales libres, etc.), genes que codifican transportadores de membrana y canales iónicos que promueven la captación de agua, y genes que codifican

proteínas relacionadas con el estrés, como kinasas y factores de transcripción (Wang *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2004; Kretzschmar *et al.*, 2011; Shankar *et al.*, 2013; Bakshi y Oelmüller, 2014; Slama *et al.*, 2015; Sharma y Pandey, 2016). Entre estos últimos, encontramos homólogos del oncogén viral de mieloblastosis V-myb (*MYB*), factores de transcripción con estructuras “basic-helix-loop-helix” (bHLH) y “basic región/leucine zipper” (bZIP), y otras familias como *NAM*, *ATAF1/2*, *NAC*, y *APETALA2* (Hossain *et al.*, 2016).

La fitohormona ABA coordina la respuesta de la planta a la escasez de agua, modulando la expresión de algunos genes sensibles a sequía (Cutler *et al.*, 2010). Se ha demostrado que algunos de ellos están regulados de forma post-transcripcional por miARNs para conseguir la tolerancia frente a esta situación, y en ciertos casos, están controlados por las vías de señalización mediadas por ABA (Ding *et al.*, 2013). Un ejemplo de esta red de regulación la proporciona *miR159*, el cual es inducido por ABA en la germinación de las semillas, y promueve la degradación de sus reguladores positivos *MYB33* y *MYB101*, desempeñando así su papel clave en la respuesta mediada por esta fitohormona (Reyes y Chua, 2007).

La familia *miR159* está altamente conservada entre las plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas, pero en situaciones de sequía la abundancia relativa de *miR159* varía de forma específica según el tejido y la especie vegetal analizada. Por ejemplo, Akdogan *et al.* (2015) analizaron la expresión de este miARN en trigo sometido a déficit de agua, observando una disminución de su expresión en raíces, mientras que en hojas se producían un aumento, al igual que ocurre en cebada y alfalfa (Hackenberg *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2017). En estudios de sequía realizados en *Arabidopsis* y maíz, los niveles de *miR159* aumentaban, mientras que en algodón y patata disminuían (Liu *et al.*, 2008; Wei *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2014; Xie *et al.*, 2015).

miR159 se caracteriza por tener como dianas diversos factores de transcripción de la familia *MYB*, los cuales presentan un dominio de unión a ADN altamente conservado, conocido como dominio Myb. Este consiste en una secuencia de aminoácidos conservados que puede estar repetida de 2 a 4 veces en la misma proteína (Dubos *et al.*, 2010). Es una familia muy numerosa implicada en fenómenos de desarrollo y en respuesta a estreses bióticos y abióticos (Dubos *et al.*, 2010; Ambawat *et al.*, 2013; Millar *et al.*, 2019), por lo que el estudio de cómo *miR159* regula genes pertenecientes a esta familia en diversas condiciones de estrés puede ser muy informativo.

Con el objetivo de ampliar el conocimiento acerca de la red reguladora orquestada por *miR159* en plantas de tomate bajo condiciones de sequía, en el presente capítulo analizamos la expresión de *miR159* y sus genes diana *MYB* predichos en plantas de tomate sometidas a déficit de agua, en las cuales previamente se ha observado acumulación de ABA bajo esta condición (López-Galiano *et al.*, 2018).

2.2. Resultados y discusión

2.2.1. Expresión de *miR159* y sus potenciales dianas en plantas de tomate sometidas a estrés por sequía

Para evaluar la implicación de *sly-miR159* en respuesta al estrés por sequía en plantas de la especie *S. lycopersicum* Mill. cv. Ailsa Craig, se analizó su expresión en las hojas de plantas desprovistas de riego durante 7 días. El análisis de expresión mediante RT-qPCR reveló una disminución de los niveles de *sly-miR159* en las plantas estresadas respecto a las del grupo control (figura 1A). Sin embargo, en estudios recientes llevados a cabo por Liu *et al.* (2017b, 2018) no detectaron una expresión diferencial de *miR159* en plantas de tomate sometidas a sequía durante 10 días. Esta aparente discrepancia con nuestros resultados podría deberse a las diferentes condiciones experimentales, a la duración de la ausencia de riego, etc., pero muy probablemente la causa principal radique en el cultivar empleado, puesto que se ha descrito que los miARNs responden a los estreses ambientales de manera dependiente de su genotipo (Liu *et al.*, 2018). En plantas, la mayoría de miARNs regulan de forma negativa a sus genes diana, por lo que planteamos la hipótesis de que los genes que tuvieron disminuida su expresión en condiciones experimentales de escasez de agua similares a las de nuestro estudio, podrían desempeñar un papel relevante en la respuesta adaptativa frente a sequía.

En *Arabidopsis*, un clado de siete genes “*GAMYB-like*” relacionados (*MYB33*, *MYB101*, *MYB65*, *MYB81*, *MYB97*, *MYB104* y *MYB120*) comparten un sitio de unión conservado para *miR159* (Allen *et al.*, 2007). Los genes “*GAMYB-like*” son una familia muy conservada de factores de transcripción regulados por ácido giberélico (GA) y ABA, que participan en las vías de señalización mediadas por GA (Woodger *et al.*, 2003). Estudios realizados en patata también destacan la participación de *miR159* y de sus genes diana “*GAMYB-like*” en la respuesta de esta solanácea a estrés hídrico (Yang *et al.*, 2014).

Utilizando el software “psRNATarget”, se identificaron los factores de transcripción “*GAMYB-like*” en tomate que tienen un sitio probable de unión para *sly-miR159*: *SIMYB33* (Solyc01g009070.2.1), *SIMYB65* (Solyc06g073640.2.1), *SIMYB104* (Solyc11g072060.1.1) y *SIMYB120* (Solyc01g090530.1.1). La figura 1B muestra la secuencia de nucleótidos de los sitios de unión de *sly-miR159* en los transcritos *SIMYB* identificados en tomate, los cuales son muy similares a los transcritos *AtMYB* diana de *miR159* en *Arabidopsis* (Zheng *et al.*, 2017). Li *et al.* (2016d) identificaron 127 genes *MYB* en el genoma de tomate y clasificaron las proteínas correspondientes en 18 subgrupos basándose en la similitud del dominio y la topología filogenética, y sugirieron que los motivos conservados fuera del dominio Myb podrían reflejar su conservación funcional. Las proteínas *SIMYB33*, *SIMYB65* y *SIMYB104* se agrupan en el subgrupo 12, en el que estas tres son las únicas (de los trece miembros del subgrupo) que comparten los motivos conservados 14 y 15 fuera del dominio Myb. Las proteínas *SIMYB97* y

SIMYB120 constituyen el subgrupo 15, que está compuesto solo por estas dos proteínas MYB que no tienen motivos conservados fuera del dominio Myb.

Mediante RT-qPCR se analizó la expresión de *sly-miR159* y de las dianas *MYB* predichas en plantas de tomate control y sometidas a sequía. De todas ellas, *SIMYB33* fue el único gen que se expresó de forma diferencial (figura 1C) mostrando un patrón de expresión opuesto al observado en el miARN, es decir, unos niveles de expresión incrementados en las plantas con déficit de agua, lo cual apoyaría el posible papel regulador de *sly-miR159* sobre *SIMYB33* en esta condición de estrés. De acuerdo con esta hipótesis, en plantas de patata con el gen *CBP80* silenciado (el cual codifica una proteína involucrada en el procesamiento de ARN) que presentaban mayor tolerancia al estrés hídrico, se correlacionó dicha mejora con niveles disminuidos de *miR159* y una expresión incrementada del gen *MYB33* (Pieczynski *et al.*, 2013).

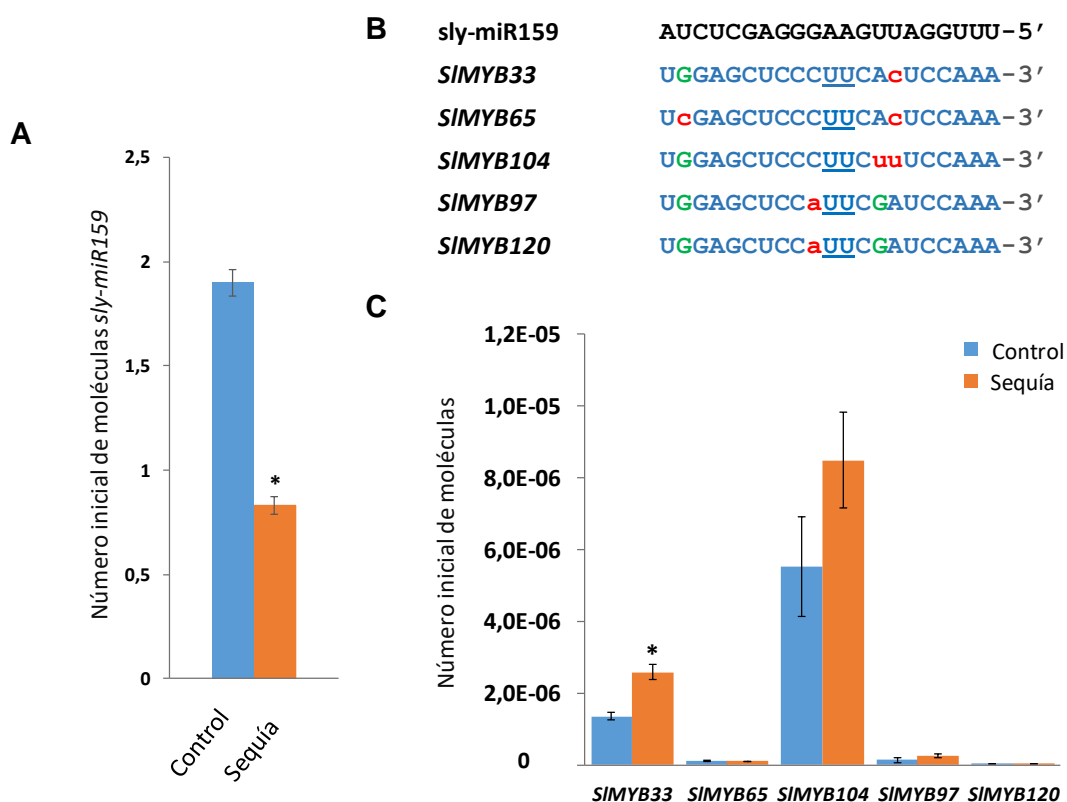


Figura 1. A) Análisis por RT-qPCR de la expresión de *sly-miR159* en plantas de tomate del grupo control y sometidas a 7 días de sequía. B) Probable sitio de unión de *sly-miR159* en los genes de la familia *MYB* predichos como posibles dianas génicas de este miARN. C) Análisis por RT-qPCR de la expresión de los genes *MYB* en plantas control y sometidas 7 días a sequía. Las diferencias estadísticamente significativas ("Student's *t*-test" $p < 0.05$) están marcadas con asterisco.

Para aportar evidencias adicionales del papel regulador de *sly-miR159* en la expresión del factor de transcripción *SIMYB33* en condiciones de sequía, se analizó la existencia de diferencias en los fragmentos procedentes de la degradación del transcrito *SIMYB33* como consecuencia del probable procesado ejercido por este miARN. Para ello, se partió de la fracción de ARN enriquecida en fragmentos pequeños procedentes de las muestras de las plantas control y

sometidas a sequía, y se diseñaron cebadores que hibridaban en la región flanqueante al sitio predicho de unión y corte por el miARN (F_{FW} y R_{RV}) y fuera de ella (O_{FW} y O_{RV}) (figura 2A). El par de cebadores O_{FW} y O_{RV} producirían un amplificado de 199 pb, mientras que los cebadores F_{FW} y R_{RV} producirían un amplificado de 200 pb solo cuando el mRNA de *SIMYB33* no se escinde por el sitio predicho de corte de *sly-miR159*. Por lo tanto, se planteó la hipótesis de que si el miARN no estaba involucrado en el procesamiento de esta diana se obtendría un mismo patrón de amplificación de este gen en las plantas control y sometidas a sequía, tanto al usar cebadores diseñados dentro como fuera de la región predicha de unión y de corte. La figura 2B muestra los resultados obtenidos en las amplificaciones por RT-PCR utilizando las dos parejas de cebadores, observándose patrones de amplificación distintos en las muestras control y estresadas. En concreto, empleando los cebadores O_{FW} y O_{RV} se obtuvo menor cantidad de producto amplificado en las plantas de tomate cultivadas con escasez de agua en comparación con las plantas de control. En contraste, se observó una mayor cantidad de producto amplificado por PCR en las plantas de tomate estresadas por sequía que en las plantas de tomate de control cuando se usaron los cebadores F_{FW} y R_{RV} . En conjunto, estos resultados apoyarían la escisión de los transcritos *SIMYB33* dirigida por *sly-miR159*, el cual participaría en la regulación transcripcional de la respuesta de las plantas de tomate al estrés por sequía.

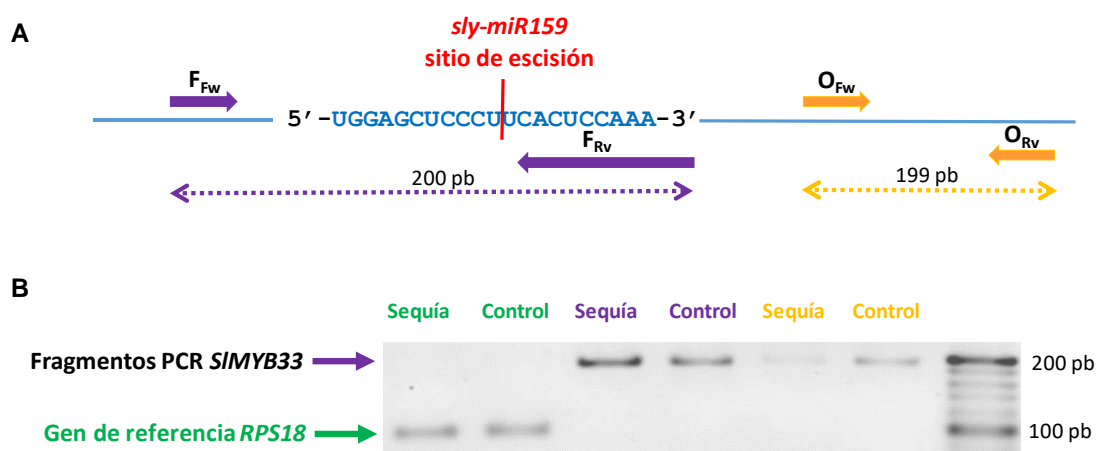


Figura 2. A) Secuencia de nucleótidos de la región predicha de unión de *sly-miR159* en *SIMYB33*. Representación esquemática de los cebadores O_{FW} , O_{RV} , F_{FW} y R_{RV} y de su posición de hibridación en *SIMYB33* en relación con el sitio predicho de unión de *sly-miR159* en el transcrito. B) Análisis por RT-PCR de los fragmentos pequeños correspondientes a *SIMYB33* usando los cebadores O_{FW} - O_{RV} y F_{FW} - R_{RV} en plantas de tomate control y sometidas a sequía, junto con la expresión de genes *RPS18* usado como control de expresión.

Por otro lado, Qin *et al.* (2012) proponen que *SIMYB33* mejora la tolerancia a sequía promoviendo la reconstitución del equilibrio osmótico y la eliminación de ROS. Esta propuesta se basa en el hecho de que la sobreexpresión ectópica del gen *MYB33*, procedente de trigo, en plantas de *Arabidopsis* induce la expresión de *AtP5CS* y *AtZAT12* involucrados en síntesis de

prolina y de ascorbato peroxidasa, respectivamente. En concordancia con estos datos, en las plantas de tomate sometidas a sequía observamos un incremento en la expresión del gen *SIP5CS* (figura 3A), acompañado de un aumento de los niveles de prolina (figura 3B), la cual actúa como compuesto osmoprotector (Székely *et al.*, 2008). Estos resultados sugieren que *sly-miR159* podría participar en la respuesta adaptativa al estrés por sequía en plantas de tomate mediante la inducción de *SIMYB33*.

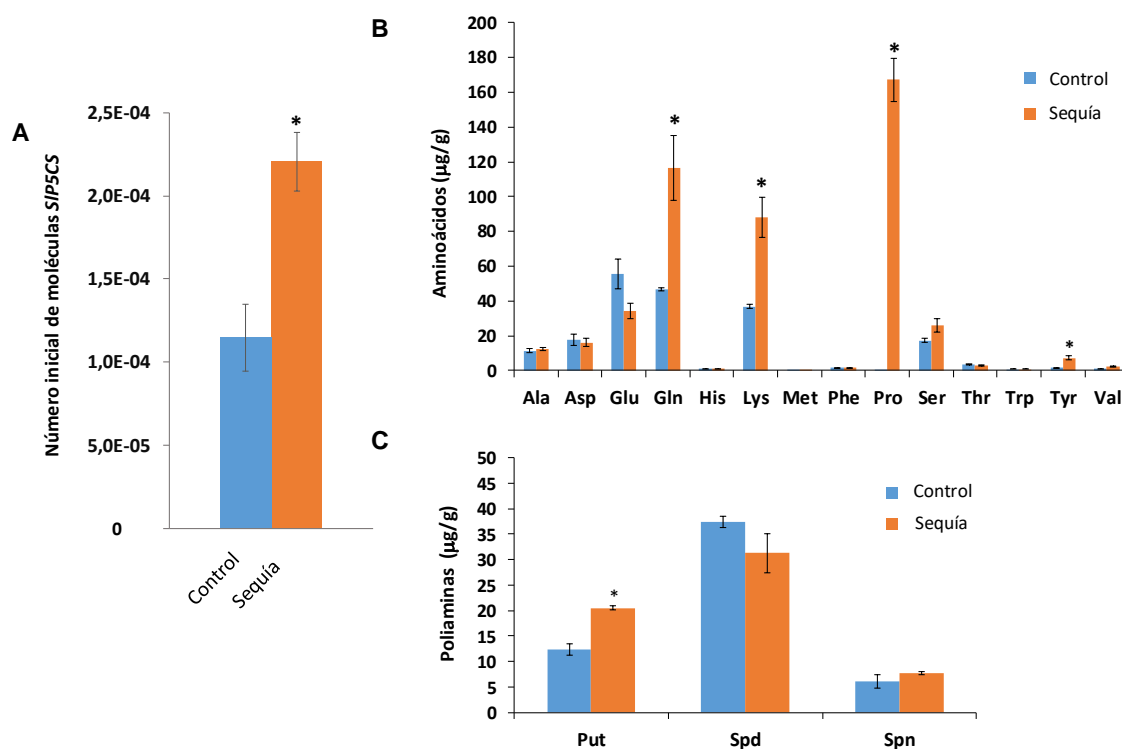


Figura 3. A) Análisis de expresión por RT-qPCR del gen *SIP5CS* en plantas de tomate del grupo control y sometidas a 7 días de sequía. B) Niveles de aminoácidos detectados en las plantas control y sometidas a sequía. C) Niveles de las poliaminas putrescina (Put), espermidina (Spd) y espermina (Spn) detectados en las plantas control y sometidas a sequía. Las diferencias estadísticamente significativas ("Student's *t*-test" $p < 0.05$) están marcadas con asterisco.

Se dispone de evidencias de la existencia de una estrecha coordinación entre el metabolismo de la prolina y las poliaminas para responder de una forma más eficiente al estrés osmótico (Tonon *et al.*, 2004; Pál *et al.*, 2018). Tras analizar los niveles de poliaminas en las muestras procedentes de plantas control y sometidas a déficit de agua, se observó un incremento en los niveles de putrescina en las plantas sometidas a estrés (figura 3C). Esta es una poliamina que tiene un papel protector en condiciones de deficiencia de agua y en estrés oxidativo (Alcázar *et al.*, 2006). En trigo, Pál *et al.* (2018) describieron que el pretratamiento con ABA inducía la expresión del gen *P5CS* y aumentaba la acumulación de putrescina. De esta forma sugirieron que la conexión entre el metabolismo de las poliaminas y la señalización por ABA podía controlar la regulación y el mantenimiento de los niveles de poliaminas y prolina en condiciones de estrés osmótico en plántulas de trigo.

2.2.2. Evaluación de la especificidad de la interacción *sly-miR159* y *SIMYB33*

Para determinar si la regulación ejercida por *sly-miR159* sobre *SIMYB33* era específica del estrés ocasionado por sequía, se realizaron los mismos análisis de expresión génica y de compuestos osmoprotectores, previamente analizados, en plantas de tomate sometidas al estrés biótico ocasionado por el insecto herbívoro CPB, estrés en el cual no se produce acumulación de ABA (López-Galiano *et al.*, 2018). Como se observa en la figura 4A, los niveles de *sly-miR159* también disminuían en las plantas sometidas al daño por el insecto plaga, al igual que ocurría en condiciones de sequía (figura 1A). No obstante, se detectaron diferencias respecto a la expresión de las dianas predichas en relación al estrés por sequía. En plantas infestadas por CPB, los niveles de *SIMYB33* no estaban alterados, mientras que *SIMYB104* sí que mostró incrementados sus niveles (figura 4B). Estos resultados apoyan que *sly-miR159* podría ejercer una función reguladora específica sobre distintos factores de transcripción *MYB* en respuesta a diferentes condiciones de estrés.

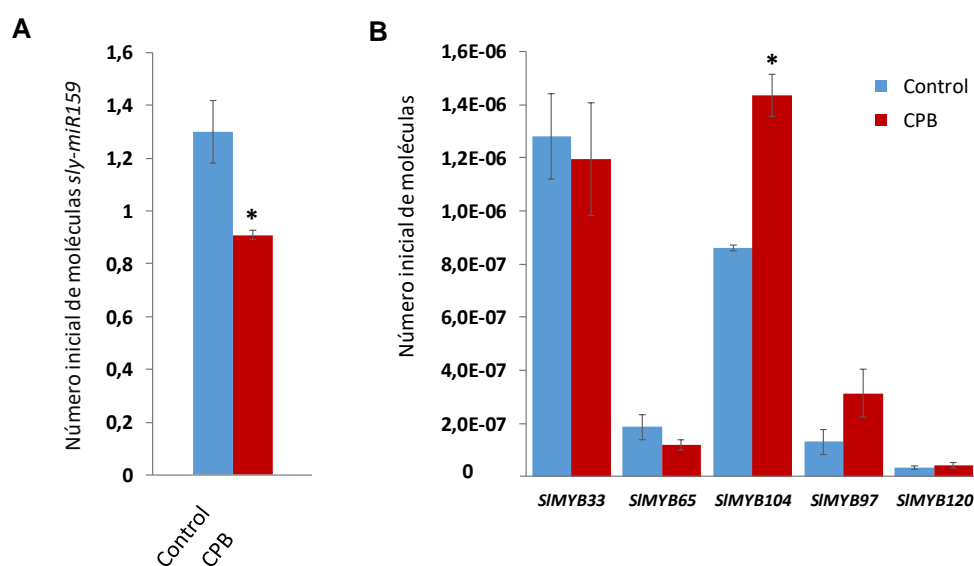


Figura 4. A) Análisis por RT-qPCR de la expresión de *sly-miR159* en plantas de tomate del grupo control y sometidas al daño generado por el insecto plaga CPB. B) Análisis por RT-qPCR de la expresión de los genes *MYB* en plantas control y sometidas al daño generado por el insecto plaga CPB. Las diferencias estadísticamente significativas ("Student's *t*-test" $p < 0.05$) están marcadas con asterisco.

En cuanto a la expresión del gen *SIP5CS* en plantas de tomate sometidas a estrés biótico por el insecto herbívoro CPB, no se detectaron diferencias entre sus niveles respecto a las plantas control (figura 5A), así como tampoco en los de los compuestos osmoprotectores prolina y putrescina (figura 5B, C). Este resultado corrobora que la respuesta de las plantas de tomate a este estrés biótico es diferente a la respuesta generada al estrés hídrico.

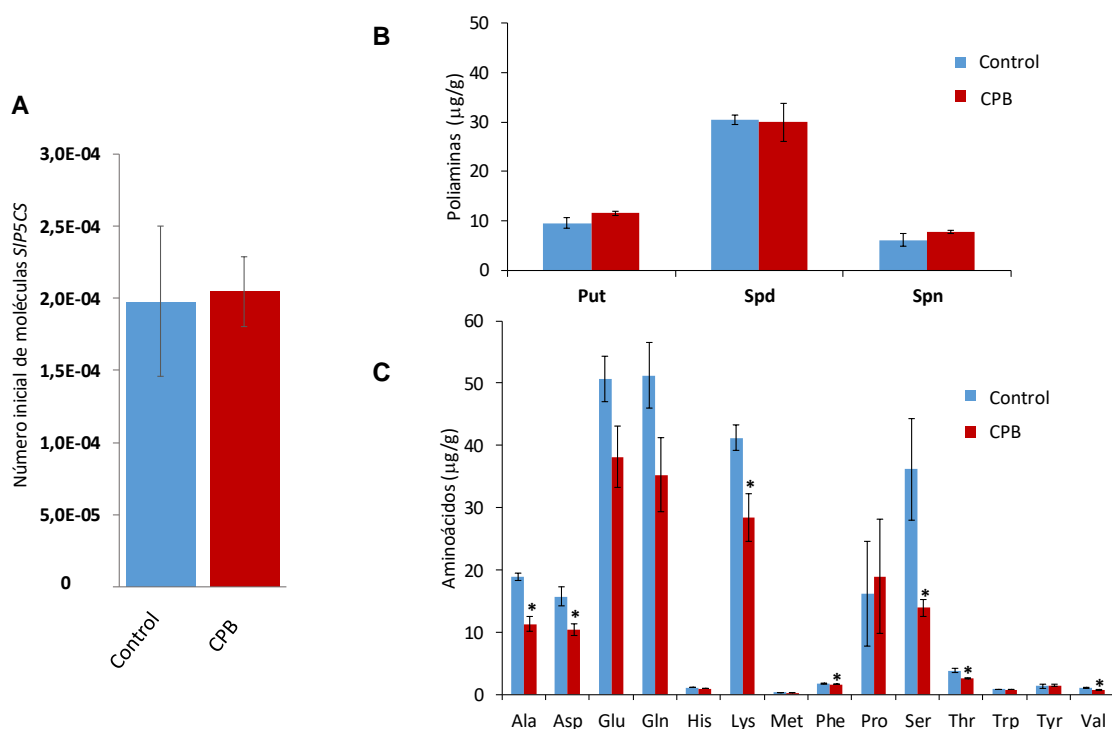


Figura 5. A) Análisis de expresión por RT-qPCR del gen *SIP5CS* en plantas de tomate del grupo control y sometidas al daño generado por el insecto plaga CPB. B) Niveles de aminoácidos detectados en las plantas control y sometidas al daño generado por el insecto plaga CPB. C) Niveles de las poliaminas putrescina (Put), espermidina (Spd) y espermina (Spn) detectados en las plantas control y sometidas al daño generado por el insecto plaga CPB. Las diferencias estadísticamente significativas ("Student's *t*-test" $p < 0.05$) están marcadas con asterisco.

Los resultados obtenidos sugieren que la especificidad de la respuesta a estrés regulada por *sly-miR159* podría, al menos en parte, depender de la regulación específica de distintos factores de transcripción *MYB* en respuesta a cada condición. En condiciones de sequía, la regulación ejercida por *sly-miR159* sobre *MYB33* (haciendo que sus niveles se incrementen), conlleva a su vez el aumento de la expresión del gen *SIP5CS* y la de los compuestos osmoprotectores prolina y putrescina, lo que apunta a la posible participación de este miARN en la tolerancia al estrés por sequía. Comprender la red reguladora que subyace a la respuesta al estrés por sequía puede proporcionar nuevos enfoques biotecnológicos para generar plantas mejor adaptadas a ambientes secos. Los resultados de este capítulo respaldan que, además de utilizar el factor de transcripción *SIMYB33* como diana biotecnológica, la reprogramación de la expresión del gen *SIMYB33* por *sly-miR159* podría convertirse en un sistema útil para mejorar la tolerancia a la sequía en las plantas de tomate.

Capítulo 3: miARNs y mecanismos de regulación epigenéticos en genes biomarcadores de respuesta a patógenos en plantas solanáceas

Capítulo 3: miARNs y mecanismos de regulación epigenéticos en genes biomarcadores de respuesta a patógenos en plantas solanáceas

Algunos de los experimentos presentados en este capítulo se desarrollaron en colaboración con los grupos de investigación: “Bioquímica y Biotecnología” de la Universidad Jaime I de Castellón, y “Biotecnología de Alimentos” del Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. Los resultados de este capítulo están incluidos en dos publicaciones:

- López-Galiano, M. J., González-Hernández, A. I., Crespo-Salvador, O., Rausell, C., Real, M. D., Escamilla, M., Camañes, G., García-Agustín, P., González-Bosch, C., y García-robles, I. (2018). Epigenetic regulation of the expression of *WRKY75* transcription factor in response to biotic and abiotic stresses in *Solanaceae* plants. *Plant Cell Reports*, 37(37), 167–176. <https://doi.org/10.1007/s00299-017-2219-8>.
- Crespo-Salvador, Ó., Sánchez-Giménez, L., López-Galiano, M. J., Fernández-Crespo, E., Schalschi, L., García-robles, I., Rausell, C., Real, M. D., y González-Bosch, C. (2020). The histone marks signature in exonic and intronic regions is relevant in early response of tomato genes to *Botrytis cinerea* and in miRNA regulation. *Plants*, 9(3), 300–317. <https://doi.org/10.3390/plants9030300>.

3.1. Introducción

La respuesta de defensa en plantas comprende una compleja red de regulación en la cual intervienen diversos genes de defensa, hormonas y factores de transcripción. Estos últimos son una pieza clave en la coordinación de las respuestas ejecutadas por la planta, por lo que la forma en la que estos genes son regulados es de gran interés para comprender los mecanismos subyacentes a la superación de la situación estresante. Una de las familias de factores de transcripción con funciones relacionadas con el crecimiento y desarrollo, e implicada en respuesta a condiciones de estrés biótico y abiótico es *WRKY* (Shankar *et al.*, 2013; Bakshi y Oelmüller, 2014; Phukan *et al.*, 2016). Esta familia de factores de transcripción se encuentra ampliamente representada en plantas terrestres y algas verdes, y se caracteriza por presentar un dominio WRKY que consta de 60 aminoácidos que contienen la secuencia conservada WRKYGQK en la región N-terminal y dedos de zinc en la C-terminal, ambos necesarios para su unión a ADN (Shankar *et al.*, 2013).

En un análisis del genoma de tomate se identificaron 81 factores de transcripción pertenecientes a la familia *WRKY*, los cuales mostraron patrones de expresión espacio-temporal diferentes en las distintas etapas de desarrollo y en respuesta a estreses bióticos y abióticos (Huang *et al.*, 2012). Los factores de transcripción pertenecientes a esta familia pueden actuar como activadores o represores transcripcionales en múltiples funciones biológicas, en el desarrollo de la planta y en los procesos controlados por hormonas, formando parte de una red de señalización compleja (Bakshi y Oelmüller 2014). *WRKY75* ha sido ampliamente estudiado por responder a la deficiencia de fósforo inorgánico (Shankar *et al.*, 2013), pero recientemente se han obtenido evidencias que permiten relacionarlo con la defensa frente al daño ocasionado por patógenos, por lo que este factor de transcripción ha cobrado gran relevancia también en respuesta a estrés (Encinas-Villarejo *et al.*, 2009; Finiti *et al.*, 2014).

Los miARNs ejercen su papel regulador de la expresión génica principalmente a través del corte y degradación del mRNA de su diana tras producirse el reconocimiento específico por parte del complejo de silenciamiento RISC, del cual forma parte el miARN, o bien mediante bloqueo de la traducción como consecuencia de la unión de este complejo (Bartel, 2004). No obstante, diversos estudios han propuesto nuevos modos de acción en los que los miARNs podrían actuar como reguladores epigenéticos mediando la metilación del ADN (Wu *et al.*, 2010; Wu, 2013; Qin *et al.*, 2014). Evidencias recientes, han demostrado que el control epigenético de la expresión génica es muy relevante para responder de forma dirigida cuando las plantas son atacadas por patógenos (Ding y Wang, 2015). Las modificaciones post-traduccionales de histonas pueden afectar directamente a la estructura de la cromatina o pueden reclutar proteínas reguladoras específicas o complejos proteicos involucrados en procesos relacionados con el ADN. La acetilación y metilación de histonas es crítica para el efecto de “priming” de las defensas. Estas modificaciones ocurren en residuos específicos en las histonas asociados con o como consecuencia de la reprogramación transcripcional, en respuesta a estreses bióticos o abióticos (Espinas *et al.*, 2016). En general, la acetilación de histonas está asociada con la activación transcripcional y, dependiendo del contexto, la metilación y/o ubiquitinación de histonas puede ser un marcador de activación o represión de la transcripción. Generalmente, las trimetilaciones de H3K4 y H3K36 (H3K4me3 y H3K36me3) y la mono-ubiquitinación de H2B (H2Bub) están enriquecidas en genes expresados activamente, mientras que H3K27me3 se asocia con genes reprimidos. En particular, H3K4me3 es una de las modificaciones de histonas mejor caracterizada y constituye un marcador de la memoria de estrés (Avramova, 2015; Conrath *et al.*, 2015).

En este capítulo se profundiza en el papel del gen *SIWRKY75* en respuesta a diferentes condiciones de estrés biótico y abiótico en plantas solanáceas, y en los posibles mecanismos que regulan su expresión mediante el estudio de la presencia de marcas epigenéticas en este factor de transcripción y el análisis de la posible implicación de miARNs en este mecanismo.

3.2. Resultados y discusión

3.2.1. Expresión de *SIWRKY75* en diversas condiciones de estrés biótico y abiótico en plantas de tomate y berenjena

Para investigar el papel de *SIWRKY75* en la respuesta de defensa, se analizó la expresión de su correspondiente gen mediante RT-qPCR en plantas de tomate sometidas a distintas condiciones de estrés. Por un lado, los estreses abióticos de sequía y temperatura, y por otro, los estreses bióticos ocasionados por el ataque de la bacteria patógena *P. syringae*, del hongo *B. cinerea* y del insecto plaga CPB. En el análisis de expresión se observó un incremento de los niveles de *SIWRKY75* únicamente en plantas sometidas a los estreses bióticos. En concreto, un incremento del doble en las plantas dañadas por CPB respecto a las plantas control, un incremento de 31 veces en las plantas infectadas por *P. syringae*, y la inducción máxima se alcanzó en las plantas infectadas con *B. cinerea* (55 veces) (figura 1).

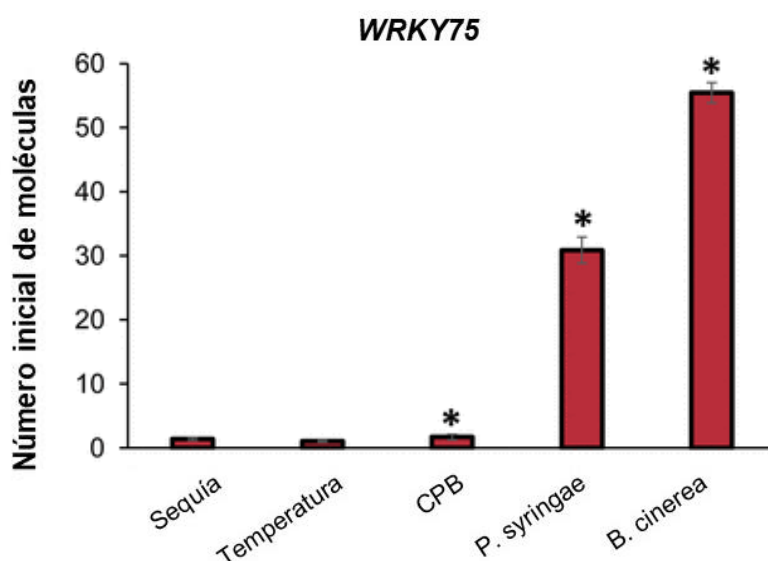


Figura 1. Análisis por RT-qPCR de la expresión de *WRKY75* en plantas de tomate del grupo control y sometidas a los estreses abióticos de sequía y temperatura, y a los estreses bióticos ocasionados por *P. syringae*, *B. cinerea* y CPB. Las diferencias estadísticamente significativas ("Student's t-test" $p < 0.05$) están marcadas con asterisco.

Dado que *WRKY75* mostró un nivel de inducción superior en plantas de tomate infectadas por *B. cinerea*, se analizó su expresión también en plantas de berenjena, otra solanácea de interés agronómico, para corroborar su implicación tan notable en la respuesta frente a este tipo de estrés biótico. El análisis de expresión por RT-qPCR mostró que la expresión de este gen también se inducía de forma considerable (48 veces mayor que en los controles) en respuesta a la infección por el hongo en la solanácea berenjena (figura 2), apuntando a la relevancia de este factor de transcripción en la defensa contra el patógeno *B. cinerea*.

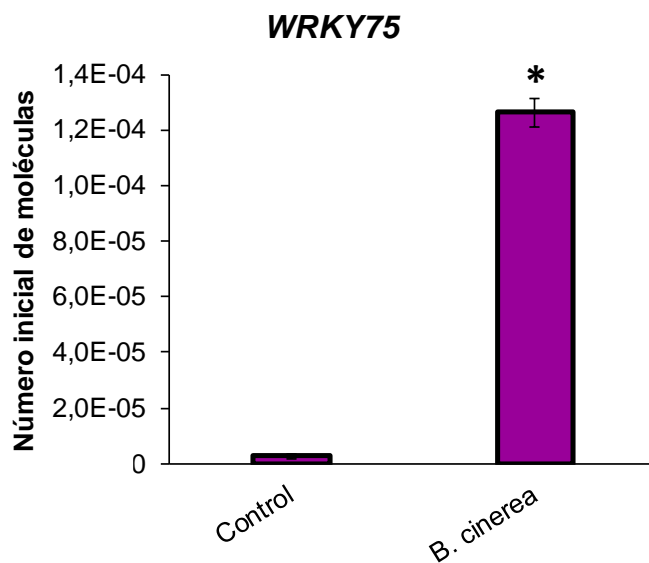


Figura 2. Análisis por RT-qPCR de la expresión de *WRKY75* en plantas de berenjena infectadas con *B. cinerea*. Las diferencias estadísticamente significativas ("Student's *t*-test" $p < 0.05$) están marcadas con asterisco.

Aunque la principal función que ha sido asignada a *SIWRKY75* es la relacionada con la respuesta adaptativa durante la carencia de fosfato (Devaiah *et al.*, 2007), en el análisis transcriptómico de plantas de tomate infectadas por *B. cinerea* se observó la inducción de *SIWRKY75* (Finiti *et al.*, 2014), sugiriendo la implicación de este factor de transcripción en respuesta al ataque por patógenos. En este sentido, en arabis y fresa, los hongos patógenos *Sclerotinia sclerotiorum* y *Colletotrichum acutatum* también inducen la expresión de *WRKY75*, respectivamente (Chen *et al.*, 2013; Encinas-Villarejo *et al.*, 2009). En nuestro trabajo en tomate, se ha demostrado que, además de en respuesta a la infección por el hongo necrófito *B. cinerea*, la expresión del gen *SIWRKY75* también se induce al someter a las plantas a otros estreses bióticos, tales como la infección por *P. syringae* y el ataque por el insecto herbívoro CPB. Sin embargo, no se ha observado inducción génica alguna en las plantas en respuesta a estreses abióticos (sequía y temperatura).

3.2.2. Perfil hormonal de las plantas de tomate sometidas a estreses bióticos y abióticos

Algunos de los factores de transcripción de la familia *WRKY* se inducen en respuesta a diversas hormonas como SA, JA y ABA (Shankar *et al.*, 2013; Bakshi y Oelmüller, 2014), por lo que, para determinar la posible interacción entre *SIWRKY75* y alguna de estas hormonas en respuesta a estrés, se analizaron también los niveles de estas hormonas, así como de la forma activa del JA, JA-Ile, y su precursor la OPDA (figura 3). Las plantas sometidas a los distintos estreses bióticos bajo estudio presentaban niveles incrementados de JA y JA-Ile, respecto al grupo de plantas control. En las plantas dañadas por CPB y *P. syringae* se observó un aumento de los niveles de SA, mientras que en las dañadas por *B. cinerea* sus niveles estaban disminuidos. En el caso de

las plantas infectadas por *P. syringae*, también se observaron niveles aumentados de OPDA. Cuando las plantas fueron sometidas a los estreses abióticos, estas mostraron niveles disminuidos de SA, y únicamente bajo estrés por sequía presentaron niveles aumentados de ABA (figura 3). En resumen, el perfil hormonal depende del tipo de estrés al que están sometidas las plantas, siendo el aumento de los niveles de JA y JA-Ile una respuesta común en los tres estreses bióticos analizados en este trabajo.

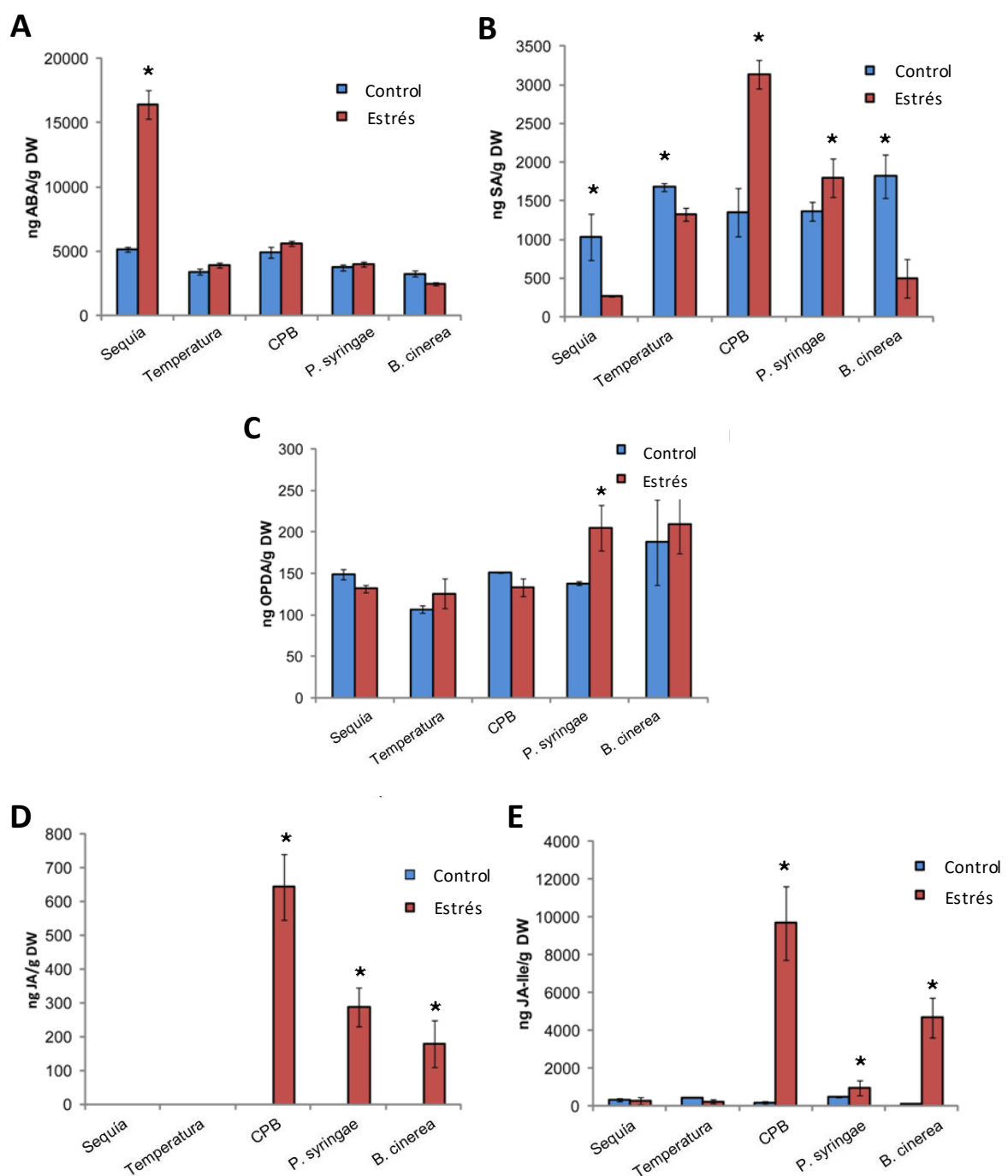


Figura 3. Análisis por cromatografía líquida y espectrometría de masas de los niveles hormonales en hojas de planta de tomate bajo distintas condiciones de estrés biótico y abiótico. A) Niveles de ABA. B) Niveles de SA. C) Niveles de OPDA. D) Niveles de JA. E) Niveles de JA-Ile. Las diferencias estadísticamente significativas ("Student's *t*-test" $p < 0.05$) están marcadas con asterisco.

La señalización hormonal es muy importante en la defensa frente a estreses bióticos y abióticos. El ABA, generalmente, está involucrado en respuesta a estreses abióticos como la baja temperatura, estrés osmótico y sequía (Sah *et al.*, 2016). En los resultados mostrados en la figura 3 se puede observar que, en las plantas de tomate sometidas a déficit de agua, aparecen niveles incrementados de ABA, corroborando su implicación en la respuesta frente a esta condición estresante en la solanácea tomate. Además de su participación en la inducción de genes de defensa en plantas sometidas a condiciones de estrés biótico (Kumar, 2014), se ha demostrado que, cuando se aplica de forma exógena, el SA mejora la tolerancia de las plantas a estreses abióticos, como la sequía (Fayez y Bazaid 2014) y el estrés por temperatura (Khan *et al.*, 2013). Generalmente, el SA es parte de las respuestas de defensa contra el ataque de patógenos biotrófos, mientras que el JA participa en la respuesta de defensa contra patógenos necrótrofos e insectos (Beckers y Spoel, 2006). En nuestro estudio se detectó un aumento de SA en las plantas dañadas por CPB e infectadas por *P. syringae*, y una disminución en las plantas infectadas por *B. cinerea*.

Como se ha mencionado, en todos los estreses bióticos bajo estudio, se observó una acumulación de JA y JA-Ile. Además, otras moléculas de la vía de síntesis del JA que podrían estar involucradas en los procesos de defensa de las plantas, como OPDA (Scalschi *et al.*, 2013), también presentan niveles elevados en las plantas infectadas por *P. syringae*.

Las vías de señalización hormonal interactúan entre sí, a través de factores de transcripción que responden a las hormonas, para regular la respuesta de defensa de las plantas. Este es el caso del factor de transcripción *WRKY70*, un componente clave que media la interacción antagonista entre las vías hormonales del SA y JA (Li *et al.*, 2004).

El aumento significativo de los niveles de JA y JA-Ile en las plantas de tomate bajo estreses bióticos en comparación con las plantas del grupo control, apoya la posible función de *SIWRKY75* como regulador transcripcional de la vía del JA en la defensa frente al estrés ocasionado por *B. cinerea*, *P. syringae* y CPB. Esto está en consonancia con el papel del gen *WRKY75* en la modulación de la diafonía SA/JA identificada en plantas de *Arabidopsis* infectadas con *S. sclerotiorum* y *Pectobacterium carotovorum* (Chen *et al.*, 2013; Choi *et al.*, 2014).

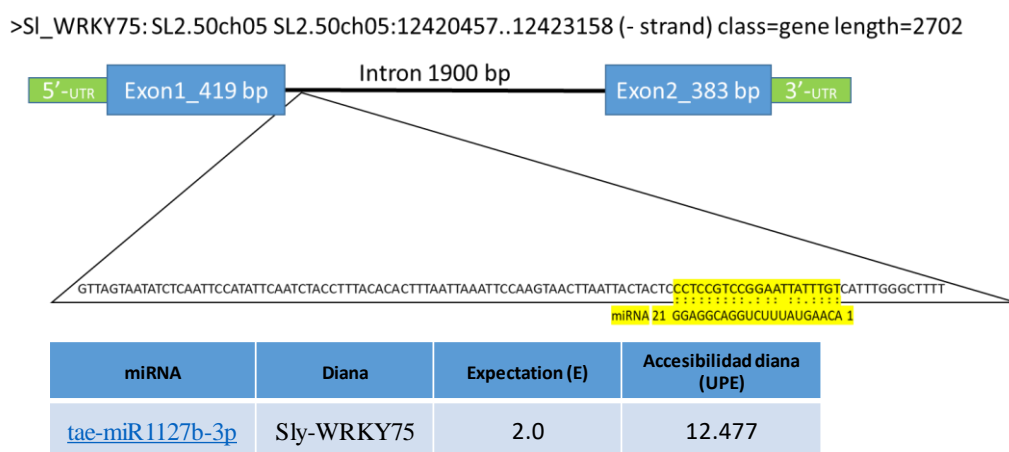
3.2.3. Predicción de miARNs reguladores de *SIWRKY75*

Para determinar si la regulación del factor de transcripción *SIWRKY75* podía estar mediada post-transcripcionalmente por miRNAs, se realizó una predicción bioinformática utilizando el programa “psRNATarget”. No se obtuvieron sitios de complementariedad con valores predictivos altos (≤ 2) con miRNAs de tomate, pero sí se detectó un miARN de trigo, *tae-miR1127-3p*, que tenía como sitio de reconocimiento predicho la región intrónica de *SIWRKY75* (figura 4A). Dado que este miARN no estaba descrito previamente en tomate, se realizó un análisis en el genoma de esta solanácea para intentar identificarlo. Se encontró su

ortólogo en una región del cromosoma 5 (SL3.0ch05: 763207–763227), por lo que se pasó a denominar *sly-miR1127-3p*. Además, se obtuvieron evidencias adicionales de la existencia de este miARN en tomate al encontrar lecturas homologas a su secuencia y que mapeaban en la misma región del cromosoma 5 en el experimento de secuenciación masiva descrito en el capítulo 1.

En la figura 4B se muestra el plegamiento de la correspondiente estructura secundaria de *sly-miR1127-3p* modelizada en el “RNAfold web server” (Gruber *et al.*, 2008; Lorenz *et al.*, 2011). La secuencia del miRNA maduro está contenida en la región correspondiente al segmento de doble cadena de la estructura del pre-miRNA.

A



B

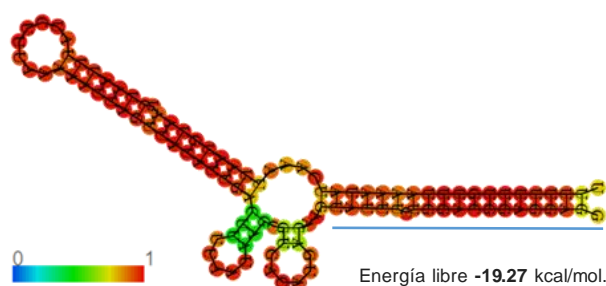


Figura 4. A) Identificación del probable sitio de unión de *tae-miR1127-3p* en la región intrónica de *WRKY75*. B) Estructura secundaria del precursor de *sly-miR1127-3p*. La línea azul indica la secuencia del miARN maduro y el gradiente de color indica la probabilidad del apareamiento entre bases.

La comparación a nivel nucleotídico de la región correspondiente a los miRNAs maduros de tomate (*sly-miR1127-3p*, región SL3.0ch05: 763207–763227) y de trigo (*tae-miR1127b-3p*, TGACv1_scaffold_114891_2AS:8990:9716:-1) pone de manifiesto la total conservación de las mismas, como se muestra en la figura S1.

3.2.4. Expresión de *sly-miR1127-3p* en plantas de tomate sometidas a estreses bióticos

Para evaluar si *sly-miR1127-3p* podría estar involucrado en la inducción del gen *SIWRKY75* tras la infección con *B. cinerea*, *P. syringae*, o la infestación por CPB, se analizó su expresión por RT-qPCR. Únicamente en aquellas plantas infectadas por el hongo *B. cinerea* se observó una expresión diferencial, concretamente una disminución de aproximadamente 0.4 veces respecto al grupo control (figura 5). Estos resultados concuerdan con la existencia de una correlación negativa entre los niveles de expresión de los miARNs y sus genes diana, lo que apuntaría a un papel regulador de este miARN sobre *SIWRKY75*.

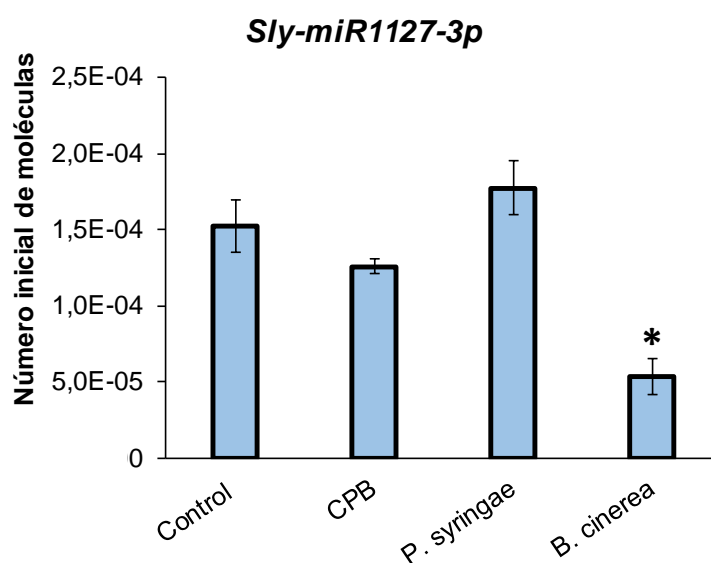


Figura 5. Análisis de expresión de *sly-miR1127-3p* en plantas de tomate sometidas a los estreses bióticos causados por *P. syringae*, *B. cinerea* y CPB. Las diferencias estadísticamente significativas ("Student's *t*-test" $p < 0.05$) están marcadas con asterisco.

En trigo, *tae-miR1127-3p* se expresa de forma diferencial y con unos niveles muy bajos durante el proceso de desarrollo de semillas, y actúa regulando la expresión de un gen de que codifica para una permeasa muy importante para el desarrollo temprano de estas (Han *et al.*, 2014). En este trabajo relacionamos por primera vez al miARN homólogo en tomate, *sly-miR1127-3p*, con la respuesta de defensa, en concreto con respuesta a la infección producida por el hongo patógeno *B. cinerea* en plantas de tomate.

3.2.5. Estudio de la marca epigenética de histonas H3K4me3 en *WRKY75* tras la infección por *B. cinerea* en plantas tomate

Aunque el mecanismo de acción de los miARNs generalmente se basa en el corte y degradación de la diana tras producirse el reconocimiento específico entre ambos (Bartel, 2004), se ha demostrado que algunos miARNs pueden actuar mediando la metilación en el núcleo (Wu *et al.*, 2010). Puesto que el *miR1127-3p* no se había detectado previamente en tomate, no existían precedentes de su modo de acción en respuesta a estrés en esta especie. Además, su sitio predicho de unión a *SIWRKY75* se encontraba en una región intrónica y no en una región codificante, por lo que se postuló que *sly-miR1127-3p* podría ejercer su función reguladora de forma no canónica y actuar como un factor de regulación epigenético. Para corroborar esta hipótesis, se examinó la presencia de la marca de activación de la transcripción H3K4me3 (Alvarez *et al.*, 2010) en la región del intrón donde se predijo la unión teórica del miARN, y en toda la secuencia intrónica de *SIWRKY75*. A las 24 h post infección, *WRKY75* estaba fuertemente inducido y H3K4me3 mostró niveles aumentados en la región de inicio de la transcripción (TTS), en el exón 1 y en 3' UTR en las plantas estresadas respecto a las plantas control, detectándose la señal más alta en el exón (figura 6). La presencia de esta modificación en la cromatina, en el cuerpo del gen y en la región 3'UTR, es inusual porque generalmente es el comienzo de los genes el que se enriquece en H3K4me (Li *et al.*, 2014b). Por lo tanto, este perfil particular de modificaciones de histonas se correlacionó con la inducción del gen *SIWRKY75* tras la infección por *B. cinerea*, y podría contribuir a su regulación epigenética.

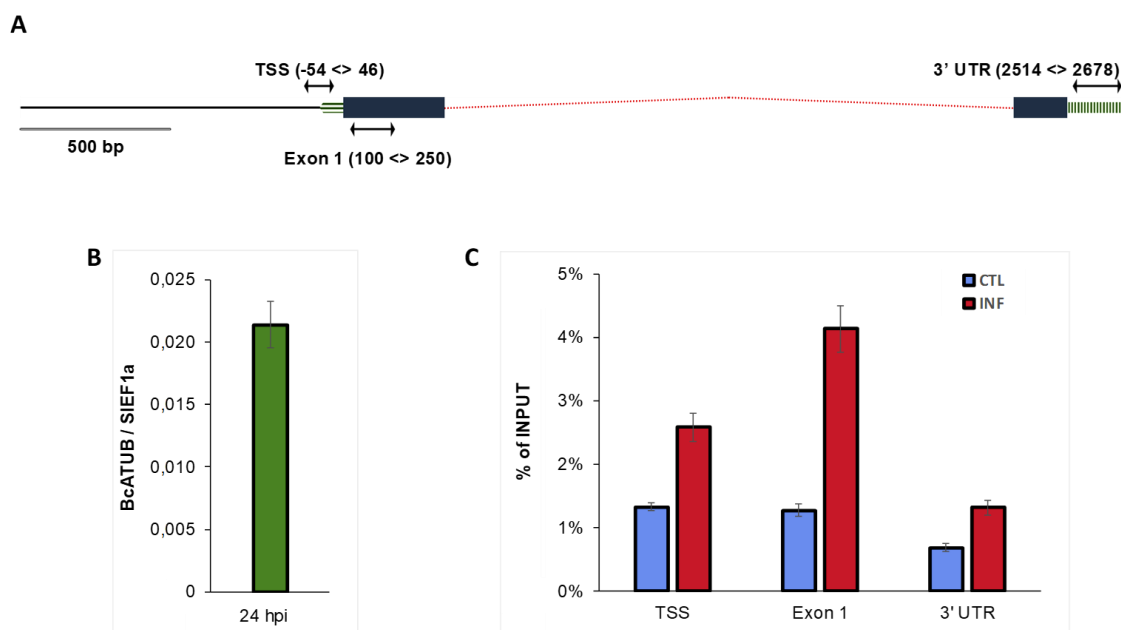


Figura 6. A) Diagrama esquemático del gen *SIWRKY75* incluyendo la región TTS, el exón 1 y la región 3' UTR. B) Análisis ChIP-qPCR para la cuantificación de la marca H3K4me3 en la región TTS, exón 1 y 3' UTR en plantas de tomate control e infectadas por *B. cinerea*.

En *Arabidopsis*, H3K4me3 se asocia con la memoria de estrés (Conrath *et al.*, 2015; Liu y Avramova, 2016). Dependiendo de la frecuencia y duración de la condición estresante, sus efectos sobre la transcripción génica pueden permanecer temporalmente o transmitirse a la siguiente generación, un proceso conocido como herencia epigenética transgeneracional. Recientemente, el mecanismo molecular de “priming” por JA en genes específicos de respuesta al estrés por deshidratación en *Arabidopsis*, reveló que el JA potenciaba la transcripción de un subconjunto específico de genes de respuesta a ABA (Liu y Avramova, 2016). Por otro lado, en estos genes de respuesta a estrés sometidos al efecto de “priming” por JA y dependientes de ABA, se ha observado que H3K4me3 funciona como una marca epigenética (Conrath *et al.*, 2015; Liu y Avramova, 2016).

Los miARN y las modificaciones de la cromatina pueden cooperar como factores epigenéticos para modular dianas comunes. Es conocido que H3K4me3 se correlaciona inversamente con la metilación del ADN (Rose y Klose, 2014). Por lo tanto, la presencia de marcas H3K4me3 en regiones del gen *SIWRKY75* distintas a las del sitio de unión predicho de *sly-miR1127-3p*, respaldaría su posible papel en la regulación de la expresión del gen *SIWRKY75* a través de la metilación del ADN en respuesta a la infección por *B. cinerea*. No obstante, se necesitan más estudios para obtener una mayor información sobre la compleja regulación epigenética de este gen y de su posible impacto en la herencia transgeneracional de la resistencia al estrés.

3.2.6. Análisis del procesado del transcrito de *SIWRKY75* en respuesta a *B. cinerea* y *P. syringae*

Para evaluar la especificidad de *sly-miR1127-3p* en el proceso regulatorio de *SIWRKY75*, se compararon los resultados del procesado de este gen en plantas de tomate sometidas a la infección por *B. cinerea* con los de plantas de tomate sometidas a la infección por *P. syringae*, condición en la que el miARN no se expresaba de forma diferencial. Para ello, se empleó la fracción de ARN pequeño y se diseñaron oligonucleótidos en regiones distintas del gen *WRKY75*. La secuencia genómica de este gen está constituida por dos exones y un intrón, de forma que se diseñó un oligonucleótido directo (Fw1) y uno reverso (Rv1) en base a la secuencia del exón 1, y otro oligonucleótido reverso (Rv2) en base a la secuencia del exón 2 (figura 7A). De esta forma, el tamaño del producto de PCR obtenido empleando los oligonucleótidos Fw1 y Rv1 sería de 150 pb, mientras que la combinación Fw1 y Rv2 podía dar lugar a dos amplificados distintos, uno de 2367 pb si el ARN mensajero no estaba procesado, y otro de 468 pb si este había sido procesado (figura 7B). Por tanto, esta aproximación permitiría evidenciar si se estaba produciendo un procesado diferencial entre las muestras control y estresadas, y también entre ambos patosistemas, debido a la acción del miARN. Los resultados de las RT-PCRs llevadas a cabo con los oligonucleótidos Fw1 y Rv1 mostraron una mayor cantidad de amplificado en las muestras estresadas por ambos patógenos en comparación con las plantas control (figura 7C). No obstante, cuando se usó la combinación Fw1 y Rv2, únicamente se observó el amplificado de

2367 pb en las muestras control, mientras que en las procedentes de plantas estresadas se observó el producto de 468 pb correspondiente al mensajero procesado, siendo mayores los niveles observados en las plantas estresadas por el hongo (figura 7C). Estos niveles incrementados se podrían relacionar con la presencia de la marca epigenética H3K4me3, que junto con la expresión de *sly-miR1127-3p*, establecerían un mecanismo de regulación sobre *WRKY75* que sería específico del estrés generado por el hongo *B. cinerea*.

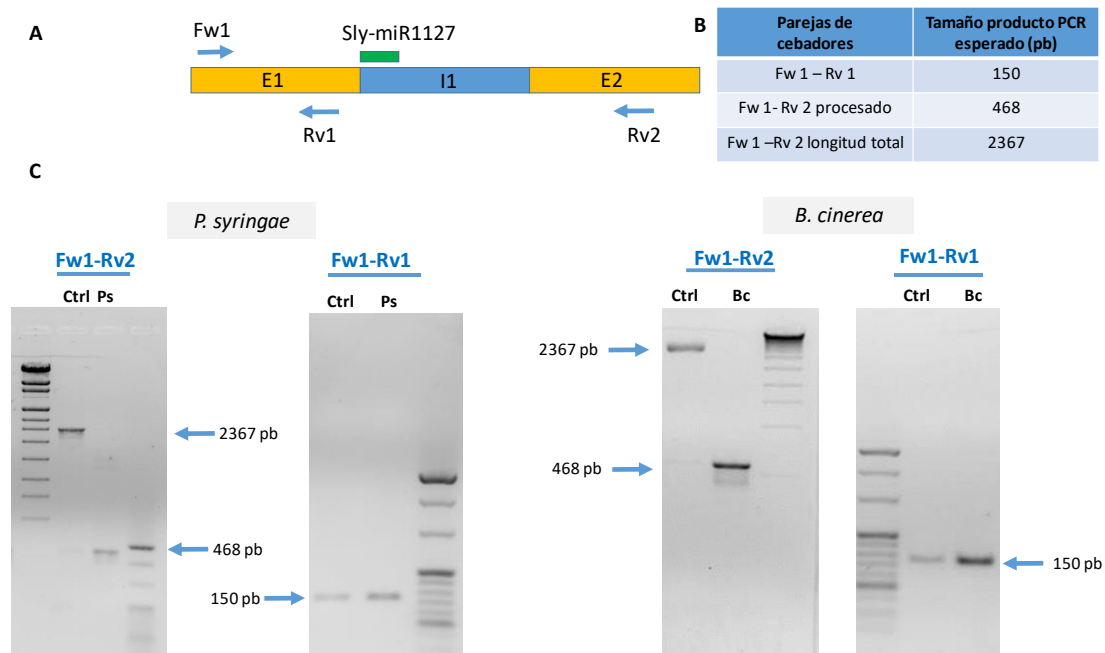


Figura 7. Amplificación por RT-PCR del mensajero de *SIWRKY75*. A) Esquema del gen *SIWRKY75* indicando la región de unión del miARN *sly-miR1127-3p* (barra verde) y de los cebadores diseñados en el exón 1 (Fw1 y Rv1) y en el exón 2 (Rv2). B) Tabla que muestra los tamaños de los productos amplificados por PCR al emplear los distintos cebadores. C) Análisis por RT-PCR del mensajero de *SIWRKY75* en plantas de tomate control e infectadas por *B. cinerea* y *P. syringae* usando las combinaciones de cebadores Fw1-Rv1 y Fw1-Rv2.

Estos resultados muestran que la expresión del gen *SIWRKY75* se induce en respuesta a estreses bióticos, especialmente en plantas de tomate infectadas con *B. cinerea*. Por tanto, el miARN *sly-miR1127-3p* podría ejercer una regulación epigenética de la expresión del gen *SIWRKY75*, incrementándola, mediante un mecanismo no canónico, desencadenando la metilación del ADN en regiones adyacentes de *WRKY75* en las que se habían detectado acumuladas las marcas H3K4me3 después de la infección por *B. cinerea*.

Capítulo 4: Análisis del efecto del ácido hexanoico en la inducción de defensas frente estreses bióticos y abióticos en plantas de berenjena

Capítulo 4: Análisis del efecto del ácido hexanoico en la inducción de defensas frente estreses bióticos y abióticos en plantas de berenjena

En la realización de algunos de los experimentos contenidos en este capítulo se ha colaborado con el grupo de investigación “Bioquímica y Biotecnología” de la Universidad Jaime I de Castellón, y los resultados han sido publicados en:

- López-Galiano, M. J., Ruiz-Arroyo, V. M., Fernández-Crespo, E., Rausell, C., Real, M. D., García-Agustín, P., González-Bosch, C., y García-Robles, I. (2017). Oxylin mediated stress response of a miraculin-like protease inhibitor in Hexanoic acid primed eggplant plants infested by Colorado Potato Beetle. *Journal of Plant Physiology*, 215(1), 59–64. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2017.04.013>

4.1. Introducción

La relación entre plantas e insectos herbívoros se ha revelado como una interacción altamente dinámica y compleja en la que los insectos han desarrollado formas de encontrar nuevos huéspedes y superar las defensas de las plantas, y las plantas se defienden directamente de ellos mediante la producción de estructuras morfológicas especializadas, metabolitos secundarios y proteínas que tienen efectos tóxicos, antinutritivos o repelentes sobre los herbívoros, o indirectamente al sintetizar compuestos volátiles que atraen a los enemigos naturales de los insectos (Bruce, 2015).

El JA y sus derivados son reguladores clave en la respuesta de defensa de las plantas frente al ataque por insectos, mientras que otras hormonas, como el SA, el ET o ABA, que también están involucradas en defensa, pueden afectar a la respuesta mediada por JA (Pietersen *et al.*, 2012). En aquellas áreas donde los insectos herbívoros muerden las hojas, se activa siempre la respuesta por JA. No obstante, en zonas distales o incluso en plantas cercanas, también se pueden activar mecanismos de respuesta dependientes de JA debido a un proceso de inducción de volátiles por acción de herbívoros (HIPVs), que protegen la planta frente a futuros ataques al hacer que esta pase a un estado de “pre-defensa” o de activación de sus mecanismos de defensa (Frost *et al.*, 2008).

Muchos compuestos naturales o sintéticos han demostrado su capacidad para potenciar el sistema de defensa de las plantas cuando son tratadas con ellos y generar así una respuesta más rápida y eficiente cuando se produce la situación estresante, efecto conocido como “priming” (War *et al.* 2012). Esta resistencia inducida podría explotarse como una herramienta para el manejo de plagas a fin de minimizar las cantidades de insecticidas utilizadas para ello (War *et*

al., 2012). El efecto de “priming” en defensa vegetal evita los costos asociados con la activación permanente de la defensa completa, además de permitir que las plantas respondan al estrés biótico y abiótico con una activación de la defensa más rápida y más fuerte que las plantas no sometidas a este efecto. En la actualidad, se están investigando activamente los mecanismos moleculares del efecto de “priming” de defensa y se ha descrito la implicación de los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) y de las enzimas de señalización celular, por ejemplo las MAPK, la función del coactivador de la transcripción y las alteraciones en el estado de la cromatina (tales como las modificaciones de histonas en los promotores de los factores de transcripción *WRKY29*, *WRKY6* y *WRKY53*) (Conrath *et al.*, 2015).

El Hx es un compuesto natural y potente agente de “priming” dependiente de JA que protege frente a la infección por diversos hongos y bacterias, activando en cada caso particular respuestas específicas de acuerdo con el estilo de vida del patógeno (Vicedo *et al.*, 2009; Scalschi *et al.*, 2013; Aranega-Bou *et al.*, 2014). El tratamiento con Hx también se ha descrito que mejora la acción de las toxinas de *Bacillus thuringiensis* (Bt) contra larvas de CPB, coleóptero plaga de las solanáceas berenjena, patata y tomate (García-Robles *et al.*, 2013). Al estudiar el efecto de la proteína Cry3Aa contra este insecto plaga, se observó un incremento de la mortalidad ocasionada por esta toxina cuando las larvas se alimentaban de plantas de berenjena tratadas con Hx en comparación con las plantas no tratadas, lo que demuestra que el tratamiento con Hx afecta a la susceptibilidad de las larvas de CPB a la toxina Cry3Aa (García-Robles *et al.*, 2013).

En base a los efectos previamente observados en larvas de CPB alimentadas con plantas de berenjena tratadas con Hx (García-Robles *et al.*, 2013), el objetivo de este capítulo fue caracterizar, mediante un análisis proteómico, los cambios que se producen en el sistema digestivo del insecto debido a la acción de “priming” del Hx en la solanácea berenjena.

4.2. Resultados y discusión

4.2.1 Expresión del gen “*Miraculin-like Protease Inhibitor*” en plantas de berenjena

Para defenderse del ataque de insectos herbívoros, las plantas son capaces de inducir la síntesis de compuestos en respuesta al daño producido por su mordedura y alimentación, tales como, sustancias que inhiben el crecimiento de los insectos, proteínas implicadas en la reparación del tejido dañado o la activación de las vías de señalización en respuesta al daño (León *et al.*, 2001). Se ha observado que algunos de estos compuestos sintetizados por la planta son estables y capaces de permanecer intactos en el intestino del insecto (War *et al.*, 2012) y, en CPB, se ha descrito que se producen alteraciones digestivas compensatorias diferenciales en respuesta a la ingestión de plantas hospedadoras que expresan diferentes conjuntos de proteínas de defensa (Rivard *et al.*, 2004).

En un trabajo previo de nuestro grupo de investigación, se detectó el incremento de la actividad papaína en larvas de CPB alimentadas con plantas de berenjena tratadas con Hx frente a las alimentadas con plantas control (García-Robles *et al.*, 2013). Para evaluar si los cambios que se producen en la actividad proteolítica intestinal de las larvas de CPB se correlacionan con la síntesis de inhibidores de proteasas específicos por parte de las plantas de berenjena tratadas con Hx que ingieren estas larvas, se decidió realizar un análisis proteómico del contenido intestinal de las larvas alimentadas con plantas de berenjena tratadas y no tratadas con Hx. En este análisis del jugo intestinal de las larvas de CPB, se identificaron 52 proteínas expresadas diferencialmente provenientes de la planta, entre las cuales se encontraron 2 inhibidores de proteasas (tabla 1). En el jugo intestinal de las larvas alimentadas con plantas de berenjena tratadas con Hx se detectaron diversas enzimas antioxidantes, como peroxidasas, destacando un inhibidor de proteasas de la familia “miraculin-like” (MLP) de *S. lycopersicum*. Los inhibidores de proteasas (IPs) se caracterizan por inhibir la actividad de las enzimas digestivas en el intestino de los insectos, alterando la digestión de las proteínas y por ende, afectando a su crecimiento y desarrollo (Zhao *et al.*, 2018). Entre los IPs, destacan los pertenecientes a la familia Kunitz por su implicación en la respuesta frente al daño ocasionado por insectos herbívoros (War *et al.*, 2012). La MLP pertenece a esta familia, y está implicada en respuesta a estreses bióticos y abióticos (Gimeno *et al.*, 2009; Goodwin *et al.*, 2012; Podda *et al.*, 2013). Respecto a su implicación en la respuesta frente al daño generado por insectos herbívoros, Gahloth *et al.* (2011) describieron la participación de una MLP producida por la especie *Murraya koenigii* en la inhibición de proteasas presentes en el intestino de los lepidópteros plaga *Helicoverpa armigera* y *Spodoptera litura*, ocasionando en ellos una disminución de su crecimiento y desarrollo.

Tabla 1. Proteínas identificadas por LC-MS/MS en el jugo intestinal de larvas de CPB alimentadas con plantas de berenjena tratadas y no tratadas con ácido hexanoico.

Proteínas presentes en muestras control de CPB y no en muestras de CPB alimentado con plantas de berenjena tratadas con Hx				Proteínas presentes en muestras de CPB alimentado con plantas de berenjena tratadas con Hx pero no en muestras control			
Proteína identificada	score	Secuencia ID	Mr (kDa) ^a	Proteína identificada	score	Secuencia ID	Mr (kDa) ^a
2-cys peroxiredoxin BAS1, chloroplastic	119	XM 015207240.1	29	Suberization-associated anionic peroxidase 2-like	465	XM 006347105.2	38
Rhodanese-like domain-containing protein 4, chloroplastic	98	XM 015200478.1	51	Suberization-associated anionic peroxidase 2 (TAP2)	273,5	NM 001308391.1	39
Dihydrolipoyl dehydrogenase 1, chloroplastic-like	96,5	XM 015312476.1	61	Binding protein abp19a-like	209,5	XM 016724820.1	22
Fasciclin-like arabinogalactan protein 9	106	XM 016725369.1	27	Beta-xylosidase/alpha-l-arabinofuranosidase 2-like	135	XM 015200966.1	85
Pathogenesis-related protein R major form (PR-5/319)	56,5	XM 006364057.2	25	Peroxidase 12-like	60	XM 006358986.2	38
Subtilisin-like protease SBT1.7	72,5	XM 006342862.2	81	Subtilisin-like protease SBT1.7	99,5	XM 006345338.2	84
Serine protease inhibitor 5-like	85,5	XM 006351452.2	24	Endochitinase EP3	77	XM 006358976.1	30
Acidic mammalian chitinase-like	70	XM 006343623.2	42	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase CYP38	82,5	XM 004232242.3	49
Heme-binding protein 2	69,5	XM 004244270.3	26	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase CYP38	76	XM 016706054.1	49
Lipoxygenase homology domain-containing protein 1-like	64	XM 015212903.1	20	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur subunit 3	72,5	XM 016717525.1	36
Cyclin-u1-1	50	XM 016725185.1	27	Peroxidase 3-like	78	XM 006367212.2	36
Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 6	44	XM 015221172.1	53	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase, basic isoform 1	62	XM 006358140.2	40
Peroxidase p7-like	58,5	XM 006365264.2	35	Acid phosphatase 1-like	65	XM 006356072.2	30
Alpha-glucosidase-like	43	XM 006359288.2	101	Polygalacturonase inhibiting protein	52,5	FJ943498.1	37
Nad-dependent glyceraldehyde 3-P dehydrogenase	35,5	GQ422967.1	37	Reactive intermediate deaminase A	45	XM 006352446.2	20
Erwinia induced protein 2 (EI2)	39,5	NM 001288252.1	15	Kiwelin-like	56	XM 004251118.3	19
Alpha-l-arabinofuranosidase 1	49,5	XM 016688128.1	74	Secoisolaricresinol dehydrogenase-like	69	XM 006361549.2	31
Protoporphyrinogen oxidase	40,5	NM 001288295.1	60	Peroxidase n1-like	32,5	XM 015213984.1	36
Pleiotropic regulatory locus 1	41	XM 004229844.3	53	Dicer-like protein 4	41,5	XM 006343630.2	152
Acid phosphatase 1-like	53,5	XM 006359682.2	31	Subtilisin-like protease SBT1.7	37,5	XM 006339761.2	81
Gilt-like protein F37H8.5	47	XM 006344007.2	29	Miraculin-like	40,5	XM 004241432.3	23
Aspartyl protease aed3-like	38	XM 004252667.3	48	Palmitoyl-acyl carrier protein thioesterase	31,5	XM 006366808.2	47
Cold-inducible rna-binding protein-like	30	XM 019211009.1	12	Acidic 27 kda endochitinase	78,5	XM 006340755.2	27
				Deoxyhypusine synthase	43	XM 006348074.2	42
				Tetra-peptide repeat homeobox protein 1-like	34,5	XM 015313936.1	27
				Protein FMP32	35	XM 004248641.3	29
				Aldose 1-epimerase	36,5	XM 015208210.1	42
				Pectin methyl esterase (PME1)	34	NM 001287856.1	60
				Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein Q	31	XM 004248049.3	53

Debido al potencial papel de las MLPs en defensa, se analizaron los niveles de expresión del gen que codifica para la MLP identificada en el estudio proteómico en plantas de berenjena sin tratamiento, tratadas con Hx, dañadas por larvas de CPB y la combinación de ambos. Tras la infestación por larvas de CPB, la expresión del gen *MLP* se incrementó significativamente en estas plantas en comparación con las plantas del grupo control (figura 1A), confirmando la inducción del gen *MLP* en plantas de berenjena atacadas por el insecto plaga CPB, como también se había detectado anteriormente en plantas de la especie *Coffea Arabica* infestada por el minador de la hoja del café (Costa-Mondegó *et al.*, 2011). En concordancia con el efecto de “priming” generado por Hx en plantas de *Arabidopsis* y tomate tras la infección por patógenos (Vicedo *et al.*, 2009, Kravchuk *et al.*, 2011), la inducción del gen *MLP* fue mayor en las plantas de berenjena tratadas con Hx e infestadas por CPB en comparación con las plantas infestadas pero no tratadas con Hx (figura 1A). Consistente con el efecto de priming del Hx, las plantas tratadas con este inductor no mostraron variación en la expresión de *MLP* respecto a las plantas control no sometidas a ningún tratamiento (figura 1A).

Para determinar si el patrón de expresión observado podía deberse a un efecto de “priming” generado en las plantas por el tratamiento con Hx, se analizaron en las mismas plantas los niveles de expresión del factor de transcripción *WRKY53*, un gen marcador de este efecto descrito en Finiti *et al.* (2014), observándose en ambos genes (*MLP* y *WRKY53*) un patrón de expresión similar (figura 1B).

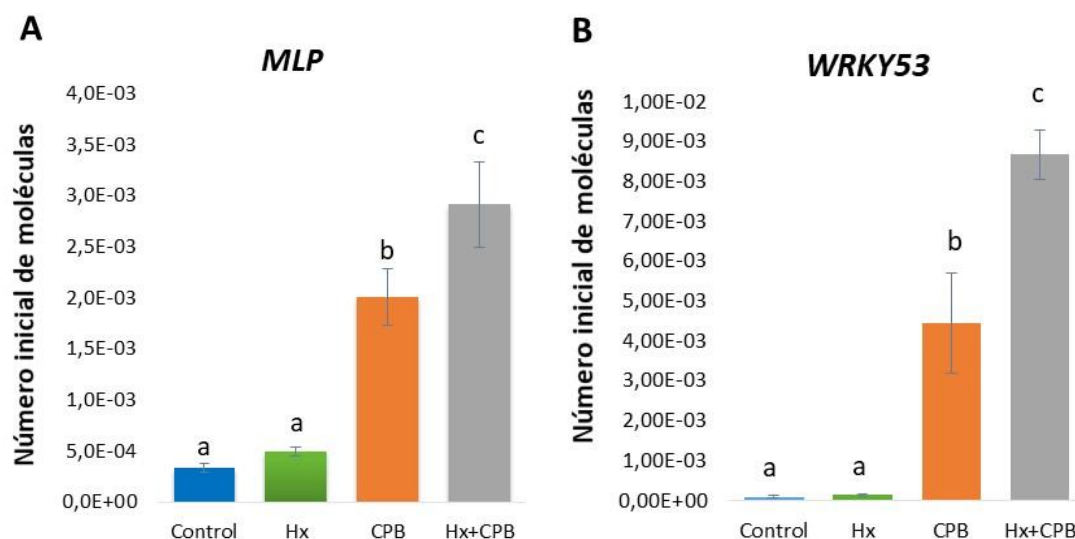


Figura 1. Análisis de expresión por RT-qPCR de los genes *MLP* (A) y *WRKY53* (B) en plantas de berenjena control, tratadas con ácido hexanoico, dañadas por larvas de CPB y la combinación de ambas condiciones. Los resultados que no presentan diferencias estadísticamente significativas (“Student’s *t*-test” $p < 0.05$) están indicados con la misma letra.

Estos resultados muestran por primera vez que el Hx actúa como agente de “priming” en plantas de berenjena, y que la inducción de la expresión del gen *MLP* contribuye a este efecto en esta planta de la familia *Solanaceae*. En tomate, el tratamiento con Hx seguido de la infección por

B. cinerea también induce la expresión de genes que codifican IPs que responden a JA, heridas y a la alimentación de insectos (Finiti *et al.*, 2014).

4.2.2 Regulación de la expresión del gen “*Miraculin-like Protease Inhibitor*” en plantas de berenjena

La inducción de la expresión de los genes que codifican para inhibidores de proteasas, tras el daño ocasionado por insectos herbívoros, ocurre a través de la vía de los octadecanoides, en la cual se cataliza la formación de JA a partir de ácido linoleico (Koiwa *et al.*, 1997). En estudios realizados en cítricos, se observó que la aplicación de un tratamiento con metil-jasmonato (me-JA) provoca la inducción de MLPs (Tsukuda *et al.*, 2006). Además, se ha descrito que la vía de señalización mediada por JA es relevante en plantas de berenjena y patata tratadas con Hx (García-Robles *et al.* 2013). Puesto que en los resultados mostrados en la figura 1A se observa la inducción del gen *MLP* tras producirse la infestación con CPB, se planteó la hipótesis de que la MLP podría estar regulada por la vía de las oxilipinas.

Para investigar la implicación de esta vía en la regulación del gen *MLP* en plantas de berenjena sometidas a “priming” por tratamiento con Hx, y dada la relación antagónica establecida entre las vías de señalización mediadas por SA y JA (Pieterse *et al.*, 2012), se aplicó a las plantas de berenjena un pretratamiento con SA previamente al tratamiento con Hx, para así alterar los perfiles hormonales de la vía de las oxilipinas, y se analizó la expresión del gen *MLP* y los niveles de SA, ABA, JA y OPDA en esas plantas. Comparando los resultados obtenidos en las plantas tratadas con SA con las que no habían recibido el pretratamiento, se observó que este pretratamiento no alteraba el efecto del Hx sobre los niveles de SA y ABA (figura 2A). Respecto a los niveles de las oxilipinas, estos no variaban al tratarse las plantas con Hx. No obstante, al aplicar el pretratamiento con SA y posteriormente el tratamiento con Hx, las plantas mostraron niveles incrementados de JA, mientras que los de OPDA disminuían (figura 2B).

Cuando se analizaron los niveles de expresión por RT-qPCR del gen *MLP* en el mismo conjunto de plantas, se observó que en las plantas de berenjena pretratadas con SA e inducidas con Hx disminuyeron los niveles de *MLP* en comparación con las plantas pretratadas con SA pero no inducidas con Hx (figura 2C), y que esto correlacionaba con los niveles disminuidos de OPDA (figura 2B).

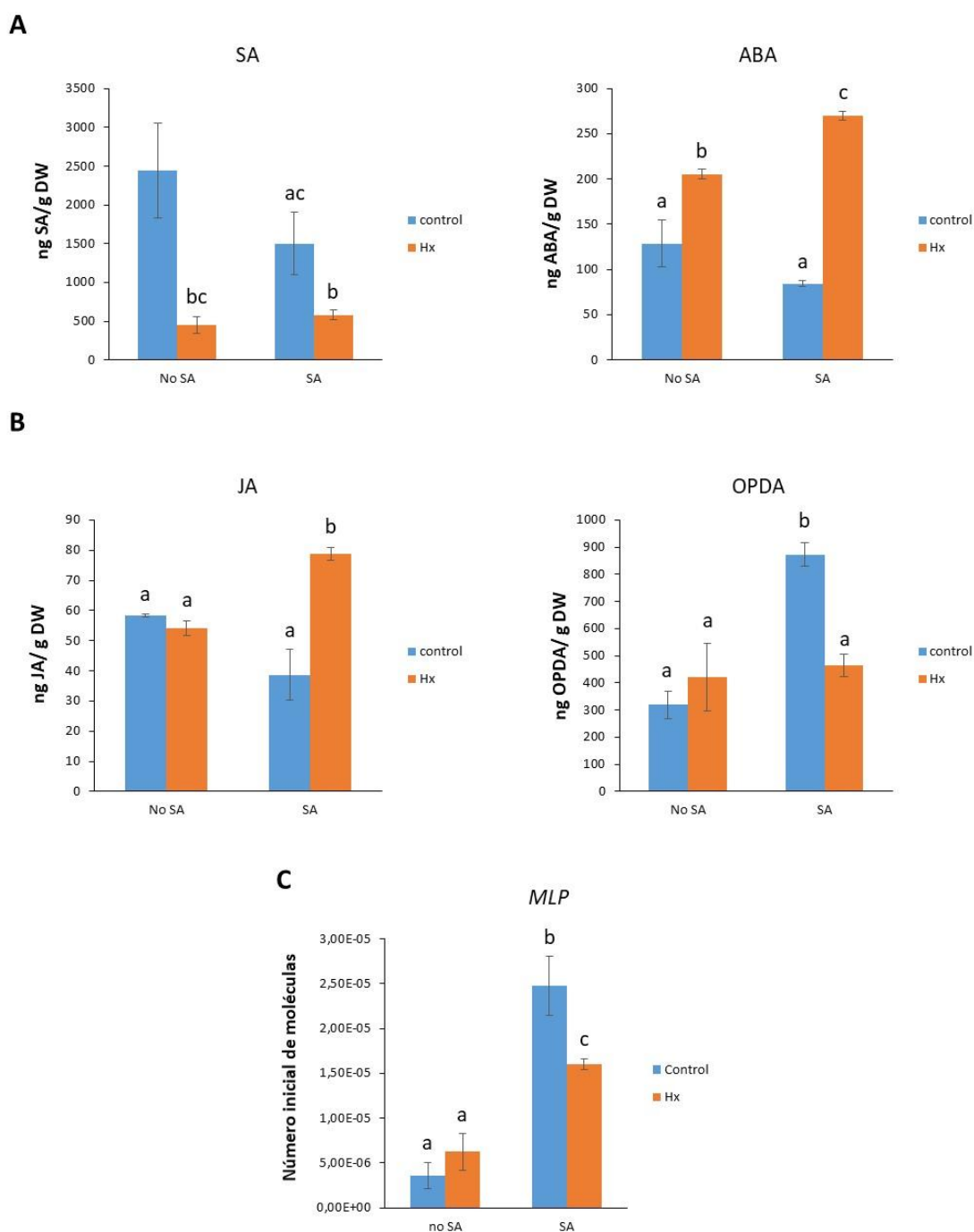


Figura 2. Niveles de las hormonas SA y ABA (A) y JA y OPDA (B) en plantas de berenjena pretratadas o no con SA y posteriormente inducidas con ácido hexanoico. C) Análisis de expresión por RT-qPCR del gen *MLP* en plantas de berenjena pretratadas o no con SA y posteriormente inducidas con ácido hexanoico. Los resultados que no presentan diferencias estadísticamente significativas ("Student's *t*-test" $p < 0.05$) están indicados con la misma letra.

En estudios realizados en tomate, se ha determinado que OPDA puede sustituir al JA en la inducción de genes de defensa (Bosch *et al.*, 2014). Además, este compuesto desempeña un papel importante en la respuesta frente a sequía y a la infección producida por el hongo *B. cinerea* en plantas de tomate y *Arabidopsis* (Bosch *et al.*, 2014; Savchenko y Dehesh, 2014).

Por consiguiente, analizamos los niveles de *MLP* por RT-qPCR en plantas de berenjena sometidas a estrés por sequía y a la infección producida por *B. cinerea*, observándose, en ambos casos, una inducción de su expresión respecto a plantas no estresadas (figura 3). Estos resultados caracterizan al gen *MLP* como un buen biomarcador en respuesta a sequía y al daño producido *B. cinerea* y CPB.

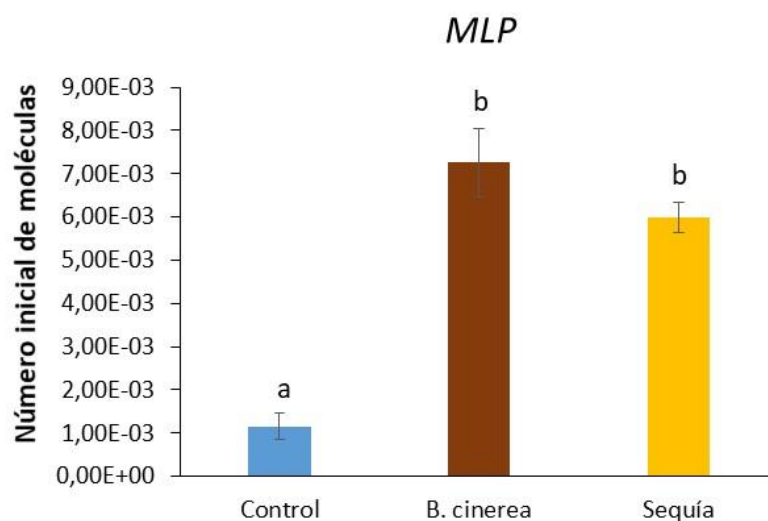


Figura 3. Análisis de expresión por RT-qPCR del gen *MLP* en plantas de berenjena infectadas por el hongo *B. cinerea* y sometidas a sequía. Los resultados que no presentan diferencias estadísticamente significativas ("Student's *t*-test" $p < 0.05$) están indicados con la misma letra.

Los análisis llevados a cabo del gen *MLP* en plantas de berenjena tratadas con Hx y posteriormente sometidas a distintas condiciones de estrés, han permitido poder extender el efecto de "priming" generado por Hx en la respuesta específica al daño generado por patógenos (Aranega-Bou *et al.*, 2014), a la defensa generada por la planta frente a los insectos herbívoros, convirtiendo al Hx en un agente de "priming" muy versátil con grandes aplicaciones para la protección vegetal en campo. Por otro lado, OPDA podría estar involucrada en la regulación de la expresión del gen *MLP* de berenjena, por lo que este gen se erige como un potencial biomarcador de estrés en respuesta al efecto de "priming" generado por Hx.

Conclusiones

Las conclusiones que pueden extraerse de los resultados presentados en la presente tesis doctoral son las siguientes:

1. Mediante técnicas de secuenciación masiva de sARN de plantas de tomate sometidas a 6 condiciones distintas de estrés, se han identificado 104 miARNs pertenecientes a 37 familias de miARNs. De ellos, 41 presentaron variación en sus niveles en respuesta a estrés. La mayoría mostraron una expresión diferencial solamente en una de las condiciones de estrés bajo estudio, muy pocos estaban implicados en respuesta a dos o más condiciones, y no se detectó ninguno asociado a una respuesta general a estrés. El análisis de expresión de los miARNs, junto con el de sus dianas génicas predichas, evidencia la gran adaptación molecular que realizan las plantas para hacer frente a las condiciones adversas a las que son sometidas.
2. En respuesta a estrés por sequía en plantas de tomate, el miARN *sly-miR159* actúa de forma específica regulando la expresión del factor de transcripción de la familia *MYB* *SI**MYB33*, concomitante con la acumulación de los compuestos osmoprotectores prolina y putrescina, generando un ambiente osmoprotector que confiere resistencia a la planta de tomate durante el déficit hídrico.
3. En respuesta frente a estreses bióticos, hemos demostrado que, en plantas de tomate, se induce la expresión del factor de transcripción *SI**WRKY75* y aumentan los niveles de JA. Se propone el posible papel de *SI**WRKY75* como regulador transcripcional de la vía del JA.
4. En el genoma de tomate, se ha identificado un nuevo miRNA, *sly-miR1127-3p* (denominado así por homología con su ortólogo en trigo), cuyo sitio de unión se localiza en la región intrónica del gen *SI**WRKY75*. Se aportan evidencias de que, en respuesta a la infección por *B. cinerea*, *sly-miR1127-3p* podría ser un regulador epigenético de la expresión del gen *SI**WRKY75* que, mediante un mecanismo no canónico, desencadenaría la metilación de regiones del ADN adyacentes a dicho gen, en las que se detecta acumulación de la marca H3K4me3.
5. Se ha caracterizado el gen *MLP* como un gen de respuesta al estrés provocado por el ataque del insecto plaga CPB, la infección por *B. cinerea* o la sequía, además de como un potencial biomarcador del efecto de “priming” generado por Hx en respuesta al daño producido por insectos herbívoros. Las evidencias a favor de la implicación de OPDA en la regulación de la inducción de la expresión génica de *MLP* en los insectos alimentados con plantas tratadas con el inductor, apoyan que la respuesta a estrés puede estar mediada a través de la ruta de señalización de las oxilipinas.

Bibliografía

- Akdogan, G., Tufekci, E. D., Uranbey, S., y Unver, T. (2015). miRNA-based drought regulation in wheat. *Functional and Integrative Genomics*, 16(3), 221–233. <https://doi.org/10.1007/s10142-015-0452-1>
- Alcázar, R., Cuevas, J. C., Patron, M., Altabella, T., y Tiburcio, A. F. (2006). Abscisic acid modulates polyamine metabolism under water stress in *Arabidopsis thaliana*. *Physiologia Plantarum*, 128(3), 448–455. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00780.x>
- Ali, I., Amin, I., Briddon, R. W., y Mansoor, S. (2013). Artificial microRNA-mediated resistance against the monopartite begomovirus Cotton leaf curl Burewala virus. *Virology Journal*, 10(1), 210–231. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-10-231>
- Allen, R. S., Li, J., Stahle, M. I., Dubroué, A., Gubler, F., y Millar, A. A. (2007). Genetic analysis reveals functional redundancy and the major target genes of the *Arabidopsis miR159* family. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, 104(41), 16371–16376. <https://doi.org/10.1073/pnas.0707653104>
- Alvarez, M. E., Nota, F., y Cambiagno, D. A. (2010). Epigenetic control of plant immunity. *Molecular Plant Pathology*, 11(4), 563–576. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00621.x>
- Alyokhin, A., Baker, M., Mota-Sanchez, D., Dively, G., y Grafius, E. (2008). Colorado potato beetle resistance to insecticides. *American Journal of Potato Research*, 85(6), 395–413. <https://doi.org/10.1007/s12230-008-9052-0>
- Ambawat, S., Sharma, P., Yadav, N. R., y 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. <https://doi.org/10.1007/s12298-013-0179-1>
- Ambros, V., Bartel, B., Bartel, D. P., Burge, C. B., Carrington, J. C., Chen, X., Dreyfuss, G., Eddy, S. R., Griffiths-Jones, S., Marshall, M., Matzke, M., Ruvkun, G., y Tuschl, T. (2003). Uniform system for microRNA annotation. *Nucleic Acids Research*, 31(3), 277–279. <https://doi.org/10.1261/rna.2183803>
- Anjum, S. A., Xiao-Yu, X., Wang, L., Saleem, M. F., Man, C., y Lei, W. (2011). Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6(9), 2026–2032. <https://doi.org/10.5897/AJAR10.027>
- Aranega-Bou, P., de la O Leyva, M., Finiti, I., García-Agustín, P., y Gonzalez-Bosch, C. (2014). Priming of plant resistance by natural compounds. Hexanoic acid as a model. *Frontiers in Plant Science*, 5(1), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00488>
- Atkinson, N. J., y Urwin, P. E. (2012). The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *Journal of Experimental Botany*, 63(2), 3523–3544. <https://doi.org/10.1093/jxb/err313>
- Avramova, Z. (2015). Transcriptional “memory” of a stress: Transient chromatin and memory (epigenetic) marks at stress-response genes. *Plant Journal*, 83(1), 149–159. <https://doi.org/10.1111/tpj.12832>
- Axtell, M. J. (2005). Antiquity of microRNAs and their targets in land plants. *The Plant Cell*, 17(6), 1658–1673. <https://doi.org/10.1105/tpc.105.032185>
- Axtell, M. J., Westholm, J. O., y Lai, E. C. (2011). Vive la différence: biogenesis and evolution of microRNAs in plants and animals. *Genome Biology*, 12(4), 212–221.
- Axtell, M. J. (2013). Classification and comparison of small RNAs from plants. *Annual Review of*

- Plant Biology*, 64(1), 137–159. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120043>
- Bakshi, M., y Oelmüller, R. (2014). Wrky transcription factors jack of many trades in plants. *Plant Signaling and Behavior*, 9(2), e27700. <https://doi.org/10.4161/psb.27700>
- Balcells, I., Cirera, S., y Busk, P. K. (2011). Specific and sensitive quantitative RT-PCR of miRNAs with DNA primers. *BMC Biotechnology*, 11(2), 70–81. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-11-70>
- Baldrich, P., Campo, S., Wu, M. T., Liu, T. T., Hsing, Y. I. C., y Segundo, B. S. (2015). MicroRNA-mediated regulation of gene expression in the response of rice plants to fungal elicitors. *RNA Biology*, 12(8), 847–863. <https://doi.org/10.1080/15476286.2015.1050577>
- Bale, J., Masters, G. J., Hodkins, I. D., Awmack, C., Bezemer, T. M., Brown, V. K., Butterfield, J., Buse, A., Coulson, J. C., Farrar, J., Good, J. E. G., Harrington, R., Hartley, S., Jones, T. H., Lindroth, R. L., Press, M. C., Symrnioudis, I., Watt, A. D., y Whittaker, J. B. (2002). Herbivory in global climate change research: direct effects of rising temperature on insect herbivores. *Global Change Biology*, 8(2), 1–16. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2486.2002.00451.x>
- Bari, R., y Jones, J. D. G. (2009). Role of plant hormones in plant defence responses. *Plant Molecular Biology*, 69(4), 473–488. <https://doi.org/10.1007/s11103-008-9435-0>
- Bartel, D. P. (2004). MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116(2), 281–297. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(04\)00045-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(04)00045-5)
- Basso, M. F., Gomes, P. C., Kenji, A., Harmon, F. G., Lima, A., Correa, H. B., y Grossi-de-Sa, M. F. (2019). MicroRNAs and new biotechnological tools for its modulation and improving stress tolerance in plants. *Plant Biotechnology Journal*, 17(8), 1482–1500. <https://doi.org/10.1111/pbi.13116>
- Basu, S., Ramegowda, V., Kumar, A., y Pereira, A. (2016). Plant adaptation to drought stress. *F1000Research*, 5(1), 1554–1570. <https://doi.org/10.12688/F1000RESEARCH.7678.1>
- Beckers, G. J., y Spoel, S. H. (2006). Fine-tuning plant defence signalling: salicylate versus jasmonate. *Plant Biology*, 8(1), 1–10. <https://doi.org/10.1055/s-2005-872705>
- Bej, S., y Basak, J. (2014). MicroRNAs: The potential biomarkers in plant stress response. *American Journal of Plant Sciences*, 5(5), 748–759. <https://doi.org/10.4236/ajps.2014.55089>
- Bienert, M. D., Siegmund, S. E. G., Drozak, A., Trombik, T., Bultreys, A., Baldwin, I. T., y Boutry, M. (2012). A pleiotropic drug resistance transporter in *Nicotiana tabacum* is involved in defense against the herbivore *Manduca sexta*. *The Plant Journal*, 72, 745–757. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2012.05108.x>
- Bisgrove, S. R., Simonich, M. T., Smith, N. M., Sattler, A., y Innes, R. W. (1994). A disease resistance gene in *Arabidopsis* with specificity for two different pathogen avirulence genes. *Plant Cell*, 6(7), 927–933. <https://doi.org/10.1105/tpc.6.7.927>
- Bittel, P., y Robatzek, S. (2007). Microbe-associated molecular patterns (MAMPs) probe plant immunity. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(4), 335–341. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2007.04.021>
- Blée, E. (2002). Impact of phyto-oxylipins in plant defense. *Trends in Plant Science*, 7, 315–322. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02290-2](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02290-2)
- Blondal, T., Brunetto, M. R., Cavallone, D., Mikkelsen, M., Thorsen, M., Mang, Y., Pinheiro, H., Bonino, F., y Mouritzen, P. (2017). Genome-Wide comparison of Next-Generation

- Sequencing and qPCR platforms for microRNA profiling in serum. *Methods in Molecular Biology*, 1580(1), 21–44. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6866-4>
- Boller, T., y He, S. Y. (2009). Innate immunity in plants: An arms race between pattern recognition receptors in plants and effectors in microbial pathogens. *Science*, 324(5928), 742–744. <https://doi.org/10.1126/science.1171647>.
- Bombarely, A., Rosli, H. G., Vrebalov, J., Moffett, P., Mueller, L. A., y Martin, G. B. (2012). A draft genome sequence of *Nicotiana benthamiana* to enhance molecular plant-microbe biology research. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 25(12), 1523–1530. <https://doi.org/10.1094/MPMI-06-12-0148-TA>
- Bonaventure, G. (2012). Perception of insect feeding by plants. *Plant Biology*, 14(6), 872–880. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2012.00650.x>
- Bortesi, L., y Fischer, R. (2015). The CRISPR/Cas9 system for plant genome editing and beyond. *Biotechnology Advances*, 33(1), 41–52. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.12.006>
- Bosch, M., Wright, L. P., Gershenzon, J., Wasternack, C., Hause, B., Schaller, A., y Stintzi, A. (2014). Jasmonic Acid and its precursor 12-Oxophytodienoic Acid control different aspects of constitutive and induced herbivore defenses in tomato. *Plant Physiology*, 166(2), 396–410. <https://doi.org/10.1104/pp.114.237388>
- Bozorov, T. A., Baldwin, I. T., y Kim, S. G. (2012). Identification and profiling of miRNAs during herbivory reveals jasmonate-dependent and -independent patterns of accumulation in *Nicotiana attenuata*. *BMC Plant Biology*, 12(1), 209–222. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-209>
- Bruce, T. J. A. (2015). Interplay between insects and plants: dynamic and complex interactions that have coevolved over millions of years but act in milliseconds. *Journal of Experimental Botany*, 66(2), 455–465. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru391>
- Budak, H., y Akpinar, B. A. (2015). Plant miRNAs: biogenesis, organization and origins. *Functional and Integrative Genomics*, 15(5), 523–531. <https://doi.org/10.1007/s10142-015-0451-2>
- Cabrera, J., Barcala, M., García, A., Rio-Machín, A., Medina, C., Jaubert-Possamai, S., Favery, B., Maizel, A., Ruiz-Ferrer, V., Fenoll, C., y Escobar, C. (2016). Differentially expressed small RNAs in arabidopsis galls formed by *Meloidogyne javanica*: A functional role for *miR390* and its TAS3-derived tasiRNAs. *New Phytologist*, 209(4), 1625–1640. <https://doi.org/10.1111/nph.13735>
- Candar-Cakir, B., Arican, E., y Zhang, B. (2016). Small RNA and degradome deep sequencing reveals drought-and tissue-specific micrnas and their important roles in drought-sensitive and drought-tolerant tomato genotypes. *Plant Biotechnology*, 14(8), 7–1746. <https://doi.org/10.1111/pbi.12533>
- Carmona, D., y Fornoni, J. (2013). Herbivores can select for mixed defensive strategies in plants. *New Phytologist*, 197(2), 576–585. <https://doi.org/10.1111/nph.12023>
- Chakraborty, S., y Newton, A. C. (2011). Climate change, plant diseases and food security: An overview. *Plant Pathology*, 60(1), 2–14. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02411.x>
- Chapman, E. J., y Carrington, J. C. (2007). Specialization and evolution of endogenous small RNA pathways. *Nature Reviews Genetics*, 8(11), 884–896. <https://doi.org/10.1038/nrg2179>
- Chen, X. (2004). A MicroRNA as a translational repressor of *APETALA2* in arabidopsis flower

- development. *Science*, 303(5666), 2022–2025. <https://doi.org/10.1126/science.1088060>
- Chen, I. C., Hill, J. K., Ohlemüller, R., Roy, D. B., y Thomas, C. D. (2011). Rapid range shifts of species associated with high levels of climate warming. *Science*, 333(6045), 1024–1026. <https://doi.org/10.1126/science.1206432>
- Chen, X., Liu, J., Ling, G., Wang, A., Wang, Z., y Lu, G. (2013.) Overexpression of *AtWRKY28* and *AtWRKY75* in *Arabidopsis* enhances resistance to oxalic acid and *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Cell Reports*, 32(10), 1589–1599. <https://doi.org/10.1007/s00299-013-1469-3>
- Chi, M., Liu, C., Su, Y., Tong, Y., y Liu, H. (2015). Bioinformatic prediction of upstream microRNAs of PPO and novel microRNAs in potato. *Canadian Journal of Plant Science*, 95(5), 871–877. <https://doi.org/10.4141/cjps-2014-308>
- Choi, C., Park, Y. H., Kwon, S. I., Yun, C., Ahn, I., Park, S. R., y Hwang, D. J. (2014). Identification of *AtWRKY75* as a transcriptional regulator in the defense response to *Pcc* through the screening of *Arabidopsis* activation-tagged lines. *Plant Biotechnology Reports*, 8(3), 183–192. <https://doi.org/10.1007/s11816-013-0308-x>
- Conrath, U., Beckers, G. J. M., Langenbach, C. J. G., y Jaskiewicz, M. R. (2015). Priming for enhanced defense. *Annual Review of Phytopathology*, 53(1), 97–119. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-120132>
- Costa-Mondego, J. M., Pasini-Duarte, M., Kiyota, E., Martínez, L., Rodrigues de Camargo, S., de Caroli, F. P., Santos, B., Carmello, S. M., Vilela, M. L., Guerreiro-Filho, O., y Menossi, M. (2011). Molecular characterization of a miraculin-like gene differentially expressed during coffee development and coffee leaf miner infestation. *Planta*, 233(7), 123–137. <https://doi.org/10.1007/s00425-010-1284-9>
- Cramer, G. R., Urano, K., Delrot, S., Pezzotti, M., y Shinozaki, K. (2011). Effects of abiotic stress on plants: A systems biology perspective. *BMC Plant Biology*, 11(1), 163–177. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-163>
- Creelman, R. A., y Mulpuri, R. (2002). The oxylipin pathway in arabidopsis. *The Arabidopsis Book*, 1, e0012. <https://doi.org/10.1199/tab.0012>
- Crespo-Salvador, Ó., Escamilla-Aguilar, M., López-Cruz, J., López-Rodas, G., y González-Bosch, C. (2018). Determination of histone epigenetic marks in arabidopsis and tomato genes in the early response to *Botrytis cinerea*. *Plant Cell Reports*, 37(1), 153–166. <https://doi.org/10.1007/s00299-017-2218-9>
- Crespo-Salvador, Ó., Sánchez-Giménez, L., López-Galiano, M. J., Fernández-Crespo, E., Schalschi, L., García-robles, I., Rausell, C., Real, M. D., y González-Bosch, C. (2020). The histone marks signature in exonic and intronic regions is relevant in early response of tomato genes to *Botrytis cinerea* and in miRNA regulation. *Plants*, 9(3), 300–317. <https://doi.org/10.3390/plants9030300>
- Crisp, P. A., Ganguly, D., Eichten, S. R., Borevitz, J. O., y Pogson, B. J. (2016). Reconsidering plant memory: Intersections between stress recovery, RNA turnover, and epigenetics. *Science Advances*, 2(2), e1501340. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1501340>
- Cuperus, J. T., Carbonell, A., Fahlgren, N., Garcia-Ruiz, H., Burke, R. T., Takeda, A., Sullivan, C. M., Gilbert, S. D., Montgomery, T. A., y Carrington, J. C. (2010). Unique functionality of 22-nt miRNAs in triggering RDR6-dependent siRNA biogenesis from target transcripts in *Arabidopsis*. *Nature Structural and Molecular Biology*, 17(1), 997–1003. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1866>

- Cuperus, J. T., Fahlgren, N., y Carrington, J. C. (2011). Evolution and functional diversification of MIRNA Genes. *The Plant Cell*, 23(2), 431–442. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.082784>
- Curaba, J., Singh, M. B., y Bhalla, P. L. (2014). miRNAs in the crosstalk between phytohormone signalling pathways. *Experimental Botany*, 65(6), 1425–1438. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru002>
- Cutler, S. R., Rodriguez, P. R., Finkelstein, R. R., y Abrams, S. R. (2010). Abscisic acid: Emergence of a core signaling network. *Annual Review of Plant Biology*, 61(1), 651–679. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112122>
- Dar, T. A., Uddin, M., Khan, M. M. A., Hakeem, K. R., y Jaleel, H. (2015). Jasmonates counter plant stress: A review. *Environmental and Experimental Botany*, 115(2015), 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.02.010>
- Day, B., Henty, J. L., Porter, K. J., y Staiger, C. J. (2011). The Pathogen-Actin connection: A platform for defense signaling in plants. *Annual Review of Phytopathology*, 49(1), 483–506. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-072910-095426>
- Devaiah, B. N., Karthikeyan, A. S., y Raghothama, K. G. (2007). WRKY75 transcription factor is a modulator of phosphate acquisition and root development in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 143(4), 1789–1801. <https://doi.org/10.1104/pp.106.093971>
- Ding, Y., Tao, Y., 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. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert164>
- Ding, B., y Wang, G. L. (2015). Chromatin versus pathogens: The function of epigenetics in plant immunity. *Frontiers in Plant Science*, 6(2), 675–683. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00675>
- Draeger, C., Ndiyanka Fabrice, T., Gineau, E., Mouille, G., Kuhn, B. M., Moller, I., Abdou, M. T., Frey, B., Pauly, M., Bacic, A., y Ringli, C. (2015). *Arabidopsis* leucine-rich repeat extensin (LRX) proteins modify cell wall composition and influence plant growth. *BMC Plant Biology*, 15(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12870-015-0548-8>
- Dubos, C., Stracke, R., Grotewold, E., Weisshaar, B., Martin, C., y Lepiniec, L. (2010). MYB transcription factors in *Arabidopsis*. *Trends in Plant Science*, 15(10), 573–581. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.06.005>
- Emamverdian, A., Ding, Y., Mokhberdoran, F., y Xie, Y. (2015). Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response. *Scientific World Journal*, 2015(1), 756120. <https://doi.org/10.1155/2015/756120>
- Encinas-Villarejo, S., Maldonado, A. M., Amil-Ruiz, F., de Los Santos, B., Romero, F., Pliego-Alfaro, F., Muñoz-Blanco, J., y Caballero, J. L. (2009). Evidence for a positive regulatory role of strawberry (*Fragaria × ananassa*) Fa WRKY1 and *Arabidopsis* at WRKY75 proteins in resistance. *Journal of Experimental Botany*, 60(11), 3043–3065. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp152>
- Espinas, N. A., Saze, H., y Saijo, Y. (2016). Epigenetic control of defense signaling and priming in plants. *Frontiers in Plant Science*, 7(1), 1201–1208. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01201>
- Fahlgren, N., Howell, M. D., Kasschau, K. D., Chapman, E. J., Sullivan, C. M., Cumbie, J. S., Givan, S. A., Law, T. F., Grant, S. R., Dangl, J. L., y Carrington, C. (2007). High-Throughput sequencing of *Arabidopsis* microRNAs: Evidence for frequent birth and death of MIRNA

- genes. *PLoS ONE*, 2(2), e219. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000219>
- Fammartino, A., Cardinale, F., Göbel, C., Mène-Saffrané, L., Fournier, J., Feussner, I., y Esquerré-Tugayé, M. T. (2007). Characterization of a divinyl ether biosynthetic pathway specifically associated with pathogenesis in tobacco. *Plant Physiology*, 143(1), 378–388. <https://doi.org/10.1104/pp.106.087304>
- Farhat, S., Jain, N., Singh, N., Sreevathsa, R., Dash, P. K., Rai, R., Yadav, S., Kumar, P., Sarkar, A. K., Jain, A., Singh, N. K., y Rai, V. (2019). CRISPR-Cas9 directed genome engineering for enhancing salt stress tolerance in rice. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 96(12), 91–99. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2019.05.003>
- Farmer, E. E., Alméras, E., y Krishnamurthy, V. (2003). Jasmonates and related oxylipins in plant responses to pathogenesis and herbivory. *Current Opinion in Plant Biology*, 6(4), 372–378. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(03\)00045-1](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(03)00045-1)
- Fayez, K. A., y Bazaid, S. A. (2014). Improving drought and salinity tolerance in barley by application of salicylic acid and potassium nitrate. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 13(1), 45–55. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2013.01.001>
- Felippes, F. F., Marchais, A., Sarazin, A., Oberlin, S., y Voinnet, O. (2017). A single *miR390* targeting event is sufficient for triggering TAS3-tasiRNA biogenesis in *Arabidopsis*. *Nucleic Acids Research*, 45(9), 5539–5554. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx119>
- Finiti, I., de la O. Leyva, M., Vicedo, B., Gómez-Pastor, R., López-Cruz, J., García-Agustín, P., Real, M. D., y González-Bosch, C. (2014). Hexanoic acid protects tomato plants against *Botrytis cinerea* by priming defence responses and reducing oxidative stress. *Molecular Plant Pathology*, 15(6), 550–562. <https://doi.org/10.1111/mpp.12112>
- Freeman, B. C., y Beattie, G. A. (2008). An overview of plant defenses against pathogens and herbivores. *The Plant Health Instructor*, 94(1), 1–12. <https://doi.org/10.1094/phi-i-2008-0226-01>
- Frost, C. J., Mescher, M. C., Carlson, J. E., y de Moraes, C. M. (2008). Plant defense priming against herbivores: getting ready for a different battle. *Plant Physiology*, 146(3), 818–824. <https://doi.org/10.1104/pp.107.113027>
- Fürstenberg-Hägg, J., Zagrobelny, M., y Bak, S. (2013). Plant defense against insect herbivores. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(5), 10242–10297. <https://doi.org/10.3390/ijms140510242>
- Gahlth, D., Shukla, U., Birah, A., Gupta, G. P., Kumar, P. A., Dhaliwal, H. S., y Sharma, A. K. (2011). Bioinsecticidal activity of *Murraya koenigii* miraculin-like protein against *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera litura*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 78(3), 132–144. <https://doi.org/10.1002/arch.20448>
- Gao, Z. H., Yang, Y., Zhang, Z., Zhao, W. T., Meng, H., Jin, Y., Huang, J. Q., Xu, Y. H., Zhao, L. Z., Liu, J., y Wei, J. H. (2014). Profiling of microRNAs under wound treatment in *Aquilaria sinensis* to identify possible microRNAs involved in agarwood formation. *International Journal of Biological Sciences*, 10(5), 500–510. <https://doi.org/10.7150/ijbs.8065>
- García-Robles, I., Ochoa-Campuzano, C., Fernández-Crespo, E., Camañes, G., Martínez-Ramírez, A. C., González-Bosch, C., García-Agustín, P., Rausell, C., y Real, M. D. (2013). Combining hexanoic acid plant priming with *bacillus thuringiensis* insecticidal activity against colorado potato beetle. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(6), 12138–12156. <https://doi.org/10.3390/ijms140612138>

- Gazzani, S., Li, M., Maistri, S., Scarponi, E., Graziola, M., Barbaro, E., Wunder, J., Furini, A., Saedler, H., y Varotto, C. (2009). Evolution of *MIR168* paralogs in brassicaceae. *BMC Evolutionary Biology*, 9(2), 62–76. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-9-62>
- Gebhardt, C. (2016). The historical role of species from the *Solanaceae* plant family in genetic research. *Theoretical and Applied Genetics*, 129(12), 2281–2294. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2804-1>
- Gechev, T. S., van Breusegem, F., Stone, J. M., Denev, I., y Laloi, C. (2006). Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death. *BioEssays*, 28(11), 1091–1101. <https://doi.org/10.1002/bies.20493>
- Gimeno, J., Gadea, J., Forment, J., Pérez-Valle, J., Santiago, J., Martínez-Godoy, M. A., Yenush, L., Bellés, J. M., Brumós, J., Colmenero-Flores, J. M., Talón, M., y Serrano, R. (2009). Shared and novel molecular responses of mandarin to drought. *Plant Molecular Biology*, 70(1), 403–420. <https://doi.org/10.1007/s11103-009-9481-2>
- Gómez-Gómez, L. (2004). Plant perception systems for pathogen recognition and defence. *Molecular Immunology*, 41(11), 1055–1062. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2004.06.008>
- Goodwin, P. H., Xie, W., y Valliani, M. (2012). Three genes of miraculin-like proteins from *Nicotiana benthamiana* with dissimilar putative structures show highly similar patterns of induction following bacterial and fungal infections. *European Journal of Plant Pathology*, 134(4), 795–810. <https://doi.org/10.1007/s10658-012-0056-8>
- Gruber, A. R., Lorenz, R., Bernhart, S. H., Neuböck, R., y Hofacker, I. L. (2008). The vienna RNA websuite. *Nucleic Acids Research*, 36(2), 70–74. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn188>
- Gupta, B., Sengupta, A., Saha, K., y Gupta, K. (2013). Plant abiotic stress: ‘Omics’ approach. *Journal of Plant Biochemistry and Physiology*, 1(3), 16–18. <https://doi.org/10.4172/2329-9029.1000e108>
- Gupta, O. P., Sharma, P., Gupta, R. K., y Sharma, I. (2014). Current status on role of miRNAs during plant-fungus interaction. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 85(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2013.10.002>
- Hackenberg, M., Gustafson, P., Langridge, P., y 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. <https://doi.org/10.1111/pbi.12220>
- Han, R., Jian, C., Liv, J., Yan, Y., Chi, Q., Li, Z., Wang, Q., Zhang, J., Liu, X., y Zhao, H. (2014). Identification and characterization of microRNAs in the flag leaf and developing seed of wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Genomics*, 15(2), 289–303. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-289>
- Hanif, R., Iqbal, Z., Iqbal, M., Hanif, S., y Rasheed, M. (2006). Use of vegetables as nutritional food: role in human health. *Journal of Agricultural and Biological Science*, 1(1), 18–22.
- Harrington, R., Fleming, R. A., y Woiwod, I. P. (2001). Climate change impacts on insect management and conservation in temperate regions: Can they be predicted?. *Agricultural and Forest Entomology*, 3(4), 233–240. <https://doi.org/10.1046/j.1461-9555.2001.00120.x>
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Alam, M. M., Roychowdhury, R., y Fujita, M. (2013). Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(5), 9643–9684. <https://doi.org/10.3390/ijms14059643>

- Hayashi, S., Ishii, T., Matsunaga, T., Tominaga, R., Kuromori, T., Wada, T., Shinozaki, K., y Hirayama, T. (2008). The glycerophosphoryl diester phosphodiesterase-like proteins SHV3 and its homologs play important roles in cell wall organization. *Plant and Cell Physiology*, 49(10), 1522–1535. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcn120>
- Hayward, A. C. (1991). Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology*, 29(1), 65–87. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.29.090191.000433>
- He, L., y Hannon, G. J. (2004). MicroRNAs: Small RNAs with a big role in gene regulation. *Nature Reviews Genetics*, 5(7), 522–531. <https://doi.org/10.1038/nrg1379>
- He, P., Shan, L., y Sheen, J. (2007). Elicitation and suppression of microbe-associated molecular pattern-triggered immunity in plant-microbe interactions. *Cellular Microbiology*, 9(6), 1385–1396. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2007.00944.x>
- He, G. H., Xu, J. Y., Wang, Y. X., Liu, J. M., Li, P. S., Chen, M., Ma, Z. Y., y Xu, Z. S. (2016). Drought-responsive WRKY transcription factor genes *TaWRKY1* and *TaWRKY33* from wheat confer drought and/or heat resistance in arabidopsis. *BMC Plant Biology*, 16(1), 116–132. <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0806-4>
- He, M., He, C. Q., y Ding, N. Z. (2018). Abiotic stresses: General defenses of land plants and chances for engineering multistress tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 9(1), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01771>
- Hirakawa, H., Shirasawa, K., Miyatake, K., Nunome, T., Negoro, S., Ohyama, A., Yamaguchi, H., Sato, S., Isobe, S., Tabata, S., y Fukuoka, H. (2014). Draft genome sequence of eggplant (*Solanum melongena* L.): the representative solanum species indigenous to the old world. *DNA Research : An International Journal for Rapid Publication of Reports on Genes and Genomes*, 21(6), 649–660. <https://doi.org/10.1093/dnares/dsu027>
- Hoagland, D. R., y Arnon, D. I. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. *Circular of California University*, 347(1), 1–32.
- Hossain, M. A., Wani, S. H., Bhattacharjee, S., Burritt, D. J., y Tran, L. S. P. (2016). Drought stress tolerance in plants. *Springer International Publishing: Basel, Switzerland, 1st ed, 2*, ISBN 978-3-319-32421-0.
- Huang, S., Gao, Y., Liu, J., Peng, X., Niu, X., Fei, Z., Cao, S., y Liu, Y. (2012). Genome-wide analysis of WRKY transcription factors in *Solanum lycopersicum*. *Molecular Genetics and Genomics*, 287(1), 495–513. <https://doi.org/10.1007/s00438-012-0696-6>
- Huang, W., Xian, Z., Kang, X., Tang, N., y Li, Z. (2015). Genome-wide identification, phylogeny and expression analysis of GRAS gene family in tomato. *BMC Plant Biology*, 15(1), 209–228. <https://doi.org/10.1186/s12870-015-0590-6>
- Huang, J., Yang, M., Lu, L., y Zhang, X. (2016). Diverse functions of small RNAs in different plant-pathogen communications. *Frontiers in Microbiology*, 7(1), 1552–1569. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01552>
- Huang, W., Peng, S., Xian, Z., Lin, D., Hu, G., Yang, L., Ren, M. y Li, Z. (2017). Overexpression of a tomato *miR171* target gene *SIGRAS24* impacts multiple agronomical traits via regulating gibberellin and auxin homeostasis. *Plant Biotechnology Journal*, 15(4), 472–488. <https://doi.org/10.1111/pbi.12646>
- Jensen, C. R., Battilani, A., Plauborg, F., Psarras, G., Chartzoulakis, K., Janowiak, F., Stikic, R., Jovanovic, Z., Li, G., Qi, X., Liu, F., Jacobsen, S. E., y Andersen, M. N. (2010). Deficit irrigation

- based on drought tolerance and root signalling in potatoes and tomatoes. *Agricultural Water Management*, 98(3), 403–413. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2010.10.018>
- Jin, W., Wu, F., Xiao, L., Liang, G., Zhen, Y., Guo, Z., y Guo, A. (2011). Microarray-based analysis of tomato miRNA regulated by *Botrytis cinerea*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 31(2), 38–46. <https://doi.org/10.1007/s00344-011-9217-9>
- Jones, H., Whipps, J. M., y Gurr, S. J. (2001). The tomato powdery mildew fungus *Oidium neolycopersici*. *Molecular Plant Pathology*, 2(6), 303–309. <https://doi.org/doi:10.1046/j.1464-6722.2001.00084.x>.
- Jones, J. D. G., y Dangl, J. (2006). The plant immune system. *Nature*, 16(444), 323–329. <https://doi.org/10.1038/nature05286>
- Kamthan, A., Chaudhuri, A., Kamthan, M., y Datta, A. (2015). Small RNAs in plants: Recent development and application for crop improvement. *Frontiers in Plant Science*, 6(1), 208–225. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00208>
- Karlova, R., Van Haarst, J. C., Maliepaard, C., Van De Geest, H., Bovy, A. G., Lammers, M., Angenent, G. C., y De Maagd, R. A. (2013). Identification of microRNA targets in tomato fruit development using high-throughput sequencing and degradome analysis. *Journal of Experimental Botany*, 64(7), 1863–1878. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert049>
- Karlova, R., Chapman, N., David, K., Angenent, G. C., Seymour, G. B., y De Maagd, R. A. (2014). Transcriptional control of fleshy fruit development and ripening. *Journal of Experimental Botany*, 65(16), 4527–4541. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru316>
- Katagiri, F., Thilmony, R., y He, S. Y. (2002). The *Arabidopsis Thaliana*-*Pseudomonas Syringae* interaction. *The Arabidopsis Book*, 1(1), e0039. <https://doi.org/10.1199/tab.0039>
- Kazan, K. (2015). Diverse roles of jasmonates and ethylene in abiotic stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 20(4), 219–229. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.02.001>
- Khan, M. I. R., Asgher, M., y Khan, N. A. (2013). Rising temperature in the changing environment: A serious threat to plants. *Climate Change and Environmental Sustainability*, 1(1), 25. <https://doi.org/10.5958/j.2320-6411.1.1.004>
- Khraiwesh, B., Zhu, J. K., y Zhu, J. (2012). Role of miRNAs and siRNAs in biotic and abiotic stress responses of plants. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1819(2), 137–148. <https://doi.org/10.1016/j.bbarm.2011.05.001>
- Kidner, C. A., y Martienssen, R. A. (2005). The developmental role of microRNA in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 8(1), 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2004.11.008>
- Kim, V. N., y Nam, J. W. (2006). Genomics of microRNA. *Trends in Genetics*, 22(3), 165–173. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2006.01.003>
- Kim, S., Park, M., Yeom, S. I., Kim, Y. M., Lee, J. M., Lee, H. A., y Choi, D. (2014). Genome sequence of the hot pepper provides insights into the evolution of pungency in *Capsicum* species. *Nature Genetics*, 46(3), 270–278. <https://doi.org/10.1038/ng.2877>
- King, E. O., Ward, M.K., y Raney, D. E. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *Journal of Laboratory Clinical Medicine*, 44(2), 301–307.
- Knapp, S., Bohs, L., Nee, M., y Spooner, D. M. (2004). *Solanaceae* - A model for linking genomics with biodiversity. *Comparative and Functional Genomics*, 5(3), 285–291. <https://doi.org/10.1002/cfg.393>

- Koiwa, H., Bressan, R. A., y Hasegawa, P. M. (1997). Regulation of protease inhibitors and plant defense. *Trends in Plant Science*, 2(10), 379–384. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(97\)90052-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1360-1385(97)90052-2)
- Kravchuk, Z., Vicedo, B., Flors, V., Camañes, G., González-Bosch, C., y García-Agustín, P. (2011). Priming for JA-dependent defenses using hexanoic acid is an effective mechanism to protect *Arabidopsis* against *B. cinerea*. *Journal of Plant Physiology*, 168(4), 359–366. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.07.028>
- Kregel, K. C. (2002). Heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. *Journal of Applied Physiology*, 92(5), 2177–2186. <https://doi.org/doi.org/10.1152/jappphysiol.01267.2001>
- Kretzschmar, T., Burla, B., Lee, Y., Martinoia, E., y Nagy, R. (2011). Functions of ABC transporters in plants. *Essays in Biochemistry*, 50(1), 145–160. <https://doi.org/10.1042/BSE0500145>
- Kumar, R. (2014). Role of microRNAs in biotic and abiotic stress responses in crop plants. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 174(1), 93–115. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-0914-2>
- Kumar, R., y Khurana, A. (2014). Functional genomics of tomato: Opportunities and challenges in post-genome NGS era. *Journal of Biosciences*, 39(5), 917–929. <https://doi.org/10.1007/s12038-014-9480-6>
- Laluk, K., Abuqamar, S., y Mengiste, T. (2011). The *Arabidopsis* mitochondria-localized pentatricopeptide repeat protein PGN functions in defense against necrotrophic fungi and abiotic stress tolerance. *Plant Physiology*, 156(4), 2053–2068. <https://doi.org/10.1104/pp.111.177501>
- Lämke, J., y Bäurle, I. (2017). Epigenetic and chromatin-based mechanisms in environmental stress adaptation and stress memory in plants. *Genome Biology*, 18(1), 124–135. <https://doi.org/10.1186/s13059-017-1263-6>
- Lander, E. S. (2016). The Heroes of CRISPR. *Cell*, 164(2), 18–28. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.12.041>
- Lee, R. C., Feinbaum, R. L., y Ambros, V. (1993). The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 75(5), 843–854. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90529-Y](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90529-Y)
- León, J., Rojo, E., y Sánchez-Serrano, J. J. (2001). Wound signalling in plants. *Journal of Experimental Botany*, 52(354), 1–9. <https://doi.org/10.1093/jxb/52.354.1>
- de León, I. P., y Montesano, M. (2013). Activation of defense mechanisms against pathogens in mosses and flowering plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(2), 3178–3200. <https://doi.org/10.3390/ijms14023178>
- Li, Junjie, Yang, Z., Yu, B., Liu, J., y Chen, X. (2005). Methylation protects miRNAs and siRNAs from a 3'-end uridylation activity in arabidopsis. *Current Biology*, 15(16), 1501–1507. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2005.07.029>
- Li, W. X., Oono, Y., Zhu, J., He, X. J., Wu, J. M., Lida, K., Lu, X. Y., Cui, X., Jin, H., y Zhu, J. K. (2008). The arabidopsis *NFYA5* transcription factor is regulated transcriptionally and posttranscriptionally to promote drought resistance. *The Plant Cell Online*, 20(8), 2238–2251. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.059444>
- Li, F., Pignatta, D., Bendix, C., Brunkard, J. O., Cohn, M. M., Tung, J., Sun, H., Kumar, P., y Baker,

- B. (2012). MicroRNA regulation of plant innate immune receptors. *Proceedings of the National Academy of Science*, 109(5), 1790–1795. <https://doi.org/10.1073/pnas.1118282109>
- Li, Junyan, Reichel, M., Li, Y., y Millar, A. A. (2014a). The functional scope of plant microRNA-mediated silencing. *Trends in Plant Science*, 19(12), 750–756. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.08.006>
- Li, W., Lin, Y. C., Li, Q., Shi, R., Lin, C. Y., Chen, H., Chuang, L., Ou, G. Z., Sederoff, R. R., y Chiang, V. L. (2014b). A robust chromatin immunoprecipitation protocol for studying transcription factor-DNA interactions and histone modifications in wood-forming tissue. *Nature Protocols*, 9(9), 2180–2193. <https://doi.org/10.1038/nprot.2014.146>
- Li, S. B., Xie, Z. Z., Hu, C. G., y Zhang, J. Z. (2016a). A review of Auxin Response Factors (ARFs) in plants. *Frontiers in Plant Science*, 7(2), 47–54. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00047>
- Li, W., Xu., Y. P., y Cai, X, Z. (2016b). Transcriptional and posttranscriptional regulation of the tomato leaf mould disease resistance gene *Cf-9*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 470 (1), 163–167. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.01.015>
- Li, C., y Zhang, B. (2016c). MicroRNAs in control of plant development. *Journal of Cellular Physiology*, 231(2), 303–313. <https://doi.org/10.1002/jcp.25125>
- Li, Z., Peng, R., Tian, Y., Han, H., Xu, J., y Yao, Q. (2016d). Genome-wide identification and analysis of the MYB transcription factor superfamily in *Solanum lycopersicum*. *Plant Cell Physiology*, 57(8), 1657–1677. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcw091>
- Li, S., Castillo-González, C., Yu, B., y Zhang, X. (2017). The functions of plant small RNAs in development and in stress responses. *Plant Journal*, 90(4), 654–670. <https://doi.org/10.1111/tpj.13444>
- Li, Y., Wan, L., Bi, S., Wan, X., Li, Z., Cao, J., Tong, Z., Xu, H., He, F., y Li, X. (2017). Identification of drought-responsive microRNAs from roots and leaves of alfalfa by high-throughput sequencing. *Genes*, 8(4), 119–134. <https://doi.org/10.3390/genes8040119>
- Liu, H. H., Tian, X., Li, Y. J., Wu, C. A., y Zheng, C. C. (2008). Microarray-based analysis of stress-regulated microRNAs in *Arabidopsis thaliana*. *RNA*, 14(5), 836–843. <https://doi.org/10.1261/rna.895308>
- Liu, N., y Avramova, Z. (2016). Molecular mechanism of the priming by jasmonic acid of specific dehydration stress response genes in *Arabidopsis*. *Epigenetics and Chromatin*, 9(1), 8–31. <https://doi.org/10.1186/s13072-016-0057-5>
- Liu, X., Xie, C., Si, H., y Yang, J. (2017a). CRISPR/Cas9-mediated genome editing in plants. *Methods*, 121(122), 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2017.03.009>
- Liu, M., Huiyang, Y., Zhao, G., Huang, Q., Lu, Y., y Ouyang, B. (2017b). Profiling of drought-responsive microRNA and mRNA in tomato using high-throughput sequencing. *BMC Genomics*, 18 (2), 481– 499. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3869-1>
- Liu, M., Yu, H., Zhao, G., Huang, Q., y Lu, Y. Ouyang, B. (2018). Identification of drought-responsive microRNAs in tomato using high-throughput sequencing. *Functional and Integrative Genomics*, 18(1), 67–78. <https://doi.org/10.1007/s10142-017-0575-7>
- Llave, C. (2002). Endogenous and silencing-associated small RNAs in plants. *The Plant Cell Online*, 14(7), 1605–1619. <https://doi.org/10.1105/tpc.003210>
- Llave, C., Xie, Z., Kasschau, K. D., y Carrington, J. C. (2002). Cleavage of Scarecrow-like mRNA

- targets directed by a class of *Arabidopsis* miRNA. *Science*, 297(2), 2053–2056. <https://doi.org/10.1126/science.1076311>
- Llorens, E., Camañes, G., Lapeña, L., y García-Agustín, P. (2016). Priming by hexanoic acid induce activation of mevalonic and linolenic pathways and promotes the emission of plant volatiles. *Frontiers in Plant Science*, 7(495), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00495>
- Lobell, D. B., Schlenker, W., y Costa-Roberts, J. (2011). Climate trends and global crop production since 1980. *Science*, 333(6042), 616–620. <https://doi.org/10.1126/science.1204531>
- López-Galiano, M. J., Ruiz-Arroyo, V. M., Fernández-Crespo, E., Rausell, C., Real, M. D., García-Agustín, P., González-Bosch, C., y García-Robles, I. (2017). Oxylinin mediated stress response of a miraculin-like protease inhibitor in Hexanoic acid primed eggplant plants infested by Colorado potato beetle. *Journal of Plant Physiology*, 215(1), 59–64. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2017.04.013>
- López-Galiano, M. J., González-Hernández, A. I., Crespo-Salvador, O., Rausell, C., Real, M. D., Escamilla, M., Camañes, G., García-Agustín, P., González-Bosch, C., y García-robles, I. (2018). Epigenetic regulation of the expression of *WRKY75* transcription factor in response to biotic and abiotic stresses in *Solanaceae* plants. *Plant Cell Reports*, 37(37), 167–176. <https://doi.org/10.1007/s00299-017-2219-8>
- López-Galiano, M. J., García-Robles, I., González-Hernández, A. I., Camañes, G., Vicedo, B., Real, M. D., y Rausell, C. (2019). Expression of *miR159* is altered in tomato plants undergoing drought stress. *Plants*, 8(7), 201–212. <https://doi.org/10.3390/plants8070201>
- López-Galiano, M. J., Sentandreu, V., Martínez-Ramírez, A. C., Rausell, C., Real, M. D., Camañes, G., Ruíz-Rivero, O., Crespo-Salvador, O., y García-Robles, I. (2019). Identification of stress associated microRNAs in *Solanum lycopersicum* by high-throughput sequencing. *Genes*, 10(6), 475–499. <https://doi.org/10.3390/genes10060475>
- López-Gresa, M. P., Torres, C., Campos, L., Lisón, P., Rodrigo, I., Bellés, J. M., y Conejero, V. (2011). Identification of defence metabolites in tomato plants infected by the bacterial pathogen *Pseudomonas syringae*. *Environmental and Experimental Botany*, 74(1), 216–228. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.06.003>
- Lorenz, R., Bernhart, S. H., Höner zu Siederdisen, C., Tafer, H., Flamm, C., Stadler, P. F., y Hofacker, I. L. (2011). “ViennaRNA Package 2.0”. *Algorithms for Molecular Biology*, 6(1), 6–26. <https://doi.org/10.1186/1748-7188-6-26>
- Los, D. A., y Murata, N. (2004). Membrane fluidity and its roles in the perception of environmental signals. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1666(1), 142–157. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2004.08.002>
- Lowder, L. G., Zhang, D., Baltés, N. J., Paul, J. W., Tang, X., Zheng, X., Voytas, D. F., Hsieh, T. F., Zhang, Y., y Qi, Y. (2015). A CRISPR/Cas9 toolbox for multiplexed plant genome editing and transcriptional regulation. *Plant Physiology*, 169(2), 971–985. <https://doi.org/10.1104/pp.15.00636>
- Luck, J., Spackman, M., Freeman, A., TreBicki, P., Griffiths, W., Finlay, K., y Chakraborty, S. (2011). Climate change and diseases of food crops. *Plant Pathology*, 60(1), 113–121. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02414.x>
- Lurin, C., Andrés, C., Aubourg, S., Bellaoui, M., Bitton, F., Bruyère, C., Caboche, M., Debast, C., Gualberto, J., Hoffmann, B., Lecharny, A., Le Ret, M., Martin-Magniette, M. L., Mireau, H., Peeters, N., Renou, J. P., Szurek, B., Taconnat, L., y Small, I. (2004). Genome-wide analysis

- of Arabidopsis pentatricopeptide repeat proteins reveals their essential role in organelle biogenesis. *Plant Cell*, 16(2), 2089–2103. <https://doi.org/10.1105/tpc.104.022236>
- Ma, C, Burd, S., y Lers, A. (2015). *miR408* is involved in abiotic stress responses in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 84(1), 169–187. <https://doi.org/10.1111/tpj.12999>
- Mallory, A. C., Dugas, D. V, Bartel, D. P., y Bartel, B. (2004). MicroRNA regulation of NAC-Domain targets is required for proper formation and separation of adjacent embryonic, vegetative, and floral organs. *Current Biology*, 14(1), 1035–1046. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.06.022>
- Mallory, A. C., Bartel, D. P., y Bartel, B. (2005). MicroRNA-Directed regulation of *Arabidopsis Auxin Response Factor17* is essential for proper development and modulates expression of early auxin response genes. *Journal of Jilin University Medicine Edition*, 17(1), 1360–1375. <https://doi.org/https://doi.org/10.1105/tpc.105.031716>
- Mayrose, M., Ekengren, S. K., Melech-Bonfil, S., Martin, G. B., y Sessa, G. (2006). A novel link between tomato *GRAS* genes, plant disease resistance and mechanical stress response. *Molecular Plant Pathology*, 7(6), 593–604. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2006.00364.x>
- Mazid, M., Khan, T. A., y Mohammad, F. (2011). Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. *Biology and Medicine*, 3(2), 232–249.
- Melotto, M., Underwood, W., Koczan, J., Nomura, K., y He, S. Y. (2006). Plant stomata function in innate immunity against bacterial invasion. *Cell*, 126(5), 969–980. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.06.054>
- Meng, F., Liu, H., Wang, K., Liu, L., Wang, S., Zhao, Y., Yin, J., y Li, Y. (2013). Development-associated microRNAs in grains of wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Plant Biology*, 13(1), 19–21. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-140>
- Merrill, R. M., Gutiérrez, D., Lewis, O. T., Gutiérrez, J., Díez, S. B., y Wilson, R. J. (2008). Combined effects of climate and biotic interactions on the elevational range of a phytophagous insect. *Journal of Animal Ecology*, 77(1), 145–155. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2007.01303.x>
- Millar, A. A., Lohe, A., y Wong, G. (2019). Biology and function of *miR159* in plants. *Plants*, 8(8), 255–272. <https://doi.org/10.3390/plants8080255>
- Mingming, X., Yu, W., Yingyin, Y., Chaojie, X., Huiru, P., Zhongfu, N., y Qixin, S. (2010). Diverse set of microRNAs are responsive to powdery mildew infection and heat stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Plant Biology*, 10(12), 123–134. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-123>
- Mitchell, C., Brennan, R. M., Graham, J., y Karley, A. J. (2016). Plant defense against herbivorous pests: Exploiting resistance and tolerance traits for sustainable crop protection. *Frontiers in Plant Science*, 7(1), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01132>
- Mithöfer, A., y Boland, W. (2012). Plant defense against herbivores: Chemical aspects. *Annual Review of Plant Biology*, 63(1), 431–450. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042110-103854>
- Miura, K., Ikeda, M., Matsubara, A., Song, X. J., Ito, M., Asano, K., Matsuoka, M., Kitano, H., y Ashikari, M. (2010). OsSPL14 promotes panicle branching and higher grain productivity in rice. *Nature Genetics*, 42(6), 545–549. <https://doi.org/10.1038/ng.592>

- Mojica, F. J. M., y Rodríguez-Valera, F. (2016). The discovery of CRISPR in archaea and bacteria. *The FEBS Journal*, 283(17), 3162–3169. <https://doi.org/10.1111/febs.13766>
- Montgomery, T. A., Yoo, S. J., Fahlgren, N., Gilbert, S. D., Howell, M. D., Sullivan, C. M., Alexander, A., Nguyen, G., Allen, E., Ahn, J. H., y Carrington, J. C. (2008a). AGO1-miR173 complex initiates phased siRNA formation in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(51), 20055–20062. <https://doi.org/10.1073/pnas.0810241105>
- Montgomery, T. A., Howell, M. D., Cuperus, J. T., Li, D., Hansen, J. E., Alexander, A. L., Chapman, E., Fahlgren, N., Allen, E., y Carrington, J. C. (2008b). Specificity of Argonaute7-miR390 interaction and dual functionality in TAS3 trans-acting siRNA formation. *Cell*, 133(1), 128–141. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.02.033>
- Moriones, E., y Navas-Castillo, J. (2000). Tomato yellow leaf curl virus , an emerging virus complex causing epidemics worldwide. *Virus Research*, 71(1), 123–134. [https://doi.org/10.1016/s0168-1702\(00\)00193-3](https://doi.org/10.1016/s0168-1702(00)00193-3)
- Navarro, L., Dunoyer, P., Jay, F., Arnold, B., Dharmasiri, N., Estelle, M., Voinnet, O., y Jones, J. D. G. (2006). A plant miRNA contributes to antibacterial resistance by repressing auxin signaling. *Science*, 312(5772), 436–439. <https://doi.org/10.1126/science.1126088>
- Ni, Z., Hu, Z., Jiang, Q., y Zhang, H. (2013). *GmNFYA3*, a target gene of *miR169*, is a positive regulator of plant tolerance to drought stress. *Plant Molecular Biology*, 82(1), 113–129. <https://doi.org/10.1007/s11103-013-0040-5>
- Ouyang, S., Park, G., Atamian, H. S., Han, C. S., Stajich, J. E., Kaloshian, I., y Borkovich, K. A. (2014). MicroRNAs suppress NB domain genes in tomato that confer resistance to *Fusarium oxysporum*. *PLoS Pathogens*, 10(10), e1004464. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004464>
- Overney, S., Fawe, A., Yelle, S., y Michaud, D. (1997). Diet-Related plasticity of the digestive proteolytic system in larvae of the Colorado Potato Beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 36(4), 241–250. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6327\(1997\)36:4<241::AID-ARCH1>3.0.CO;2-V](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6327(1997)36:4<241::AID-ARCH1>3.0.CO;2-V)
- Pál, M., Tajti, J., Szalai, G., Peeva, V., Végh, B., y Janda, T. (2018). Interaction of polyamines, abscisic acid and proline under osmotic stress in the leaves of wheat plants. *Scientific Reports*, 8(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31297-6>
- Pandey, S. P., Shahi, P., Gase, K., y Baldwin, I. T. (2008). Herbivory-induced changes in the small-RNA transcriptome and phytohormone signaling in *Nicotiana attenuata*. 105(12), 4559–4564. <https://doi.org/https://doi.org/10.1073/pnas.0711363105>
- Park, S., Gupta, R., Krishna, R., Kim, S. T., Lee, D. Y., Hwang, D. J., Bae, S. C., y Ahn, I. P. (2016). Proteome analysis of disease resistance against *Ralstonia solanacearum* in potato cultivar CT206-10. *Plant Pathology Journal*, 32(1), 25–32. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.05.2015.0076>
- Parmesan, C. (2007). Influences of species, latitudes and methodologies on estimates of phenological response to global warming. *Global Change Biology*, 13(9), 1860–1872. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2007.01404.x>
- Pervez, M. A., Ayub, C. M., Khan, H. A., Shahid, M. A., y Ashraf, I. (2009). Effect of drought stress on growth, yield and seed quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *Pakistan Journal of Agricultural Science*, 46(3), 174–178.
- Phukan, U. J., Jeena, G. S., y Shukla, R. K. (2016). *WRKY* transcription factors: Molecular

- regulation and stress responses in plants. *Frontiers in Plant Science*, 7(1), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00760>
- Pieczynski, M., Marczewski, W., Hennig, J., Dolata, J., Bielewicz, D., Piontek, P., Wyrzykowska, A., Krusiewicz, D., Strzelczyk-Zyta, D., Konopka-Postupolska, D., Krzeslowska, M., Jarmolowski, A., y Szweykowska-Kulinska, Z. (2013). Down-regulation of *CBP80* gene expression as a strategy to engineer a drought-tolerant potato. *Plant Biotechnology Journal*, 11(4), 459–469. <https://doi.org/10.1111/pbi.12032>
- Pieterse, M. J., Does, D., van der Zamioudis, C., Leon-Reyes, A., y Wees, S. C. M. (2012). Hormonal modulation of plant immunity. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 28(1), 489–521. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154055>
- Podda, A., Simili, M., Carratore, R. Del, Mouhaya, W., Morillon, R., y Maserti, B. E. (2013). Expression profiling of two stress-inducible genes encoding for miraculin-like proteins in citrus plants under insect infestation or salinity stress. *Journal of Plant Physiology*, 171(1), 45–54. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.08.001>
- Porter, J. H., Parry, M. L., y Carter, T. R. (1991). The potential effects of climatic change on agricultural insect pests. *Agricultural and Forest Meteorology*, 57(1), 221–240. [https://doi.org/10.1016/0168-1923\(91\)90088-8](https://doi.org/10.1016/0168-1923(91)90088-8)
- Preston, G. M. (2001). *Pseudomonas syringae* pv. tomato: the right pathogen, of the right plant, at the right time. *Molecular Plant Pathology*, 1(5), 263–275. <https://doi.org/https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2000.00036.x>
- Qin, Y., Wang, M., Tian, Y., He, W., Han, L., y Xia, G. (2012). Over-expression of *TaMYB33* encoding a novel wheat MYB transcription factor increases salt and drought tolerance in arabidopsis. *Molecular Biology Reports*, 39(6), 7183–7192. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-1550-y>
- Qin, Z., Li, C., Mao, L., y Wu, L. (2014). Novel insights from non-conserved microRNAs in plants. *Frontiers in Plant Science*, 5(1), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00586>
- Rajagopalan, R., Vaucheret, H., Trejo, J., y Bartel, D. P. (2006). A diverse and evolutionarily fluid set of microRNAs in *Arabidopsis thaliana*. *Genes and Development*, 20(24), 3407–3425. <https://doi.org/10.1101/gad.1476406>
- Rath, D., Amlinger, L., Rath, A., y Lundgren, M. (2015). The CRISPR-Cas immune system: Biology, mechanisms and applications. *Biochimie*, 117(10), 119–128. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2015.03.025>
- Reinhart, B J, Weinstein, E G, Rhoades, M W, Bartel, B, y Bartel, D. P. (2002). MicroRNAs in plants: Possible contributions to phenotypic diversity. *Genes and Development*, 1(16), 1616–1626. <https://doi.org/10.1101/gad.1004402.of>
- Reyes, J. L., y Chua, N. H. (2007). ABA induction of *miR159* controls transcript levels of two *MYB* factors during arabidopsis seed germination. *Plant Journal*, 49(4), 592–606. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02980.x>
- Rhoades, M. W., Reinhart, B. J., Lim, L. P., Burge, C. B., Bartel, B., y Bartel, D. P. (2002). Prediction of plant microRNA targets. *Cell*, 110(4), 513–520. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00863-2](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00863-2)
- Rivard, D., Cloutier, C., y Michaud, D. (2004). Colorado potato beetles show differential digestive compensatory responses to host plants expressing distinct sets of defense proteins. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 55(3), 114–123.

- <https://doi.org/10.1002/arch.10136>
- Robert-Seilaniantz, A., Grant, M., y Jones, J. D. G. (2011). Hormone crosstalk in plant disease and defense: More than just jasmonate-salicylate antagonism. *Annual Review of Phytopathology*, 49(1), 317–343. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114447>
- Rodríguez-Milla, M. A., y Salinas, J. (2009). Prefoldins 3 and 5 play an essential role in *Arabidopsis* tolerance to salt stress. *Molecular Plant*, 2(3), 526–534. <https://doi.org/10.1093/mp/ssp016>
- Rose, N. R., y Klose, R. J. (2014). Understanding the relationship between DNA methylation and histone lysine methylation. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1839(12), 1362–1372. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2014.02.007>
- Rubio-Somoza, I., y Weigel, D. (2011). MicroRNA networks and developmental plasticity in plants. *Trends in Plant Science*, 16(5), 258–264. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.03.001>
- Ruijter, J. M., Ramakers, C., Hoogaars, W. M. H., Karlen, Y., Bakker, O., van den Hoff, M. J. B., y Moorman, A. F. (2009). Amplification efficiency: Linking baseline and bias in the analysis of quantitative PCR data. *Nucleic Acids Research*, 37(6), e45. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp045>
- Sah, S. K., Reddy, K. R., y Li, J. (2016). Abscisic acid and abiotic stress tolerance in crop plants. *Frontiers in Plant Science*, 7(1), 1–26. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00571>
- San José, R., Sánchez, M. C., Cámara, M. M., y Prohens, J. (2013). Composition of eggplant cultivars of the occidental type and implications for the improvement of nutritional and functional quality. *International Journal of Food Science and Technology*, 48(12), 2490–2499. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12240>
- Sánchez-López, J., Camañes, G., Flors, V.; Vicent, C., Pastor, V., Vicedo, B., Cerezo, M., y García-Agustín, P. (2009). Underivatized polyamine analysis in plant samples by ion pair LC coupled with electrospray tandem mass spectrometry. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47(7), 592–598.
- Sanderson, M. G., Hemming, D. L., y Betts, R. A. (2011). Regional temperature and precipitation changes under warming. *Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 369(1934), 85–98. <https://doi.org/10.1098/rsta.2010.0283>
- Santamaria, M. E., Martínez, M., Cambra, I., Grbic, V., y Diaz, I. (2013). Understanding plant defence responses against herbivore attacks: An essential first step towards the development of sustainable resistance against pests. *Transgenic Research*, 22(4), 697–708. <https://doi.org/10.1007/s11248-013-9725-4>
- Sarkar, D., Maji, R. K., Dey, S., Sarkar, A., Ghosh, Z., y Kundu, P. (2017). Integrated miRNA and mRNA expression profiling reveals the response regulators of a susceptible tomato cultivar to early blight disease. *DNA Research*, 24(3), 235–250. <https://doi.org/10.1093/dnares/dsx003>
- Sato, S., Peet, M. M., y Thomas, J. F. (2000). Physiological factors limit fruit set of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) under chronic mild heat stress. *Plant, Cell and Environment*, 23(1), 719–726. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2000.00589.x>
- Savchenko, T., y Dehesh, K. (2014). Drought stress modulates oxylipin signature by eliciting 12-OPDA as a potent regulator of stomatal aperture. *Plant Signaling and Behavior*, 9(4), e28304. <https://doi.org/10.4161/psb.28304>

- Scalschi, L., Vicedo, B., Camañes, G., Fernandez-Crespo, E., Lapeña, L., González-Bosch, C., y García-Agustín, P. (2013). Hexanoic acid is a resistance inducer that protects tomato plants against *Pseudomonas syringae* by priming the jasmonic acid and salicylic acid pathways. *Molecular Plant Pathology*, 14(4), 342–355. <https://doi.org/10.1111/mpp.12010>
- Scaven, V. L., y Rafferty, N. E. (2013). Physiological effects of climate warming on flowering plants and insect pollinators and potential consequences for their interactions. *Current Zoology*, 59(3), 418–426. <https://doi.org/10.1093/czoolo/59.3.418>
- Schaeffer, S. M., y Nakata, P. A. (2015). CRISPR/Cas9-mediated genome editing and gene replacement in plants: Transitioning from lab to field. *Plant Science*, 240(11), 130–142. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.09.011>
- Schaper, E., y Anisimova, M. (2015). The evolution and function of protein tandem repeats in plants. *New Phytologist*, 206(1), 397–410. <https://doi.org/10.1111/nph.13184>
- Schmidt, D. D., Voelckel, C., Hartl, M., Schmidt, S., y Baldwin, I. T. (2005). Specificity in ecological interactions: attack from the same lepidopteran herbivore results in species-specific transcriptional responses in two solanaceous host plants. *Plant Physiology*, 138(3), 1763–1773. <https://doi.org/10.1104/pp.105.061192>
- Schimpl, S., Fauser, F., y Puchta, H. (2016). CRISPR/Cas-mediated site-specific mutagenesis in *Arabidopsis thaliana* using Cas9 nucleases and paired nickases. En *Chromosome and genomic engineering in plants* (1st ed., 111-122). New York: Minoru Murata.
- Shankar, A., Pandey, A., y Pandey, G. K. (2013). WRKY Transcription Factor : Role in abiotic and biotic stress. *Plant Stress*, 7(1), 26–34.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., y Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, 2012, 1–26. <https://doi.org/10.1155/2012/217037>
- Sharma, S. K., Bolser, D., de Boer, J., Sønderkær, M., Amoros, W., Carboni, M. F., y Bryan, G. J. (2013). Construction of reference chromosome-scale pseudomolecules for potato: Integrating the potato genome with genetic and physical maps. *G3: Genes/Genomes/Genetics*, 3(11), 2031–2047. <https://doi.org/10.1534/g3.113.007153>
- Sharma, M., y Pandey, G. K. (2016). Expansion and function of repeat domain proteins during stress and development in plants. *Frontiers in Plant Science*, 6(1), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01218>
- Shikata, M., Koyama, T., Mitsuda, N., y Ohme-Takagi, M. (2009). Arabidopsis SBP-Box genes *SPL10*, *SPL11* and *SPL2* control morphological change in association with shoot maturation in the reproductive phase. *Plant and Cell Physiology*, 50(12), 2133–2145. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcp148>
- Shimono, M., Lu, Y. J., Porter, K., Kvitko, B. H., Henty-Ridilla, J., Creason, A., He, S. Y., Chang, J. H., Staiger, C. J., y Day, B. (2016). The *Pseudomonas syringae* type III effector HopG1 induces actin remodeling to promote symptom development and susceptibility during infection. *Plant Physiology*, 171(3), 2239–2255. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01593>
- Slama, I., Abdelly, C., Bouchereau, A., Flowers, T., y Savaouré, A. (2015). Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress. *Annals of Botany*, 115(3), 433–447. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu239>
- Small, I.D., y Peeters, N. (2000). The PPR motif—A TPR-related motif prevalent in plant organellar proteins. *Trends in Biochemical Sciences*, 25(2), 46–47. <https://doi.org/10.1016/S0968->

0004(99)01520-0

- Song, G., Jia, M., Chen, K., Kong, X., Khattak, B., Xie, C., Li, A., y Mao, L. (2016). CRISPR/Cas9: A powerful tool for crop genome editing. *Crop Journal*, 4(2), 75–82. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2015.12.002>
- Soto-Suárez, M., Baldrich, P., Weigel, D., Rubio-Somoza, I., y San Segundo, B. (2017). The *Arabidopsis miR396* mediates pathogen-associated molecular pattern-triggered immune responses against fungal pathogens. *Scientific Reports*, 7(1), 44898–44912. <https://doi.org/10.1038/srep44898>
- Spanudakis, E., y Jackson, S. (2014). The role of microRNAs in the control of flowering time. *Journal of Experimental Botany*, 65(2), 365–380. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert453>
- Springate, D. A., y Kover, P. X. (2014). Plant responses to elevated temperatures: A field study on phenological sensitivity and fitness responses to simulated climate warming. *Global Change Biology*, 20(2), 456–465. <https://doi.org/10.1111/gcb.12430>
- Stief, A., Altmann, S., Hoffmann, K., Pant, B. D., Scheible, W. R., y Bäurle, I. (2014). *Arabidopsis miR156* regulates tolerance to recurring environmental stress through SPL transcription factors. *Plant Cell*, 26(4), 1792–1807. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.123851>
- Stumpe, M., Kandzia, R., Göbel, C., Rosahl, S., y Feussner, I. (2001). A pathogen-inducible divinyl ether synthase (CYP74D) from elicitor-treated potato suspension cells. *FEBS Letters*, 507(3), 371–376. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(01\)03019-8](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(01)03019-8)
- Sunkar, R., Li, Y. F., y Jagadeeswaran, G. (2012). Functions of microRNAs in plant stress responses. *Trends in Plant Science*, 17(4), 196–203. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.01.010>
- Székely, G., Ábrahám, E., Cséplő, Á., Rigó, G., Zsigmond, L., Csiszár, J., Ayaydin, F., Strizhov, N., Jásik, J., Schmelzer, E., Koncz, C., y Zabados, L. (2008). Duplicated *P5CS* genes of *Arabidopsis* play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis. *The Plant Journal*, 53(1), 11–28. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.2007.03318.x>
- Tans-Kersten, J., Huang, H., y Allen, C. (2001). *Ralstonia solanacearum* needs motility for invasive virulence on tomato. *Plant Microbiology*, 183(12), 3597–3605. <https://doi.org/10.1128/JB.183.12.3597>
- Taylor, R. S., Tarver, J. E., Hiscock, S. J., y Donoghue, P. C. J. (2014). Evolutionary history of plant microRNAs. *Trends in Plant Science*, 19(3), 175–182. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.11.008>
- Tian, C., Zuo, Z., y Qiu, J. L. (2015). Identification and characterization of ABA-responsive MicroRNAs in rice. *Journal of Genetics and Genome Research*, 42(7), 393–402. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2015.04.008>
- Tomato Genome Consortium. (2012). The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. *Nature*, 485(7400), 635–641. <https://doi.org/10.1038/nature11119>
- Tanon, G., Kevers, C., Faivre-Rampant, O., Graziani, M., y Gaspar, T. (2004). Effect of NaCl and mannitol iso-osmotic stresses on proline and free polyamine levels in embryogenic *Fraxinus angustifolia* callus. *Journal of Plant Physiology*, 161(6), 701–708. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-01096>
- Tsukuda, S., Gomi, K., Yamamoto, H., y Akimitsu, K. (2006). Characterization of cDNAs encoding two distinct miraculin-like proteins and stress-related modulation of the corresponding

- mRNAs in *Citrus jambhiri* Lush. *Plant Molecular Biology*, 60(1), 125–136. <https://doi.org/10.1007/s11103-005-2941-4>
- Vaucheret, H. (2006). Post-transcriptional small RNA pathways in plants: Mechanisms and regulations. *Genes and Development*, 20(7), 759–771. <https://doi.org/10.1101/gad.1410506>
- Vicedo, B., Flors, V., de la O Leyva, M., Finiti, I., Kravchuk, Z., Real, M. D., García-Agustín, P., y González-Bosch, C. (2009). Hexanoic acid-induced resistance against *Botrytis cinerea* in tomato plants. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 22(11), 1455–1465. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-11-1455>
- Vicente, J., Cascón, T., Vicedo, B., García-Agustín, P., Hamberg, M., y Castresana, C. (2012). Role of 9-lipoxygenase and α -dioxygenase oxylipin pathways as modulators of local and systemic defense. *Molecular Plant*, 5(4), 914–928. <https://doi.org/10.1093/mp/ssr105>
- Voinnet, O. (2009). Origin, biogenesis, and activity of plant microRNAs. *Cell*, 136(4), 669–687. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.01.046>
- Wahb-allah, M. A., Alsadon, A. A., y Ibrahim, A. A. (2011). Drought tolerance of several tomato genotypes under greenhouse conditions. *World Applied Sciences Journal*, 15(7), 933–940.
- Wang, W., Vinocur, B., y Altman, A. (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: Towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218(1), 1–14. <https://doi.org/10.1007/s00425-003-1105-5>
- Wang, W., Vinocur, B., Shoseyov, O., y Altman, A. (2004). Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends in Plant Science*, 9(5), 244–252. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.03.006>
- Wang, L., Mai, Y. X., Zhang, Y. C., Luo, Q., y Yang, H. Q. (2010). *MicroRNA171c*-targeted *SCL6-II*, *SCL6-III*, and *SCL6-IV* genes regulate shoot branching in *Arabidopsis*. *Molecular Plant*, 3(5), 794–806. <https://doi.org/10.1093/mp/ssq042>
- Wang, T., Chen, L., Zhao, M., Tian, Q., y Zhang, W. H. (2011). Identification of drought-responsive microRNAs in *Medicago truncatula* by genome-wide highthroughput sequencing. *Planta*, 12(367), 375–386. <https://doi.org/10.1007/s00425-011-1514-9>
- Wang, S., Wu, K., Yuan, Q., Liu, X., Liu, Z., Lin, X., y Fu, X. (2012). Control of grain size, shape and quality by *OzSPL16* in rice. *Nature Genetics*, 44(8), 950–954. <https://doi.org/10.1038/ng.2327>
- Wang, B., Sun, Y., Song, N., Wei, J., Wang, X., Feng, H., Yin, Z. Y., y Kang, Z. S. (2014). MicroRNAs involving in cold, wounding and salt stresses in *Triticum aestivum* L. *Plant Physiology and Biochemistry*, 80(1), 90–96. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.03.020>
- Wang, Y., Li, L., Tang, S., Liu, J., Zhang, H., Zhi, H., Guanqing, J., y Diao, X. (2016). Combined small RNA and degradome sequencing to identify miRNAs and their targets in response to drought in foxtail millet. *BMC Genetics*, 17(1), 57–73. <https://doi.org/10.1186/s12863-016-0364-7>
- Wang, J., Mei, J., y Ren, G. (2019). Plant microRNAs: Biogenesis, homeostasis, and degradation. *Frontiers in Plant Science*, 10(1), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00360>
- Wani, S. H., Kumar, V., Shriram, V., y Sah, S. K. (2016). Phytohormones and their metabolic engineering for abiotic stress tolerance in crop plants. *Crop Journal*, 4(3), 162–176. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2016.01.010>

- War, A. R., Paulraj, M. G., Ahmad, T., Buhroo, A. A., Hussain, B., Ignacimuthu, S., y Sharma, H. C. (2012). Mechanisms of plant defense against insect herbivores. *Plant Signaling and Behavior*, 7(10), 1306–1320. <https://doi.org/10.4161/psb.21663>
- Wei, L., Zhang, D., Xiang, F., y Zhang, Z. (2009). Differentially expressed miRNAs potentially involved in the regulation of defense mechanism to drought stress in maize seedlings. *International Journal of Plant Science*, 170(8), 979–989. <https://doi.org/10.1086/605122>
- Wilkens, S. (2015). Structure and mechanism of ABC transporters. *F1000Prime Reports*, 7(14), 1–9. <https://doi.org/10.12703/P7-14>
- Wilkinson, S., Kudoyarova, G. R., Veselov, D. S., Arkhipova, T. N., y Davies, W. J. (2012). Plant hormone interactions: Innovative targets for crop breeding and management. *Journal of Experimental Botany*, 63(9), 3499–3509. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers148>
- Williams, L., Carles, C. C., Osmont, K. S., y Fletcher, J. C. (2005). A database analysis method identifies an endogenous trans-acting short-interfering RNA that targets the *Arabidopsis* *ARF2*, *ARF3* and *ARF4* genes. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, 102(27), 9703–9708. <https://doi.org/10.1073/pnas.0504029102>
- Williams, L., Grigg, S. P., Xie, M., Christensen, S., y Fletche, J. C. (2005). Regulation of arabidopsis shoot apical meristem and lateral organ formation by microRNA *miR166g* and its *AtHD-ZIP* target genes. *Development*, 132(16), 3657–3668. <https://doi.org/10.1242/dev.01942>
- Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., y Van Kan, J. A. L. (2007). *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*, 8(1), 561–580. <https://doi.org/10.1111/J.1364-3703.2007.00417.X>
- Wittmann, J., Brancato, C., Berendzen, K. W., y Dreiseikelmann, B. (2016). Development of a tomato plant resistant to *Clavibacter michiganensis* using the endolysin gene of bacteriophage *CMP1* as a transgene. *Plant Pathology*, 65(3), 496–502. <https://doi.org/10.1111/ppa.12417>
- Woodger, F. J., Millar, A., Murray, F., Jacobsen, J. V., y Gubler, F. (2003). The role of *GAMYB* transcription factors in GA-regulated gene expression. *Journal of Plant Growth Regulation*, 22(1), 176–184. <https://doi.org/10.1007/s00344-003-0025-8>
- Wu, J., Hettenhausen, C., Meldau, S., y Baldwin, I. T. (2007). Herbivory rapidly activates MAPK signaling in attacked and unattacked leaf regions but not between leaves of *Nicotiana attenuata*. *Plant Cell*, 19(3), 1096–1122. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.049353>
- Wu, L., Zhou, H., Zhang, Q., Zhang, J., Ni, F., Liu, C., y Qi, Y. (2010). DNA methylation mediated by a microRNA pathway. *Molecular Cell*, 38(3), 465–475. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.03.008>
- Wu, G. (2013). Plant microRNAs and development. *Journal of Genetics and Genomics*, 40(5), 217–230. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2013.04.002>
- Xie, F., Wang, Q., Sun, R., y Zhang, B. (2015). Deep sequencing reveals important roles of microRNAs in response to drought and salinity stress in cotton. *Journal of Experimental Botany*, 66(3), 789–804. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru437>
- Xu, X., Pan, S., Cheng, S., Zhang, B., Mu, D., Ni, P., y Visser, R. G. F. (2011). Genome sequence and analysis of the tuber crop potato. *Nature*, 475(7355), 189–195. <https://doi.org/10.1038/nature10158>
- Xu, X., Yin, L., Ying, Q., Song, H., Xue, D., Lai, T., Xu, M., Shen, B., Wang, H., y Shi, X. (2013). High-

- Throughput sequencing and degradome analysis identify miRNAs and their targets involved in fruit senescence of *Fragaria ananassa*. *PLoS ONE*, 8(8), e70959. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070959>
- Xu, X. W., Li, T., Li, Y., y Li, Z, X. (2015). Identification and analysis of *C. annuum* microRNAs by high-throughput sequencing and their association with high temperature and high air humidity stress. *International Journal of Bioautomation*, 19(4), 459–472.
- Xu, M., Hu, T., Zhao, J., Park, M. Y., Earley, K. W., Wu, G., y Poethig, R. S. (2016). Developmental functions of *miR156*-Regulated *Squamosa Promoter Binding Protein-like (SPL)* genes in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genetics*, 12(8), 1–29. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006263>
- Yadav, R., Rathi, M., Pednekar, A., y Rewachandani, Y. (2016). A detailed review on *Solanaceae* family. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 3(1), 369–378.
- Yamada, Y., y Tabata, M. (1997). Plant biotechnology of tropane alkaloids. *Plant Biotechnology*, 14(1), 1–10. <https://doi.org/https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.14.1>
- Yancey, P. H. (2005). Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses. *Journal of Experimental Biology*, 208(15), 2819–2830. <https://doi.org/10.1242/jeb.01730>
- Yang, X., y Li, L. (2012). Analyzing the microRNA transcriptome in plants using deep sequencing data. *Biology*, 1(3), 297–310. <https://doi.org/10.3390/biology1020297>
- Yang, J., Zhang, N., Mi, X., Wu, L., Ma, R., Zhu, X., Yao, L., Jin, X., Si, H., y Wang, D. (2014). Identification of *miR159s* and their target genes and expression analysis under drought stress in potato. *Computational Biology and Chemistry*, 53(1), 204–213. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2014.09.009>
- Zhang, S., y Klessig, D. F. (2001). MAPK cascades in plant defense signaling. *Trends in Plant Science*, 6(11), 520–527. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(01\)02103-3](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(01)02103-3)
- Zhang, B., Pan, X., Cobb, G. P., y Anderson, T. A. (2006). Plant microRNA: A small regulatory molecule with big impact. *Developmental Biology*, 289(1), 3–16. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2005.10.036>
- Zhang, W., Gao, S., Zhou, X., Chellappan, P., Chen, Z., Zhou, X., Zhang, X., Fromuth, N., Coutino, G., Coffey, M., y Hailing, J. (2011). Bacteria-responsive microRNAs regulate plant innate immunity by modulating plant hormone networks. *Plant Molecular Biology*, 75(2), 93–105. <https://doi.org/10.1007/s11103-010-9710-8>
- Zhang, X., Zou, Z., Gong, P., Zhang, J., Ziaf, K., Li, H., Xiao, F., y Ye, Z. (2011). Over-expression of *microRNA169* confers enhanced drought tolerance to tomato. *Biotechnology Letters*, 33(2), 403–409. <https://doi.org/10.1007/s10529-010-0436-0>
- Zhang, Z., Zhang, H., Srivastava, A. K., Pan, Y., Bai, J., Fang, J., Shi, H., y Zhu, J. K. (2018). Knockdown of rice *microRNA166* confers drought resistance by causing leaf rolling and altering stem xylem development. *Plant Physiology*, 176(8), 2082-2094. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01432>
- Zhang, W., Zhao, F., Jiang, L., Chen, C., Wu, L., y Liu, Z. (2018). Different pathogen defense strategies in *Arabidopsis*: More than pathogen recognition. *Cells*, 7(12), 252-276. <https://doi.org/10.3390/cells7120252>
- Zhao, A., Li, Y., Leng, C., Wang, P., y Li, Y. (2018). Inhibitory effect of protease inhibitors on larval

- midgut protease activities and the performance of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Frontiers in Physiology*, 9(15), 1–19. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01963>
- Zheng, Z., Reichel, M., Deveson, I., Wong, G., Li, J., y Millar, A. A. (2017). Target RNA secondary structure is a major determinant of *miR159* efficacy. *Journal of Plant Physiology*, 174(1), 1764–1778. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01898>
- Zhou, R; Wang, Q., Jiang, F., Cao, X., Sun, M., Liu, M., y Zhen, W. (2016). Identification of miRNAs and their targets in wild tomato at moderately and acutely elevated temperatures by high-throughput sequencing and degradome analysis. *Scientific Reports*, 6, 33777. <https://doi.org/10.1038/srep33777>
- Zhou, J., Deng, K., Cheng, Y., Zhong, Z., Tian, L., Tang, X., Tang, A., Zheng, X., Zhang, X., Qi, Y., y Zhang, Y. (2017). CRISPR-Cas9 based genome editing reveals new insights into microRNA function and regulation in rice. *Frontiers in Plant Science*, 8(1), 1598–1610. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01598>
- Zhu, C., Ding, Y., y Liu, H. (2011). *MiR398* and plant stress responses. *Physiologia Plantarum*, 143(1), 1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2011.01477.x>
- Zuo, J. H., Wang, Y. X., Liu, H. P., Ma, Y. Z., Ju, Z., Zhai, B. Q., Fu, D. Q., Zhu, Y., Luo, Y. B., y Zhu, B. Z. (2011). MicroRNAs in tomato plants. *China Life Sciences*, 54(7), 599–605. <https://doi.org/10.1007/s11427-011-4188-4>

Anexo

Material suplementario Capítulo 1

Tabla S1. Los 10 miARNs con más lecturas en cada condición de estrés.....	141
Tabla S2. miARNs conservados detectados en las condiciones de estrés bajo estudio.....	167
Tabla S3. Características de los miARNs noveles identificados.....	190
Tabla S4. Expresión diferencial de los miARNs identificados en el proceso de secuenciación masiva.....	199
Tabla S5. Análisis de expresión por RT-qPCR de 10 miARNs.....	202
Tabla S6. Predicción de las dianas génicas de los miARNs conservados y noveles expresados diferencialmente en respuesta a estrés.....	203
Tabla S7. Términos GO de las dianas predichas para los miARNs noveles y conservados implicados en respuesta a estrés.....	222

Material suplementario Capítulo 3

Figura S1. Alineamiento de la secuencia genómica de trigo y tomate donde se encuentra el miARN <i>miR1127-3p</i>	240
---	-----

Material suplementario

Capítulo 1

Tabla S1. Los 10 miARNs con más lecturas en cada condición de estrés.

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
CPB_1	sly-miR482e-3p	15	6861	6861	258954,52	10112,29	4:sly#55142317#55142338#+
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p= stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	9	4202	4202	158595,962	6193,24638	9:sly#63883415#63883435#+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	7	3746	3746	141385,17	5521,16	3:sly#61786222#61786242#+
	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	3	1196	1196	45140,5926	1762,76123	9:sly#7197977#7197997#+
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	8	1191	1191	44951,8777	1755,39182	6:sly#39241755#39241775#-
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	5	1029	1029	38837,52	1516,62	6:sly#33870237#33870258#-
	sly-miR6022=stu-miR6022	3	1005	1005	37931,69	1481,25	11:sly#3158885#3158905#+
	stu-miR156d-3p	5	716	716	27023,97	1055,30	6:sly#39241674#39241695#-
	sly-miR5300	7	655	655	24721,65	965,39	4:sly#423141#423162#+
	CPB_2	sly-miR482e-3p	22	12790	12790	289582,72	13194,4903
CPB_2	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p= stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	13	7160	7160	162111,984	7386,43866	9:sly#63883415#63883435#+

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	10	5904	5904	133674,463	6090,71702	3:sly#61786222#61786242#+
	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	8	1900	1900	43018,5433	1960,08847	9:sly#7197977#7197997#+
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	10	1777	1777	40233,6586	1833,19853	6:sly#39241755#39241775#-
	sly-miR6022=stu-miR6022	8	1626	1626	36815,65	1677,42481	11:sly#3158885#3158905#+
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	4	1274	1274	28845,0653	1314,2909	6:sly#33870237#33870258#-
	sly-miR5300	7	1246	1246	28211,1078	1285,40539	4:sly#423141#423162#+
	stu-miR156d-3p	7	1163	1163	26331,8767	1199,78047	6:sly#39241674#39241695#-
	sly-miR482e-3p	29	17861	17861	300589,027	15889,7636	4:sly#55142317#55142338#+
CBP_3	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p= stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	15	8341	8341	140373,612	7420,4422	9:sly#63883415#63883435#+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	9	7675	7675	129165,264	6827,94556	3:sly#61786222#61786242#+
	ath-miR396a-5p=nta-miR396a=sly-miR396a-5p	9	2898	2898	48771,4574	2578,16107	00:sly#12537520#12537540#+
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a= stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	12	2576	2576	43352,4066	2291,69873	6:sly#39241755#39241775#-

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	sly-miR6022=stu-miR6022	11	2346	2346	39482,3205	2087,08277	11:sly#3158885#3158905#+
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	5	1816	1816	30562,1003	1615,57643	6:sly#33870237#33870258#-
	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	5	1632	1632	27465,4998	1451,88367	9:sly#7197977#7197997#+
	sly-miR5300	8	1538	1538	25883,5409	1368,25802	4:sly#423141#423162#+
	sly-miR482e-3p	22	12816	12816	291345,564	12723,9928	4:sly#55142317#55142338#+
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p= stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	17	7496	7496	170406,238	7442,18556	9:sly#59575910#59575930#+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	7	4587	4587	104276,069	4554,07404	3:sly#61786222#61786242#+
CPB_control_1	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	12	2071	2071	47079,9518	2056,13211	6:sly#39241755#39241775#-
	stu-miR156d-3p	7	1671	1671	37986,7694	1659,00374	6:sly#39241674#39241695#-
	sly-miR5300	8	1456	1456	33099,1839	1445,54725	4:sly#423141#423162#+
	sly-miR6022=stu-miR6022	7	1194	1194	27143,1494	1185,42817	11:sly#3158885#3158905#+
	sly-miR482c=stu-miR482e-3p	6	1169	1169	26574,8255	1160,60765	6:sly#33877995#33878016#-
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	4	1133	1133	25756,4391	1124,86609	6:sly#33870237#33870258#-
CPB_control_2	sly-miR482e-3p	23	23538	23538	423581,493	21926,4702	4:sly#55142317#55142338#+

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p= stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	21	8006	8006	144073,134	7457,869	9:sly#63883415#63883435#+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	9	2540	2540	45708,9384	2366,10104	3:sly#61786222#61786242#+
	stu-miR156d-3p	10	2307	2307	41515,9531	2149,05319	6:sly#39241674#39241695#-
	sly-miR5300	8	2275	2275	40940,8293	2119,24207	4:sly#423141#423162#+
	ath-miR396a-5p=nta-miR396a=sly-miR396a-5p	6	1316	1316	23682,2689	1225,90117	12:sly#2905770#2905790#-
	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	4	1307	1307	23520,3081	1217,51621	9:sly#7197977#7197997#+
	sly-miR482c=stu-miR482e-3p	7	1082	1082	19471,6384	1007,92084	6:sly#33877995#33878016#-
	ath-miR396b-5p=nta-miR396b=nta-miR396c= sly-miR396b=stu-miR396-5p	5	1036	1055	18643,4883	965,071132	7:sly#2628853#2628873#-
	sly-miR482e-3p	18	11347	11347	400628,464	18961,2187	4:sly#55142317#55142338#+
CPB_control_3	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p= stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	10	3872	3872	136708,682	6470,24223	9:sly#63883415#63883435#+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	6	2047	2047	72273,4174	3420,60585	3:sly#61786222#61786242#+
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	5	1207	1207	42615,5421	2016,9376	6:sly#33870237#33870258#-
		9	1170	1170	41309,1833	1955,10935	6:sly#39241755#39241775#-

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p						
	sly-miR5300	8	953	953	33647,5656	1592,49505	4:sly#423141#423162#+
	sly-miR6022=stu-miR6022	5	950	950	33541,6446	1587,48195	11:sly#3158885#3158905#+
	ath-miR396a-5p=nta-miR396a=sly-miR396a-5p	4	848	848	29940,3312	1417,03652	00:sly#12537520#12537540#+
	stu-miR156d-3p	4	675	675	23832,2212	1127,9477	6:sly#39241674#39241695#-

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p= stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	19	13452	13452	238261,393	33193,1778	9:sly#63883415#63883435#+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	14	10847	10847	192121,717	26765,203	3:sly#61786222#61786242#+
	sly-miR482e-3p	21	8619	8619	152659,452	21267,5657	4:sly#55142317#55142338#+
	stu-miR156d-3p	10	3116	3116	55190,4922	7688,79622	6:sly#39241674#39241695#-
	sly-miR5300	11	2254	2254	39922,7758	5561,7929	4:sly#423141#423162#+
<i>P. syringae_1</i>	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	15	1878	1878	33263,0759	4634,01634	6:sly#39241755#39241775#-
	ath-miR172a=ath-miR172b-3p=nta-miR172c=nta-miR172d=nta-miR172e=nta-miR172f=nta-miR172g=nta-miR172h=nta-miR172i=sly-miR172a=sly-miR172b=stu-miR172a-3p=stu-miR172b-3p=stu-miR172e-3p	10	1860	1860	32944,2604	4589,58953	5:sly#64339745#64339765#+
	sly-miR6022=stu-miR6022	10	1646	1646	29153,8993	4061,53998	11:sly#3158885#3158905#+
	nta-miR482a=nta-miR482c=sly-miR482a=stu-miR482a-3p	8	1069	1069	18934,0938	2637,78022	3:sly#58819366#58819387#+
	sly-miR482e-3p	31	14662	14662	208216,766	33206,4293	4:sly#55142317#55142338#+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	14	12462	12462	176974,31	28223,8795	3:sly#61786222#61786242#+
<i>P. syringae_2</i>	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p= stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	16	10722	10722	152266,53	24283,1357	9:sly#63883415#63883435#+

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	stu-miR156d-3p	12	4559	4559	64742,8888	10325,202	6:sly#39241674#39241695#-
	sly-miR5300	15	3727	3727	52927,5601	8440,89224	4:sly#423141#423162##+
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a= stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	14	2388	2388	33912,2655	5408,33128	6:sly#39241755#39241775#-
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	5	1973	1973	28018,8023	4468,44121	6:sly#33870237#33870258#-
	nta-miR482a=nta-miR482c=sly-miR482a=stu-miR482a-3p	9	1928	1928	27379,752	4366,52542	3:sly#58819366#58819387##+
	sly-miR482c=stu-miR482e-3p	7	1559	1559	22139,5402	3530,81594	6:sly#33877995#33878016#-
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	8	4849	4849	210642,919	27364,251	3:sly#61786222#61786242##+
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p= stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	14	3598	3598	156305,661	20304,5112	9:sly#63883415#63883435##+
<i>P. syringae_3</i>	sly-miR482e-3p	11	3589	3589	155907,906	20253,7217	4:sly#55142317#55142338##+
	ath-miR157d=nta-miR156g=nta-miR156h=nta-miR156i= nta-miR156j	10	2022	2022	87836,6638	11410,7064	3:sly#61720040#61720059##+
	stu-miR156d-3p	10	1356	1356	58905,2997	7652,28383	6:sly#39241674#39241695#-
	sly-miR5300	6	1016	1016	44135,5343	5733,5696	4:sly#423141#423162##+
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	4	571	571	24804,5178	3222,31126	6:sly#33870237#33870258#-
	sly-miR482c=stu-miR482e-3p	7	529	529	22980,0174	2985,29362	6:sly#33877995#33878016#-

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
<i>P. syringae</i> Control_1	sly-miR6022=stu-miR6022	5	475	475	20635,1275	2680,55665	11:sly#3158885#3158905##+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	10	24659	24659	216984,619	24003,6056	3:sly#61786222#61786242##+
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p= stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	20	23602	23602	207681,816	22974,6988	9:sly#63883415#63883435##+
	sly-miR482e-3p	23	14615	14615	128603,358	14226,5581	4:sly#55142317#55142338##+
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a= stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	16	11994	11994	105539,179	11675,2198	6:sly#39241755#39241775##-
	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	8	3627	3627	31915,4553	3530,60048	9:sly#7197977#7197997##+
	sly-miR6022=stu-miR6022	12	3404	3404	29952,9236	3313,52745	11:sly#3158885#3158905##+
	nta-miR168a=nta-miR168b=nta-miR168c= sly-miR168a-5p=sly-miR168b-5p	11	2939	2939	25861,2345	2860,88636	12:sly#63569025#63569045##+
	sly-miR5300	11	2866	2866	25219,1053	2789,82658	4:sly#423141#423162##+
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	4	2408	2408	21188,7897	2343,99944	6:sly#33870237#33870258##-
<i>P. syringae</i> Control_2	sly-miR482e-3p	23	11510	11510	208783,036	17241,6892	4:sly#55142317#55142338##+
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p= stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	16	9779	9779	177380,736	14648,695	9:sly#63883415#63883435##+

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	7	6044	6044	109631,779	9053,75932	3:sly#61786222#61786242#+
	stu-miR156d-3p	9	2789	2789	50589,5157	4177,85154	6:sly#39241674#39241695#-
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	4	2342	2342	42481,4076	3508,25684	6:sly#33870237#33870258#-
	sly-miR5300	10	2151	2151	39017,577	3222,14366	4:sly#423141#423162#+
	nta-miR168a=nta-miR168b=nta-miR168c=sly-miR168a-5p=sly-miR168b-5p	10	2128	2128	38600,3737	3187,69024	12:sly#63569025#63569045#+
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	10	1416	1416	25684,7451	2121,13223	6:sly#39241755#39241775#-
	sly-miR6022=stu-miR6022	8	1342	1342	24342,4633	2010,2821	11:sly#3158885#3158905#+
	sly-miR482e-3p	22	18006	18006	236035,918	22983,4587	4:sly#55142317#55142338#+
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	14	13011	13011	170557,777	16607,653	9:sly#63883415#63883435#+
<i>P. syringae</i> Control_3	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	8	11415	11415	149636,233	14570,468	3:sly#61786222#61786242#+
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d	11	7082	7082	92836,0752	9039,68937	6:sly#39241755#39241775#-

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	stu-miR156d-3p	10	2682	2682	35157,6326	3423,38985	6:sly#39241674#39241695#-
	sly-miR5300	9	2510	2510	32902,9298	3203,84768	4:sly#423141#423162##+
	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	5	2209	2209	28957,2	2819,63765	9:sly#7197977#7197997##+
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	4	2008	2008	26322,3438	2563,07814	6:sly#33870237#33870258#-
	nta-miR168a=nta-miR168b=nta-miR168c=sly-miR168a-5p=sly-miR168b-5p	10	1785	1785	23399,0955	2278,4306	12:sly#63569025#63569045##+

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	sly-miR482e-3p	31	28979	28979	280350,595	21850,923	4:sly#55142317#55142338#+
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	18	13352	13352	129170,819	10067,7492	9:sly#63883415#63883435#+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	12	12444	12444	120386,584	9383,09399	3:sly#61786222#61786242#+
	stu-miR156d-3p	14	8219	8219	79512,8039	6197,3407	6:sly#39241674#39241695#-
<i>B. cinerea_1</i>	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	22	6599	6599	63840,4907	4975,81463	6:sly#39241755#39241775#-
	sly-miR5300	12	2831	2831	27387,8511	2134,64634	4:sly#423141#423162#+
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	6	2448	2448	23682,6066	1845,85456	6:sly#33870237#33870258#-
	sly-miR482e-5p	9	2252	2252	21786,4502	1698,06683	4:sly#55142268#55142288#+
	nta-miR168a=nta-miR168b=nta-miR168c=sly-miR168a-5p=sly-miR168b-5p	11	2006	2006	19406,5804	1512,57526	12:sly#63569025#63569045#+
	sly-miR482e-3p	49	86406	86406	249607,848	12222,1614	4:sly#55142317#55142338#+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	27	61184	61184	176746,551	8654,50118	3:sly#61786222#61786242#+
<i>B. cinerea_2</i>	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	27	33244	33244	96034,2955	4702,37638	9:sly#59575910#59575930#+

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	20	24270	24270	70110,4666	3433,00068	6:sly#33870237#33870258#-
	stu-miR156d-3p	23	22348	22348	64558,2492	3161,13306	6:sly#39241674#39241695#-
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	29	16235	16235	46899,3289	2296,44689	6:sly#39241755#39241775#-
	sly-miR5300	17	9238	9238	26686,5415	1306,71878	4:sly#423141#423162#+
	sly-miR482e-5p	16	8914	8914	25750,5026	1260,88885	4:sly#55142268#55142288#+
	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	13	7870	7870	22734,626	1113,21448	9:sly#7197977#7197997#+
	sly-miR482e-3p	16	3869	3869	239004,201	9967,38509	4:sly#55142317#55142338#+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	6	2269	2269	140165,555	5845,43726	3:sly#61786222#61786242#+
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d	8	1782	1782	110081,542	4590,81939	9:sly#63883415#63883435#+
<i>B. cinerea_3</i>							
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	10	1621	1621	100135,903	4176,04839	6:sly#39241755#39241775#-
	stu-miR156d-3p	8	1054	1054	65109,958	2715,33313	6:sly#39241674#39241695#-
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	4	620	620	38299,9753	1597,25478	6:sly#33870237#33870258#-

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	sly-miR6022=stu-miR6022	6	588	588	36323,2024	1514,81583	11:sly#3158885#3158905#+
	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	3	484	484	29898,6904	1246,88922	9:sly#7197977#7197997#+
	sly-miR5300	7	452	452	27921,9175	1164,45026	4:sly#423141#423162#+
	sly-miR482e-3p	21	9881	9881	244307,084	10611,256	4:sly#55142317#55142338#+
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	13	5021	5021	124143,899	5392,07737	9:sly#63883415#63883435#+
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	11	4610	4610	113981,951	4950,70239	6:sly#33870237#33870258#-
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	14	4303	4303	106391,396	4621,01353	6:sly#39241755#39241775#-
<i>B. cinerea</i> Control_1	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	7	2728	2728	67449,6229	2929,61304	9:sly#7197977#7197997#+
	sly-miR6022=stu-miR6022	8	1498	1498	37037,9528	1608,7098	11:sly#3158885#3158905#+
	nta-miR168a=nta-miR168b=nta-miR168c=sly-miR168a-5p=sly-miR168b-5p	12	1367	1367	33798,9863	1468,02824	12:sly#63569025#63569045#+
	sly-miR482e-5p	9	1214	1214	30016,0712	1303,72076	4:sly#55142268#55142288#+
	sly-miR5300	7	1125	1125	27815,552	1208,14321	4:sly#423141#423162#+

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	sly-miR482e-3p	34	20400	20400	365637,266	21495,0435	4:sly#55142317#55142338##+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	8	5087	5087	91176,3124	5360,06305	3:sly#61786222#61786242##+
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	13	4582	4582	82124,9978	4827,95536	9:sly#63883415#63883435##+
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	7	4571	4571	81927,8404	4816,36489	6:sly#33870237#33870258##-
<i>B. cinerea</i> Control_2	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	10	2533	2533	45399,9606	2668,9679	6:sly#39241755#39241775##-
	stu-miR156d-3p	9	2395	2395	42926,532	2523,56025	6:sly#39241674#39241695##-
	sly-miR5300	9	2107	2107	37764,5941	2220,10082	4:sly#423141#423162##+
	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	5	1550	1550	27781,2629	1633,20183	9:sly#7197977#7197997##+
	sly-miR482e-5p	7	1303	1303	23354,1842	1372,94322	4:sly#55142268#55142288##+
	sly-miR482e-3p	27	20711	20711	313979,049	16361,5192	4:sly#55142317#55142338##+
<i>B. cinerea</i> Control_3	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	16	9632	9632	146021,254	7609,20056	9:sly#63883415#63883435##+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	14	7645	7645	115898,307	6039,48695	3:sly#61786222#61786242##+

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	18	4711	4711	71417,743	3721,65115	6:sly#39241755#39241775#-
	stu-miR156d-3p	9	4136	4136	62700,8671	3267,40589	6:sly#39241674#39241695#-
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	4	1628	1628	24680,1286	1286,10657	6:sly#33870237#33870258#-
	sly-miR5300	8	1470	1470	22284,8827	1161,28788	4:sly#423141#423162#+
	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	6	1183	1183	17934,2965	934,560243	9:sly#7197977#7197997#+
	ath-miR394a=ath-miR394b-5p=nta-miR394=sly-miR394-5p=stu-miR384-5p	4	987	987	14962,7069	779,72186	4:sly#63484496#63484515#+

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	sly-miR482e-3p	30	24751	24751	349511,41	15747,7459	4:sly#55142317#55142338#+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	15	9760	9760	137821,961	6209,76932	3:sly#61786222#61786242#+
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	15	9392	9392	132625,395	5975,63047	9:sly#63883415#63883435#+
	sly-miR6022=stu-miR6022	8	3061	3061	43224,695	1947,55163	11:sly#3158885#3158905#+
Seqüia_1	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	13	2711	2711	38282,3091	1724,86523	6:sly#39241755#39241775#-
	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	7	2606	2606	36799,5933	1658,05931	9:sly#7197977#7197997#+
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	4	2170	2170	30642,7926	1380,65568	6:sly#33870237#33870258#-
	sly-miR5300	8	2004	2004	28298,6896	1275,0387	4:sly#423141#423162#+
	stu-miR156d-3p	8	1760	1760	24853,1405	1119,79447	6:sly#39241674#39241695#-
	sly-miR482e-3p	32	18909	18909	278745,799	12318,1976	4:sly#55142317#55142338#+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	13	9596	9596	141458,812	6251,27846	3:sly#61786222#61786242#+
Seqüia_2	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	17	7780	7780	114690,057	5068,25203	9:sly#63883415#63883435#+

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	7	4666	4666	68784,5507	3039,64832	9:sly#7197977#7197997#+
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	11	3215	3215	47393,7143	2094,39978	6:sly#39241755#39241775#-
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	5	3146	3146	46376,5552	2049,45132	6:sly#33870237#33870258#-
	sly-miR6022=stu-miR6022	10	2530	2530	37296,3809	1648,15908	11:sly#3158885#3158905#+
	sly-miR5300	9	1980	1980	29188,0417	1289,86447	4:sly#423141#423162#+
	ath-miR396a-5p=nta-miR396a=sly-miR396a-5p	5	1914	1914	28215,523	1246,86898	12:sly#2905770#2905790#-
	sly-miR482e-3p	36	27301	27301	310154,049	17823,1603	4:sly#55142317#55142338#+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	12	12503	12503	142040,807	8162,44726	3:sly#61786222#61786242#+
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	22	10720	10720	121784,968	6998,43514	9:sly#63883415#63883435#+
Sequía_3	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	16	4358	4358	49509,2248	2845,07279	6:sly#39241755#39241775#-
	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	10	4310	4310	48963,9189	2813,73652	9:sly#7197977#7197997#+

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	ath-miR396a-5p=nta-miR396a=sly-miR396a-5p	8	2860	2860	32491,1388	1867,11982	12:sly#2905770#2905790#-
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	8	2804	2804	31854,9487	1830,56083	6:sly#33870237#33870258#-
	sly-miR5300	10	2541	2541	28867,1271	1658,86415	4:sly#423141#423162#+
	sly-miR6022=stu-miR6022	13	2300	2300	26129,2375	1501,52993	11:sly#3158885#3158905#+
	sly-miR482e-3p	33	18931	18931	370774,413	12916,9205	4:sly#55142317#55142338#+
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	7	4599	4599	90074,0335	3137,9704	9:sly#63883415#63883435#+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	9	3873	3873	75854,9101	2642,60912	3:sly#61786222#61786242#+
	ath-miR396a-5p=nta-miR396a=sly-miR396a-5p	16	3186	3186	62399,624	2173,85816	12:sly#2905770#2905790#-
	stu-miR156d-3p	11	1878	1878	36781,6992	1281,38909	6:sly#39241674#39241695#-
Sequía Control_1	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	9	1810	1810	35449,8805	1234,99161	9:sly#7197977#7197997#+
	ath-miR396b-5p=nta-miR396b=nta-miR396c=sly-miR396b=stu-miR396-5p	7	1773	1840	34725,8946	1209,74593	7:sly#2628853#2628873#-
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	15	1761	1761	34490,8632	1201,55814	6:sly#39241755#39241775#-
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	5	1758	1758	34432,1053	1199,51119	6:sly#33870237#33870258#-

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	sly-miR482e-3p	40	40431	40431	468863,067	24794,2855	4:sly#55142317#55142338#+
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	17	7191	7191	83391,3164	4409,87626	9:sly#63883415#63883435#+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	13	7148	7148	82892,6617	4383,50654	3:sly#61786222#61786242#+
	stu-miR156d-3p	11	3581	3581	41527,5072	2196,04601	6:sly#39241674#39241695#-
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	7	3106	3106	36019,1112	1904,75256	6:sly#33870237#33870258#-
Sequía Control_2	sly-miR5300	14	2447	2447	28376,9366	1500,62122	4:sly#423141#423162#+
	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	7	2441	2441	28307,3569	1496,94173	9:sly#7197977#7197997#+
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	14	2336	2336	27089,7115	1432,55142	6:sly#39241755#39241775#-
	ath-miR396a-5p=nta-miR396a=sly-miR396a-5p	11	2074	2074	24051,3962	1271,8792	00:sly#12537520#12537540#+
	sly-miR482e-3p	30	20530	20530	426429,046	11892,2113	4:sly#55142317#55142338#+
Sequía Control_3	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	15	5237	5237	108777,833	3033,5855	9:sly#63883415#63883435#+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	9	4631	4631	96190,5949	2682,55384	3:sly#61786222#61786242#+

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	4	1753	1753	36411,5985	1015,44308	6:sly#33870237#33870258#-
	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	9	1673	1673	34749,9169	969,102263	9:sly#7197977#7197997#+
	stu-miR156d-3p	8	1519	1519	31551,1798	879,896197	6:sly#39241674#39241695#-
	sly-miR482c=stu-miR482e-3p	6	1377	1377	28601,6949	797,641253	6:sly#33877995#33878016#-
	sly-miR5300	8	1300	1300	27002,3264	753,03822	4:sly#423141#423162#+
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	13	1100	1100	22848,1223	637,186186	6:sly#39241755#39241775#-

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	22	18857	18857	241979,776	13706,277	9:sly#63883415#63883435#+
Temperatura_1	sly-miR482e-3p	31	15480	15480	198644,903	11251,6927	4:sly#55142317#55142338#+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	14	12803	12803	164292,68	9305,90576	3:sly#61786222#61786242#+
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	16	3886	3886	49866,5435	2824,55282	6:sly#39241755#39241775#-

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	6	3221	3221	41333,0254	2341,19522	9:sly#7197977#7197997#+
	sly-miR5300	9	2646	2646	33954,4195	1923,25444	4:sly#423141#423162#+
	stu-miR156d-3p	12	2632	2632	33774,7665	1913,07849	6:sly#39241674#39241695#-
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	4	2086	2086	26768,2989	1516,21647	6:sly#33870237#33870258#-
	ath-miR396a-5p=nta-miR396a=sly-miR396a-5p	8	2023	2023	25959,8604	1470,42469	00:sly#12537520#12537540#+
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	24	14646	14646	254797,237	10367,022	9:sly#63883415#63883435#+
	sly-miR482e-3p	18	13065	13065	227288,543	9247,92727	4:sly#55142317#55142338#+
Temperatura_2	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	8	3158	3158	54938,9374	2235,35816	9:sly#7197977#7197997#+
	sly-miR5300	11	2990	2990	52017,1883	2116,44107	4:sly#423141#423162#+
	stu-miR156d-3p	8	2756	2756	47945,4438	1950,80655	6:sly#39241674#39241695#-
	ath-miR396a-5p=nta-miR396a=sly-miR396a-5p	8	2531	2531	44031,941	1791,54259	12:sly#2905770#2905790#-
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	11	2072	2072	36046,0666	1466,64411	6:sly#39241755#39241775#-

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	3	2034	2034	35385,6057	1439,7462	6:sly#33870237#33870258#-
	ath-miR396b-5p=nta-miR396b=nta-miR396c=sly-miR396b=stu-miR396-5p	7	1348	1377	23450,8194	954,168079	7:sly#2628853#2628873#-
	sly-miR482e-3p	14	6076	6076	274596,647	6639,68248	4:sly#55142317#55142338#+
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	13	2755	2755	124508,519	3010,58348	9:sly#63883415#63883435#+
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	11	1854	1854	83789,036	2025,99702	6:sly#39241755#39241775#-
Temperatura_3	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	5	1742	1742	78727,3467	1903,60877	9:sly#7197977#7197997#+
	sly-miR5300	6	966	966	43657,0705	1055,61657	4:sly#423141#423162#+
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	4	890	890	40222,3528	972,56599	6:sly#33870237#33870258#-
	sly-miR6022=stu-miR6022	6	759	759	34301,984	829,413925	11:sly#3158885#3158905#+
	nta-miR168a=nta-miR168b=nta-miR168c=sly-miR168a-5p=sly-miR168b-5p	7	575	575	25986,3515	628,343196	12:sly#63569025#63569045#+
	ath-miR396a-5p=nta-miR396a=sly-miR396a-5p	6	505	505	22822,7957	551,849241	12:sly#2905770#2905790#-
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	17	14187	14187	252541,076	18292,565	9:sly#63883415#63883435#+
Temperatura Control 1	sly-miR482e-3p	17	9733	9733	173255,959	12549,6254	4:sly#55142317#55142338#+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	10	6940	6940	123538,103	8948,36125	3:sly#61786222#61786242#+
	stu-miR156d-3p	10	3673	3673	65382,6299	4735,93275	6:sly#39241674#39241695#-

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	sly-miR5300	6	2769	2769	49291,5124	3570,31878	4:sly#423141#423162##+
	ath-miR396a-5p=nta-miR396a=sly-miR396a-5p	7	2326	2326	41405,5825	2999,11935	12:sly#2905770#2905790##-
	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	6	2212	2212	39375,5452	2852,12898	9:sly#7197977#7197997##+
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	4	1738	1738	30938,4791	2240,95848	6:sly#33870237#33870258##-
	ath-miR396b-5p=nta-miR396b=nta-miR396c=sly-miR396b=stu-miR396-5p	6	1059	1080	18851,1312	1365,46495	7:sly#2628853#2628873##-
	sly-miR482e-3p	25	20688	20688	223287,139	12406,4107	4:sly#55142317#55142338##+
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	17	15934	15934	171976,86	9555,47893	9:sly#63883415#63883435##+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	11	12857	12857	138768,065	7710,22923	3:sly#61786222#61786242##+
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	11	5228	5228	56426,197	3135,18538	6:sly#33870237#33870258##-
Temperatura Control 2	sly-miR5300	11	4941	4941	53328,5844	2963,07402	4:sly#423141#423162##+
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	10	3883	3883	41909,5109	2328,60217	6:sly#39241755#39241775##-
	stu-miR156d-3p	14	3838	3838	41423,8225	2301,61467	6:sly#39241674#39241695##-
	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	11	3816	3816	41186,3748	2288,42284	9:sly#7197977#7197997##+
	ath-miR396a-5p=nta-miR396a=sly-miR396a-5p	6	2513	2513	27122,9979	1507,02388	12:sly#2905770#2905790##-
Temperatura Control 3	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	22	20840	20840	235597,359	23283,4333	9:sly#63883415#63883435##+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	11	14460	14460	163469,256	16155,3957	3:sly#61786222#61786242##+

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	sly-miR482e-3p	21	12562	12562	142012,503	14034,876	4:sly#55142317#55142338##+
	stu-miR156d-3p	14	6000	6000	67829,5669	6703,48369	6:sly#39241674#39241695##-
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	15	4424	4424	50013,0007	4942,70197	6:sly#39241755#39241775##-
	ath-miR396a-5p=nta-miR396a=sly-miR396a-5p	9	3686	3686	41669,9639	4118,17348	12:sly#2905770#2905790##-
	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	9	3359	3359	37973,6818	3752,83781	9:sly#7197977#7197997##+
	sly-miR5300	9	3337	3337	37724,5441	3728,25418	4:sly#423141#423162##+
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	5	1694	1694	19150,5477	1892,61689	6:sly#33870237#33870258##-

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
Ácido Hexanoico_1	sly-miR482e-3p	26	17237	17237	176991,241	14030,5323	4:sly#55142317#55142338#+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	16	16169	16169	166024,91	13161,2042	3:sly#61786222#61786242#+
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	15	12382	12382	127139,615	10078,6709	9:sly#63883415#63883435#+
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	9	8944	8944	91837,8872	7280,21587	6:sly#33870237#33870258#-
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	17	7836	7836	80460,8323	6378,33385	6:sly#39241755#39241775#-
	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	9	5170	5170	53086,0775	4208,26431	9:sly#7197977#7197997#+
	sly-miR5300	15	4338	4338	44543,0182	3531,03493	4:sly#423141#423162#+
	sly-miR482e-5p	10	2731	2731	28042,1814	2222,97289	4:sly#55142268#55142288#+
	sly-miR6022=stu-miR6022	11	2520	2520	25875,6122	2051,22361	11:sly#3158885#3158905#+
	Ácido Hexanoico_2	sly-miR482e-3p	36	23044	23044	354239,685	12438,3185
ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p		17	11984	11984	184221,853	6468,52666	9:sly#63883415#63883435#+
sly-miR482b=stu-miR482d-3p		5	3616	3616	55587,1547	1951,78508	6:sly#33870237#33870258#-
ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159		11	3415	3415	52496,4644	1843,2926	3:sly#61786222#61786242#+
sly-miR5300		11	2709	2709	41643,6082	1462,21952	4:sly#423141#423162#+
stu-miR156d-3p		8	2165	2165	33281,0675	1168,58814	6:sly#39241674#39241695#-
sly-miR6022=stu-miR6022		13	1714	1714	26348,1522	925,154764	11:sly#3158885#3158905#+
sly-miR482e-5p		11	1648	1648	25333,5793	889,530368	4:sly#55142268#55142288#+
ath-miR396a-5p=nta-miR396a=sly-miR396a-5p		5	1542	1542	23704,1136	832,315429	12:sly#2905770#2905790#-

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
Ácido Hexanoico_3	sly-miR482e-3p	26	18083	18083	290976,089	13032,6801	4:sly#55142317#55142338##+
	sly-miR167a	17	9765	9765	157127,456	7037,77697	9:sly#59584688#59584708##+
	sly-miR159	9	9566	9566	153925,37	6894,35479	3:sly#61786222#61786242##+
	sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c	13	3560	3560	57283,5374	2565,74358	6:sly#39241755#39241775##-
	sly-miR6022	11	3015	3015	48514,7878	2172,95418	11:sly#3158885#3158905##+
	sly-miR482b	5	2737	2737	44040,7421	1972,59555	4:sly#2629512#2629533##-
	sly-miR5300	8	2084	2084	33533,3966	1501,96899	4:sly#423141#423162##+
	sly-miR396a-5p	9	1387	1387	22318,0524	999,630994	00:sly#12537520#12537540##+
	sly-miR482e-5p	9	1170	1170	18826,3311	843,23595	4:sly#55142268#55142288##+
	sly-miR482e-3p	27	20305	20305	263431,025	9130,54955	4:sly#55142317#55142338##+
Ácido Hexanoico Control_1	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	15	11275	11275	146278,493	5070,02936	9:sly#63883415#63883435##+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	12	9311	9311	120798,142	4186,87746	3:sly#61786222#61786242##+
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	5	5578	5578	72368,2503	2508,25931	6:sly#33870237#33870258##-
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	10	3757	3757	48742,1996	1689,41023	6:sly#39241755#39241775##-
	sly-miR5300	12	2935	2935	38077,8163	1319,78148	4:sly#423141#423162##+
	sly-miR482e-5p	10	2393	2393	31046,0696	1076,06033	4:sly#55142268#55142288##+
	sly-miR6022=stu-miR6022	12	2189	2189	28399,4343	984,327651	11:sly#3158885#3158905##+

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	4	2052	2052	26622,0371	922,72286	9:sly#7197977#7197997#+
	sly-miR482e-3p	27	16888	16888	225486,007	10762,357	4:sly#55142317#55142338#+
	ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p	12	11898	11898	158860,286	7582,33796	9:sly#63883415#63883435#+
	ath-miR159a=nta-miR159=sly-miR159	11	10149	10149	135507,904	6467,74222	3:sly#61786222#61786242#+
	sly-miR482b=stu-miR482d-3p	8	6871	6871	91740,5469	4378,73963	6:sly#33870237#33870258#+
Ácido Hexanoico Control_2	ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p	7	3265	3265	43593,7834	2080,71518	9:sly#7197977#7197997#+
	ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p	8	3209	3209	42846,0799	2045,02627	6:sly#39241755#39241775#+
	sly-miR6022=stu-miR6022	10	2995	2995	39988,7844	1908,64991	11:sly#3158885#3158905#+
	sly-miR5300	6	2471	2471	32992,4162	1574,71483	4:sly#423141#423162#+
	nta-miR168a=nta-miR168b=nta-miR168c=sly-miR168a-5p=sly-miR168b-5p	10	1990	1990	26570,1773	1268,18475	12:sly#63569025#63569045#+
Ácido Hexanoico Control_3	sly-miR159	8	9141	9141	225865,435	12789,0513	3:sly#61786222#61786242#+
	sly-miR167a	13	8083	8083	199723,259	11308,8018	9:sly#59584688#59584708#+
	sly-miR482e-3p	19	7053	7053	174272,936	9867,74452	4:sly#55142317#55142338#+

Muestra	miARN	Lecturas únicas	Lecturas (MA)	Lecturas (SA)	RPM (lib)	RPM (total)	Cromosoma y posición
	sly-miR5300	9	1940	1940	47935,5588	2714,22435	4:sly#423141#423162##+
	sly-miR482b	4	1682	1682	41560,6237	2353,2605	4:sly#2629512#2629533##-
	sly-miR6022	10	1680	1680	41511,2056	2350,46233	11:sly#3158885#3158905##+
	sly-miR482e-5p	8	1307	1307	32294,7296	1828,60373	4:sly#55142268#55142288##+
	sly-miR168a-5p=sly-miR168b-5p	7	1221	1221	30169,7512	1708,28244	12:sly#63569025#63569045##+
	sly-miR396a-5p	4	1012	1012	25005,5595	1415,87374	00:sly#12537520#12537540##+

Tabla S2. miARNs conservados detectados en todas las condiciones de estrés bajo estudio, incluyendo su secuencia y número de lecturas en cada réplica biológica analizada.

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>sly-miR9471a-5p</i>	CAGGUGCUCACUCAGCUAAUA	14	22	11	6	27	33
	<i>sly-miR477-5p</i>	UGUCUCUCCCUCAAGGGCUCC	85	7	46	32	55	43
	<i>sly-miR9471b-5p</i>	GAGGUGCUCACUCAGCUAAUA	13	14	6	8	23	20
	<i>ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p</i>	UGGAGAAGCAGGGCAGUGCA	942	1307	477	1196	1900	1632
	<i>stu-miR396-3p</i>	GUCCAAGAAAGCUGGGAAA	250	251	126	167	266	486
	<i>nta-miR171c=sly-miR171a=stu-miR171a-3p=stu-miR171e</i>	UGAUUGAGCCGUGCCAAUAUC	423	856	197	170	231	240
CPB	<i>ath-miR166a-3p=ath-miR166b-3p=ath-miR166c=ath-miR166d=ath-miR166e-3p=ath-miR166f=ath-miR166g=nta-miR166a=nta-miR166b=nta-miR166c=nta-miR166d=nta-miR166e=nta-miR166f=nta-miR166g=nta-miR166h=sly-miR166a=sly-miR166b=stu-miR166a-3p=stu-miR166c-3p=stu-miR166d-3p</i>	UCGGACCAGGCUUCAUUC	249	820	204	290	602	812
	<i>stu-miR162a-5p=stu-miR162b-5p</i>	GGAGGCAGCGGUUCAUCGAUC	22	33	8	14	40	0
	<i>sly-miR6024</i>	UUUUAGCAAGAGUUGUUUUACC	25	47	24	13	32	67
	<i>sly-miR6022=stu-miR6022</i>	UGGAAGGGAGAAUAUCCAGGA	1194	724	950	1005	1626	2346
	<i>stu-miR167d-3p</i>	GAUCAUGUGGUUGCUUCACC	25	35	23	25	53	45
	<i>ath-miR396a-3p=sly-miR396a-3p</i>	GUUCAAUAAAGCUGUGGGAAG	76	66	122	48	114	143
	<i>sly-miR390a-3p</i>	CGCUAUCCAUCUGAGUUUUA	14	16	7	3	10	9
	<i>sly-miR482e-5p</i>	UGUGGGUGGGUGGAAAGAUU	442	310	308	496	636	751
	<i>stu-miR156d-3p</i>	GCUCUCUAUGCUUCUGUCAUCA	1671	2307	675	716	1163	1217
	<i>ath-miR390a-5p=ath-miR390b-5p=nta-miR390b=nta-miR390c=sly-miR390b-5p</i>	AAGCUCAGGAGGGAUAGCGCC	13	42	13	8	16	17

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>ath-miR394a=ath-miR394b-5p=nta-miR394=sly-miR394-5p=stu-miR384-5p</i>	UUGGCAUUCUGUCCACCUCC	327	458	121	228	376	438
	<i>ath-miR396b-5p=nta-miR396b=nta-miR396c=sly-miR396b=stu-miR396-5p</i>	UUCCACAGCUUUCUUGAACUU	759	1055	431	348	342	1061
	<i>sly-miR9471a-3p</i>	UUGGCUGAGUGAGCAUCACGG	223	73	108	270	464	501
	<i>sly-miR9471b-3p</i>	UUGGCUGAGUGAGCAUCACUG	107	315	58	65	114	156
	<i>ath-miR156a-5p=ath-miR156b-5p=ath-miR156c-5p=ath-miR156d-5p=ath-miR156e=ath-miR156f-5p=nta-miR156a=nta-miR156b=nta-miR156c=nta-miR156d=nta-miR156e=sly-miR156d-5p=stu-miR156e=stu-miR156g-5p=stu-miR156h-5p=stu-miR156i-5p=stu-miR156j-5p=stu-miR156k-5p</i>	UGACAGAAGAGAGUGAGCAC	342	32	75	169	238	331
	<i>sly-miR5300</i>	UCCCCAGUCCAGGCAUCCAAC	1456	2275	953	655	1246	1538
	<i>ath-miR171a-3p</i>	UGAUUGAGCCGCGCCAAUAUC	275	428	92	129	174	211
	<i>stu-miR160a-3p</i>	GCGUAUGAGGAGCCAAGCAUA	22	22	5	19	25	36
	<i>ath-miR172b-5p=ath-miR172e-5p</i>	GCAGCACCAUUAAGAUUCAC	29	16	16	13	16	26
	<i>stu-miR477b-5p</i>	ACUCUCCCUCAAAGGCUUCUG	18	34	16	6	29	25
	<i>sly-miR482d-3p=stu-miR482c</i>	UUUCCUAUUCACCCAUGCCAA	211	335	142	93	131	183
	<i>sly-miR6027-5p</i>	AUGGGUAGCACAAGGAUUAUG	41	22	7	10	26	30
	<i>nta-miR390a=sly-miR390a-5p=stu-miR390-5p</i>	AAGCUCAGGAGGGAUAGCACC	54	104	24	35	52	62
	<i>sly-miR169e-3p</i>	UGGCAAGCAUCUUUGGCGACU	42	0	5	17	16	5
	<i>sly-miR482e-3p</i>	UCUUCCUACUCCUCCCAUACC	12816	23538	11347	6861	12790	17861
	<i>sly-miR399=stu-miR399i-3p</i>	UGCCAAAGGAGAGUUGCCCUA	7	10	5	7	5	5
	<i>sly-miR403-3p</i>	CUAGAUUCACGCACAAGCUCG	388	264	240	287	362	616
	<i>ath-miR162a-3p=ath-miR162b-3p=nta-miR162a=nta-miR162b=sly-miR162=stu-miR162a-3p=stu-miR162b-3p</i>	UCGAUAAACCUCUGCAUCCAG	617	698	512	477	824	886

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>sly-miR9479-5p</i>	UCCAGUCCUCUACCCUUCUCCA	7	16	9	7	9	13
	<i>sly-miR156e-5p</i>	UGAUAGAAGAGAGUGAGCAC	81	18	12	30	66	48
	<i>sly-miR168a-3p</i>	CCUGCCUUGCAUCAACUGAAU	92	89	28	31	66	88
	<i>sly-miR1919c-5p=stu-miR1919-5p</i>	UGUCGCAGAUGACUUUCGCC	265	376	78	218	339	465
	<i>ath-miR169a-5p=nta-miR169a=nta-miR169b=nta-miR169c=nta-miR169d=nta-miR169e=nta-miR169f=nta-miR169g=nta-miR169h=nta-miR169i=nta-miR169j=nta-miR169k=nta-miR169l=nta-miR169m=nta-miR169o=nta-miR169p=sly-miR169c</i>	CAGCCAAGGAUGACUUGCCGA	38	37	0	24	34	33
	<i>nta-miR168a=nta-miR168b=nta-miR168c=sly-miR168a-5p=sly-miR168b-5p</i>	UCGCUUGGUGCAGGUCGGAC	392	867	228	418	434	392
	<i>nta-miR482a=nta-miR482c=sly-miR482a=stu-miR482a-3p</i>	UUUCCA AUUCCACCCAUUCCUA	519	584	208	207	318	486
	<i>sly-miR6027-3p=stu-miR6027</i>	UGAAUCCUUCGGCUAUCCAUA	763	950	342	212	455	510
	<i>sly-miR171e=stu-miR171b-3p</i>	UUGAGCCGCGUCAUAUCUCU	12	14	12	8	11	15
	<i>sly-miR171d</i>	UUGAGCCGCGCCAAUAUCAC	271	422	89	129	172	206
	<i>sly-miR482c=stu-miR482e-3p</i>	UCUUGCCA AUACCGCCAUUCC	1169	1082	528	506	713	821
	<i>sly-miR394-3p</i>	AGGUGGGCAUACUGUCAACA	15	5	2	7	5	12
	<i>ath-miR168a-3p=sly-miR168b-3p</i>	CCCGCCUUGCAUCAACUGAAU	512	547	114	335	392	383
	<i>sly-miR156d-3p=stu-miR156h-3p=stu-miR156i-3p=stu-miR156j-3p=stu-miR156k-3p</i>	GCUCACUGCUCUAUCUGUCC	32	11	8	6	6	0
	<i>ath-miR162a-5p=ath-miR162b-5p</i>	UGGAGGCAGCGGUUCAUCGAUC	22	33	8	14	40	0
	<i>sly-miR166c-3p=stu-miR166b</i>	UCGGACCAGGCUUCAUCCUC	227	772	135	167	285	277
	<i>nta-miR171b</i>	UUGAGCCGCGCCAAUAUCACU	24	7	5	6	16	21
	<i>ath-miR396a-5p=nta-miR396a=sly-miR396a-5p</i>	UUCCACAGCUUUCUUGAACUG	952	1316	848	156	461	2898

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p</i>	UUGACAGAAGAUAGAGAGCAC	2071	536	1170	1191	1777	2576
	<i>sly-miR482b=stu-miR482d-3p</i>	UCUUGCCUACACCGCCCAUGCC	1133	669	1207	1029	1274	1816
	<i>ath-miR157d=nta-miR156g=nta-miR156h=nta-miR156i=nta-miR156j</i>	UGACAGAAGAUAGAGAGCAC	2071	536	1170	1191	1777	2576
	<i>stu-miR156f-5p</i>	CUGACAGAAGAGAGUGAGCA	342	32	75	169	238	329
	<i>ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p</i>	UGAAGCUGCCAGCAUGAUCUA	7496	8006	3872	4202	7160	8341
	<i>stu-miR172d-5p</i>	GGAGCAUCAUCAAGAUUCACA	10	23	7	5	13	19
	<i>stu-miR530</i>	UCUGCAUUUGCACCUGCACCU	72	106	22	23	34	53
	<i>stu-miR166a-5p</i>	GGAAUGUUGUCUGGCUCGAGG	5	0	5	5	19	26
	<i>sly-miR319c-5p</i>	AGAGCUUCCUUCAGCCCACUC	10	18	5	0	14	15
	<i>sly-miR156e-3p=stu-miR156g-3p</i>	GCUUACUCUCUAUCUGUCACC	32	16	6	8	14	10
	<i>stu-miR4376-3p</i>	GCAUCAUACUCCUGCAUAUU	67	40	50	119	111	31
	<i>sly-miR9471a-5p</i>	CAGGUGCUCACUCAGCUAAUA	38	54	33	31	59	11
	<i>sly-miR477-5p</i>	UGUCUCUCCCUCAAGGGCUCC	118	84	70	52	115	33
	<i>sly-miR9471b-5p</i>	GAGGUGCUCACUCAGCUAAUA	52	30	27	31	64	31
<i>P. syringae</i>	<i>ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p</i>	UGGAGAAGCAGGGCAGUGCA	3627	1296	2209	868	967	451
	<i>ath-miR170-5p=ath-miR171a-5p=stu-miR171a-5p=stu-miR171c-5p</i>	UAUUGGCCUGGUUCACUCAGA	15	28	13	12	16	2
	<i>stu-miR396-3p</i>	GUCCAAGAAAGCUGUGGGAAA	415	270	198	66	93	34
	<i>nta-miR171c=sly-miR171a=stu-miR171a-3p=stu-miR171e</i>	UGAUUGAGCCGUGCCAAUAUC	351	253	180	252	337	102
	<i>stu-miR167b-3p</i>	GAUCAUGUGGCAGCAUCACC	63	22	23	62	53	18

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>stu-miR167c-3p</i>	GGUCAUGCUCGGACAGCCUCACU	5	6	3	23	90	17
	<i>ath-miR166a-3p=ath-miR166b-3p=ath-miR166c=ath-miR166d=ath-miR166e-3p=ath-miR166f=ath-miR166g=nta-miR166a=nta-miR166b=nta-miR166c=nta-miR166d=nta-miR166e=nta-miR166f=nta-miR166g=nta-miR166h=sly-miR166a=sly-miR166b=stu-miR166a-3p=stu-miR166c-3p=stu-miR166d-3p</i>	UCGGACCAGGCUUCAUUC	1450	748	675	189	783	234
	<i>stu-miR162a-5p=stu-miR162b-5p</i>	GGAGGCAGCGGUUCAUCGAUC	93	72	66	79	68	9
	<i>sly-miR6024</i>	UUUUAGCAAGAGUUGUUUUACC	30	27	20	23	22	14
	<i>sly-miR6022=stu-miR6022</i>	UGGAAGGGAGAAUAUCCAGGA	3404	1342	1565	1646	872	475
	<i>sly-miR482d-5p</i>	GGAGUGGGUGGGAUGGAAAAA	14	3	3	31	42	28
	<i>stu-miR167d-3p</i>	GAUCAUGUGGUUGCUUCACC	91	107	49	40	37	19
	<i>ath-miR396a-3p=sly-miR396a-3p</i>	GUUCAUAAAGCUGGGGAAG	177	121	122	77	38	10
	<i>sly-miR4376</i>	ACGCAGGAGAGAUGAUGCUGGA	119	37	4	63	42	23
	<i>sly-miR390a-3p</i>	CGCUAUCCAUCUGAGUUUUA	53	36	25	37	46	13
	<i>sly-miR482e-5p</i>	UGUGGGUGGGUGGAAAGAUU	1505	1072	1047	563	1006	405
	<i>stu-miR156d-3p</i>	GCUCUCUAUGCUUCUGUCAUCA	1585	2789	2682	3116	4559	1356
	<i>ath-miR390a-5p=ath-miR390b-5p=nta-miR390b=nta-miR390c=sly-miR390b-5p</i>	AAGCUCAGGAGGGAUAGCGCC	107	75	62	28	30	10
	<i>ath-miR394a=ath-miR394b-5p=nta-miR394=sly-miR394-5p=stu-miR384-5p</i>	UUGGCAUUCUGUCCACCUCC	1089	780	569	607	530	208
	<i>stu-miR172c-3p</i>	AGAAUCUUGAUGAUGCUGC	856	6	576	1860	743	187
	<i>stu-miR172d-3p</i>	GGAAUCUUGAUGAUGCUGCAG	131	0	45	74	68	17
	<i>ath-miR396b-5p=nta-miR396b=nta-miR396c=sly-miR396b=stu-miR396-5p</i>	UUCCACAGCUUUCUUGAACUU	1016	955	761	569	870	223
	<i>sly-miR9471a-3p</i>	UUGGCUGAGUGAGCAUCACGG	1569	761	714	669	543	238

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>sly-miR164a-3p</i>	CAUGUGCCUGUUUJCCCAUC	10	12	19	3	8	2
	<i>sly-miR9471b-3p</i>	UUGGCUGAGUGAGCAUCACUG	611	381	333	413	348	107
	<i>ath-miR156a-5p=ath-miR156b-5p=ath-miR156c-5p=ath-miR156d-5p=ath-miR156e=ath-miR156f-5p=nta-miR156a=nta-miR156b=nta-miR156c=nta-miR156d=nta-miR156e=sly-miR156d-5p=stu-miR156e=stu-miR156g-5p=stu-miR156h-5p=stu-miR156i-5p=stu-miR156j-5p=stu-miR156k-5p</i>	UGACAGAAGAGAGUGAGCAC	1077	306	464	420	315	154
	<i>sly-miR5300</i>	UCCCCAGUCCAGGCAUUCCAAC	2866	2151	2510	2254	3727	1016
	<i>ath-miR171a-3p</i>	UGAUUGAGCCGCGCCAAUAUC	348	223	202	149	148	62
	<i>ath-miR390a-3p=sly-miR390b-3p</i>	CGCUAUCCAUCUGAGUUUCA	20	10	7	16	13	0
	<i>stu-miR160a-3p</i>	GCGUAUGAGGAGCCAAGCAUA	105	42	77	52	44	22
	<i>ath-miR172b-5p=ath-miR172e-5p</i>	GCAGCACCAUUAAGAUUCAC	72	64	66	18	38	2
	<i>sly-miR9473-5p</i>	UGGCUGUAAAUCUAAACUCGU	22	8	11	7	8	0
	<i>stu-miR477b-5p</i>	ACUCUCCCUCAAAGGCUUCUG	37	29	21	39	54	6
	<i>sly-miR482d-3p=stu-miR482c</i>	UUUCCUAUUCACCCAUGCCAA	176	238	189	135	357	63
	<i>sly-miR6027-5p</i>	AUGGGUAGCACAAGGAUUAUG	62	31	30	67	84	29
	<i>nta-miR390a=sly-miR390a-5p=stu-miR390-5p</i>	AAGCUCAGGAGGGAUAGCACC	417	290	230	150	60	10
	<i>sly-miR167b-5p</i>	UAAAGCUGCCAGCAUGAUCUGG	20	7	10	9	4	0
	<i>ath-miR169b-5p=ath-miR169c=nta-miR169q=nta-miR169r=nta-miR169s=sly-miR169a</i>	CAGCCAAGGAUGACUUGCCGG	18	10	7	6	0	3
	<i>ath-miR172a=ath-miR172b-3p=nta-miR172c=nta-miR172d=nta-miR172e=nta-miR172f=nta-miR172g=nta-miR172h=nta-miR172i=sly-miR172a=sly-miR172b=stu-miR172a-3p=stu-miR172b-3p=stu-miR172e-3p</i>	AGAAUCUUGAUGAUGCUGCAU	856	6	576	1860	743	187
	<i>sly-miR169e-3p</i>	UGGCAAGCAUCUUUGGCGACU	31	24	19	46	127	30

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>sly-miR482e-3p</i>	UCUUUCCUACUCCUCCCAUACC	14615	11510	18006	8619	14662	3589
	<i>sly-miR399=stu-miR399i-3p</i>	UGCCAAAGGAGAGUUGCCCUA	19	10	5	22	27	0
	<i>sly-miR403-3p</i>	CUAGAUUCACGCACAAGCUCG	787	546	887	539	477	147
	<i>ath-miR162a-3p=ath-miR162b-3p=nta-miR162a=nta-miR162b=sly-miR162=stu-miR162a-3p=stu-miR162b-3p</i>	UCGAUAAACCUCUGCAUCCAG	1598	1130	1088	1005	1221	424
	<i>sly-miR9479-5p</i>	UCCAGUCCUCUACCCUUCUCCA	15	14	13	18	34	7
	<i>sly-miR156e-5p</i>	UGAUAGAAGAGAGUGAGCAC	202	46	49	48	45	16
	<i>sly-miR168a-3p</i>	CCUGCCUUGCAUCAACUGAAU	85	68	64	84	227	65
	<i>sly-miR1919c-5p=stu-miR1919-5p</i>	UGUCGCAGAUGACUUUCGCC	554	608	364	171	488	155
	<i>ath-miR169a-5p=nta-miR169a=nta-miR169b=nta-miR169c=nta-miR169d=nta-miR169e=nta-miR169f=nta-miR169g=nta-miR169h=nta-miR169i=nta-miR169j=nta-miR169k=nta-miR169l=nta-miR169m=nta-miR169o=nta-miR169p=sly-miR169c</i>	CAGCCAAGGAUGACUUGCCGA	59	34	27	29	21	10
	<i>nta-miR168a=nta-miR168b=nta-miR168c=sly-miR168a-5p=sly-miR168b-5p</i>	UCGCUUGGUGCAGGUCGGGAC	2939	2128	1785	10	837	327
	<i>stu-miR4376-5p</i>	UACGCAGGAGAGAUGAUGCUG	119	37	4	63	42	23
	<i>ath-miR172c=ath-miR172d-3p=nta-miR172a</i>	AGAAUCUUGAUGAUGCUGCAG	2	0	4	43	40	16
	<i>nta-miR482a=nta-miR482c=sly-miR482a=stu-miR482a-3p</i>	UUUCCA AUUCCACCAU UCCUA	734	637	727	1069	1928	278
	<i>sly-miR171e=stu-miR171b-3p</i>	UUGAGCCGCGUCAUAUCUCU	14	24	23	3	8	6
	<i>sly-miR6027-3p=stu-miR6027</i>	UGAAUCCUUCGGCUAUCCAUA	394	320	349	416	577	171
	<i>sly-miR166c-5p</i>	GGGAUGUUGUCUGGCUCGACA	54	44	30	11	9	2
	<i>sly-miR171d</i>	UUGAGCCGCGCCAUAUCAC	348	223	133	149	148	62
	<i>sly-miR482c=stu-miR482e-3p</i>	UCUUGCCA AUACCGCCAUUCC	1586	979	1178	812	1559	529
	<i>sly-miR394-3p</i>	AGGUGGGCAUACUGUCAACA	33	8	10	5	10	2
	<i>ath-miR168a-3p=sly-miR168b-3p</i>	CCCGCCUUGCAUCAACUGAAU	488	271	310	216	844	206

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>sly-miR156d-3p=stu-miR156h-3p=stu-miR156i-3p=stu-miR156j-3p=stu-miR156k-3p</i>	GCUCACUGCUCUAUCUGUCACC	71	51	33	31	38	8
	<i>ath-miR160a-5p=ath-miR160b=ath-miR160c-5p=nta-miR160a=nta-miR160b=nta-miR160c=sly-miR160a=stu-miR160a-5p=stu-miR160b</i>	UGCCUGGCUCCUGUAUGCCA	20	35	7	4	20	0
	<i>stu-miR477b-3p</i>	GAGGUCUUUCGAGUGAGAGUGA	18	0	8	12	13	11
	<i>ath-miR162a-5p=ath-miR162b-5p</i>	UGGAGGCAGCGGUUCAUCGAUC	93	72	66	79	68	9
	<i>sly-miR166c-3p=stu-miR166b</i>	UCGGACCAGGCUUCAUCCUC	704	659	334	164	804	235
	<i>nta-miR171b</i>	UUGAGCCGCGCCAAUAUCACU	46	25	32	26	30	9
	<i>sly-miR1919a=sly-miR1919b=sly-miR1919c-3p=stu-miR1919-3p</i>	ACGAGAGUCAUCUGUGACAGG	15	11	14	17	9	3
	<i>ath-miR396a-5p=nta-miR396a=sly-miR396a-5p</i>	UUCCACAGCUUUCUGAACUG	1512	1306	1194	779	1097	13
	<i>ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p</i>	UUGACAGAAGAUAGAGAGCAC	11994	1416	7082	1878	2388	2019
	<i>sly-miR482b=stu-miR482d-3p</i>	UCUUGCCUACACCGCCCAUGCC	2408	2342	2008	975	1973	571
	<i>ath-miR157d=nta-miR156g=nta-miR156h=nta-miR156i=nta-miR156j</i>	UGACAGAAGAUAGAGAGCAC	11994	1416	7082	1878	2388	2022
	<i>sly-miR9479-3p</i>	GAGAAUGGUAGAGGGUCGGACC	45	16	21	19	20	5
	<i>stu-miR156f-5p</i>	CUGACAGAAGAGAGUGAGCA	1075	306	464	420	315	154
	<i>ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p</i>	UGAAGCUGCCAGCAUGAUCUA	23602	9779	13011	13452	10722	3598
	<i>stu-miR172d-5p</i>	GGAGCAUCAUCAAGAUUCACA	19	11	7	14	21	7
	<i>stu-miR530</i>	UCUGCAUUUGCACCUGCACCU	153	82	74	69	77	18
	<i>stu-miR166a-5p</i>	GGAAUGUUGUCUGGCUCGAGG	78	46	31	37	22	6
	<i>sly-miR319c-5p</i>	AGAGCUUCCUUCAGCCCACUC	18	13	11	9	20	0
	<i>sly-miR156e-3p=stu-miR156g-3p</i>	GCUUACUCUCUAUCUGUCACC	50	69	54	28	58	17

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>stu-miR4376-3p</i>	GCAUCAUACUCCUGCAUAUU	16	12	23	11	27	0
	<i>sly-miR9471a-5p</i>	CAGGUGCUCACUCAGCUAAUA	11	49	22	91	296	11
	<i>sly-miR477-5p</i>	UGUCUCUCCUCAAGGGCUCC	103	201	295	308	1053	41
	<i>sly-miR9471b-5p</i>	GAGGUGCUCACUCAGCUAAUA	17	31	20	89	400	10
	<i>ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p</i>	UGGAGAAGCAGGGCAGUGCA	2728	1550	1183	1629	7870	484
	<i>ath-miR170-5p=ath-miR171a-5p=stu-miR171a-5p=stu-miR171c-5p</i>	UAUUGGCCUGGUUCACUCAGA	13	10	13	16	55	5
	<i>stu-miR319b</i>	UUGGACUGAAGGGAGCUCCU	23	6	20	21	75	0
	<i>stu-miR396-3p</i>	GUCCAAGAAAGCUGGGAAA	54	201	264	133	305	18
	<i>stu-miR167b-3p</i>	GAUCAUGUGGCAGCAUCACC	7	7	8	49	174	8
	<i>nta-miR171c=sly-miR171a=stu-miR171a-3p=stu-miR171e</i>	UGAUUGAGCCGUGCCAAUAUC	57	217	516	1350	2468	144
<i>B. cinerea</i>	<i>stu-miR167c-3p</i>	GGUCAUGCUCGGACAGCCUCACU	8	8	4	126	861	25
	<i>ath-miR166a-3p=ath-miR166b-3p=ath-miR166c=ath-miR166d=ath-miR166e-3p=ath-miR166f=ath-miR166g=nta-miR166a=nta-miR166b=nta-miR166c=nta-miR166d=nta-miR166e=nta-miR166f=nta-miR166g=nta-miR166h=sly-miR166a=sly-miR166b=stu-miR166a-3p=stu-miR166c-3p=stu-miR166d-3p</i>	UCGGACCAGGCUUCAUCCCC	595	421	378	849	2548	117
	<i>stu-miR162a-5p=stu-miR162b-5p</i>	GGAGGCAGCGGUUCAUCGAUC	59	39	19	119	351	9
	<i>sly-miR6024</i>	UUUUAGCAAGAGUUGUUUUACC	39	41	63	8	224	7
	<i>sly-miR6022=stu-miR6022</i>	UGGAAGGGAGAAUAUCCAGGA	1498	553	968	912	5415	588
	<i>sly-miR482d-5p</i>	GGAGUGGGUGGGAUGGAAAAA	28	18	5	72	195	12
	<i>stu-miR167d-3p</i>	GAUCAUGUGGUUCUUCACC	35	93	63	56	122	7
	<i>ath-miR396a-3p=sly-miR396a-3p</i>	GUUCAUAAAGCUGGGGAAG	2	109	115	42	32	6
	<i>sly-miR482e-5p</i>	UGUGGGUGGGUGGAAAGAUU	1214	1303	794	2252	8914	388

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>stu-miR156d-3p</i>	GCUCUCUAUGCUUCUGUCAUCA	938	2395	4136	8219	22348	1054
	<i>ath-miR390a-5p=ath-miR390b-5p=nta-miR390b=nta-miR390c=sly-miR390b-5p</i>	AAGCUCAGGAGGGGAUAGCGCC	38	50	38	92	244	9
	<i>ath-miR394a=ath-miR394b-5p=nta-miR394=sly-miR394-5p=stu-miR384-5p</i>	UUGGCAUUCUGUCCACCUCC	460	334	987	1800	2657	108
	<i>stu-miR172c-3p</i>	AGAAUCUUGAUGAUGCUGC	141	111	183	410	826	16
	<i>stu-miR172d-3p</i>	GGAAUCUUGAUGAUGCUGCAG	37	56	70	115	276	3
	<i>ath-miR396b-5p=nta-miR396b=nta-miR396c=sly-miR396b=stu-miR396-5p</i>	UUCCACAGCUUUCUUGAACUU	262	718	955	1820	4452	142
	<i>sly-miR9471a-3p</i>	UUGGCUGAGUGAGCAUCACGG	623	234	367	442	1544	7
	<i>sly-miR164a-3p</i>	CAUGUGCCUGUUUCCCAUC	6	9	18	3	15	3
	<i>sly-miR9471b-3p</i>	UUGGCUGAGUGAGCAUCACUG	168	187	228	538	1147	6
	<i>ath-miR156a-5p=ath-miR156b-5p=ath-miR156c-5p=ath-miR156d-5p=ath-miR156e=ath-miR156f-5p=nta-miR156a=nta-miR156b=nta-miR156c=nta-miR156d=nta-miR156e=sly-miR156d-5p=stu-miR156e=stu-miR156g-5p=stu-miR156h-5p=stu-miR156i-5p=stu-miR156j-5p=stu-miR156k-5p</i>	UGACAGAAGAGAGUGAGCAC	450	251	449	697	2592	57
	<i>stu-miR399a-3p=stu-miR399b-3p=stu-miR399c-3p=stu-miR399d-3p=stu-miR399e-3p=stu-miR399f-3p</i>	UGCCAAAGGAGAGCUGCCUG	5	12	8	10	83	7
	<i>sly-miR5300</i>	UCCCCAGUCCAGGCAUCCAAC	1125	2107	1470	2831	9238	452
	<i>ath-miR171a-3p</i>	UGAUUGAGCCGCGCCAUAUAC	89	138	306	361	787	19
	<i>stu-miR160a-3p</i>	GCGUAUGAGGAGCCAAGCAUA	18	12	23	154	474	32
	<i>ath-miR172b-5p=ath-miR172e-5p</i>	GCAGCACCAUUAAGAUUCAC	21	17	33	58	170	6
	<i>stu-miR477b-5p</i>	ACUCUCCCUCAAAGGCUUCUG	5	68	66	75	215	14
	<i>sly-miR482d-3p=stu-miR482c</i>	UUUCCUAUCCACCCAUGCCAA	65	388	436	635	1647	61

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>ath-miR408-3p</i>	AUGCACUGCCUCUCCUGGC	5	5	18	26	168	9
	<i>sly-miR6027-5p</i>	AUGGGUAGCACAAGGAUUAUG	17	20	33	94	333	12
	<i>nta-miR390a=sly-miR390a-5p=stu-miR390-5p</i>	AAGCUCAGGAGGGAUAGCACC	128	97	115	248	464	17
	<i>ath-miR172a=ath-miR172b-3p=nta-miR172c=nta-miR172d=nta-miR172e=nta-miR172f=nta-miR172g=nta-miR172h=nta-miR172i=sly-miR172a=sly-miR172b=stu-miR172a-3p=stu-miR172b-3p=stu-miR172e-3p</i>	AGAAUCUUGAUGAUGCUGCAU	141	111	183	410	826	16
	<i>sly-miR169e-3p</i>	UGGCAAGCAUCUUUGGCGACU	44	34	25	56	210	24
	<i>sly-miR482e-3p</i>	UCUUUCCUACUCCUCCAUACC	9881	20400	20711	28979	86406	3869
	<i>sly-miR399=stu-miR399i-3p</i>	UGCCAAAGGAGAGUUGCCUA	7	6	8	55	150	9
	<i>ath-miR319c=sly-miR319c-3p</i>	UUGGACUGAAGGGAGCUCCUU	23	6	20	21	75	0
	<i>sly-miR403-3p</i>	CUAGAUUCACGCACAAGCUCG	316	243	374	555	2122	119
	<i>ath-miR162a-3p=ath-miR162b-3p=nta-miR162a=nta-miR162b=sly-miR162=stu-miR162a-3p=stu-miR162b-3p</i>	UCGAUAAACCUCUGCAUCCAG	552	600	761	1526	4964	271
	<i>sly-miR9479-5p</i>	UCCAGUCCUCUACCCUUCUCCA	15	44	20	64	230	11
	<i>ath-miR8175</i>	GAUCCCCGGCAACGGCGCCA	17	13	25	34	176	11
	<i>sly-miR156e-5p</i>	UGAUAGAAGAGAGUGAGCAC	42	28	70	84	267	5
	<i>sly-miR168a-3p</i>	CCUGCCUUGCAUCAACUGAAU	14	75	65	229	843	30
	<i>sly-miR1919c-5p=stu-miR1919-5p</i>	UGUCGCAGAUGACUUUCGCC	194	278	399	545	1706	95
	<i>ath-miR169a-5p=nta-miR169a=nta-miR169b=nta-miR169c=nta-miR169d=nta-miR169e=nta-miR169f=nta-miR169g=nta-miR169h=nta-miR169i=nta-miR169j=nta-miR169k=nta-miR169l=nta-miR169m=nta-miR169o=nta-miR169p=sly-miR169c</i>	CAGCCAAGGAUGACUUGCCGA	35	17	42	48	151	7
	<i>nta-miR168a=nta-miR168b=nta-miR168c=sly-miR168a-5p=sly-miR168b-5p</i>	UCGCUUGGUGCAGGUCGGGAC	1367	1152	773	2006	7813	320

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>sly-miR319a</i>	CUUGGACUGAAGGGAGCUCC	23	6	20	21	75	0
	<i>nta-miR482a=nta-miR482c=sly-miR482a=stu-miR482a-3p</i>	UUUCCA AUUCCACCCAUUCCUA	395	520	739	1227	3680	162
	<i>sly-miR171e=stu-miR171b-3p</i>	UUGAGCCGCGUCAUAUCUCU	7	7	19	4	23	2
	<i>sly-miR6027-3p=stu-miR6027</i>	UGAAUCCUUCGGCUAUCCAUA	73	249	303	537	1284	69
	<i>sly-miR166c-5p</i>	GGGAUGUUGUCUGGCUCGACA	43	11	10	5	0	3
	<i>sly-miR171d</i>	UUGAGCCGCGCCAUAUCAC	89	138	304	357	784	19
	<i>sly-miR482c=stu-miR482e-3p</i>	UCUUGCCA AUACCGCCAUUCC	1005	752	751	992	4608	368
	<i>sly-miR394-3p</i>	AGGUGGGCAUACUGUCAACA	11	9	10	9	14	0
	<i>ath-miR168a-3p=sly-miR168b-3p</i>	CCCGCCUUGCAUCAACUGAAU	113	449	532	1191	3569	186
	<i>sly-miR156d-3p=stu-miR156h-3p=stu-miR156i-3p=stu-miR156j-3p=stu-miR156k-3p</i>	GCUCACUGCUCUAUCUGUCACC	25	42	59	35	264	9
	<i>stu-miR169c-3p</i>	GCAGUCUCCUUGGCUACC	3	8	0	23	155	8
	<i>stu-miR477b-3p</i>	GAGGUCUUUCGAGUGAGAGUGA	14	27	43	47	123	0
	<i>ath-miR162a-5p=ath-miR162b-5p</i>	UGGAGGCAGCGGUUCAUCGAUC	59	39	19	119	351	9
	<i>sly-miR166c-3p=stu-miR166b</i>	UCGGACCAGGCUUCAUCCUC	187	565	569	1015	3866	112
	<i>nta-miR171b</i>	UUGAGCCGCGCCAUAUCACU	36	23	35	37	107	3
	<i>ath-miR396a-5p=nta-miR396a=sly-miR396a-5p</i>	UUCCACAGCUUUCUUGAACUG	516	1041	949	1802	5080	187
	<i>nta-miR399a=nta-miR399b=nta-miR399c=nta-miR399d=nta-miR399e=nta-miR399f=nta-miR399g=stu-miR399j-3p=stu-miR399k-3p=stu-miR399l-3p=stu-miR399m-3p=stu-miR399n-3p=stu-miR399o-3p</i>	CGCCAAAGGAGAGCUGCCCUG	6	9	2	35	311	25
	<i>ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p</i>	UUGACAGAAGAUAGAGAGCAC	4303	2533	4711	6599	16235	1621
	<i>sly-miR482b=stu-miR482d-3p</i>	UCUUGCCUACACCGCCCAUGCC	4610	4571	1628	2448	24270	620

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>ath-miR157d=nta-miR156g=nta-miR156h=nta-miR156i=nta-miR156j</i>	UGACAGAAGAUAGAGAGCAC	4303	2533	4711	6599	16235	1621
	<i>sly-miR9479-3p</i>	GAGAAUGGUAGAGGGUCGGACC	10	9	11	40	163	11
	<i>stu-miR156f-5p</i>	CUGACAGAAGAGAGUGAGCA	447	251	449	689	2592	57
	<i>ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p</i>	UGAAGCUGCCAGCAUGAUCUA	5021	4582	9632	13352	33244	1782
	<i>stu-miR172d-5p</i>	GGAGCAUCAUCAAGAUUCACA	26	19	28	57	166	3
	<i>stu-miR530</i>	UCUGCAUUUGCACCUGCACCU	15	15	33	60	130	8
	<i>stu-miR166a-5p</i>	GGAAUGUUGUCUGGCUCGAGG	45	21	26	42	58	10
	<i>nta-miR408=stu-miR408b-3p</i>	UGCACUGCCUCUUCCCUGGCU	5	5	20	26	168	9
	<i>sly-miR319c-5p</i>	AGAGCUUCCUUCAGCCCACUC	36	47	36	22	151	5
	<i>sly-miR156e-3p=stu-miR156g-3p</i>	GCUUACUCUCUAUCUGUCACC	34	26	45	31	190	7
	<i>sly-miR9471a-5p</i>	CAGGUGCUCACUCAGCUAAUA	31	30	26	27	20	27
	<i>sly-miR477-5p</i>	UGUCUCUCCCUCAAGGGCUCC	223	166	82	167	130	201
	<i>sly-miR9471b-5p</i>	GAGGUGCUCACUCAGCUAAUA	29	15	15	21	15	30
Sequía	<i>ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p</i>	UGGAGAAGCAGGGCAGUGCA	1810	2441	1673	2606	4666	4310
	<i>stu-miR396-3p</i>	GUCCAAGAAAGCUGUGGGAAA	13	534	341	229	259	11
	<i>stu-miR167b-3p</i>	GAUCAUGUGGCAGCAUCACC	6	9	7	11	14	20
	<i>nta-miR171c=sly-miR171a=stu-miR171a-3p=stu-miR171e</i>	UGAUUGAGCCGUGCCAAUAUC	487	363	162	221	189	436

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>ath-miR166a-3p=ath-miR166b-3p=ath-miR166c=ath-miR166d=ath-miR166e-3p=ath-miR166f=ath-miR166g=nta-miR166a=nta-miR166b=nta-miR166c=nta-miR166d=nta-miR166e=nta-miR166f=nta-miR166g=nta-miR166h=sly-miR166a=sly-miR166b=stu-miR166a-3p=stu-miR166c-3p=stu-miR166d-3p</i>	UCGGACCAGGCUUCAUUCCCC	555	972	381	794	1307	1356
	<i>stu-miR162a-5p=stu-miR162b-5p</i>	GGAGGCAGCGGUUCAUCGAUC	32	28	14	14	19	38
	<i>sly-miR6024</i>	UUUUAGCAAGAGUUGUUUUACC	77	66	22	44	43	85
	<i>sly-miR6023</i>	UCCAUGAAAGAGUUUUUGGAU	16	11	0	8	5	7
	<i>sly-miR6022=stu-miR6022</i>	UGGAAGGGAGAAUAUCCAGGA	532	595	1013	3061	2530	2300
	<i>sly-miR482d-5p</i>	GGAGUGGGUGGGAUGGAAAAA	36	19	25	26	24	23
	<i>stu-miR167d-3p</i>	GAUCAUGUGGUUGCUUCACC	60	83	33	42	36	66
	<i>ath-miR396a-3p=sly-miR396a-3p</i>	GUUCAUAAAGCUGGGGAAG	0	146	87	54	37	17
	<i>sly-miR4376</i>	ACGCAGGAGAGAUGAUGCUGGA	7	7	43	4	26	0
	<i>sly-miR390a-3p</i>	CGCUAUCCAUCUGAGUUUUA	14	21	9	16	13	12
	<i>sly-miR482e-5p</i>	UGUGGGUGGGUGGAAAGAUU	1242	1885	818	783	1212	1553
	<i>stu-miR156d-3p</i>	GCUCUCUAUGCUUCUGUCAUCA	1878	3581	1519	1760	1407	2155
	<i>ath-miR390a-5p=ath-miR390b-5p=nta-miR390b=nta-miR390c=sly-miR390b-5p</i>	AAGCUCAGGAGGGAUAGCGCC	37	50	17	39	103	107
	<i>ath-miR394a=ath-miR394b-5p=nta-miR394=sly-miR394-5p=stu-miR384-5p</i>	UUGGCAUUCUGUCCACCUCC	297	936	226	343	350	593
	<i>stu-miR172c-3p</i>	AGAAUCUUGAUGAUGCUGC	53	146	79	104	118	194
	<i>stu-miR172d-3p</i>	GGAAUCUUGAUGAUGCUGCAG	6	22	26	22	44	30
	<i>ath-miR396b-5p=nta-miR396b=nta-miR396c=sly-miR396b=stu-miR396-5p</i>	UCCACAGCUUUCUUGAACUU	1840	1187	571	673	848	1399
	<i>sly-miR9471a-3p</i>	UUGGCUGAGUGAGCAUCACGG	197	317	286	191	760	661

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>sly-miR164a-3p</i>	CAUGUGCCUGUUUCCCAUC	24	25	31	12	23	15
	<i>sly-miR9471b-3p</i>	UUGGCGAGUGAGCAUCACUG	130	6	28	17	109	250
	<i>ath-miR156a-5p=ath-miR156b-5p=ath-miR156c-5p=ath-miR156d-5p=ath-miR156e=ath-miR156f-5p=nta-miR156a=nta-miR156b=nta-miR156c=nta-miR156d=nta-miR156e=sly-miR156d-5p=stu-miR156e=stu-miR156g-5p=stu-miR156h-5p=stu-miR156i-5p=stu-miR156j-5p=stu-miR156k-5p</i>	UGACAGAAGAGAGUGAGCAC	329	338	231	557	648	663
	<i>sly-miR5304</i>	UCA AUGCUACAUACUCAUCCC	8	10	5	6	4	7
	<i>stu-miR399a-3p=stu-miR399b-3p=stu-miR399c-3p=stu-miR399d-3p=stu-miR399e-3p=stu-miR399f-3p</i>	UGCCAAAGGAGAGCUGCCUG	2	9	0	8	9	7
	<i>sly-miR5300</i>	UCCCCAGUCCAGGCAUCCAAC	1644	2447	1300	2004	1980	2541
	<i>ath-miR171a-3p</i>	UGAUUGAGCCGCGCCAAUAUC	258	281	122	192	225	267
	<i>ath-miR390a-3p=sly-miR390b-3p</i>	CGCUAUCCAUCUGAGUUUCA	3	7	0	5	5	7
	<i>stu-miR160a-3p</i>	GCGUAUGAGGAGCCAAGCAUA	17	31	33	26	23	19
	<i>stu-miR477a-5p</i>	CCUCUCCCUCAAGGGCUUCUC	11	7	7	6	7	10
	<i>sly-miR9473-5p</i>	UGGCGUAAAUCUAAACUCGU	6	11	9	8	12	23
	<i>ath-miR172b-5p=ath-miR172e-5p</i>	GCAGCACCAUUAAGAUUCAC	32	33	20	17	15	41
	<i>stu-miR477b-5p</i>	ACUCUCCCUCAAGGGCUUCUG	43	36	26	48	44	62
	<i>sly-miR482d-3p=stu-miR482c</i>	UUUCCUAUCCACCCAUGCCAA	190	315	185	167	150	295
	<i>ath-miR408-3p</i>	AUGCACUGCCUCUCCUGGC	11	7	10	4	8	27
	<i>sly-miR6027-5p</i>	AUGGGUAGCACAAGGAUUAUG	37	38	22	37	42	43
	<i>nta-miR390a=sly-miR390a-5p=stu-miR390-5p</i>	AAGCUCAGGAGGGAUAGCACC	80	89	29	66	122	124
	<i>ath-miR169b-5p=ath-miR169c=nta-miR169q=nta-miR169r=nta-miR169s=sly-miR169a</i>	CAGCCAAGGAUGACUUGCCGG	6	6	6	3	8	7

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>ath-miR172a=ath-miR172b-3p=nta-miR172c=nta-miR172d=nta-miR172e=nta-miR172f=nta-miR172g=nta-miR172h=nta-miR172i=sly-miR172a=sly-miR172b=stu-miR172a-3p=stu-miR172b-3p=stu-miR172e-3p</i>	AGAAUCUUGAUGAUGCUGCAU	53	146	79	104	118	194
	<i>sly-miR169e-3p</i>	UGGCAAGCAUCUUUGGCGACU	35	15	12	12	29	8
	<i>sly-miR482e-3p</i>	UCUUUCCUACUCCUCCAUACC	18931	40431	20530	24751	18909	27301
	<i>sly-miR399=stu-miR399i-3p</i>	UGCCAAAGGAGAGUUGCCCUA	8	12	6	13	10	15
	<i>sly-miR403-3p</i>	CUAGAUUCACGCACAAGCUCG	276	426	335	674	500	662
	<i>ath-miR162a-3p=ath-miR162b-3p=nta-miR162a=nta-miR162b=sly-miR162=stu-miR162a-3p=stu-miR162b-3p</i>	UCGAUAAACCUCUGCAUCCAG	415	893	531	918	801	1143
	<i>sly-miR9479-5p</i>	UCCAGUCCUCUACCCUUCUCCA	47	61	23	21	27	25
	<i>ath-miR8175</i>	GAUCCCGGCAACGGCGCCA	10	15	18	21	30	12
	<i>sly-miR156e-5p</i>	UGAUAGAAGAGAGUGAGCAC	51	79	27	126	131	171
	<i>sly-miR168a-3p</i>	CCUGCCUUGCAUCAACUGAAU	141	107	94	66	69	112
	<i>sly-miR1919c-5p=stu-miR1919-5p</i>	UGUCGCAGAUGACUUUCGCC	364	545	366	489	470	671
	<i>ath-miR169a-5p=nta-miR169a=nta-miR169b=nta-miR169c=nta-miR169d=nta-miR169e=nta-miR169f=nta-miR169g=nta-miR169h=nta-miR169i=nta-miR169j=nta-miR169k=nta-miR169l=nta-miR169m=nta-miR169o=nta-miR169p=sly-miR169c</i>	CAGCCAAGGAUGACUUGCCGA	35	40	12	28	26	43
	<i>nta-miR168a=nta-miR168b=nta-miR168c=sly-miR168a-5p=sly-miR168b-5p</i>	UCGCUUGGUGCAGGUCGGGAC	440	959	318	595	483	703
	<i>stu-miR4376-5p</i>	UACGCAGGAGAGAUGAUGCUG	7	7	43	4	26	0
	<i>stu-miR398a-5p</i>	GGGUUGAUUUGAGAACAUAUG	11	7	7	18	24	27
	<i>nta-miR482a=nta-miR482c=sly-miR482a=stu-miR482a-3p</i>	UUUCCA AUUCCACCAUUCUUA	214	363	239	446	289	498
	<i>sly-miR171e=stu-miR171b-3p</i>	UUGAGCCGCGUCAUAUCUCU	2	23	6	6	15	11
	<i>sly-miR6027-3p=stu-miR6027</i>	UGAAUCCUUCGGCUAUCCAUA	332	313	308	485	348	586
	<i>sly-miR171d</i>	UUGAGCCGCGCCAUAUCAC	256	280	119	188	222	263

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>sly-miR482c=stu-miR482e-3p</i>	UCUUGCCAAUACCGCCCAUUC	943	1238	1377	1564	1375	1338
	<i>sly-miR394-3p</i>	AGGUGGGCAUACUGUCAACA	10	12	7	6	5	16
	<i>ath-miR168a-3p=sly-miR168b-3p</i>	CCCGCCUUGCAUCAACUGAAU	723	743	400	261	390	429
	<i>sly-miR156d-3p=stu-miR156h-3p=stu-miR156i-3p=stu-miR156j-3p=stu-miR156k-3p</i>	GCUCACUGCUCUAUCUGUCACC	14	23	17	15	16	16
	<i>stu-miR477b-3p</i>	GAGGUCUUUCGAGUGAGAGUGA	11	5	3	5	10	7
	<i>ath-miR162a-5p=ath-miR162b-5p</i>	UGGAGGCAGCGGUUCAUCGAUC	32	28	14	14	19	38
	<i>sly-miR166c-3p=stu-miR166b</i>	UCGGACCAGGCUUCAUCCUC	417	525	129	287	501	681
	<i>nta-miR171b</i>	UUGAGCCGCGCCAAUAUCACU	18	25	9	22	29	19
	<i>sly-miR1919a=sly-miR1919b=sly-miR1919c-3p=stu-miR1919-3p</i>	ACGAGAGUCAUCUGAGACAGG	5	13	12	8	14	12
	<i>ath-miR396a-5p=nta-miR396a=sly-miR396a-5p</i>	UUCCACAGCUUUCUUGAACUG	3186	2074	996	1301	1914	2860
	<i>nta-miR399a=nta-miR399b=nta-miR399c=nta-miR399d=nta-miR399e=nta-miR399f=nta-miR399g=stu-miR399j-3p=stu-miR399k-3p=stu-miR399l-3p=stu-miR399m-3p=stu-miR399n-3p=stu-miR399o-3p</i>	CGCCAAAGGAGAGCUGCCCUG	4	4	0	5	6	10
	<i>ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p</i>	UUGACAGAAGAUAGAGAGCAC	1761	2336	1100	2711	3215	4358
	<i>sly-miR482b=stu-miR482d-3p</i>	UCUUGCCUACACCGCCCAUGCC	1758	3106	1753	2170	3146	2804
	<i>ath-miR157d=nta-miR156g=nta-miR156h=nta-miR156i=nta-miR156j</i>	UGACAGAAGAUAGAGAGCAC	1761	2336	1100	2711	3215	4358
	<i>sly-miR9479-3p</i>	GAGAAUGGUAGAGGGUCGGACC	5	18	6	7	7	5
	<i>stu-miR156f-5p</i>	CUGACAGAAGAGAGUGAGCA	329	338	231	554	648	661
	<i>ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p</i>	UGAAGCUGCCAGCAUGAUCUA	4599	7191	5237	9392	7780	10720

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>stu-miR172d-5p</i>	GGAGCAUCAUCAAGAUUCACA	16	9	7	10	9	15
	<i>stu-miR530</i>	UCUGCAUUUGCACCUGCACCU	38	58	17	76	46	73
	<i>stu-miR166a-5p</i>	GGAAUGUUGUCUGGCUCGAGG	10	16	20	13	24	32
	<i>sly-miR319c-5p</i>	AGAGCUUCCUUCAGCCCACUC	18	22	10	7	4	11
	<i>sly-miR156e-3p=stu-miR156g-3p</i>	GCUUACUCUCUAUCUGUCACC	30	23	26	39	21	45
	<i>nta-miR408=stu-miR408b-3p</i>	UGCACUGCCUCUUCCCUGGCU	11	7	10	4	8	27
	<i>sly-miR9471a-5p</i>	CAGGUGCUCACUCAGCUAAUA	54	32	74	48	56	16
	<i>stu-miR398a-3p</i>	UAUGUUCUCAGGUCGCCUCUG	19	17	65	12	0	0
	<i>sly-miR477-5p</i>	UGUCUCUCCCUCAAGGGCUCC	83	219	99	123	97	82
	<i>sly-miR9471b-5p</i>	GAGGUGCUCACUCAGCUAAUA	34	13	45	42	39	12
	<i>ath-miR164a=ath-miR164b-5p=nta-miR164a=nta-miR164b=sly-miR164a-5p=sly-miR164b-5p</i>	UGGAGAAGCAGGGCAGUGCA	2212	3816	3359	3221	3158	1742
	<i>ath-miR170-5p=ath-miR171a-5p=stu-miR171a-5p=stu-miR171c-5p</i>	UAUUGGCCUGGUUCACUCAGA	23	41	19	23	16	6
	<i>stu-miR396-3p</i>	GUCCAAGAAAGCUGUGGGAAA	341	402	520	364	561	35
Temperatura	<i>nta-miR171c=sly-miR171a=stu-miR171a-3p=stu-miR171e</i>	UGAUUGAGCCGUGCCAAUAUC	259	338	472	408	258	193
	<i>stu-miR167b-3p</i>	GAUCAUGUGGCAGCAUCACC	15	12	19	8	25	11
	<i>stu-miR167c-3p</i>	GGUCAUGCUCGGACAGCCUCACU	14	11	11	6	13	10
	<i>ath-miR166a-3p=ath-miR166b-3p=ath-miR166c=ath-miR166d=ath-miR166e-3p=ath-miR166f=ath-miR166g=nta-miR166a=nta-miR166b=nta-miR166c=nta-miR166d=nta-miR166e=nta-miR166f=nta-miR166g=nta-miR166h=sly-miR166a=sly-miR166b=stu-miR166a-3p=stu-miR166c-3p=stu-miR166d-3p</i>	UCGGACCAGGCUUCAUUCGCC	892	1349	707	593	1247	298
	<i>stu-miR162a-5p=stu-miR162b-5p</i>	GGAGGCAGCGGUUCAUCGAUC	45	78	76	73	49	17
	<i>sly-miR6024</i>	UUUUAGCAAGAGUUGUUUUACC	30	32	47	25	46	14

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>sly-miR6022=stu-miR6022</i>	UGGAAGGGAGAAUUAUCCAGGA	509	1049	888	1299	601	759
	<i>stu-miR167d-3p</i>	GAUCAUGUGGUUGCUUCACC	137	115	319	120	234	55
	<i>ath-miR396a-3p=sly-miR396a-3p</i>	GUUCAAUAAAGCUGUGGGAAG	264	420	474	494	387	57
	<i>sly-miR390a-3p</i>	CGCUAUCCAUCUGAGUUUUA	26	63	43	31	41	6
	<i>sly-miR482e-5p</i>	UGUGGGUGGGUGGAAAGAUU	375	648	685	625	544	430
	<i>stu-miR156d-3p</i>	GCUCUCUAUGCUUCUGUCAUCA	3673	3838	6000	2632	2756	472
	<i>ath-miR390a-5p=ath-miR390b-5p=nta-miR390b=nta-miR390c=sly-miR390b-5p</i>	AAGCUCAGGAGGGAUAGCGCC	24	96	20	39	31	10
	<i>ath-miR394a=ath-miR394b-5p=nta-miR394=sly-miR394-5p=stu-miR384-5p</i>	UUGGCAUUCUGUCCACCUCC	591	677	1148	623	588	281
	<i>ath-miR396b-5p=nta-miR396b=nta-miR396c=sly-miR396b=stu-miR396-5p</i>	UUCCACAGCUUUCUUGAACUU	1080	1618	1696	1065	1377	490
	<i>sly-miR9471a-3p</i>	UUGGCUGAGUGAGCAUCACGG	372	477	717	615	443	258
	<i>sly-miR164a-3p</i>	CAUGUGCCUGUUUCCCAUC	29	47	63	14	24	10
	<i>sly-miR9471b-3p</i>	UUGGCUGAGUGAGCAUCACUG	387	449	508	419	205	129
	<i>ath-miR156a-5p=ath-miR156b-5p=ath-miR156c-5p=ath-miR156d-5p=ath-miR156e=ath-miR156f-5p=nta-miR156a=nta-miR156b=nta-miR156c=nta-miR156d=nta-miR156e=sly-miR156d-5p=stu-miR156e=stu-miR156g-5p=stu-miR156h-5p=stu-miR156i-5p=stu-miR156j-5p=stu-miR156k-5p</i>	UGACAGAAGAGAGUGAGCAC	98	308	376	348	343	205
	<i>sly-miR5304</i>	UCAAUGCUACAUACUCAUCCC	10	18	15	12	2	0
	<i>sly-miR164b-3p</i>	CACGUGUUCUCCUUCUCCAAC	17	22	14	14	16	4
	<i>stu-miR399a-3p=stu-miR399b-3p=stu-miR399c-3p=stu-miR399d-3p=stu-miR399e-3p=stu-miR399f-3p</i>	UGCCAAAGGAGAGCUGCCUG	15	14	11	12	8	0
	<i>sly-miR5300</i>	UCCCCAGUCCAGGCAUCCAAC	2769	4941	3337	2646	2990	966
	<i>ath-miR171a-3p</i>	UGAUUGAGCCGCGCCAAUAUC	294	433	312	347	90	181

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>ath-miR390a-3p=sly-miR390b-3p</i>	CGCUAUCCAUCUGAGUUUCA	5	15	8	9	3	0
	<i>stu-miR160a-3p</i>	GCGUAUGAGGAGCCAAGCAUA	44	43	46	40	17	11
	<i>stu-miR477a-5p</i>	CCUCUCCCUCAAGGGCUUCUC	3	15	6	5	8	6
	<i>sly-miR9473-5p</i>	UGGCUGUAAAUCUAAACUCGU	8	13	13	6	8	4
	<i>ath-miR172b-5p=ath-miR172e-5p</i>	G CAGCACCAUUAAGAUUCAC	40	54	103	75	88	30
	<i>stu-miR477b-5p</i>	ACUCUCCCUCAAAGGCUUCUG	30	66	38	41	36	15
	<i>sly-miR482d-3p=stu-miR482c</i>	UUUCCUAUUCACCCAUGCCAA	287	617	363	322	300	122
	<i>ath-miR408-3p</i>	AUGCACUGCCUCUCCUCUGGC	56	61	59	5	3	2
	<i>sly-miR6027-5p</i>	AUGGGUAGCACAAGGAUUAUG	68	99	80	64	32	12
	<i>nta-miR390a=sly-miR390a-5p=stu-miR390-5p</i>	AAGCUCAGGAGGGAUAGCACC	96	161	129	145	132	37
	<i>sly-miR9475-5p</i>	AACGAUCUCUACAUUGUAGGC	5	10	9	5	7	0
	<i>sly-miR167b-5p</i>	UAAAGCUGCCAGCAUGAUCUGG	27	42	45	62	24	22
	<i>sly-miR169e-3p</i>	UGGCAAGCAUCUUUGGCGACU	90	113	103	61	101	40
	<i>sly-miR482e-3p</i>	UCUUUCCUACUCCUCCAUACC	9733	20688	12562	15480	13065	6076
	<i>sly-miR399=stu-miR399i-3p</i>	UGCCAAAGGAGAGUUGCCCUA	23	24	35	14	5	8
	<i>sly-miR403-3p</i>	CUAGAUUCACGCACAAGCUCG	483	691	630	556	454	196
	<i>ath-miR162a-3p=ath-miR162b-3p=nta-miR162a=nta-miR162b=sly-miR162=stu-miR162a-3p=stu-miR162b-3p</i>	UCGAUAAACCUCUGCAUCCAG	988	1479	1208	972	992	305
	<i>sly-miR9479-5p</i>	UCCAGUCCUCUACCCUUCUCCA	9	44	17	3	11	5
	<i>sly-miR156e-5p</i>	UGAUAGAAGAGAGUGAGCAC	3	51	54	64	56	20
	<i>sly-miR168a-3p</i>	CCUGCCUUGCAUCAACUGAAU	64	99	128	53	69	30
	<i>sly-miR1919c-5p=stu-miR1919-5p</i>	UGUCGAGAUACUUUCGCC	140	673	568	164	525	229
	<i>nta-miR168a=nta-miR168b=nta-miR168c=sly-miR168a-5p=sly-miR168b-5p</i>	UCGCUUGGUGCAGGUCGGGAC	926	14	130	1174	547	575
	<i>stu-miR398a-5p</i>	GGGUUGAUUUGAGAACAUAUG	9	12	49	0	0	0
	<i>nta-miR482a=nta-miR482c=sly-miR482a=stu-miR482a-3p</i>	UUUCCAAUUCACCCAUCCUA	424	867	531	517	504	204

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>sly-miR6027-3p=stu-miR6027</i>	UGAAUCCUUCGGCUAUCCAUA	395	864	604	432	323	264
	<i>sly-miR171e=stu-miR171b-3p</i>	UUGAGCCGCGUCAAUUCUCU	13	5	7	15	4	4
	<i>sly-miR166c-5p</i>	GGGAUGUUGUCUGGCUCGACA	33	86	62	48	36	21
	<i>sly-miR171d</i>	UUGAGCCGCGCCAAUAUCAC	294	433	312	347	90	183
	<i>sly-miR482c=stu-miR482e-3p</i>	UCUUGCCAAUACCGCCAAUCC	785	1137	1001	474	457	332
	<i>sly-miR394-3p</i>	AGGUGGGCAUACUGUCAACA	6	8	16	4	13	14
	<i>ath-miR168a-3p=sly-miR168b-3p</i>	CCCGCCUUGCAUCAACUGAAU	171	364	260	147	212	171
	<i>sly-miR156d-3p=stu-miR156h-3p=stu-miR156i-3p=stu-miR156j-3p=stu-miR156k-3p</i>	GCUCACUGCUCUAUCUGUCACC	44	68	24	51	54	33
	<i>ath-miR160a-5p=ath-miR160b=ath-miR160c-5p=nta-miR160a=nta-miR160b=nta-miR160c=sly-miR160a=stu-miR160a-5p=stu-miR160b</i>	UGCCUGGCUCCUGUAUGCCA	6	18	6	10	17	0
	<i>stu-miR169c-3p</i>	GCAGUCUCCUUGGCUACC	11	16	37	8	5	7
	<i>stu-miR477b-3p</i>	GAGGUCUUUCGAGUGAGUGA	8	15	17	12	9	7
	<i>ath-miR162a-5p=ath-miR162b-5p</i>	UGGAGGCAGCGGUUCAUCGAUC	45	78	76	73	49	17
	<i>sly-miR166c-3p=stu-miR166b</i>	UCGGACCAGGCUUCAUCCUC	615	1269	681	568	891	395
	<i>nta-miR171b</i>	UUGAGCCGCGCCAAUAUCACU	23	39	41	36	21	26
	<i>sly-miR167b-3p</i>	AGGUCAUCUAGCAGCUUCAU	13	11	16	11	4	6
	<i>sly-miR1919a=sly-miR1919b=sly-miR1919c-3p=stu-miR1919-3p</i>	ACGAGAGUCAUCUGUGACAGG	6	9	21	12	6	3
	<i>ath-miR396a-5p=nta-miR396a=sly-miR396a-5p</i>	UUCACAGCUUUCUUGAACUG	2326	2513	3686	2023	2531	505
	<i>nta-miR399a=nta-miR399b=nta-miR399c=nta-miR399d=nta-miR399e=nta-miR399f=nta-miR399g=stu-miR399j-3p=stu-miR399k-3p=stu-miR399l-3p=stu-miR399m-3p=stu-miR399n-3p=stu-miR399o-3p</i>	CGCCAAAGGAGAGCUGCCUG	14	11	22	4	5	0

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>ath-miR157a-5p=ath-miR157b-5p=ath-miR157c-5p=sly-miR156a=sly-miR156b=sly-miR156c=stu-miR156a=stu-miR156b=stu-miR156c=stu-miR156d-5p</i>	UUGACAGAAGAUAGAGAGCAC	344	3883	4424	3886	2072	1854
	<i>sly-miR482b=stu-miR482d-3p</i>	UCUUGCCUACACCGCCCAUGCC	1738	5228	1694	2086	2034	890
	<i>ath-miR157d=nta-miR156g=nta-miR156h=nta-miR156i=nta-miR156j</i>	UGACAGAAGAUAGAGAGCAC	344	3883	4424	3886	2072	1854
	<i>stu-miR156f-5p</i>	CUGACAGAAGAGAGUGAGCA	98	306	372	346	343	205
	<i>ath-miR167a-5p=ath-miR167b=nta-miR167d=nta-miR167e=sly-miR167a=stu-miR167a-5p=stu-miR167b-5p=stu-miR167c-5p=stu-miR167d-5p</i>	UGAAGCUGCCAGCAUGAUCUA	14187	15934	20840	18857	14646	2755
	<i>stu-miR172d-5p</i>	GGAGCAUCAUCAAGAUUCACA	21	19	43	17	18	6
	<i>stu-miR530</i>	UCUGCAUUUGCACCUGCACCU	155	142	187	150	117	46
	<i>stu-miR166a-5p</i>	GGAAUGUUGUCUGGCUCGAGG	19	81	43	26	47	0
	<i>sly-miR319c-5p</i>	AGAGCUUCCUUCAGCCACUC	15	47	42	15	29	11
	<i>sly-miR156e-3p=stu-miR156g-3p</i>	GCUUACUCUCUAUCUGUCACC	34	61	37	22	35	18
	<i>nta-miR408=stu-miR408b-3p</i>	UGCACUGCCUCUCCUGGCU	56	61	59	5	3	2
	<i>sly-miR6027-5p</i>	AUGGGUAGCACAAGGAUUAUG	89	52	33	61	47	52
	<i>sly-miR482e-5p</i>	UGUGGGUGGGUGGAAAGAUU	2393	1593	1307	2731	1648	1170
	<i>sly-miR6024</i>	UUUUAGCAAGAGUUGUUUUACC	50	33	29	63	39	35
	<i>sly-miR6023</i>	UUCCAUGAAAGAGUUUUUGGAU	14	7	4	8	10	7
Ácido Hexanoico	<i>sly-miR166c-5p</i>	GGGAUGUUGUCUGGCUCGACA	10	9	19	15	10	30
	<i>sly-miR9479-3p</i>	GAGAAUGGUAGAGGGUCGGACC	19	21	17	22	13	8
	<i>sly-miR9471a-5p</i>	CAGGUGCUCACUCAGCUAAUA	46	44	45	41	33	28
	<i>sly-miR482e-3p</i>	UCUUCCUACUCCUCCAUACC	20305	16888	7053	17237	23044	18083
	<i>sly-miR319a</i>	CUUGGACUGAAGGGAGCUCC	14	5	6	20	4	7
	<i>sly-miR477-5p</i>	UGUCUCUCCUCAAGGGCUCC	63	76	21	64	56	57

Estrés	miARN	Secuencia miARN (5' --> 3')	Control_1	Control_2	Control_3	Estrés_1	Estrés_2	Estrés_3
	<i>sly-miR390a-3p</i>	CGCUAUCCAUCUGAGUUUUA	38	17	21	21	42	22
	<i>sly-miR168a-3p</i>	CCUGCCUUGCAUCAACUGAAU	127	55	44	81	102	52
	<i>sly-miR156e-5p</i>	UGAUAGAAGAGAGUGAGCAC	8	7	15	43	32	19
	<i>sly-miR403-5p</i>	CGUUUGUGCGUGAAUCUACA	3	7	0	5	10	6
	<i>sly-miR9471a-3p</i>	UUGGCGUGAGGCAUCACGG	416	561	124	1232	179	469
	<i>sly-miR171d</i>	UUGAGCCGCGCCAAUAUCAC	275	87	111	202	203	161
	<i>sly-miR9471b-5p</i>	GAGGUGCUCACUCAGCUAAUA	62	58	43	56	33	43
	<i>sly-miR5300</i>	UCCCCAGUCCAGGCAUCCAAC	2935	2471	1940	4338	2709	2084
	<i>sly-miR403-3p</i>	CUAGAUUCACGCACAAGCUCG	427	556	151	365	575	506
	<i>sly-miR9471b-3p</i>	UUGGCGUGAGGCAUCACUG	601	389	158	779	255	406
	<i>sly-miR167b-5p</i>	UAAAGCUGCCAGCAUGAUCUGG	7	4	3	13	6	7
	<i>sly-miR4376</i>	ACGCAGGAGAGAUGAUGCUGGA	16	0	40	22	91	20
	<i>sly-miR482d-5p</i>	GGAGUGGGUGGGAUGGAAAAA	48	34	14	58	36	30
	<i>sly-miR169e-3p</i>	UGGCAAGCAUCUUUGGCGACU	19	24	14	58	25	18
	<i>sly-miR319c-5p</i>	AGAGCUUCCUUCAGCCCACUC	43	29	13	28	32	20
	<i>sly-miR394-3p</i>	AGGUGGGCAUACUGUCAACA	14	5	14	14	12	10
	<i>sly-miR9479-5p</i>	UCCAGUCCUCUACCCUUCUCCA	51	59	33	64	51	42

Tabla S3. Características de los miARNs noveles identificados.

Nombre	Secuencia (5' --> 3')	Longitud	% GC	Cromosoma Sly	Inicio Crom	Final Crom	Cadena	MFE (kcal/mol)	Secuencia preMiR
<i>sly-newmiR1-3p</i>	GACAGUCGGGGCAUUCGUAU	21	57,1	0	9792911	9793133	+	-57,90	TGCATCGGTCTCGTCCCTTCTGTCGGGCGA TGCCTCATGGCGTTAATGGCCGGGTCGTGCC TCAGACGCTGTTACTTTGAAGAATTAGAGTGCT CAAAGAAAGCCTACACTCTGTATACATTAGAAT GGGATAACATTATAGGATTTTCGGTCATATTACG TTGGCCTTCAGGATCGGAGTAATGATTAACAAG GACAGTCGGGGGCATTCGTATTTTCAT
<i>sly-newmiR2-3p</i>	GUGCCUGUUGAAGAAUGAGCCG	22	54,5	1	23957733	23957829	-	-22,3	CACCGGGGAGTGAAATAGAACATGAAACCATA AGTTCCCAAGTAGTGGGATGAGCCAAGGCTCT GACCATGTGCCTGTTGAAGAATGAGCCGATAAC
<i>sly-newmiR3-5p</i>	UAACUUCGUCUAGCUCGCCUUC	22	49,7	10	1709804	1709946	+	-57,1	TCTCCTAACTTCGTCTAGCTCGCCTTCTAACTTAC TCTGGACTTTTACTCATTAAAAATTATCGTAACC ACCTCTGCACCACTACATTAATAACTGAAATGTC AGTAGTTAGTTAGAAGGGGAGATAGATGAAGT TAGGAGAT
<i>sly-newmiR4-3p</i>	GUAUCCUCUCAUGGUUGACCG	21	52,4	11	7149783	7149855	+	-18,7	AGAAGCTCCAATCAGAGCGGAACGTAGGTTTG TTTCTTGAGCATTGTTATCCTCTCATGGTTGAC CGGTTGG
<i>sly-newmiR5-5p</i>	ACGAGGAUCCAUUGGAGGGCA	21	57,1	11	15327363	15327446	-	-13,4	CATTAACGAGGATCCATTGGAGGGCAAGTATG GTGCAAGCAGTCGCGGTAATTCCAGCTCCAATA GCGTATATTTAAGTTGTTG
<i>sly-newmiR6-3p</i>	CAACACGGGGAAACUUACCAG	21	52,4	11	15345542	15345671	-	-31,2	TTTTTGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGTAAG GCCGAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCAC CACCAAGAGTGGAGCCTACTGCTTAATTTGACT CAACACGGGGAAACTTACCAGGTCTA

Nombre	Secuencia (5' --> 3')	Longitud	% GC	Cromosoma Sly	Inicio Crom	Final Crom	Cadena	MFE (kcal/mol)	Secuencia preMiR
<i>sly-newmiR7-3p</i>	AUCCAUCCAUGUACAUCAAU	21	38,1	1	3821650	3821783	-	-27	GATGTTGACATCAGGGAGAGAAAGTACAACAA TCTCTACTCGCATTCCATAAGACCGTTTTGGGA AGTTTTGAAGTATTGTGTCCAATGTTTTCTAATC AAGTTGTAATCCATCCCATGTACATCAATATCTA
<i>sly-newmiR8-3p</i>	AGUUUUGAAGUAAUUGUGUCCA	21	33,3	1	3821692	3821765	-	-7,20	AGAAAGTACAACAATCTCTACTCGCATTCCATA AGACCGTTTTGGGAAGTTTTGAAGTATTGTGT CCAATGT AGTGTTCGCCTTAGAGAGAAGCCTGTGTGTGA GCGGTGGTGGATGAAACAGAAGTAAAATGTT GGCTTGACTAACGCAAAAATTGGTGAGAATCCA ATGCCCAAAAACTAAGGGTTCCTCCGCAAGG TTCGTCCACAGAAG
<i>sly-newmiR10-5p</i>	UCCGCCUUAGAGAGAAGCC	19	57,9	11	35993001	35993145	-	-34	ATAACGGGGCTAAGCGGTCTGCCGAAGCTGTG GTATGTAAAAATACATCGGTAAGGGAGTGTCC GCCTTAGAGAGAAGCCTGTGTG ATGGGGACTACCTGCACCTGGACAGAAAGGCC CTATGAAGCTTACTGTTCCCTAGGATTCGCTTT GGGCCTTCTCGCAGCTTAGGTGGAAGGCG AAGAAG GTGATAATGGTATTCTAATATTGCTAAAGTTAG ACAGATTTACTGCCTTTTGTATTTCAGATGCAG GAACACCAATACAAGAAGCAATGAGCTTGCTTG GGCATGTCAAAAGCCGTAATCCATTCAATTTT AGCAATATTGGAATACCATCATCACCGTT
<i>sly-newmiR11-3p</i>	GUUCCGCCUUAGAGAGAAGCC	21	57,1	11	35993116	35993205	-	-22,6	ATAACGGGGCTAAGCGGTCTGCCGAAGCTGTG GTATGTAAAAATACATCGGTAAGGGAGTGTCC GCCTTAGAGAGAAGCCTGTGTG ATGGGGACTACCTGCACCTGGACAGAAAGGCC CTATGAAGCTTACTGTTCCCTAGGATTCGCTTT GGGCCTTCTCGCAGCTTAGGTGGAAGGCG AAGAAG GTGATAATGGTATTCTAATATTGCTAAAGTTAG ACAGATTTACTGCCTTTTGTATTTCAGATGCAG GAACACCAATACAAGAAGCAATGAGCTTGCTTG GGCATGTCAAAAGCCGTAATCCATTCAATTTT AGCAATATTGGAATACCATCATCACCGTT
<i>sly-newmiR12-5p</i>	ACUACCUGCACCUGGACAGAAAG	23	52,2	11	36003579	36003682	+	-34,70	ATAACGGGGCTAAGCGGTCTGCCGAAGCTGTG GTATGTAAAAATACATCGGTAAGGGAGTGTCC GCCTTAGAGAGAAGCCTGTGTG ATGGGGACTACCTGCACCTGGACAGAAAGGCC CTATGAAGCTTACTGTTCCCTAGGATTCGCTTT GGGCCTTCTCGCAGCTTAGGTGGAAGGCG AAGAAG GTGATAATGGTATTCTAATATTGCTAAAGTTAG ACAGATTTACTGCCTTTTGTATTTCAGATGCAG GAACACCAATACAAGAAGCAATGAGCTTGCTTG GGCATGTCAAAAGCCGTAATCCATTCAATTTT AGCAATATTGGAATACCATCATCACCGTT
<i>sly-newmiR13-5p</i>	AAUGGUAUUCUAAUUAUUGCUA	21	23,8	11	36952890	36953051	-	-100	ATAACGGGGCTAAGCGGTCTGCCGAAGCTGTG GTATGTAAAAATACATCGGTAAGGGAGTGTCC GCCTTAGAGAGAAGCCTGTGTG ATGGGGACTACCTGCACCTGGACAGAAAGGCC CTATGAAGCTTACTGTTCCCTAGGATTCGCTTT GGGCCTTCTCGCAGCTTAGGTGGAAGGCG AAGAAG GTGATAATGGTATTCTAATATTGCTAAAGTTAG ACAGATTTACTGCCTTTTGTATTTCAGATGCAG GAACACCAATACAAGAAGCAATGAGCTTGCTTG GGCATGTCAAAAGCCGTAATCCATTCAATTTT AGCAATATTGGAATACCATCATCACCGTT
<i>sly-newmiR15-5p</i>	CGCGUAAUUCAGCUCCAAUA	22	50	11	42906182	42906273	-	-19,5	GCAAGTTCGCGGTAATTCCAGCTCCAATACTGTAT ATTTAAGTTGTTGCAATTAATAAAGCTCGTAGTT GGACTTTGGGATGGGCCGCGCAGTCC

Nombre	Secuencia (5' --> 3')	Longitud	% GC	Cromosoma Sly	Inicio Crom	Final Crom	Cadena	MFE (kcal/mol)	Secuencia preMiR
<i>sly-newmiR16-3p</i>	GGUGGUGACGGGUGACGGAGAA	22	63,6	11	42987391	42987488	-	-24,5	TCATGCCGGCGACGCATCATTCAAATTTCAACCC TATGAACTTTTGATGGTAGGACAGTGGCCTACC ATGGTGGTGACGGGTGACGGAGAATTATGGT
<i>sly-newmiR17-3p</i>	AGGAAGAAUUAGGCCGGUGAA	22	45,5	12	1443510	1443742	+	-85,40	CTTCTTTCATCAGCCCAATTTCTTCTTTATAAAA ACAATTGAATAAGCTTGAAATTTAACAAATTATT GTAGTTTTTGATTAGAAGATTATGAATAGTAA GAAGTCCCCTTCTCAATGAGTGATAGACCACT CTCTATGAATCTTCTACTCAAAAACTTTAAAAAA TTGCTTAATTTTGAAGCTCAGTCAATTGCTTCAA TAAAGGAAGAAATTAGGCCGGTGAAAGACA
<i>sly-newmiR18-3p</i>	GAGUUGUGGUUAGGGGUGAAAUG	23	47,8	12	50653379	50653485	+	-31,3	AGGTTATCTATCCATGACCAGGATGAAGCTTGT ATGAACTAAGTGGAGGTCCGACCGACTGATG CTGATGAATCATCGGGTGAGTTGTGGTTAGGG GTGAAATGTC
<i>sly-newmiR19-3p</i>	GUUGUGGUUAGGGGUGAAAUG	21	47,6	2	4998532	4998643	-	-27,7	TTTGTGATCTATCCATGACCAGGATGAAGATTG GGTGAACTTTGTTGATGTTTGAACCAAGTGAT GTTGAAAAATCAACGGATAAGTTGTGGTTAGG GGTGAAATGTCCT
<i>sly-newmiR20-5p</i>	UCACCAAUGUGUUGCCUCGAA	22	50	2	38613511	38613630	+	-17,4	CAAGCTCACCAATGTGTTGCCCTCGAAAAATCA CACAACCTAGCCTTTTGAATCGCCAAATTTGGA GTTCTATAGCTCAAAATATTGAAATTTAAAGTA AAACACAAAGGCTGAAAATT
<i>sly-newmiR21-3p</i>	ACCGCAGAAGCAUCAUUGUCC	21	52,4	3	10204269	10204358	+	-56,1	TTGGGACATTGGTACTTCTGCCGTCCAAAACT AGAACGTTGATATATATGTTGTAGTTTTGGACC GCAGAAGCATCAATGTCCCAAAA
<i>sly-newmiR22-3p</i>	GUUUGCAUAUGUCAGGAGCUUU	22	40,9	3	61786104	61786202	+	-37	GATTGAGCTGCTGACCTATGGATTCCTCAGCCC TATCTATTTATGATTTCAAACATATAGATAGGTT TGTGGGTTTGCATATGTCAGGAGCTTTATTTT

Nombre	Secuencia (5' --> 3')	Longitud	% GC	Cromosoma Sly	Inicio Crom	Final Crom	Cadena	MFE (kcal/mol)	Secuencia preMiR
<i>sly-newmiR22-5p</i>	AGCUGCUGACCUAUGGAUUC	21	52,4	3	61786104	61786202	+	-37	GATTGAGCTGCTGACCTATGGATTCTCAGCCC TATCTATTTATGATTTCAAACATATAGATAGGTT TGTGGGTTTGCATATGTCAGGAGCTTTATTTT
<i>sly-newmiR23-3p</i>	GAAUAGGAAGAUCUGAUGCUU	21	38,1	3	64683373	64683465	+	-23,60	ATGAAGGCAGATGATGTGTTTTTCGGAGATGAA TACTCAAAATTTTTGAGTATTATGATTCTCATCT GAATAGGAAGATCTGATGCTTCTTTT
<i>sly-newmiR24-3p</i>	AUGCCUUCUGCCAUGUAUUGA	22	45,5	4	4907557	4907658	+	-63,4	GTATCAATACATGGCAGGAAGACATGAGGCAT TAGTATGTATATTGTGTAATTTTAAATACTAAT GCCTCATGCCTTCTGCCATGTATTGATACCCTT TT
<i>sly-newmiR25-3p</i>	CGCUCAGUGAUAAAGGAGGUAGG	23	52,2	4	30503025	30503149	-	-27	ATAACAGGGGTCAAGGTCGGCTAGTGAGACAA TGGGGGATAAGATTCATCATCGAGAGGGAAAC AACCCCGATCACCAGCTAAGTCCCTAAATGAT CGCTCAGTGATAAAGGAGGTAGGGGTGA CACACAGTTGACTGGACATCTAGTGGTAAAGC ACTATTCGGTGCAGGCCACGAGAGCGGTACCA AATCGAGGCAAACCTCT
<i>sly-newmiR26-3p</i>	GCGGUACCAAUCGAGGCAA	20	55	4	30503172	30503253	-	-21,4	GGTACCAGCAGCCGCGTAATTCCAGATCTTAT AGCGTATATTTAAGTTGTTGCAGTTAAAAGCT CGTAGTTGGAC
<i>sly-newmiR27-5p</i>	CAGCCGCGUAAUUCAG	18	61,1	5	34100735	34100810	+	-11	TCACACGTTGAATATATCTCATAATGAATGCAAT GTCATATACCATCAACACTTGGAAACTCAAATT GAGGTAAATCTCGGAGTGATGATGGTATATGA CCTTGCAATTCATATGAGATAAGTTCAACGTGT GAAT
<i>sly-newmiR29-3p</i>	CUAUGAGAUAGUUAACGUG	21	38,1	5	60646149	60646286	+	-74,1	GGGGTCGGAGTAATGATTAACAGGGATAGTCG GGGGCATTATTTTATATTTCAGAGGTGAAAT TCTTCGATTTATGAAAGATGAACAACTGTGAAA GCACCAAGGATATTTTCATTAATCAAGAACGAA AGTTG
<i>sly-newmiR31-5p</i>	GGAGUAAUGAUUAACAGGGA	20	40	6	15072700	15072833	+	-27,8	

Nombre	Secuencia (5' --> 3')	Longitud	% GC	Cromosoma Sly	Inicio Crom	Final Crom	Cadena	MFE (kcal/mol)	Secuencia preMiR
<i>sly-newmiR32-5p</i>	AGCUCAUGGUGUGGAAGGUCGA	22	54,5	6	32481222	32481345	-	-24,1	TTTGAAGCTCATGGTGTGGAAGGTCGATGAAAT CGCTAATTTCTTCAATTGTTGGTGTCAAGTTGCA ATTTGTAAACTTGAACACCATCCTCACAGGTCCC AAAA
<i>sly-newmiR33-3p</i>	UGCAAAGGUAAAGUGAAAGCGA	22	40,9	6	32482692	32482781	+	-14,7	TCTATAGACCTGGTTTACCACATGCGATCAAAG GGTTCACATCCTCCTTCCGACTGAGAATTGCA AAGGTAAAGTGAAAGCGACTAAT
<i>sly-newmiR34-5p</i>	CCACAUGCGAUCAAAGGGUUCA	22	50	6	32482702	32482891	-	-152,7	GTTTACCACATGCGATCAAAGGGTTCACCTCCCC CTCTCCGACTGAGAATTGCAAAGGAAAAGTGA AAGCGACTAATGCTAAGGTTATGTGCAAACTT CCTCCTTAGCATTAGTCGCTTTCACCTTACCTTTG CAATTCTCAGTCGGAAGAGGAGGATGTGAACC CTTTGATCGCATGTGGTAAACCA
<i>sly-newmiR35-5p</i>	GUGCCGUGAUGAUUAAUGCAUAA	23	39,1	6	37102293	37102390	+	-20,9	TTTGAGTGCCGTGATGATTAATGCATAAATTGG TGAGATTTGGGTCTTTACCTAGTCTGATAATTTA GATGATAAAATATTGCATCTGAGCCTCAAAT
<i>sly-newmiR36-3p</i>	GGGAGAAGGGGUGCCUCCUCA	21	66,7	7	56792405	56792486	+	-26,5	CTAGGGGCGCGAGACAACCTCTCTAAGGAACT CGGCAAAATAGCCTCGTAACTTCGGGAGAAGG GGTGCCTCCTCACAAG
<i>sly-newmiR37-5p</i>	CUGCCGAAGCUGUGGGAUGU	20	60	8	44161949	44162021	+	-19,1	GCGGTCTGCCAAGCTGTGGGATGTAAAATA CATTGGTAGGGGAGCGTTCCGCCTTAGAGAGA AGCCTCCGC
<i>sly-newmiR38-3p</i>	UGGGUAAUCUGGUAGAAAUUG	21	38,1	8	58263078	58263174	+	-20,9	GAAGGTGGAGAAGCCAGGTACCTATTTTTGCTT TGTTCTTGTTTGAGGAAAATAATAACTTGGAC AAGGTGGTAATCTGGTAGAAATTGAAAGA
<i>sly-newmiR39-5p</i>	CGGGUGACGGAGAAUUAGGG	20	60	0	9792276	9792392	+	-32,7	GTTGCCGGGTGACGGAGAATTAGGGTCCAATT CCGAGAGGGAGCCTGCGAAACGGCTACCACA TCCAAGGAAAGCCGAGGCGTGCAAATTACCC AATCCTGACACGGGGAAGTAG

Nombre	Secuencia (5' --> 3')	Longitud	% GC	Cromosoma Sly	Inicio Crom	Final Crom	Cadena	MFE (kcal/mol)	Secuencia preMiR
<i>sly-newmiR40-3p</i>	GUGAGACGAUGGGGGAUAA	19	52,6	0	11774844	11774943	-	-18,7	CGAGAGCGGTACCAAATCGAGGCAAACCTCTGA ATACTAGATATGACCTCAAATAGCAGGGGGG CAAGGTCGGCTAGTGAGACGATGGGGGATAAG CCT CACCGGAGCCGTAGCGAAAGCGAGTCTTCATA GGGCAATTGCTACTGCTTATGGACCCGAACCTG GGT CAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCA AAGCGAAGAACCTTACCAGGGCTTGACATGCC GC AGATTAATCGAGTCAAATTGGGCGGGTCAAGA CCTAACCCATTTTTAGTCATTTAAGCCCAAAGT AAACTTGAATGGGTCAAGACCTAACCAACTTC TATTTCAATCTAATTTAATAATCTCAATTAAGTCC AACCGTCTATTTGACACCCCTAAATCT
<i>sly-newmiR41-5p</i>	ACCGGAGCCGUAGCGAAAGCGAGU	24	62,5	0	11775143	11775210	-	-17,2	GTAATCCCCTTCAAACAGATTGTCAGGCAACA TGTCTTGAAACGACCAGGTCCGGTAGGCACG ACTAAACTGTTGAGATCTATGGCATAGAAGGGA TTGTCAGGAGTGTCTTGTGAGAACTGGAAGG GGGATTGAGTCTGG CTAGGGGCGCGAGACAACCTCTCTAAGGAATT CGGCAAAATAGCCCCGTAACCTTGGGAGAAGG GGTGCCTCCTCACAAAG
<i>sly-newmiR42-5p</i>	GGUGGAGCAUGUGUUUAAUUCGA	24	45,8	1	1898293	1898359	+	-17,2	ATTTCGGCCTTAGTGATCCGACGGTGCCGAGTGG AAGTGTGATCGCTCAATGGATAAAAGTTACTCT AGGGATAACAGGCTGATCTTTCC GTAGTTGGACTTTGGGATGGGCGGCCGGTGC GCCCTAGATGTGCACCGATCGTCTCGTCCCTTCT GTCGGGCGATGCGCTCATGGCATTTAATGGCCG GGTCGTGCCTCCGACGC
<i>sly-newmiR43-3p</i>	AACCGUCUAUUUGACACCCCUA	23	47,8	10	21324751	21324912	+	-29,8	
<i>sly-newmiR44-5p</i>	UCCCUUCAACAGAUUGUCAG	22	45,5	10	51400367	51400510	+	-40	
<i>sly-newmiR45-3p</i>	GGAGAAGGGGUGCCUCCUCA	20	65	11	13377601	13377682	+	-24,9	
<i>sly-newmiR46-5p</i>	GCCUJAGUGAUCCGACGGUGC	21	61,9	11	36003924	36004012	+	-20,8	
<i>sly-newmiR47-5p</i>	GACUUUGGAUGGGCCGGCCG	21	71,4	11	42878452	42878567	-	-53,50	

Nombre	Secuencia (5' --> 3')	Longitud	% GC	Cromosoma Sly	Inicio Crom	Final Crom	Cadena	MFE (kcal/mol)	Secuencia preMiR
<i>sly-newmiR48-5p</i>	GGGCCGCACGCGCGCUACACUGA	23	73,9	11	42886806	42886982	-	-43,9	GTTATGGGCCGCACGCGCGCTACACTGATTATT CAACGAGCTTATAGCCTTGGCCAATAGGCCTGG TTAATCTTCGAAATTTTCATTGTGATAGGTATATA TCATTGCATTTATTGGTTTTCAACGAGGAATTCC TAGTAAGCACGAGTCATCAGCTCGCGTTGACTA CGTCCCTGCC
<i>sly-newmiR49-5p</i>	UCCUGCCAGUAGUCAUAUGC	20	50	11	42987562	42987761	-	-47,8	GTTGATCCTGCCAGTAGTCATATGCTTGATCAA AGATTAAGCTATGCATGTGTAAGTATGAACAAA TTCAGACCGTGAAACTCCGAATGGCTCATTAAA TCAGTTATACTTGTGGATGATCTACTACTCG GATAACCTTACTAATTCTTGAGCTAATACGTGCA ACAAACCCCGACTTCTGGAAGGGATGCATTTA
<i>sly-newmiR50-3p</i>	CUGUCAAUACAACAAGCCCCCUU	23	47,8	2	24941686	24941784	+	-17,3	CCTCCGACGGGCTTCGTGAACAACATTTTGAGG GTAGAAGTACGTTTGAATTCACCTTTGAACTG CTCCCAACTGTCAATACAACAAGCCCCCTTCTC
<i>sly-newmiR51-3p</i>	GGUGGAGCAUGUGGUUUAAUUCG	23	47,8	2	33096229	33096295	-	-15,9	ATAGTGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGATGCA AAGCTAAGAACCTTACCAGGGCTTGACATTATA T
<i>sly-newmiR52-5p</i>	GGCUUGGACAAUUCUCCUCCUA	23	52,2	3	1571442	1571534	+	-22,1	TATAAGGCTTGGACAATTCTCCTCCCTTTGAGCT AGCTTTTCTCCTCCCTTTGAGCTAATTTGGGG TATGAGTTAGACGTAAGACCTAATT
<i>sly-newmiR53-3p</i>	UCGGUUAGGACAACAUGUCUGGAU	24	45,8	4	4907192	4907245	+	-11,5	GTTATTATTGGATTGTCTGAGTGGTGTGCGTTA GGACAACATGTCTGGATGACA
<i>sly-newmiR54-5p</i>	UGGCACAUGGUUAAUCAUGUUG	22	40,9	4	4907274	4907349	+	-17,7	GTGAGTGGCAGATGGTTAATCATGTTGTGAGAC AGTTTGGTTATTTACAACATATTCTTAGATCGTG TACCCAATT
<i>sly-newmiR55-5p</i>	GUGGAGCAUGUGGUUUAAUUCGAU	24	41,7	5	415424	415490	-	-43,9	GCAGTGGAGCATGTGGTTAATTCGATGCAAAG CGAAGAATATTATCGGGGCTTGACATGTCACC

Nombre	Secuencia (5' --> 3')	Longitud	% GC	Cromosoma Sly	Inicio Crom	Final Crom	Cadena	MFE (kcal/mol)	Secuencia preMiR
<i>sly-newmiR56-5p</i>	UCCCUUCAACAGAUUGUCAG	22	45,5	5	7331825	7331968	+	-42,6	GTAGATCCCCTTCAAACAGATTGTCAGGCAACA TGTCTTGAAACGGACCAGGTCCGGTAGGCACG ACTGAAGTGTTCAGATCTATAACATAGAAGAGA TTATCAGGAGTGTCTTGTGAGAACTGGAAGGG GGATTGAGTCTGG
<i>sly-newmiR57-3p</i>	GAUUUGUUUAUAAACGGGGAGAC	22	40,9	6	45423177	45423237	+	-9,6	TTTTCTCAATGCTTGAGACATGATCCTGTA TAGATTTGTTATAACGGGGAGACTTT
<i>sly-newmiR58-3p</i>	GAUUUGUUUAUAAACGGGGAGAC	22	40,9	6	45425672	45425807	-	-23,5	GTATAACCACTTCTGAAGTCCACTTATGGATCC AAGGAATAGAAAATTCTATAAAAAAATACATTT GATCAATTTTCTCAATGCTTGAGACATGATCCTG TAAAGATAGATTTGTTATAAACGGGGAGACTTT TG
<i>sly-newmiR59-3p</i>	CACUGCUUAUGGACCCGAAC	20	55	8	44161406	44161469	+	-17,2	ACCGGAGCCGTAGCGAAAGCGAGTCTTCATAG GGCAATTGTCACTGCTTATGGACCCGAACCTG
<i>sly-newmiR60-5p</i>	AGCUGGUUCUCCCCGAAAUGC	21	57,1	8	44161586	44161664	+	-13,7	CAGAGCTAGCTGGTTCTCCCCGAAATGCATTAA GGCGCAGCAGTTGATTGGACATCTAGGGGTAA AGCACTGTTTCGGT
<i>sly-newmiR61-5p</i>	CGCUCAGUGAUAAAGGAGGUAG	22	50	8	44161817	44161926	+	-26,6	ATGACCGCTCAGTGATAAAGGAGGTAGGGGTG CAGAGACAGCCAGGAGTTTGACTAGAAGCAG CCTCCCTTGAATAATGCGTAATAGCTCACTGAT CGAGCGCTTTTG
<i>sly-newmiR62-5p</i>	UGGUAGAAAUUGAAAGAUGGU	21	33,3	8	58263153	58263244	+	-10,40	TAATCTGGTAGAAATTGAAAGATGGTTTTTTGTT ATTCTTATCGGGAAGTTTCACCTAACATGATCTC ACATATATGCCAAGCTTGTTTTTG
<i>sly-newmiR63-5p</i>	CGCUCAGUGAUAAAGGAGGUAG	22	50	9	46343730	46343816	+	-19,60	ATGACCGCTCAGTGATAAAGGAGGTAGGGGTG CAGAGACAACCAGGAGTTTGCTTAGAAGCAG CCACCCTTGAAGAGTGCCTAAT

Nombre	Secuencia (5' --> 3')	Longitud	% GC	Cromosoma Sly	Inicio Crom	Final Crom	Cadena	MFE (kcal/mol)	Secuencia preMiR
<i>sly-newmiR64-5p</i>	CGCUCAGUGAUAAGGAGGUAG	22	50	8	44161817	44161926	+	-26,6	ATGACCGCTCAGTGATAAAGGAGGTAGGGGTG CAGAGACAGCCAGGAGGTTTGACTAGAAGCAG CCTCCCTTGAAATAATGCGTAATAGCTACTGAT CGAGCGCTTTTG

Tabla S4. Análisis de la expresión diferencial de los miARNs identificados en el proceso de secuenciación masiva llevado a cabo con la herramienta sRNAtoolbox server (<http://bioinfo5.ugr.es/srnatoolbox>).

miRNA	Estrés	Tendencia*	Fold change	pvalor	padj	C1	C2	C3	Estrés1	Estrés2	Estrés3
<i>sly-miR171a</i>	CPB	↓	0,50	3,87E-03	6,35E-02	365,46	577,73	315,59	250,15	204,53	172,10
<i>sly-miR9471a-3p</i>	CPB	↑	2,81	1,13E-04	5,46E-03	192,66	49,27	173,01	397,30	410,84	359,26
<i>sly-newmiR33-3p</i>	CPB	↑	NA	5,18E-03	6,48E-02	0,00	0,00	0,00	20,60	0,00	22,23
<i>sly-newmiR36-3p</i>	CPB	↑	3,50	1,44E-04	5,46E-03	0,00	59,39	328,40	526,79	379,85	452,48
<i>sly-newmiR38-3p</i>	CPB	↓	NA	8,18E-03	7,77E-02	13,82	13,50	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>sly-newmiR6-3p</i>	CPB	↑	NA	5,97E-03	6,48E-02	0,00	0,00	0,00	0,00	30,10	18,64
<i>sly-newmiR35-5p</i>	<i>B. cinerea</i>	↑	NA	3,02E-07	3,14E-05	0,00	0,00	0,00	49,87	31,09	51,25
<i>sly-miR160a-3p</i>	<i>B. cinerea</i>	↑	4,56	1,13E-03	3,91E-02	28,29	15,51	21,58	86,28	85,67	126,14
<i>sly-miR167c-3p</i>	<i>B. cinerea</i>	↑	12,18	2,14E-06	1,11E-04	12,57	10,34	3,75	70,60	155,62	98,55
<i>ath-miR172c</i>	<i>P. syringae</i>	↑	23,52	6,68E-07	3,81E-05	1,13	0,00	3,60	40,87	30,66	39,70
<i>sly-miR166c-5p</i>	<i>P. syringae</i>	↓	0,30	1,15E-02	9,30E-02	30,59	38,96	26,97	10,46	6,90	4,96
<i>sly-miR168a-5p</i>	<i>P. syringae</i>	↓	0,28	1,74E-04	3,96E-03	1664,71	1884,12	1604,64	9,51	641,62	811,36
<i>sly-miR169e-3p</i>	<i>P. syringae</i>	↑	3,86	9,34E-04	1,77E-02	17,56	21,25	17,08	43,73	97,35	74,44
<i>sly-miR390a-5p</i>	<i>P. syringae</i>	↓	0,30	1,15E-02	9,30E-02	236,20	256,76	206,76	142,59	45,99	24,81
<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>P. syringae</i>	↑	9,87	1,97E-03	3,01E-02	7,93	2,66	2,70	29,47	32,20	69,47
<i>sly-newmiR22-3p</i>	<i>P. syringae</i>	↑	3,30	7,66E-03	6,72E-02	70,24	68,18	86,30	168,25	239,17	334,97
<i>sly-newmiR33-3p</i>	<i>P. syringae</i>	↓	NA	1,81E-05	6,87E-04	16,43	23,91	22,47	0,00	0,00	0,00

miRNA	Estrés	Tendencia*	Fold change	pvalor	padj	C1	C2	C3	Estrés1	Estrés2	Estrés3
<i>sly-newmiR37-5p</i>	<i>P. syringae</i>	↑	NA	8,93E-11	1,02E-08	0,00	0,00	0,00	23,76	59,79	57,07
<i>sly-newmiR42-5p</i>	<i>P. syringae</i>	↑	NA	4,07E-03	4,63E-02	0,00	0,00	0,00	14,26	11,50	0,00
<i>sly-newmiR51-3p</i>	<i>P. syringae</i>	↑	NA	2,95E-03	3,74E-02	0,00	0,00	0,00	22,81	16,10	0,00
<i>sly-newmiR62-5p</i>	<i>P. syringae</i>	↓	NA	5,29E-03	5,48E-02	27,75	0,00	35,06	0,00	0,00	0,00
<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>P. syringae</i>	↓	NA	2,11E-03	3,01E-02	55,51	0,00	75,51	0,00	0,00	0,00
<i>sly-miR167c-3p</i>	<i>P. syringae</i>	↑	12,27	1,67E-04	3,96E-03	2,83	5,31	2,70	21,86	68,99	42,18
<i>sly-miR396-3p</i>	<i>P. syringae</i>	↓	0,33	7,00E-03	6,65E-02	235,07	239,06	177,99	62,74	71,29	84,36
<i>sly-miR6022</i>	Sequía	↑	2,95	1,93E-03	4,55E-02	574,41	509,67	1378,64	3237,56	2452,40	1576,30
<i>sly-newmiR26-3p</i>	Sequía	↑	NA	1,09E-03	3,78E-02	0,00	0,00	0,00	0,00	120,20	71,28
<i>sly-newmiR3-3p</i>	Sequía	↓	NA	2,49E-05	2,59E-03	15,12	10,28	13,61	0,00	0,00	0,00
<i>sly-newmiR40-3p</i>	Sequía	↑	NA	2,19E-03	4,55E-02	0,00	0,00	0,00	0,00	74,64	44,55
<i>sly-newmiR8-3p</i>	Sequía	↓	NA	9,55E-04	3,78E-02	56,15	0,00	57,16	0,00	0,00	0,00
<i>sly-newmiR4-3p</i>	Temperatura	↓	NA	4,13E-03	7,57E-02	33,41	0,00	33,10	0,00	0,00	0,00
<i>sly-newmiR6-3p</i>	Temperatura	↑	NA	1,64E-10	1,80E-08	0,00	0,00	0,00	45,52	30,00	38,67
<i>sly-miR398a-5p</i>	Temperatura	↓	NA	3,64E-03	7,57E-02	9,40	8,04	32,44	0,00	0,00	0,00
<i>sly-miR408b-3p</i>	Temperatura	↓	0,08	6,00E-06	2,20E-04	58,46	40,88	39,06	4,38	2,90	4,07
<i>sly-newmiR25-3p</i>	Temperatura	↑	NA	7,16E-04	1,97E-02	0,00	0,00	0,00	41,14	35,80	0,00
<i>sly-newmiR1-3p</i>	Ácido Hexanoico	↓	NA	4,11E-06	2,22E-04	51,52	43,93	23,69	0,00	0,00	0,00
<i>sly-newmiR21-3p</i>	Ácido Hexanoico	↑	NA	7,95E-04	1,43E-02	0,00	0,00	0,00	131,32	81,44	0,00

miRNA	Estrés	Tendencia*	Fold change	pvalor	padj	C1	C2	C3	Estrés1	Estrés2	Estrés3
<i>sly-newmiR26-3p</i>	Ácido Hexanoico	↑	NA	7,52E-04	1,43E-02	0,00	0,00	0,00	64,13	73,78	0,00
<i>sly-newmiR31-5p</i>	Ácido Hexanoico	↓	NA	8,57E-03	5,14E-02	0,00	18,22	28,13	0,00	0,00	0,00
<i>sly-newmiR33-5p</i>	Ácido Hexanoico	↑	NA	5,08E-03	3,92E-02	0,00	0,00	0,00	0,00	24,91	31,07
<i>sly-newmiR34-5p</i>	Ácido Hexanoico	↑	NA	1,15E-02	6,20E-02	0,00	0,00	0,00	12,22	12,46	0,00
<i>sly-newmiR44-5p</i>	Ácido Hexanoico	↓	NA	1,63E-02	7,34E-02	0,00	12,86	10,37	0,00	0,00	0,00
<i>sly-newmiR45-3p</i>	Ácido Hexanoico	↑	13,54	6,03E-03	4,07E-02	0,00	151,09	0,00	611,56	1215,85	218,58
<i>sly-newmiR56-5p</i>	Ácido Hexanoico	↓	NA	1,63E-02	7,34E-02	0,00	12,86	10,37	0,00	0,00	0,00
<i>sly-newmiR61-5p</i>	Ácido Hexanoico	↑	NA	1,94E-03	2,09E-02	0,00	0,00	0,00	83,99	0,00	49,93
<i>sly-newmiR63-5p</i>	Ácido Hexanoico	↑	NA	1,77E-03	2,09E-02	0,00	0,00	0,00	80,17	0,00	49,93

* La flecha indica la tendencia de expresión (incremento o disminución) del miARN en las plantas sometidas a estrés respecto a las del grupo control.

Tabla S5. Análisis de expresión por RT-qPCR de 10 miARNs escogidos al azar de los identificados en el proceso de secuenciación masiva como miARNs de respuesta a estrés.

miRNA	Estrés	Lecturas normalizadas		pvalue	No de moléculas		pvalue	Fold NGS	Fold qPCR	Tendencia
		Control	Estrés		Control	Estrés				
<i>stu-miR408b-3p</i>	Temperatura	46	4	6,00E-06	4,08E-03	1,04E-04	1,93E-04	0,08	0,03	↓
<i>stu-miR167c-3p</i>	<i>B. cinerea</i>	9	108	2,14E-06	5,76E-04	5,13E-03	3,51E-04	12,18	8,91	↑
	<i>P. syringae</i>	4	44	1,67E-04	4,73E-04	4,05E-03	3,78E-03	12,27	8,57	↑
<i>sly-miR171a</i>	CPB	420	209	3,87E-03	1,80E-02	1,10E-02	8,54E-03	0,5	0,61	↓
<i>sly-miR6022</i>	Sequía	821	2422	1,93E-03	4,27E-02	1,24E-01	1,77E-02	2,95	2,9	↑
<i>sly-miR172c</i>	<i>P. syringae</i>	2	37	6,68E-07	6,63E-03	2,27E-02	9,55E-03	23,52	3,42	↑
<i>sly-miR168a-5p</i>	<i>P. syringae</i>	1718	487	1,74E-04	3,15E-01	2,99E-01	6,18E-03	0,28	0,95	↓
<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>P. syringae</i>	4	44	1,97E-03	4,18E-03	1,07E-02	1,85E-05	9,87	2,57	↑
<i>sly-miR9471a-3p</i>	CPB	138	389	1,13E-04	1,90E-01	1,36E-01	4,60E-02	2,81	0,71	X
<i>sly-newmiR21-3p</i>	Ácido hexanoico	0	106	7,95E-04	8,26E-03	1,31E-02	2,85E-02	NA	1,58	↑
<i>sly-newmiR22-3p</i>	<i>P. syringae</i>	75	247	7,66E-03	1,36E-03	3,33E-03	3,30E-03	3,3	2,46	↑
<i>sly-newmiR36-3p</i>	CPB	97	229	1,4E-04	2,7E+02	3,5E+02	2,2E-03	3,5	1,3	↑

* La flecha indica la tendencia de expresión (incremento o disminución) del miARN en las plantas sometidas a estrés respecto a las del grupo control.

Tabla S6. Predicción de las dianas génicas de los miARNs conservados y noveles expresados diferencialmente en respuesta a estrés.

miRNA	Diana génica	Descripción funcional	Expectation	Posición hibridación en la diana		Secuencia alineada	Inhibición
				Inicio	Final		
<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc01g090460.2.1</i>	Homeobox-leucine zipper protein	2.5	343	362	UGCAUCAUCAAGUUUCU	Escisión
<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc01g108180.2.1</i>	Pentatricopeptide repeat-containing protein	4.5	2010	2029	CUCAGGAUCAAGAGUCU	Escisión
<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc02g064960.2.1</i>	AP2-like ethylene-responsive transcription factor	1.5	1733	1753	CUGCAGCAUCAAGGAUUC	Escisión
<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc02g093150.2.1</i>	AP2-like ethylene-responsive transcription factor	1.5	1561	1581	CUGCAGCAUCAAGGAUUC	Escisión
<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc02g094250.2.1</i>	Unknown Protein	3.0	519	538	UGCAGUACAUAAGAUACU	Escisión
<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc03g044300.2.1</i>	AP2-like ethylene-responsive transcription factor	1.5	1373	1393	CUGCAGCAUCAAGGAUUC	Escisión
<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc03g097410.1.1</i>	Inositol-tetrakisphosphate 1-kinase 1	3.0	68	87	GCAGCUUCAUCAAGAUUCU	Traducción
<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc03g118870.2.1</i>	Octicosapeptide/Phox/Bem1p domain-containing protein	3.0	1427	1446	UGCAGCAAGUUAAGAUUCU	Traducción
<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc04g049800.2.1</i>	AP2-like ethylene-responsive transcription factor	0.5	1106	1126	CUGCAGCAUCAAGGAUUCU	Escisión
<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc06g075510.2.1</i>	AP2-like ethylene-responsive transcription factor	1.5	1511	1531	CGGCAGCAUCAAGGAUUCU	Escisión
<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc06g082880.1.1</i>	Pentatricopeptide repeat-containing protein	3.0	1407	1425	UGCAGC-UCGUCAAGAUUUU	Escisión

miRNA	Diana génica	Descripción funcional	Expectation	Posición hibridación en la diana		Secuencia alineada	Inhibición
				Inicio	Final		
<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc07g063770.2.1</i>	Serine/threonine kinase receptor	2.5	1865	1884	UGUAUCUUCAUCAAGAUUCU	Escisión
<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc09g007260.2.1</i>	AP2-like ethylene-responsive transcription factor	1.5	1512	1532	CUGCAGCAUCAUCAGGAUUCG	Escisión
<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc09g007700.2.1</i>	RING finger protein B	4.0	48	67	AUCAUCAUCAUCAAGAUUCC	Escisión
<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc10g006710.2.1</i>	Serine/threonine kinase receptor	2.5	1877	1896	UGUACCUUCAUCAAGAUUCU	Escisión
<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc10g084340.1.1</i>	AP2-like ethylene-responsive transcription factor	1.5	1241	1261	CUGCAGCAUCAUCAGGAUUCG	Escisión
<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc11g072600.1.1</i>	AP2-like ethylene-responsive transcription factor	0.5	1277	1297	CUGCAGCAUCAUCAGGAUUCU	Escisión
<i>sly-miR160a-3p</i>	<i>Solyc02g043860.2.1</i>	Insulin degrading enzyme	3.5	1250	1269	AUGCAUCGCUCCUCAUUCGC	Escisión
<i>sly-miR160a-3p</i>	<i>Solyc02g087520.2.1</i>	Thaumatococcus-like protein	3.5	677	695	AUGCUUGUC-CCUCAUACGU	Traducción
<i>sly-miR160a-3p</i>	<i>Solyc05g012080.2.1</i>	Cytochrome b5	3.5	370	389	GUGCUUGGCUUCUUGUACAC	Escisión
<i>sly-miR166c-5p</i>	<i>Solyc05g005890.2.1</i>	Unknown Protein	3.0	329	349	UGUUGAGACAGACAACAUUUU	Escisión
<i>sly-miR166c-5p</i>	<i>Solyc05g005900.2.1</i>	GCN5-related protein	3.0	905	925	UGUUGAGACAGACAACAUUUU	Escisión
<i>sly-miR167c-3p</i>	<i>Solyc02g086840.2</i>	Kinesin light chain-like protein	3.5	740	759	GGGGCUUUCUGAGCAUGAUA	Escisión
<i>sly-miR168a-5p</i>	<i>Solyc06g072300.2.1</i>	ARGONAUTE 1	2.5	2108	2127	UCCCGAGCUGACCAAGCAA	Escisión
<i>sly-miR169e-3p</i>	<i>Solyc00g016470.1.1</i>	Unknown Protein	2.5	60	79	GUUGUCAAGAUGCUUGCUU	Escisión
<i>sly-miR169e-3p</i>	<i>Solyc03g115000.2.1</i>	AT1G74160 protein (Fragment)	3.0	93	112	UCGUCAAAGUAUGCUUGCUA	Traducción

miRNA	Diana génica	Descripción funcional	Expectation	Posición hibridación en la diana		Secuencia alineada	Inhibición
				Inicio	Final		
<i>sly-miR169e-3p</i>	<i>Solyc03g124000.1.1</i>	Unknown Protein	3.0	1474	1494	AGUGGUGAAAGAUGCUUGCCG	Escisión
<i>sly-miR169e-3p</i>	<i>Solyc04g055180.2.1</i>	Oxidation resistance 1-like protein	5.0	1375	1394	AGUGUUAAGAUGCUUGCUU	Escisión
<i>sly-miR169e-3p</i>	<i>Solyc06g082560.1.1</i>	ClpB chaperone	2.5	2459	2479	AGUUAUCAAGAUGCUUGUCA	Escisión
<i>sly-miR169e-3p</i>	<i>Solyc11g050840.1.1</i>	Unknown Protein	3.0	248	268	AGCCGCCAAGAUGGUUGCUA	Escisión
<i>sly-miR171a</i>	<i>Solyc01g090950.2.1</i>	GRAS family transcription factor	0.5	1570	1590	GAUAUUGGCGGCGCUCAAUCA	Escisión
<i>sly-miR171a</i>	<i>Solyc02g085600.1.1</i>	GRAS family transcription factor	2.0	585	605	GAUACUGGCACGCCUCAUCA	Traducción
<i>sly-miR171a</i>	<i>Solyc08g078800.1.1</i>	GRAS family transcription factor	0.5	396	416	GAUAUUGGCGGCGCUCAAUCA	Escisión
<i>sly-miR171a</i>	<i>Solyc08g081890.2.1</i>	Multidrug resistance protein ABC transporter family	2.5	3647	3666	AUAUUGGCAUGGCUCUAUCG	Escisión
<i>sly-miR171a</i>	<i>Solyc09g011070.1.1</i>	Receptor like protein kinase	3.0	583	602	AUAUUGGCAUGGGUUGAUUA	Escisión
<i>sly-miR390a-5p</i>	<i>Solyc01g011040.2.1</i>	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase	3.0	724	743	UUGCUAUCUUCUGAGCUU	Escisión
<i>sly-miR390a-5p</i>	<i>Solyc01g058100.2.1</i>	Unknown Protein	4.0	138	157	UGUCUAUCCCUCCUGAGCUG	Escisión
<i>sly-miR390a-5p</i>	<i>Solyc01g091230.2.1</i>	Receptor like kinase	2.5	510	530	GGUGUUAUCCUCCUGAGGUU	Escisión
<i>sly-miR390a-5p</i>	<i>Solyc01g100890.2.1</i>	MtN21 nodulin protein-like	3.0	406	425	UUGCUGUCCUUCUGGGCUU	Escisión
<i>sly-miR390a-5p</i>	<i>Solyc04g005390.1.1</i>	Receptor like kinase	2.0	823	843	GGUGUGAUCCUUCUGAGCUU	Escisión

miRNA	Diana génica	Descripción funcional	Expectation	Posición hibridación en la diana		Secuencia alineada	Inhibición
				Inicio	Final		
<i>sly-miR390a-5p</i>	<i>Solyc04g015600.2.1</i>	Receptor like kinase	3.0	988	1008	GGAACUAUUCUCCUGAGUUU	Escisión
<i>sly-miR390a-5p</i>	<i>Solyc04g079120.2.1</i>	Protein phosphatase 2C	2.0	598	617	GUGCUAUUCUCCUGAUCUU	Escisión
<i>sly-miR390a-5p</i>	<i>Solyc06g036720.2.1</i>	HLA-B associated transcript 3	3.0	1006	1026	GGUGCUAUGCUACUUGAGCUU	Traducción
<i>sly-miR390a-5p</i>	<i>Solyc07g056410.2.1</i>	Receptor like kinase	3.0	821	841	GGUGCAAUUCUCCUGAGAUU	Escisión
<i>sly-miR396-3p</i>	<i>Solyc01g010470.2.1</i>	Isoamylase N-terminal domain containing protein	3.0	726	745	UUUCCACACCUUUCUUUGAC	Escisión
<i>sly-miR396-3p</i>	<i>Solyc05g013810.2.1</i>	Glycosyl hydrolase family 5 protein/cellulase	3.0	1060	1079	UUUCAAUUGC UUUCUUGGAC	Escisión
<i>sly-miR396-3p</i>	<i>Solyc05g017930.1.1</i>	Potassium channel	3.0	145	165	UUCUUCGUAGCUUCUUGGAC	Escisión
<i>sly-miR408b-3p</i>	<i>Solyc01g090120.2.1</i>	Blue copper protein	3.0	645	664	GCUAGGCGAGAGGCAGUGCU	Escisión
<i>sly-miR408b-3p</i>	<i>Solyc01g104400.2.1</i>	Blue copper protein	2.5	77	97	GGUCUGGGAAGAAGCAGUGCA	Traducción
<i>sly-miR408b-3p</i>	<i>Solyc04g074740.2.1</i>	Blue copper-like protein	3.0	732	752	AGCCAGGAUAGAGGCAGUGCC	Escisión
<i>sly-miR408b-3p</i>	<i>Solyc05g054910.2.1</i>	SAC3/GANP/Nin1/mts3/eIF-3 p25	3.0	2005	2025	GGCCAGCUAAGAGGCAGUGUG	Escisión
<i>sly-miR408b-3p</i>	<i>Solyc07g043390.2.1</i>	Cellulose synthase	4.0	50	70	AGAGAGGGGAGAGGGAGUGCA	Escisión
<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>Solyc01g111470.2.1</i>	Pentatricopeptide repeat-containing protein	3.0	222	241	UUUCUCCA-CCCACCCACUCC	Escisión
<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>Solyc01g111880.2.1</i>	tyrosine-protein kinase transforming protein Src	3.0	217	236	UUUUUCAUCUCAUUCACUUU	Escisión
<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>Solyc03g115200.2.1</i>	Glucan endo-1 3-beta-glucosidase 1	2.5	801	821	UUUUUCCAUCCCAUCUAUUUU	Escisión

miRNA	Diana génica	Descripción funcional	Expectation	Posición hibridación en la diana		Secuencia alineada	Inhibición
				Inicio	Final		
<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>Solyc04g072030.1.1</i>	Interferon-induced GTP-binding protein Mx	3.0	857	877	UUUUUCAAUCAUCCACUUC	Escisión
<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>Solyc05g056320.2.1</i>	CCCH zinc finger and SMR domain-containing protein	3.0	416	435	UUAUCCGUUCCGCCACUUC	Escisión
<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>Solyc06g065390.2.1</i>	50S ribosomal protein L21	3.0	153	172	UUUUCUAUCUCACUCAUUUU	Escisión
<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>Solyc07g015860.2.1</i>	Peptide deformylase	3.0	250	270	UCUUUCCGUCCAUCACUCC	Escisión
<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>Solyc08g083230.1.1</i>	Growth-regulating factor 3	3.0	294	313	UGUUCGCCCCACCUACUCC	Escisión
<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>Solyc09g092340.2.1</i>	3'-5' exonuclease domain protein	3.0	588	607	UUUUGCAUAUCAUCCACUCC	Escisión
<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>Solyc10g081260.1.1</i>	Multidrug resistance protein mdtK	3.0	379	398	UUUUUCGUCUUAGCCACUCC	Escisión
<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>Solyc11g069400.1.1</i>	Protein disulfide isomerase L-2	2.5	49	68	UUCUCCGUCCUACUCACUCC	Escisión
<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc01g005720.2.1</i>	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase	1.0	513	533	UCCUGGAUAUUCUCCUUCU	Escisión
<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc01g005730.2.1</i>	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase	1.0	1190	1210	UCCUGGAUAUUCUCCUUCU	Escisión
<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc01g005760.2.1</i>	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase	1.0	1243	1263	UCCUGGAUAUUCUCCUUCU	Escisión
<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc01g005870.1.1</i>	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase	1.0	1186	1206	UCCUGGAUAUUCUCCUUCU	Escisión
<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc01g006550.2.1</i>	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase	1.0	1196	1216	UCCUGGAUAUUCUCCUUCU	Escisión

miRNA	Diana génica	Descripción funcional	Expectation	Posición hibridación en la diana		Secuencia alineada	Inhibición
				Inicio	Final		
<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc01g008390.1.1</i>	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase	3.0	1102	1122	UCCUGGAUUAUUCUCUCUCCCC	Escisión
<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc01g008410.1.1</i>	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase	1.5	943	963	UCCUGGAUUAUUCUCCUCCCA	Escisión
<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc01g009690.1.1</i>	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase	1.0	1207	1227	UCCUGGAUUAUUCUCCUUCU	Escisión
<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc01g009700.1.1</i>	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase	1.0	766	786	UCCUGGAUUAUUCUCCUUCU	Escisión
<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc01g016370.1.1</i>	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase	1.5	1201	1221	UCCUGGAUUAUUUCCUUCU	Escisión
<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc02g083350.2.1</i>	DNA-directed RNA polymerase	4.0	5893	5912	UUCUGGGU-UUCUCUUUCCA	Escisión
<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc02g087840.2.1</i>	Homeobox-leucine zipper-like protein	3.0	160	180	UCAUGGAUUUUCUCCUUCUA	Escisión
<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc03g113040.2.1</i>	ATP-binding cassette (ABC) transporter 17	3.0	1494	1514	UCCUGGAUUUUCUCUUUUUCG	Escisión
<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc04g074130.2.1</i>	Mitochondrial carrier protein	3.0	51	70	CUUUGACAUUUUCCUCCA	Escisión
<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc07g065320.2.1</i>	Multidrug resistance protein ABC transporter family	3.0	2205	2224	CCUGGAAAUUCUCUCUUUUG	Escisión
<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc09g018230.1.1</i>	U-box domain-containing protein	3.0	440	460	UAUUGGAUUAUUUACCUCCA	Escisión
<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc12g040740.1.1</i>	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase	3.0	583	603	UCAGGGAUUUUCUCCUCCA	Escisión
<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc12g100020.1.1</i>	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase	2.0	973	993	UCAUGGAUUAUUCUCCUUCU	Escisión
<i>sly-miR9471a-3p</i>	<i>Solyc03g111100.1.1</i>	AtIII18x5-like protein (Fragment)	3.0	512	532	UUGUGAUGUUCCUCAGCCAG	Traducción
<i>sly-newmiR1</i>	<i>Solyc03g026240.2</i>	Arginine/serine-rich splicing factor RSP31	3.0	329	349	UGCGAAUGCCUCGGAUUGUCU	Traducción

miRNA	Diana génica	Descripción funcional	Expectation	Posición hibridación en la diana		Secuencia alineada	Inhibición
				Inicio	Final		
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc01g016380.2.1</i>	Unknown Protein	3.0	117	141	CAUCAUUUCACUUGUCUUCUUUCU	Escisión
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc01g016390.2.1</i>	Unknown Protein	3.0	1359	1383	CAUCAUUUCACUUGUCUUCUUUCU	Escisión
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc01g091210.2.1</i>	tRNA 2'&apos-phosphotransferase	3.0	963	987	CCCGUUUCAUCUGUUUUUCUUCU	Escisión
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc01g100050.2.1</i>	WD-40 repeat protein	3.0	375	396	GCAGGUGAGUGGGACGAAGUUG	Escisión
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc02g062450.1.1</i>	Zinc finger, GRF-type	2.5	17	36	CUUCAUCGAUUUCUUCUUCU	Escisión
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc02g068240.2.1</i>	Diacylglycerol acyltransferase	3.0	279	302	CUUCCUUUAUUUUUCUCCUUUCU	Escisión
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc03g097950.2.1</i>	50S ribosomal protein L29	3.0	587	611	CAUAUUUCAUCUCUCUUCUUUCU	Escisión
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc03g118490.2.1</i>	Cell division cycle-associated protein 7	2.5	311	335	UCCGUUUUCAUCUGUUUCUUCUUCU	Escisión
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc03g119580.1.1</i>	Ethylene-responsive transcription factor 4	3.0	1105	1126	GAAGUCGACCUAGAUGAAGUUG	Escisión
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc03g122220.1.1</i>	Zinc finger, GRF-type	2.5	17	36	CUUCAUCGAUUUCUUCUUCU	Escisión
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc04g050930.2.1</i>	Violaxanthin de-epoxidase	2.5	122	141	CUUCAUCCAUUCCUUUCA	Escisión
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc04g081360.2.1</i>	tRNA (Adenine-N(1)-)-methyltransferase non-catalytic subunit trm6	3.0	989	1008	UGGUGGUCUAGACGAAGUUA	Escisión
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc05g054740.2.1</i>	High affinity sulfate transporter 2	3.0	163	187	UUUCGCUUCAUCUUCUUCUUUCU	Traducción

miRNA	Diana génica	Descripción funcional	Expectation	Posición hibridación en la diana		Secuencia alineada	Inhibición
				Inicio	Final		
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc06g007200.2.1</i>	Methionine aminopeptidase	3.0	392	412	GGGGUGUCAUAUAGAUGGCUU	Escisión
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc06g009670.2.1</i>	DNAJ heat shock N-terminal domain-containing protein	3.0	473	493	ACAUCAUCUACCUCUUCUUCU	Traducción
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc06g043340.1.1</i>	Unknown Protein	3.0	585	604	AGGUAAGCUAGACGAAUUUA	Escisión
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc07g005400.2.1</i>	Transcription factor	3.0	16	39	UUCAUUUCUUCUAUCUUUCUUCU	Escisión
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc07g005890.2.1</i>	ATP-dependent RNA helicase	2.5	1190	1210	ACUUUAUCUAGUUUCCCUUCU	Traducción
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc07g048050.1.1</i>	Dopamine beta-monoxygenase	3.0	183	207	UUUUGGUUCAUUUAUACUCCUUCU	Traducción
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc08g008490.2.1</i>	WD-40 repeat protein	1.5	2061	2080	CUUCAACUGUCUCCCUUCU	Escisión
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc08g079830.2.1</i>	Cu/Zn-superoxide dismutase copper chaperone	3.0	116	136	GUUUCUUCUAUUUCUUCUUCU	Escisión
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc09g074080.1.1</i>	Glycosyltransferase family GT8 protein	2.5	116	135	AGGUGUCAGAUGGGCGGGUU	Escisión
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc10g007170.1.1</i>	Unknown Protein	1.5	472	493	GAGGGCGAGCUUGACGAAGUUA	Traducción
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc11g010250.1.1</i>	Avr9/Cf-9 rapidly elicited protein 75	3.0	126	147	AAUUUCAUCUAUCCUUCUUCU	Traducción
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc11g056640.1.1</i>	Unknown Protein	2.0	87	111	UUUCACUUCUUCAGUUUCCCUUCU	Escisión
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc12g010130.1.1</i>	CBL-interacting protein kinase 7	3.0	222	241	AGUCGAGCUUCACGAAGUUA	Traducción

miRNA	Diana génica	Descripción funcional	Expectation	Posición hibridación en la diana		Secuencia alineada	Inhibición
				Inicio	Final		
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc12g038470.1.1</i>	Unknown Protein	2.5	119	142	CUCUCUUAUCUUUUUCUUCUUCU	Escisión
<i>sly-newmiR3</i>	<i>Solyc12g096940.1.1</i>	CCT motif family protein	2.0	654	674	AUCUUAUC-AUCUCCCCUUCU	Escisión
<i>sly-newmiR4</i>	<i>Solyc03g026120.2.1</i>	Dehydration-responsive protein	3.0	888	908	GUGUCCUGCUUUGAUUGGAG	Escisión
<i>sly-newmiR4</i>	<i>Solyc06g008980.2.1</i>	Unknown Protein	3.0	636	654	ACGUUCUGCUCUG-UUGGAG	Escisión
<i>sly-newmiR4</i>	<i>Solyc08g060970.2.1</i>	Polygalacturonase	3.0	494	514	UGGUCAACGAUGGUGGGAUAC	Escisión
<i>sly-newmiR6</i>	<i>Solyc02g082730.2.1</i>	Rab gdp-dissociation inhibitor	3.0	56	75	CCUUGAAUCUAAAAUUUUG	Escisión
<i>sly-newmiR6</i>	<i>Solyc03g097630.2.1</i>	Palmitoyltransferase-like protein	3.0	730	754	CAUCCUCCAGAACCAGAAAACUUUG	Traducción
<i>sly-newmiR6</i>	<i>Solyc07g065630.2.1</i>	Ubiquitin-protein ligase 1	3.0	2688	2708	UUGGCAAUUUCCUUGUGUUG	Escisión
<i>sly-newmiR8</i>	<i>Solyc02g088510.2.1</i>	Saccharopine dehydrogenase	2.5	241	260	GGCCGUAAUACUUCGAAACU	Escisión
<i>sly-newmiR8</i>	<i>Solyc03g005630.2.1</i>	Unknown Protein	3.0	1368	1388	GUGUGAGAAGAGAUUGUUGAA	Escisión
<i>sly-newmiR8</i>	<i>Solyc03g117310.1.1</i>	Sterile alpha motif homology	2.5	600	619	GGAUGCAAUGUUUCAAGACU	Escisión
<i>sly-newmiR8</i>	<i>Solyc04g079790.2.1</i>	30S ribosomal protein S9	3.0	471	491	UGGAUUCAAUAUGUCAAACU	Traducción
<i>sly-newmiR8</i>	<i>Solyc05g015480.2.1</i>	Cysteine desulfurase	3.0	1027	1046	GGAAACAGUCCUUCGAAACU	Traducción
<i>sly-newmiR8</i>	<i>Solyc05g041110.1.1</i>	Calcium-dependent protein kinase-like	3.0	50	68	UGCGAGGAGA-AUUGUUGUA	Traducción
<i>sly-newmiR8</i>	<i>Solyc06g063230.2.1</i>	Unknown Protein	3.0	568	587	CGGUACAAUAAUCAAACU	Traducción

miRNA	Diana génica	Descripción funcional	Expectation	Posición hibridación en la diana		Secuencia alineada	Inhibición
				Inicio	Final		
<i>sly-newmiR8</i>	<i>Solyc07g032740.2.1</i>	Aspartate aminotransferase	3.0	1354	1374	UGGACAUAAUGUUUCGGAUUU	Escisión
<i>sly-newmiR8</i>	<i>Solyc07g065620.2.1</i>	Poly(A)-specific ribonuclease PARN-like protein	3.0	1526	1545	GGAUACAAAGCUUCAGAAUU	Escisión
<i>sly-newmiR8</i>	<i>Solyc08g016050.2.1</i>	Dedicator of cytokinesis family protein	2.5	3540	3559	GGUAUUGGUGCUUCAAACU	Escisión
<i>sly-newmiR8</i>	<i>Solyc08g041740.1.1</i>	Unknown Protein	3.0	125	144	GGACACAAGAUCUCAAUUU	Traducción
<i>sly-newmiR8</i>	<i>Solyc10g083370.1.1</i>	Unknown Protein	3.0	43	62	AGAUACAGUGCUUCAAUUU	Escisión
<i>sly-newmiR8</i>	<i>Solyc12g009730.1.1</i>	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase	3.0	65	85	AUGAGAGUAGGGAUUGCUGUA	Escisión
<i>sly-newmiR8</i>	<i>Solyc12g009740.1.1</i>	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase	2.5	689	709	UUGAAACAAUGCUUCAAACU	Escisión
<i>sly-newmiR8</i>	<i>Solyc12g009750.1.1</i>	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase	3.0	65	85	AUGAGAGUAGGGAUUGCUGUA	Escisión
<i>sly-newmiR8</i>	<i>Solyc12g009770.1.1</i>	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase	2.5	701	721	UUGAAACAAUGCUUCAAACU	Escisión
<i>sly-newmiR8</i>	<i>Solyc12g013680.1.1</i>	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase	2.5	563	583	UUGAAACAAUACUUCAGAACU	Escisión
<i>sly-newmiR8</i>	<i>Solyc12g095910.1.1</i>	Vacuolar processing enzyme-3	3.0	61	80	GGACGUAAUGUUUUGAAACU	Escisión
<i>sly-newmiR21</i>	<i>Solyc02g037550.2.1</i>	Auxin efflux carrier family protein	2.5	488	509	GGAUUCAUUACAUGCUCACU	Escisión
<i>sly-newmiR21</i>	<i>Solyc02g080630.2.1</i>	Lactoylglutathione lyase	3.0	51	70	AUUCAACCACGUGUUCUAUC	Escisión
<i>sly-newmiR21</i>	<i>Solyc03g116460.2.1</i>	Aspartate racemase	3.0	1897	1917	UGUUGAAUCCUGGUAAGGUUU	Escisión

miRNA	Diana génica	Descripción funcional	Expectation	Posición hibridación en la diana		Secuencia alineada	Inhibición
				Inicio	Final		
<i>sly-newmiR21</i>	<i>Solyc05g009270.2.1</i>	Fatty acid elongase 3-ketoacyl-CoA synthase	3.0	1045	1065	AAUUGGACCACUUGUUCUACC	Traducción
<i>sly-newmiR21</i>	<i>Solyc06g043020.1.1</i>	Unknown Protein	2.5	226	247	AUGUCAAGCCCUGAUAAAGUUC	Traducción
<i>sly-newmiR21</i>	<i>Solyc06g053190.2.1</i>	GTPase activating-like protein	3.0	1717	1738	GGAUUAGGCAGCGUGCUCCACC	Escisión
<i>sly-newmiR21</i>	<i>Solyc07g020910.1.1</i>	T24D18.4 (Fragment)	3.0	355	374	CUUGCACCACAUGCUUCACC	Escisión
<i>sly-newmiR21</i>	<i>Solyc08g082970.2.1</i>	Fas-associated factor 1-like protein	3.0	1284	1303	CUCAAGUUUUGGUAAGGUUU	Escisión
<i>sly-newmiR21</i>	<i>Solyc10g009390.2.1</i>	Cytochrome P450	3.0	201	222	GAAUUAACAACAUGUUUCAUU	Escisión
<i>sly-newmiR21</i>	<i>Solyc10g024320.1.1</i>	Lon protease homolog	3.0	313	334	GCAUUGAACCGCAAGUUCUACC	Traducción
<i>sly-newmiR21</i>	<i>Solyc10g081530.1.1</i>	V-type proton ATPase subunit d 1	2.5	241	262	GAGUUCAACCACAUGCUCUGCC	Escisión
<i>sly-newmiR21</i>	<i>Solyc12g042260.1.1</i>	Low affinity nitrate transporter	2.5	89	110	GGAUUAAGCCACGUGUUUCGCC	Escisión
<i>sly-newmiR22</i>	<i>Solyc01g088460.2.1</i>	Unknown Protein	3.0	272	293	GGAGUUCUGACCUGUGUAAAU	Traducción
<i>sly-newmiR22</i>	<i>Solyc01g101100.2.1</i>	Receptor-like protein kinase	3.0	1270	1288	GGCUCCUGA-AUAUGCAAU	Traducción
<i>sly-newmiR22</i>	<i>Solyc04g025390.1.1</i>	Unknown Protein	3.0	81	102	GAAGUUUGUUACAUAUGCAAAC	Escisión
<i>sly-newmiR22</i>	<i>Solyc04g054170.2.1</i>	CPR5 (Fragment)	1.5	754	773	GAAUCAAUAGGUCGGCAGCU	Escisión
<i>sly-newmiR22</i>	<i>Solyc08g068010.1.1</i>	Zinc finger FYVE domain containing 26	2.5	3450	3469	AGUUCUUGAUUGUGCAAGC	Escisión

miRNA	Diana génica	Descripción funcional	Expectation	Posición hibridación en la diana		Secuencia alineada	Inhibición
				Inicio	Final		
<i>sly-newmiR22</i>	<i>Solyc08g068010.1.1</i>	Zinc finger FYVE domain containing 26	2.5	3450	3469	AGUUCUUGAUUGUGCAAGC	Escisión
<i>sly-newmiR22</i>	<i>Solyc09g059620.2.1</i>	SAM domain family protein	3.0	558	577	GGCUCCUGAAAUAGCAAAC	Traducción
<i>sly-newmiR22</i>	<i>Solyc12g014540.1.1</i>	Lysine-specific demethylase 5C	3.0	2387	2407	AACCUCUUUACAUAUGCAAU	Escisión
<i>sly-newmiR22</i>	<i>Solyc12g014570.1.1</i>	Glycerophosphoryl diester phosphodiesterase family protein	3.0	1419	1440	GGAAUUCUUGACAUAUGCAAAA	Escisión
<i>sly-newmiR22</i>	<i>Solyc12g098960.1.1</i>	Receptor-like protein kinase	3.0	726	744	AGCUCCUGA-GUAUGCAAU	Traducción
<i>sly-newmiR25</i>	<i>Solyc03g115360.2.1</i>	40S ribosomal protein S19-like	2.5	690	712	UUUGCUUCCUUUAUCUCUGAGUG	Escisión
<i>sly-newmiR26</i>	<i>Solyc06g051500.2.1</i>	Unknown Protein	3.0	443	462	UCGUCUCAAUUUGGUACUGC	Escisión
<i>sly-newmiR26</i>	<i>Solyc06g051510.2.1</i>	Kinase family protein	3.0	274	293	UCGUCUCAAUUUGGUACUGC	Escisión
<i>sly-newmiR31</i>	<i>Solyc06g065260.2.1</i>	Receptor like kinase	3.0	3075	3094	UCCUGUUGAUAGUUGCUCU	Traducción
<i>sly-newmiR31</i>	<i>Solyc07g056470.2.1</i>	Glutathione S-transferase-like protein	2.0	1708	1727	UCUUUGUUAUCCUUACUCC	Escisión
<i>sly-newmiR31</i>	<i>Solyc10g039340.1.1</i>	Unknown Protein	2.0	51	70	UCCUUGUUUAUCAUUUUC	Escisión
<i>sly-newmiR33</i>	<i>Solyc01g091710.2.1</i>	F-box family protein	3.0	1567	1587	UGCUUCUACUUUGCUUUUGCG	Escisión
<i>sly-newmiR33</i>	<i>Solyc01g105350.1.1</i>	UDP-glucuronosyltransferase	2.5	119	138	GCUUUCACUAACCUUUGUA	Traducción
<i>sly-newmiR33</i>	<i>Solyc01g110700.2.1</i>	Unknown Protein	3.0	84577	84596	GCUUUUGCUUUUUCUUUGUC	Escisión
<i>sly-newmiR33</i>	<i>Solyc01g111180.2.1</i>	Unknown Protein	3.0	54866	54885	GCUUUUGCUUUUUCUUUGUC	Escisión
<i>sly-newmiR33</i>	<i>Solyc02g084810.2.1</i>	Unknown Protein	3.0	741	763	GUUCCAUGUGAGAAACCAGGUCU	Escisión
<i>sly-newmiR33</i>	<i>Solyc04g055190.2.1</i>	Glycerol uptake protein 1	3.0	222	242	CCCUUUCUUUUACCUUUUCA	Escisión

miRNA	Diana génica	Descripción funcional	Expectation	Posición hibridación en la diana		Secuencia alineada	Inhibición
				Inicio	Final		
<i>sly-newmiR33</i>	<i>Solyc07g056590.2.1</i>	Polyadenylate-binding protein 1	3.0	942	963	UCGCCUUCGCUUUGCCUUUGUG	Escisión
<i>sly-newmiR33</i>	<i>Solyc09g009310.1.1</i>	Unknown Protein	3.0	555	574	GCUUACUUUUUACUUUUGCA	Escisión
<i>sly-newmiR33</i>	<i>Solyc11g010310.1.1</i>	ATP dependent RNA helicase	3.0	1451	1472	UCGCCAUUGCUUUACCUUUGCA	Escisión
<i>sly-newmiR34</i>	<i>Solyc01g111180.2.1</i>	Unknown Protein	3.0	90026	90047	UAAACUUUUGGGUUGCAUGUGG	Escisión
<i>sly-newmiR34</i>	<i>Solyc04g078590.2.1</i>	Receptor like kinase	3.0	641	662	UACCCGUUGCGAUCAAAGGGUU	Escisión
<i>sly-newmiR34</i>	<i>Solyc05g045940.1.1</i>	Unknown Protein	2.5	145	164	CUAUAUGCAAUCAAGGGGUU	Escisión
<i>sly-newmiR34</i>	<i>Solyc11g065810.1.1</i>	Resistance protein fragment	2.5	178	197	AACCUUUCGGUUGCAUGUGG	Escisión
<i>sly-newmiR34</i>	<i>Solyc11g072180.1.1</i>	Ngg1 interacting factor 3 like 1 binding protein 1 isoform 1	3.0	120	139	UGCCCUUUUAUUGCAUGUGG	Escisión
<i>sly-newmiR35</i>	<i>Solyc00g008110.1.1</i>	Unknown Protein	3.0	530	551	UCGGGUGUGACAUUUUAUCAUC	Escisión
<i>sly-newmiR35</i>	<i>Solyc01g011100.2.1</i>	Phospholipid-transporting ATPase	3.0	3101	3120	AUAUGUAAUAUCUUGUCAUC	Traducción
<i>sly-newmiR35</i>	<i>Solyc01g034030.1.1</i>	Unknown Protein	3.0	299	320	UGAGAAGGAAUGUUUUAUCAUU	Escisión
<i>sly-newmiR35</i>	<i>Solyc01g094680.2.1</i>	Signal peptide peptidase	2.5	1237	1256	UGCAUUGAUCAUCACGGUUC	Escisión
<i>sly-newmiR35</i>	<i>Solyc01g110700.2.1</i>	Unknown Protein	3.0	130797	130822	AAGUACAGAUGCCAUAUCUUAUCAUA	Traducción
<i>sly-newmiR35</i>	<i>Solyc01g111180.2.1</i>	Unknown Protein	3.0	101086	101111	AAGUACAGAUGCCAUAUCUUAUCAUA	Traducción

miRNA	Diana génica	Descripción funcional	Expectation	Posición hibridación en la diana		Secuencia alineada	Inhibición
				Inicio	Final		
<i>sly-newmiR35</i>	<i>Solyc02g049090.1.1</i>	Unknown Protein	3.0	282	301	AGAAGUAAUGUUUUGUUAUC	Escisión
<i>sly-newmiR35</i>	<i>Solyc03g083170.2.1</i>	At5g24280-like protein	2.0	732	751	AGAUACAUAUUUUUAUCAUC	Escisión
<i>sly-newmiR35</i>	<i>Solyc03g098150.2.1</i>	Kinase family protein	3.0	729	748	AGAUGUAAUAAUUAUCAUC	Traducción
<i>sly-newmiR35</i>	<i>Solyc04g064640.2.1</i>	RAG1-activating protein 1 homolog	3.0	106	128	UGGUGUAUUACUCUUAUGGCAC	Traducción
<i>sly-newmiR35</i>	<i>Solyc04g080930.2.1</i>	Peroxisome biogenesis factor 10	3.0	969	994	GGUCUGAGACGUAGUAGUUUAUCAUC	Traducción
<i>sly-newmiR35</i>	<i>Solyc06g062800.2.1</i>	ATP-dependent RNA helicase eIF4A	3.0	54	76	UUUUUUACUAAUCAUCAUGGCAC	Escisión
<i>sly-newmiR35</i>	<i>Solyc07g005960.2.1</i>	Serine carboxypeptidase K10B2.2	2.5	1622	1643	UGAGUUGUAAGAUUUUAUCAUC	Escisión
<i>sly-newmiR35</i>	<i>Solyc09g020020.1.1</i>	Ulp1 protease family C-terminal catalytic domain containing protein	3.0	311	331	UGGAUGUCAUAUUUUUAUUAUU	Escisión
<i>sly-newmiR36</i>	<i>Solyc02g078640.2.1</i>	Microtubule associated protein	3.0	3025	3045	GGAGAGUUGUUUGGUGCUCUU	Traducción
<i>sly-newmiR36</i>	<i>Solyc06g084530.2.1</i>	Katanin p60 ATPase-containing subunit A-like 1	3.0	14	33	GACGAGGCCUCCUUCUUC	Escisión
<i>sly-newmiR36</i>	<i>Solyc08g080270.2.1</i>	3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate transporter 1	2.5	912	931	GGGAAUUGUUUCGCGCCUCU	Escisión
<i>sly-newmiR36</i>	<i>Solyc11g039860.1.1</i>	Unknown Protein	1.0	19	38	GUGGAGGCACCCUUCUCCC	Escisión
<i>sly-newmiR37</i>	<i>Solyc04g081070.2.1</i>	Heat shock protein DnaJ domain protein	3.0	1217	1236	UUCAGCAGCUUCAGCAGACC	Escisión

miRNA	Diana génica	Descripción funcional	Expectation	Posición hibridación en la diana		Secuencia alineada	Inhibición
				Inicio	Final		
<i>sly-newmiR37</i>	<i>Solyc05g010650.2.1</i>	U-box domain-containing protein	2.0	78	104	UUUUACCUCCACAGCUUCGACAGAUC	Escisión
<i>sly-newmiR37</i>	<i>Solyc12g008750.1.1</i>	Splicing factor U2AF subunit	3.0	669	688	UCUACAGCUUCUGCAGGUC	Escisión
<i>sly-newmiR38</i>	<i>Solyc01g094920.2.1</i>	Receptor-like kinase	3.0	1092	1112	AAUAGGUUGCUGGCUUCUCCU	Escisión
<i>sly-newmiR38</i>	<i>Solyc02g038650.1.1</i>	Tetratricopeptide repeat protein 5	3.0	1072	1091	AAAUUCUAUCAGAUUGCCCU	Escisión
<i>sly-newmiR38</i>	<i>Solyc02g065110.2.1</i>	Protein serine/threonine kinase	3.0	1078	1097	AAUUUUUACCAGAUGACCCA	Escisión
<i>sly-newmiR38</i>	<i>Solyc09g074620.2.1</i>	Unknown Protein	3.0	709	729	CAGUUUUUGCCUGAUUACUCA	Traducción
<i>sly-newmiR38</i>	<i>Solyc09g090730.1.1</i>	Ammonium transporter	3.0	1145	1165	UAAUUUUUACCGGGUUAUUCG	Escisión
<i>sly-newmiR38</i>	<i>Solyc12g099740.1.1</i>	Regulator of chromosome condensation domain-containing protein	3.0	1353	1373	CAAUUUUUGCCAGGUUACUUG	Escisión
<i>sly-newmiR39</i>	<i>Solyc01g010440.2.1</i>	Unknown Protein	3.0	80	99	CCUUAUUUCUCCGUAUCCC	Escisión
<i>sly-newmiR39</i>	<i>Solyc03g082790.2.1</i>	Extensin-like protein Dif54	3.0	600	620	ACUAUAAAUCUCCGUCACCUG	Escisión
<i>sly-newmiR40</i>	<i>Solyc02g088480.2.1</i>	T7.1 protein	3.0	284	304	CUAGUCCCUCAUUGUCUCAU	Escisión
<i>sly-newmiR40</i>	<i>Solyc12g062450.1.1</i>	Unknown Protein	2.0	7	27	CUCAUCCCCAUCAUCUCACU	Escisión
<i>sly-newmiR42</i>	<i>Solyc02g037550.2.1</i>	Auxin efflux carrier family protein	2.5	488	509	GGAUUCAAUACAUGCUCACU	Escisión
<i>sly-newmiR42</i>	<i>Solyc02g080630.2.1</i>	Lactoylglutathione lyase	3.0	51	70	AUUCAACCACGUGUUCUAUC	Escisión
<i>sly-newmiR42</i>	<i>Solyc05g009270.2.1</i>	Fatty acid elongase 3-ketoacyl-CoA synthase	3.0	1045	1065	AAUUGACCACUUGUUCUACC	Traducción

miRNA	Diana génica	Descripción funcional	Expectation	Posición hibridación en la diana		Secuencia alineada	Inhibición
				Inicio	Final		
<i>sly-newmiR42</i>	<i>Solyc06g053190.2.1</i>	GTPase activating-like protein	3.0	1715	1738	UAGGAUUAGGCAGCGUCUCCACC	Escisión
<i>sly-newmiR42</i>	<i>Solyc07g020910.1.1</i>	T24D18.4 (Fragment)	3.0	355	374	CUUGCACCACAUGCUUCACC	Escisión
<i>sly-newmiR42</i>	<i>Solyc10g009390.2.1</i>	Cytochrome P450	3.0	199	222	UAGAAUUAACAACAUGUUUCAUU	Escisión
<i>sly-newmiR42</i>	<i>Solyc10g024320.1.1</i>	Lon protease homolog	3.0	312	334	UGCAUUGAACCGCAAGUUCUACC	Traducción
<i>sly-newmiR42</i>	<i>Solyc10g081530.1.1</i>	V-type proton ATPase subunit d 1	2.5	240	262	UGAGUUCAACCACAUGCUCUGCC	Escisión
<i>sly-newmiR42</i>	<i>Solyc12g042260.1.1</i>	Low affinity nitrate transporter	2.5	87	110	UGGGAUUAAGCCACGUGUUUCGCC	Escisión
<i>sly-newmiR44</i>	<i>Solyc01g067530.2.1</i>	GTPase obg	2.5	697	717	UGGUGAUGUGUUUGAAGGGGA	Escisión
<i>sly-newmiR44</i>	<i>Solyc01g105580.1.1</i>	Hydroxycinnamoyl CoA quinate transferase 2	3.0	1226	1246	UAACAAUUUGUUUGAAGGAGA	Escisión
<i>sly-newmiR44</i>	<i>Solyc02g083280.2.1</i>	Thiosulfate sulfurtransferase/rhodanese-like domain-containing protein 1	2.5	41	61	CAAUCUCCUUUCAUUUCUCA	Escisión
<i>sly-newmiR44</i>	<i>Solyc03g065330.1.1</i>	Unknown Protein	3.0	506	526	AAUCUCCUUAUCAGUUCUCA	Traducción
<i>sly-newmiR44</i>	<i>Solyc04g009540.1.1</i>	50S ribosomal protein L10	2.0	86	107	UAAUCCCCAUCCAGUUCUCA	Escisión
<i>sly-newmiR44</i>	<i>Solyc04g014650.2.1</i>	Receptor like kinase	3.0	514	533	GAGAAUCAGCUUGAAGGGGA	Traducción
<i>sly-newmiR44</i>	<i>Solyc05g005640.2.1</i>	PHD finger family protein / methyl-CpG binding domain-containing protein	3.0	3319	3338	AAUGCUUCUUCUGGUUCUCA	Escisión
<i>sly-newmiR44</i>	<i>Solyc05g052160.2.1</i>	Translocase of chloroplast 34	3.0	944	964	CAAUUUCCUUCUGGUUCUCC	Escisión
<i>sly-newmiR44</i>	<i>Solyc05g052160.2.1</i>	Translocase of chloroplast 34	3.0	944	964	CAAUUUCCUUCUGGUUCUCC	Escisión

miRNA	Diana génica	Descripción funcional	Expectation	Posición hibridación en la diana		Secuencia alineada	Inhibición
				Inicio	Final		
<i>sly-newmiR44</i>	<i>Solyc07g052220.1.1</i>	Unknown Protein	3.0	131	150	GACGAUUUGGUAGAAGGGGA	Traducción
<i>sly-newmiR44</i>	<i>Solyc10g007480.2.1</i>	Dtdp-glucose 4 6-dehidratase	3.0	1269	1288	AAUCCCUUUUAAGUUCUUG	Traducción n
<i>sly-newmiR44</i>	<i>Solyc10g012470.1.1</i>	Unknown Protein	1.5	105	125	CAAUCCCCUUAUAGUUCUCA	Traducción
<i>sly-newmiR44</i>	<i>Solyc11g007780.1.1</i>	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-like protein	3.0	743	763	UGACAAUCAGUUUGGACGGGA	Escisión
<i>sly-newmiR44</i>	<i>Solyc12g036370.1.1</i>	Unknown Protein	2.5	6	26	UAAUUUCCUUAAGUUCUCA	Traducción
<i>sly-newmiR45</i>	<i>Solyc06g084530.2.1</i>	Katanin p60 ATPase-containing subunit A-like 1	3.0	14	33	GACGAGGCUCUCUUCUCC	Escisión
<i>sly-newmiR45</i>	<i>Solyc11g039860.1.1</i>	Unknown Protein	1.0	19	38	GUGGAGGCACCCUUCUCCC	Escisión
<i>sly-newmiR51</i>	<i>Solyc02g037550.2.1</i>	Auxin efflux carrier family protein	2.5	488	509	GGAUUCAUUAACAUGCUCACU	Escisión
<i>sly-newmiR51</i>	<i>Solyc02g080630.2.1</i>	Lactoylglutathione lyase	3.0	51	70	AUUCAACCACGUGUUCUUAUC	Escisión
<i>sly-newmiR51</i>	<i>Solyc03g116460.2.1</i>	Aspartate racemase	3.0	1897	1917	UGUUGAAUCCUGGUAAGGUUU	Escisión
<i>sly-newmiR51</i>	<i>Solyc05g009270.2.1</i>	Fatty acid elongase 3-ketoacyl-CoA synthase	3.0	1045	1065	AAUUGGACCACUUGUUCUACC	Traducción
<i>sly-newmiR51</i>	<i>Solyc06g043020.1.1</i>	ORF137	2.5	226	247	AUGUCAAGCCUGAUAAAGUUC	Traducción
<i>sly-newmiR51</i>	<i>Solyc06g053190.2.1</i>	GTPase activating-like protein	3.0	1717	1738	GGAUUAGGCAGCGUCUCCACC	Escisión
<i>sly-newmiR51</i>	<i>Solyc07g020910.1.1</i>	T24D18.4 (Fragment)	3.0	355	374	CUUGCACCACAUGCUCUCCACC	Escisión
<i>sly-newmiR51</i>	<i>Solyc08g082970.2.1</i>	Fas-associated factor 1-like protein	3.0	1284	1303	CUCAAGUUUUGGUAAGGUUU	Escisión

miRNA	Diana génica	Descripción funcional	Expectation	Posición hibridación en la diana		Secuencia alineada	Inhibición
				Inicio	Final		
<i>sly-newmiR51</i>	<i>Solyc10g009390.2.1</i>	Cytochrome P450	3.0	201	222	GAAUUAACAACAUGUUUCAUU	Escisión
<i>sly-newmiR51</i>	<i>Solyc10g024320.1.1</i>	Lon protease homolog	3.0	312	334	UGCAUUGAACCGCAAGUUCUACC	Traducción
<i>sly-newmiR51</i>	<i>Solyc10g081530.1.1</i>	V-type proton ATPase subunit d 1	2.5	240	262	UGAGUUCAACCACAUGCUCUGCC	Escisión
<i>sly-newmiR51</i>	<i>Solyc12g042260.1.1</i>	Low affinity nitrate transporter	2.5	89	110	GGAUUAAGCCACGUGUUUCGCC	Escisión
<i>sly-newmiR56</i>	<i>Solyc01g067530.2.1</i>	GTPase obg	2.5	697	717	UGGUGAUGUGUUUGAAGGGGA	Escisión
<i>sly-newmiR56</i>	<i>Solyc01g105580.1.1</i>	Hydroxycinnamoyl CoA quinate transferase 2	3.0	1226	1246	UAACAAUUUGUUUGAAGGAGA	Escisión
<i>sly-newmiR56</i>	<i>Solyc02g083280.2.1</i>	Thiosulfate sulfurtransferase/rhodanese-like domain-containing protein 1	2.5	41	61	CAAUCUCCUUAUUCUUCUCA	Escisión
<i>sly-newmiR56</i>	<i>Solyc03g065330.1.1</i>	Unknown Protein	3.0	506	526	AAUCUCCUUAUCAGUUCUCA	Traducción
<i>sly-newmiR56</i>	<i>Solyc04g009540.1.1</i>	50S ribosomal protein L10	2.0	86	107	UAAUCCCCAUUCCAGUUCUCA	Escisión
<i>sly-newmiR56</i>	<i>Solyc04g014650.2.1</i>	Receptor like kinase	3.0	514	533	GAGAAUCAGCUUGAAGGGGA	Traducción
<i>sly-newmiR56</i>	<i>Solyc05g005640.2.1</i>	PHD finger family protein / methyl-CpG binding domain-containing protein	3.0	3319	3338	AAUGCUUCUUCUGGUUCUCA	Escisión
<i>sly-newmiR56</i>	<i>Solyc05g052160.2.1</i>	Translocase of chloroplast 34	3.0	944	964	CAAUUUCCUUCUGGUUCUCC	Escisión
<i>sly-newmiR56</i>	<i>Solyc07g052220.1.1</i>	Unknown Protein	3.0	131	150	GACGAUUUGGUAGAAGGGGA	Traducción
<i>sly-newmiR56</i>	<i>Solyc10g007480.2.1</i>	Dtdp-glucose 4 6-dehydratase	3.0	1269	1288	AAUCCCUUUUAAGUUCUUG	Traducción
<i>sly-newmiR56</i>	<i>Solyc10g012470.1.1</i>	Unknown Protein	1.5	105	125	CAAUCCCCUUAUAGUUCUCA	Traducción

miRNA	Diana génica	Descripción funcional	Expectation	Posición hibridación en la diana		Secuencia alineada	Inhibición
				Inicio	Final		
<i>sly-newmiR56</i>	<i>Solyc11g007780.1.1</i>	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-like protein	3.0	743	763	UGACAAUCAGUUUGGACGGGA	Escisión
<i>sly-newmiR56</i>	<i>Solyc12g036370.1.1</i>	Unknown Protein	2.5	6	26	UAAUUUCCUUAAGUUCUCA	Traducción
<i>sly-newmiR61</i>	<i>Solyc03g115360.2.1</i>	40S ribosomal protein S19-like	2.5	691	712	UUGCUCUUUAUCUCUGAGUG	Escisión
<i>sly-newmiR62</i>	<i>Solyc00g005840.2.1</i>	Thioredoxin family protein	3.0	745	764	CCGUUUUCCAUUUCUACCG	Traducción
<i>sly-newmiR62</i>	<i>Solyc01g098810.2.1</i>	Heat shock protein-like protein	3.0	64	83	CCAUCUUUGGAUUUUUGCCG	Escisión
<i>sly-newmiR62</i>	<i>Solyc04g005830.2.1</i>	Single-stranded nucleic acid binding R3H domain protein	3.0	181	201	GCCCUCUUUCAGAUUCUGCCA	Traducción
<i>sly-newmiR62</i>	<i>Solyc04g054400.2.1</i>	Short-chain dehydrogenase/reductase	2.0	881	901	ACCAUCUCCAUUUUUAUCA	Escisión
<i>sly-newmiR62</i>	<i>Solyc04g055260.2.1</i>	Carboxyl methyltransferase	2.5	394	414	ACCAUUUUCGAUUGCUACCA	Escisión
<i>sly-newmiR62</i>	<i>Solyc05g026080.2.1</i>	Glycine-rich protein	2.5	2416	2435	CUGGUAUGUAUGUGGAUCA	Escisión
<i>sly-newmiR62</i>	<i>Solyc06g052070.2.1</i>	WD-40 repeat protein	2.5	1550	1570	ACUGGCUUCAGUUUCUACCA	Escisión
<i>sly-newmiR62</i>	<i>Solyc07g062140.2.1</i>	Alpha alpha-trehalose-phosphate synthase	2.5	37	56	CUAUCUUCAUUUUUAACCA	Escisión
<i>sly-newmiR62</i>	<i>Solyc09g059080.1.1</i>	Unknown Protein	3.0	77	97	AACAUGUUCAAUUUCUAUCG	Escisión
<i>sly-newmiR62</i>	<i>Solyc09g064440.2.1</i>	ABC transporter C family member 5	2.5	1174	1194	UUGGGCAUGCAUGUGAGAUCA	Escisión
<i>sly-newmiR62</i>	<i>Solyc12g088010.1.1</i>	Aberrant pollen transmission 1	3.0	3264	3283	UCUUUUUCAUUUCUGCUA	Escisión
<i>sly-newmiR63</i>	<i>Solyc03g115360.2.1</i>	40S ribosomal protein S19-like	2.5	689	712	UUUUGCUUCCUUUAUCUCUGAGUG	Escisión

Tabla S7. Términos GO de las dianas predichas para los miARNs noveles y conservados implicados en respuesta a estrés.

Estrés	miRNA	Diana	Término GO	Descripción diana
	<i>sly-miR171a</i>	<i>Solyc01g090950.2.1</i>	GO:0005634 GO:0051301 GO:0010492 GO:0006355 GO:0048768 GO:0006351 GO:0006355 GO:0043565 GO:0003700	GRAS family transcription factor
	<i>sly-miR171a</i>	<i>Solyc02g085600.1.1</i>	GO:0003700	GRAS family transcription factor
	<i>sly-miR171a</i>	<i>Solyc08g078800.1.1</i>	GO:0003700	GRAS family transcription factor
	<i>sly-miR171a</i>	<i>Solyc08g081890.2.1</i>	GO:0015431	Multidrug resistance protein ABC transporter family
	<i>sly-miR171a</i>	<i>Solyc09g011070.1.1</i>	GO:0016301	Receptor like protein kinase
	<i>sly-miR9471a-3p</i>	<i>Solyc03g111100.1.1</i>		AtIII18x5-like protein (Fragment)
	<i>sly-newmiR33-3p</i>	<i>Solyc01g091710.2.1</i>	GO:0005515	F-box family protein
	<i>sly-newmiR6-3p</i>	<i>Solyc02g082730.2.1</i>	GO:0017137	Rab gdp-dissociation inhibitor
	<i>sly-newmiR6-3p</i>	<i>Solyc03g097630.2.1</i>	GO:0016409	Palmitoyltransferase-like protein
	<i>sly-newmiR6-3p</i>	<i>Solyc07g065630.2.1</i>	GO:0004842	Ubiquitin-protein ligase 1
CPB	<i>sly-newmiR33-3p</i>	<i>Solyc01g105350.1.1</i>	GO:0015020	UDP-glucuronosyltransferase
	<i>sly-newmiR33-3p</i>	<i>Solyc01g110700.2.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR33-3p</i>	<i>Solyc02g084810.2.1</i>	GO:0016021	Unknown Protein
	<i>sly-newmiR33-3p</i>	<i>Solyc04g055190.2.1</i>	O:0008374 GO:0005515 GO:0008374 GO:0005515	Glycerol uptake protein 1
	<i>sly-newmiR33-3p</i>	<i>Solyc07g056590.2.1</i>	GO:0005773 GO:0003723 GO:0005515 GO:0003723 GO:0005515	Polyadenylate-binding protein 1
	<i>sly-newmiR36-3p</i>	<i>Solyc02g078640.2.1</i>	GO:0008017	Microtubule associated protein
	<i>sly-newmiR36-3p</i>	<i>Solyc06g084530.2.1</i>	GO:0005524	Katanin p60 ATPase-containing subunit A-like 1
	<i>sly-newmiR36-3p</i>	<i>Solyc06g084530.2.1</i>	GO:0005524	Katanin p60 ATPase-containing subunit A-like 1
	<i>sly-newmiR36-3p</i>	<i>Solyc08g080270.2.1</i>	GO:0046964	3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate transporter 1
	<i>sly-newmiR36-3p</i>	<i>Solyc11g039860.1.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR38-3p</i>	<i>Solyc01g094920.2.1</i>	GO:0016021	Receptor-like kinase

Estrés	miRNA	Diana	Término GO	Descripción diana
	<i>sly-newmiR38-3p</i>	<i>Solyc02g038650.1.1</i>	GO:0005488	Tetratricopeptide repeat protein 5
	<i>sly-newmiR38-3p</i>	<i>Solyc02g065110.2.1</i>	GO:0006468	Protein serine/threonine kinase
	<i>sly-newmiR38-3p</i>	<i>Solyc09g074620.2.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR38-3p</i>	<i>Solyc09g090730.1.1</i>	GO:0015398	Ammonium transporter
	<i>sly-newmiR38-3p</i>	<i>Solyc12g099740.1.1</i>	GO:0008270	Regulator of chromosome condensation domain-containing protein
	<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc01g090460.2.1</i>	GO:0043565	Homeobox-leucine zipper protein
	<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc01g108180.2.1</i>	GO:0034046	Pentatricopeptide repeat-containing protein
	<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc02g064960.2.1</i>	GO:0003677	AP2-like ethylene-responsive transcription factor
	<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc02g093150.2.1</i>	GO:0003677	AP2-like ethylene-responsive transcription factor
	<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc03g044300.2.1</i>	GO:0003677	AP2-like ethylene-responsive transcription factor
	<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc03g097410.1.1</i>	GO:0004428	Inositol-tetrakisphosphate 1-kinase 1
	<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc03g118870.2.1</i>	GO:0006355	Octicosapeptide/Phox/Bem1p domain-containing protein
	<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc04g049800.2.1</i>	GO:0003677	AP2-like ethylene-responsive transcription factor
	<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc06g075510.2.1</i>	GO:0003677	AP2-like ethylene-responsive transcription factor
<i>P. syringae</i>	<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc06g082880.1.1</i>	GO:0034046	Pentatricopeptide repeat-containing protein
	<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc07g063770.2.1</i>	GO:0019199	Serine/threonine kinase receptor
	<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc09g007260.2.1</i>	GO:0003677	AP2-like ethylene-responsive transcription factor
	<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc09g007700.2.1</i>	GO:0008270	RING finger protein B
	<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc10g006710.2.1</i>	GO:0019199	Serine/threonine kinase receptor
	<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc10g084340.1.1</i>	GO:0003677	AP2-like ethylene-responsive transcription factor
	<i>sly-miR172c</i>	<i>Solyc11g072600.1.1</i>	GO:0003677	AP2-like ethylene-responsive transcription factor
	<i>sly-miR166c-5p</i>	<i>Solyc05g005890.2.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-miR166c-5p</i>	<i>Solyc05g005900.2.1</i>	GO:0008152	GCN5-related protein
	<i>sly-miR167c-3p</i>	<i>Solyc02g086840.2</i>	GO:0009860	Kinesin light chain-like protein

Estrés	miRNA	Diana	Término GO	Descripción diana
	<i>sly-miR168a-5p</i>	<i>Solyc06g072300.2.1</i>	GO:0019899	ARGONAUTE 1
	<i>sly-miR169e-3p</i>	<i>Solyc00g016470.1.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-miR169e-3p</i>	<i>Solyc03g115000.2.1</i>	GO:0051513	AT1G74160 protein (Fragment)
	<i>sly-miR169e-3p</i>	<i>Solyc03g124000.1.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-miR169e-3p</i>	<i>Solyc04g055180.2.1</i>	GO:0006623	Oxidation resistance 1-like protein
	<i>sly-miR169e-3p</i>	<i>Solyc06g082560.1.1</i>	GO:0005524	ClpB chaperone
	<i>sly-miR169e-3p</i>	<i>Solyc11g050840.1.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-miR390a-5p</i>	<i>Solyc01g011040.2.1</i>	GO:0004675	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase
	<i>sly-miR390a-5p</i>	<i>Solyc01g058100.2.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-miR390a-5p</i>	<i>Solyc01g091230.2.1</i>	GO:0004675	Receptor like kinase
	<i>sly-miR390a-5p</i>	<i>Solyc01g100890.2.1</i>	GO:0016020	MtN21 nodulin protein-like
	<i>sly-miR390a-5p</i>	<i>Solyc04g005390.1.1</i>	GO:0004675	Receptor like kinase
	<i>sly-miR390a-5p</i>	<i>Solyc04g015600.2.1</i>	GO:0004675	Receptor like kinase
	<i>sly-miR390a-5p</i>	<i>Solyc04g079120.2.1</i>	GO:0003824	Protein phosphatase 2C
	<i>sly-miR390a-5p</i>	<i>Solyc06g036720.2.1</i>	GO:0005515 GO:0007165 GO:0005057	HLA-B associated transcript 3
	<i>sly-miR390a-5p</i>	<i>Solyc07g056410.2.1</i>	GO:0006468 GO:0005515	Receptor like kinase
	<i>sly-miR396-3p</i>	<i>Solyc01g010470.2.1</i>	GO:0016301 GO:0005975 GO:0008810 GO:0006032 GO:0004568 GO:0046688 GO:0005507 GO:0042597 GO:0006508 GO:0008233	Isoamylase N-terminal domain containing protein
	<i>sly-miR396-3p</i>	<i>Solyc05g013810.2.1</i>	GO:0005975	Glycosyl hydrolase family 5 protein/cellulase
	<i>sly-miR396-3p</i>	<i>Solyc05g017930.1.1</i>	GO:0008017	Potassium channel
	<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>Solyc01g111470.2.1</i>	GO:0005515	Pentatricopeptide repeat-containing protein
	<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>Solyc01g111880.2.1</i>	GO:0004713	tyrosine-protein kinase transforming protein Src

Estrés	miRNA	Diana	Término GO	Descripción diana
	<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>Solyc03g115200.2.1</i>	GO:0009408 GO:0052543 GO:0001872 GO:0004553 GO:0009505 GO:0046658	Glucan endo-1 3-beta-glucosidase 1
	<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>Solyc04g072030.1.1</i>	GO:0005525	Interferon-induced GTP-binding protein Mx
	<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>Solyc05g056320.2.1</i>	GO:0005737	CCCH zinc finger and SMR domain-containing protein
	<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>Solyc06g065390.2.1</i>	GO:0005840	50S ribosomal protein L21
	<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>Solyc07g015860.2.1</i>	GO:0042586	Peptide deformylase
	<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>Solyc08g083230.1.1</i>	GO:0005634	Growth-regulating factor 3
	<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>Solyc09g092340.2.1</i>	GO:0008408	3'&apos-5'&apos exonuclease domain protein
	<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>Solyc10g081260.1.1</i>	GO:0016020	Multidrug resistance protein mdtK
	<i>sly-miR482d-5p</i>	<i>Solyc11g069400.1.1</i>	GO:0045454 GO:0016853 GO:0005783	Protein disulfide isomerase L-2
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc02g088510.2.1</i>	GO:0008152	Saccharopine dehydrogenase
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc03g005630.2.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc03g117310.1.1</i>	GO:0043565 GO:0005634 GO:0005515 GO:0005515 GO:0043565 GO:0005634	Sterile alpha motif homology
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc04g079790.2.1</i>	GO:0005840 GO:0005840	30S ribosomal protein S9
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc05g015480.2.1</i>	GO:0003824 GO:0030170 GO:0008152	Cysteine desulfurase
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc05g041110.1.1</i>	GO:0006468	Calcium-dependent protein kinase-like
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc07g032740.2.1</i>	GO:0004069 GO:0004069	Aspartate aminotransferase
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc07g065620.2.1</i>	GO:0004540 GO:0004540	Poly(A)-specific ribonuclease PARN-like protein
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc08g016050.2.1</i>	GO:0042802	Dedicator of cytokinesis family protein
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc08g041740.1.1</i>	GO:0005739	Unknown Protein
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc12g009730.1.1</i>	GO:0016301	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc12g009740.1.1</i>	GO:0004675	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc12g009750.1.1</i>	GO:0016301	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc12g013680.1.1</i>	GO:0016301	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc12g095910.1.1</i>	GO:0004197 GO:0009451 GO:0090305 GO:0003723 GO:0004519 GO:0008270 GO:0043231	Vacuolar processing enzyme-3

Estrés	miRNA	Diana	Término GO	Descripción diana
	<i>sly-newmiR22-3p</i>	<i>Solyc01g088460.2.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR22-3p</i>	<i>Solyc01g101100.2.1</i>	GO:0006468	Receptor-like protein kinase
	<i>sly-newmiR22-3p</i>	<i>Solyc04g025390.1.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR22-3p</i>	<i>Solyc04g054170.2.1</i>	GO:0009627 GO:0010090 GO:0010150 GO:0048573 GO:0005634 GO:0016021 GO:0010182 GO:0042542 GO:0009644	CPR5 (Fragment)
	<i>sly-newmiR22-3p</i>	<i>Solyc08g068010.1.1</i>	GO:0046872 GO:0070676 GO:0055072	Zinc finger FYVE domain containing 26
	<i>sly-newmiR22-3p</i>	<i>Solyc08g068010.1.1</i>	GO:0046872 GO:0070676 GO:0055072 GO:0005515	Zinc finger FYVE domain containing 26
	<i>sly-newmiR22-3p</i>	<i>Solyc09g059620.2.1</i>	GO:0016757	SAM domain family protein
	<i>sly-newmiR22-3p</i>	<i>Solyc12g014540.1.1</i>	GO:0008270	Lysine-specific demethylase 5C
	<i>sly-newmiR22-3p</i>	<i>Solyc12g014570.1.1</i>	GO:0006071 GO:0006629	Glycerophosphoryl diester phosphodiesterase family protein
	<i>sly-newmiR22-3p</i>	<i>Solyc12g098960.1.1</i>	GO:0006468	Receptor-like protein kinase
	<i>sly-newmiR33-5p</i>	<i>Solyc01g091710.2.1</i>	GO:0005515	F-box family protein
	<i>sly-newmiR33-5p</i>	<i>Solyc01g105350.1.1</i>	GO:0015020	UDP-glucuronosyltransferase
	<i>sly-newmiR33-5p</i>	<i>Solyc01g110700.2.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR33-5p</i>	<i>Solyc01g111180.2.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR33-5p</i>	<i>Solyc02g084810.2.1</i>	GO:0016021	Unknown Protein
	<i>sly-newmiR33-5p</i>	<i>Solyc04g055190.2.1</i>	GO:0008374 GO:0005515 GO:0008374 GO:0005515	Glycerol uptake protein 1
	<i>sly-newmiR33-5p</i>	<i>Solyc07g056590.2.1</i>	GO:0005773 GO:0003723 GO:0005515 GO:0003723 GO:0005515	Polyadenylate-binding protein 1
	<i>sly-newmiR33-5p</i>	<i>Solyc09g009310.1.1</i>	GO:0005515	Unknown Protein
	<i>sly-newmiR33-5p</i>	<i>Solyc11g010310.1.1</i>	GO:0008026 GO:0004386 GO:0008270 GO:0005622 GO:0005524 GO:0003723 GO:0008026 GO:0004386 GO:0008270 GO:0005622 GO:0005524 GO:0003723 GO:0006355 GO:0003700 GO:0043565 GO:0005634	ATP dependent RNA helicase
	<i>sly-newmiR37-5p</i>	<i>Solyc04g081070.2.1</i>	GO:0005515	Heat shock protein DnaJ domain protein
	<i>sly-newmiR37-5p</i>	<i>Solyc05g010650.2.1</i>	GO:0005488 GO:0000151	U-box domain-containing protein

Estrés	miRNA	Diana	Término GO	Descripción diana
	<i>sly-newmiR37-5p</i>	<i>Solyc12g008750.1.1</i>	GO:0005634 GO:0003676 GO:0000166	Splicing factor U2AF subunit
	<i>sly-newmiR42-5p</i>	<i>Solyc02g037550.2.1</i>	GO:0009672	Auxin efflux carrier family protein
	<i>sly-newmiR42-5p</i>	<i>Solyc02g080630.2.1</i>	GO:0046872	Lactoylglutathione lyase
	<i>sly-newmiR42-5p</i>	<i>Solyc05g009270.2.1</i>	GO:0009922	Fatty acid elongase 3-ketoacyl-CoA synthase
	<i>sly-newmiR42-5p</i>	<i>Solyc06g053190.2.1</i>	GO:0005622	GTPase activating-like protein
	<i>sly-newmiR42-5p</i>	<i>Solyc07g020910.1.1</i>	GO:0006281 GO:0009556 GO:0007064	T24D18.4 (Fragment)
	<i>sly-newmiR42-5p</i>	<i>Solyc07g020910.1.1</i>	GO:0006281 GO:0009556 GO:0007064	T24D18.4 (Fragment)
	<i>sly-newmiR42-5p</i>	<i>Solyc07g020910.1.1</i>		T24D18.4 (Fragment)
	<i>sly-newmiR42-5p</i>	<i>Solyc10g009390.2.1</i>	GO:0019825	Cytochrome P450
	<i>sly-newmiR42-5p</i>	<i>Solyc10g024320.1.1</i>	GO:0008236	Lon protease homolog
	<i>sly-newmiR42-5p</i>	<i>Solyc10g081530.1.1</i>	GO:0033179	V-type proton ATPase subunit d 1
	<i>sly-newmiR42-5p</i>	<i>Solyc12g042260.1.1</i>	GO:0080054	Low affinity nitrate transporter
	<i>sly-newmiR51-3p</i>	<i>Solyc02g037550.2.1</i>	GO:0009672	Auxin efflux carrier family protein
	<i>sly-newmiR51-3p</i>	<i>Solyc02g080630.2.1</i>	GO:0046872	Lactoylglutathione lyase
	<i>sly-newmiR51-3p</i>	<i>Solyc03g116460.2.1</i>	GO:0036361 GO:0006520	Aspartate racemase
	<i>sly-newmiR51-3p</i>	<i>Solyc03g116460.2.1</i>	GO:0036361 GO:0006520	Aspartate racemase
	<i>sly-newmiR51-3p</i>	<i>Solyc05g009270.2.1</i>	GO:0009922	Fatty acid elongase 3-ketoacyl-CoA synthase
	<i>sly-newmiR51-3p</i>	<i>Solyc06g043020.1.1</i>		ORF137
	<i>sly-newmiR51-3p</i>	<i>Solyc06g053190.2.1</i>	GO:0005622	GTPase activating-like protein
	<i>sly-newmiR51-3p</i>	<i>Solyc07g020910.1.1</i>		T24D18.4 (Fragment)
	<i>sly-newmiR51-3p</i>	<i>Solyc08g082970.2.1</i>	GO:0005515 GO:0007165 GO:0005057 GO:0055114 GO:0016209 GO:0016491 GO:0045454 GO:0009055 GO:0015035 GO:0048511 GO:0016853	Fas-associated factor 1-like protein
	<i>sly-newmiR51-3p</i>	<i>Solyc10g009390.2.1</i>	GO:0019825	Cytochrome P450
	<i>sly-newmiR51-3p</i>	<i>Solyc10g024320.1.1</i>	GO:0008236	Lon protease homolog

Estrés	miRNA	Diana	Término GO	Descripción diana
	<i>sly-newmiR51-3p</i>	<i>Solyc10g081530.1.1</i>	GO:0033179	V-type proton ATPase subunit d 1
	<i>sly-newmiR51-3p</i>	<i>Solyc12g042260.1.1</i>	GO:0080054	Low affinity nitrate transporter
	<i>sly-newmiR62-5p</i>	<i>Solyc00g005840.2.1</i>	GO:0016671	Thioredoxin family protein
	<i>sly-newmiR62-5p</i>	<i>Solyc01g098810.2.1</i>	GO:0005730 GO:0042542 GO:0009644	Heat shock protein-like protein
	<i>sly-newmiR62-5p</i>	<i>Solyc04g005830.2.1</i>	GO:0017111	Single-stranded nucleic acid binding R3H domain protein
	<i>sly-newmiR62-5p</i>	<i>Solyc04g054400.2.1</i>	GO:0000140	Short-chain dehydrogenase/reductase
	<i>sly-newmiR62-5p</i>	<i>Solyc04g055260.2.1</i>	GO:0008757	Carboxyl methyltransferase
	<i>sly-newmiR62-5p</i>	<i>Solyc05g026080.2.1</i>	GO:0003690	Glycine-rich protein
	<i>sly-newmiR62-5p</i>	<i>Solyc05g026080.2.1</i>	GO:0003690	Glycine-rich protein
	<i>sly-newmiR62-5p</i>	<i>Solyc06g052070.2.1</i>	GO:0004871	WD-40 repeat protein
	<i>sly-newmiR62-5p</i>	<i>Solyc07g062140.2.1</i>	GO:0003825	Alpha alpha-trehalose-phosphate synthase
	<i>sly-newmiR62-5p</i>	<i>Solyc09g059080.1.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR62-5p</i>	<i>Solyc09g064440.2.1</i>	GO:0015431	ABC transporter C family member 5
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc02g088510.2.1</i>	GO:0008152	Saccharopine dehydrogenase
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc03g005630.2.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-miR160a-3p</i>	<i>Solyc02g043860.2.1</i>	GO:0042803	Insulin degrading enzyme
	<i>sly-miR160a-3p</i>	<i>Solyc02g087520.2.1</i>	GO:0005515	Thaumatococcus-like protein
	<i>sly-miR160a-3p</i>	<i>Solyc05g012080.2.1</i>	GO:0019899	Cytochrome b5
<i>B. cinerea</i>	<i>sly-miR167c-3p</i>	<i>Solyc02g086840.2</i>	GO:0009860	Kinesin light chain-like protein
	<i>sly-newmiR35-5p</i>	<i>Solyc00g008110.1.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR35-5p</i>	<i>Solyc01g011100.2.1</i>	GO:0004012 GO:0015914 GO:0045332 GO:0048194 GO:0000166 GO:0000287 GO:0004012 GO:0005524 GO:0016787 GO:0046872 GO:0000139 GO:0005802 GO:0005886 GO:0016021	Phospholipid-transporting ATPase

Estrés	miRNA	Diana	Término GO	Descripción diana
	<i>sly-newmiR35-5p</i>	<i>Solyc01g034030.1.1</i>	GO:0008270 GO:0003676 GO:0008270 GO:0003676	Unknown Protein
	<i>sly-newmiR35-5p</i>	<i>Solyc01g094680.2.1</i>		Signal peptide peptidase
	<i>sly-newmiR35-5p</i>	<i>Solyc01g110700.2.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR35-5p</i>	<i>Solyc01g111180.2.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR35-5p</i>	<i>Solyc02g049090.1.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR35-5p</i>	<i>Solyc03g083170.2.1</i>	GO:0005515	At5g24280-like protein
	<i>sly-newmiR35-5p</i>	<i>Solyc03g098150.2.1</i>	GO:0006468 GO:0005524 GO:0016772 GO:0006468 GO:0004674 GO:0016301	Kinase family protein
	<i>sly-newmiR35-5p</i>	<i>Solyc04g064640.2.1</i>	GO:0016021 GO:0016021 GO:0006810 GO:0008643 GO:0034219 GO:0051119 GO:0005886	RAG1-activating protein 1 homolog
	<i>sly-newmiR35-5p</i>	<i>Solyc04g080930.2.1</i>	GO:0008022 GO:0008270 GO:0046872 GO:0016558 GO:0007031 GO:0006635 GO:0010381 GO:0009793 GO:0009853 GO:0006513 GO:0005779 GO:0005829 GO:0004842 GO:0016567 GO:0046872 GO:0005515	Peroxisome biogenesis factor 10
	<i>sly-newmiR35-5p</i>	<i>Solyc06g062800.2.1</i>	GO:0008026 GO:0005524 GO:0005525 GO:0003677 GO:0004386 GO:0008026 GO:0016787 GO:0000166 GO:0006413 GO:0010468 GO:0010501 GO:0004004 GO:0045226 GO:0003924 GO:0006260 GO:0003887 GO:0009360 GO:0006281 GO:0008094	ATP-dependent RNA helicase eIF4A
	<i>sly-newmiR35-5p</i>	<i>Solyc07g005960.2.1</i>	GO:0042802 GO:0004185 GO:0004185 GO:0006508 GO:0051603 GO:0008233 GO:0016787 GO:0005773	Serine carboxypeptidase K10B2.2
	<i>sly-newmiR35-5p</i>	<i>Solyc09g020020.1.1</i>	GO:0006508 GO:0008234	Ulp1 protease family C-terminal catalytic domain containing protein
Sequía	<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc01g005720.2.1</i>	GO:0004675	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase
	<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc01g005730.2.1</i>	GO:0004675	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase
	<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc01g005760.2.1</i>	GO:0016301	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase
	<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc01g005870.1.1</i>	GO:0016301	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase
	<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc01g006550.2.1</i>	GO:0004675	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase

Estrés	miRNA	Diana	Término GO	Descripción diana
	<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc01g008390.1.1</i>	GO:0016301	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase
	<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc01g008410.1.1</i>	GO:0004675	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase
	<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc01g009690.1.1</i>	GO:0016301	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase
	<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc01g009700.1.1</i>	GO:0004675	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase
	<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc01g016370.1.1</i>	GO:0004675	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase
	<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc02g083350.2.1</i>	GO:0031625	DNA-directed RNA polymerase
	<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc02g087840.2.1</i>	GO:0043565	Homeobox-leucine zipper-like protein
	<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc03g113040.2.1</i>	GO:0042626	ATP-binding cassette (ABC) transporter 17
	<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc04g074130.2.1</i>	GO:0030233	Mitochondrial carrier protein
	<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc07g065320.2.1</i>	GO:0015431	Multidrug resistance protein ABC transporter family
	<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc09g018230.1.1</i>	GO:0005488 GO:0000151	U-box domain-containing protein
	<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc12g040740.1.1</i>	GO:0004675	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase
	<i>sly-miR6022</i>	<i>Solyc12g100020.1.1</i>	GO:0016301	LRR receptor-like serine/threonine protein kinase
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc01g016380.2.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc01g016390.2.1</i>	GO:0016021 GO:0010411 GO:0016413 GO:0005794 GO:0050826	Unknown Protein
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc01g091210.2.1</i>	GO:0006388	tRNA 2'-phosphotransferase
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc01g100050.2.1</i>	GO:0006355 GO:0005515 GO:0045490 GO:0047487	WD-40 repeat protein
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc02g062450.1.1</i>	GO:0008270	Zinc finger, GRF-type
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc02g068240.2.1</i>	GO:0004144	Diacylglycerol acyltransferase
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc03g097950.2.1</i>	GO:0005840	50S ribosomal protein L29
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc03g118490.2.1</i>	GO:0005634 GO:0008270 GO:0016021 GO:0004089	Cell division cycle-associated protein 7
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc03g119580.1.1</i>	GO:0006355 GO:0003677	Ethylene-responsive transcription factor 4
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc03g122220.1.1</i>	GO:0008270	Zinc finger, GRF-type
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc04g050930.2.1</i>	GO:0046422	Violaxanthin de-epoxidase

Estrés	miRNA	Diana	Término GO	Descripción diana
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc04g081360.2.1</i>	GO:0005515 GO:0016429	tRNA (Adenine-N(1)-)-methyltransferase non-catalytic subunit trm6
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc05g054740.2.1</i>	GO:0015381	High affinity sulfate transporter 2
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc06g007200.2.1</i>	GO:0003700	Methionine aminopeptidase
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc06g007200.2.1</i>	GO:0003700	Methionine aminopeptidase
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc06g009670.2.1</i>	GO:0031072 GO:0005488	DNAJ heat shock N-terminal domain-containing protein
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc06g043340.1.1</i>	GO:0008649 GO:0016740 GO:0032259 GO:0001510 GO:0031167	Unknown Protein
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc07g005400.2.1</i>	GO:0030528	Transcription factor
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc07g005890.2.1</i>	GO:0008026 GO:0005524	ATP-dependent RNA helicase
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc07g048050.1.1</i>	GO:0055114 GO:0016021	Dopamine beta-monoxygenase
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc08g008490.2.1</i>	GO:0004871	WD-40 repeat protein
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc08g008490.2.1</i>	GO:0004871	WD-40 repeat protein
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc08g079830.2.1</i>	GO:0016532	Cu/Zn-superoxide dismutase copper chaperone
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc09g074080.1.1</i>	GO:0016758	Glycosyltransferase family GT8 protein
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc09g074080.1.1</i>	GO:0016758	Glycosyltransferase family GT8 protein
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc10g007170.1.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc11g010250.1.1</i>	GO:0010224	Avr9/Cf-9 rapidly elicited protein 75
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc11g056640.1.1</i>	GO:0009723	Unknown Protein
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc12g010130.1.1</i>	GO:0007165	CBL-interacting protein kinase 7
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc12g038470.1.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR3-3p</i>	<i>Solyc12g096940.1.1</i>	GO:0009416 GO:0009909 GO:0005634 GO:0005515	CCT motif family protein
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc02g088510.2.1</i>	GO:0008152	Saccharopine dehydrogenase
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc03g005630.2.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc03g117310.1.1</i>	GO:0043565 GO:0005634 GO:0005515 GO:0005515 GO:0043565 GO:0005634	Sterile alpha motif homology

Estrés	miRNA	Diana	Término GO	Descripción diana
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc04g079790.2.1</i>	GO:0005840 GO:0005840	30S ribosomal protein S9
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc05g015480.2.1</i>	GO:0003824 GO:0030170 GO:0008152	Cysteine desulfurase
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc05g041110.1.1</i>	GO:0006468	Calcium-dependent protein kinase-like
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc07g032740.2.1</i>	GO:0004069 GO:0004069	Aspartate aminotransferase
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc07g065620.2.1</i>	GO:0004540 GO:0004540	Poly(A)-specific ribonuclease PARN-like protein
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc08g016050.2.1</i>	GO:0042802	Dedicator of cytokinesis family protein
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc08g041740.1.1</i>	GO:0005739	Unknown Protein
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc12g009730.1.1</i>	GO:0016301	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc12g009740.1.1</i>	GO:0004675	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc12g009750.1.1</i>	GO:0016301	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc12g013680.1.1</i>	GO:0016301	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase
	<i>sly-newmiR8-3p</i>	<i>Solyc12g095910.1.1</i>	GO:0004197 GO:0009451 GO:0090305 GO:0003723 GO:0004519 GO:0008270 GO:0043231	Vacuolar processing enzyme-3
	<i>sly-newmiR26-3p</i>	<i>Solyc06g051500.2.1</i>	GO:0006468	Unknown Protein
	<i>sly-newmiR26-3p</i>	<i>Solyc06g051510.2.1</i>	GO:0006468	Kinase family protein
	<i>sly-miR408b-3p</i>	<i>Solyc01g090120.2.1</i>	GO:0009055	Blue copper protein
	<i>sly-miR408b-3p</i>	<i>Solyc01g104400.2.1</i>	GO:0009055	Blue copper protein
	<i>sly-miR408b-3p</i>	<i>Solyc04g074740.2.1</i>	GO:0009055	Blue copper-like protein
	<i>sly-miR408b-3p</i>	<i>Solyc05g054910.2.1</i>	GO:0005634 GO:0006406 GO:0070390	SAC3/GANP/Nin1/mts3/eIF-3 p25
Temperatura	<i>sly-miR408b-3p</i>	<i>Solyc07g043390.2.1</i>	GO:0016759	Cellulose synthase
	<i>sly-newmiR4-3p</i>	<i>Solyc03g026120.2.1</i>	GO:0032259 GO:0008757 GO:0032259 GO:0008168	Dehydration-responsive protein
	<i>sly-newmiR4-3p</i>	<i>Solyc06g008980.2.1</i>	GO:0042127 GO:0000226	Unknown Protein
	<i>sly-newmiR4-3p</i>	<i>Solyc08g060970.2.1</i>	GO:0004650 GO:0003824	Polygalacturonase
	<i>sly-newmiR6-3p</i>	<i>Solyc02g082730.2.1</i>	GO:0017137	Rab gdp-dissociation inhibitor

Estrés	miRNA	Diana	Término GO	Descripción diana
	<i>sly-newmiR6-3p</i>	<i>Solyc03g097630.2.1</i>	GO:0016409	Palmitoyltransferase-like protein
	<i>sly-newmiR6-3p</i>	<i>Solyc07g065630.2.1</i>	GO:0004842	Ubiquitin-protein ligase 1
	<i>sly-newmiR25-3p</i>	<i>Solyc03g115360.2.1</i>	GO:0005840	40S ribosomal protein S19-like
	<i>sly-newmiR1</i>	<i>Solyc03g026240.2</i>	GO:0003723 GO:0000398 GO:0008380	Arginine/serine-rich splicing factor RSP31
	<i>sly-newmiR21-3p</i>	<i>Solyc05g009270.2.1</i>	GO:0009922	Fatty acid elongase 3-ketoacyl-CoA synthase
	<i>sly-newmiR21-3p</i>	<i>Solyc06g043020.1.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR21-3p</i>	<i>Solyc06g053190.2.1</i>	GO:0005622	GTPase activating-like protein
	<i>sly-newmiR21-3p</i>	<i>Solyc07g020910.1.1</i>	GO:0006281 GO:0009556 GO:0007064	T24D18.4 (Fragment)
	<i>sly-newmiR21-3p</i>	<i>Solyc07g020910.1.1</i>	GO:0006281 GO:0009556 GO:0007064	T24D18.4 (Fragment)
	<i>sly-newmiR21-3p</i>	<i>Solyc08g082970.2.1</i>	GO:0005515 GO:0007165 GO:0005057 GO:0055114 GO:0016209 GO:0016491 GO:0045454 GO:0009055 GO:0015035 GO:0048511 GO:0016853	Fas-associated factor 1-like protein
	<i>sly-newmiR21-3p</i>	<i>Solyc10g009390.2.1</i>	GO:0019825	Cytochrome P450
	<i>sly-newmiR21-3p</i>	<i>Solyc10g024320.1.1</i>	GO:0008236	Lon protease homolog
Ácido hexanoico	<i>sly-newmiR21-3p</i>	<i>Solyc10g081530.1.1</i>	GO:0033179	V-type proton ATPase subunit d 1
	<i>sly-newmiR21-3p</i>	<i>Solyc12g042260.1.1</i>	GO:0080054	Low affinity nitrate transporter
	<i>sly-newmiR26-3p</i>	<i>Solyc06g051500.2.1</i>	GO:0006468	Unknown Protein
	<i>sly-newmiR26-3p</i>	<i>Solyc06g051510.2.1</i>	GO:0006468	Kinase family protein
	<i>sly-newmiR31-5p</i>	<i>Solyc06g065260.2.1</i>	GO:0004675	Receptor like kinase
	<i>sly-newmiR31-5p</i>	<i>Solyc06g065260.2.1</i>	GO:0004675	Receptor like kinase
	<i>sly-newmiR31-5p</i>	<i>Solyc07g056470.2.1</i>	GO:0043295	Glutathione S-transferase-like protein
	<i>sly-newmiR31-5p</i>	<i>Solyc07g056470.2.1</i>	GO:0043295	Glutathione S-transferase-like protein
	<i>sly-newmiR31-5p</i>	<i>Solyc10g039340.1.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR33-5p</i>	<i>Solyc01g091710.2.1</i>	GO:0005515	F-box family protein
	<i>sly-newmiR33-5p</i>	<i>Solyc01g105350.1.1</i>	GO:0015020	UDP-glucuronosyltransferase
	<i>sly-newmiR33-5p</i>	<i>Solyc01g110700.2.1</i>		Unknown Protein

Estrés	miRNA	Diana	Término GO	Descripción diana
	<i>sly-newmiR33-5p</i>	<i>Solyc01g111180.2.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR33-5p</i>	<i>Solyc02g084810.2.1</i>	GO:0016021	Unknown Protein
	<i>sly-newmiR33-5p</i>	<i>Solyc04g055190.2.1</i>	O:0008374 GO:0005515 GO:0008374 GO:0005515	Glycerol uptake protein 1
	<i>sly-newmiR33-5p</i>	<i>Solyc07g056590.2.1</i>	GO:0005773 GO:0003723 GO:0005515 GO:0003723 GO:0005515	Polyadenylate-binding protein 1
	<i>sly-newmiR33-5p</i>	<i>Solyc09g009310.1.1</i>	GO:0005515	Unknown Protein
	<i>sly-newmiR33-5p</i>	<i>Solyc11g010310.1.1</i>	GO:0008026 GO:0004386 GO:0008270 GO:0005622 GO:0005524 GO:0003723 GO:0008026 GO:0004386 GO:0008270 GO:0005622 GO:0005524 GO:0003723 GO:0006355 GO:0003700 GO:0043565 GO:0005634	ATP dependent RNA helicase
	<i>sly-newmiR34-5p</i>	<i>Solyc01g111180.2.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR34-5p</i>	<i>Solyc04g078590.2.1</i>	GO:0004674	Receptor like kinase
	<i>sly-newmiR34-5p</i>	<i>Solyc04g078590.2.1</i>	GO:0004674	Receptor like kinase
	<i>sly-newmiR34-5p</i>	<i>Solyc05g045940.1.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR34-5p</i>	<i>Solyc11g065810.1.1</i>		Resistance protein fragment
	<i>sly-newmiR34-5p</i>	<i>Solyc11g072180.1.1</i>	GO:0006397	Ngg1 interacting factor 3 like 1 binding protein 1 isoform 1
	<i>sly-newmiR44-5p</i>	<i>Solyc01g067530.2.1</i>	GO:0005525	GTPase obg
	<i>sly-newmiR44-5p</i>	<i>Solyc01g105580.1.1</i>	GO:0016740	Hydroxycinnamoyl CoA quinate transferase 2
	<i>sly-newmiR44-5p</i>	<i>Solyc02g083280.2.1</i>	GO:0004792	Thiosulfate sulfurtransferase/rhodanese-like domain- containing protein 1
	<i>sly-newmiR44-5p</i>	<i>Solyc03g065330.1.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR44-5p</i>	<i>Solyc04g009540.1.1</i>	GO:0005515	50S ribosomal protein L10
	<i>sly-newmiR44-5p</i>	<i>Solyc04g009540.1.1</i>	GO:0005515	50S ribosomal protein L10
	<i>sly-newmiR44-5p</i>	<i>Solyc04g014650.2.1</i>	GO:0004675	Receptor like kinase
	<i>sly-newmiR44-5p</i>	<i>Solyc05g005640.2.1</i>	GO:0008327	PHD finger family protein / methyl-CpG binding domain-containing protein

Estrés	miRNA	Diana	Término GO	Descripción diana
	<i>sly-newmiR44-5p</i>	<i>Solyc05g052160.2.1</i>	GO:0005525	Translocase of chloroplast 34
	<i>sly-newmiR44-5p</i>	<i>Solyc07g052220.1.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR44-5p</i>	<i>Solyc10g007480.2.1</i>	GO:0010280	Dtdp-glucose 4 6-dehydratase
	<i>sly-newmiR44-5p</i>	<i>Solyc11g007780.1.1</i>	GO:0000166	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-like protein
	<i>sly-newmiR44-5p</i>	<i>Solyc12g036370.1.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR45-3p</i>	<i>Solyc06g084530.2.1</i>	GO:0006508 GO:0017111 GO:0005524	Katanin p60 ATPase-containing subunit A-like 1
	<i>sly-newmiR45-3p</i>	<i>Solyc11g039860.1.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR56-5p</i>	<i>Solyc01g067530.2.1</i>	GO:0003924 GO:0000287	GTPase obg
	<i>sly-newmiR56-5p</i>	<i>Solyc01g105580.1.1</i>	GO:0034046	Hydroxycinnamoyl CoA quinate transferase 2
	<i>sly-newmiR56-5p</i>	<i>Solyc02g083280.2.1</i>	GO:0004792	Thiosulfate sulfurtransferase/rhodanese-like domain-containing protein 1
	<i>sly-newmiR56-5p</i>	<i>Solyc03g065330.1.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR56-5p</i>	<i>Solyc04g009540.1.1</i>	GO:0005515	50S ribosomal protein L10
	<i>sly-newmiR56-5p</i>	<i>Solyc04g014650.2.1</i>		Receptor like kinase
	<i>sly-newmiR56-5p</i>	<i>Solyc05g005640.2.1</i>	GO:0004402 GO:0042393 GO:0046872 GO:0008327 GO:0061630	PHD finger family protein / methyl-CpG binding domain-containing protein
	<i>sly-newmiR56-5p</i>	<i>Solyc05g005640.2.1</i>	GO:0004402 GO:0042393 GO:0046872 GO:0008327 GO:0061630	PHD finger family protein / methyl-CpG binding domain-containing protein
	<i>sly-newmiR56-5p</i>	<i>Solyc05g052160.2.1</i>	GO:0003924 GO:0046872 GO:0015450	Translocase of chloroplast 34
	<i>sly-newmiR56-5p</i>	<i>Solyc07g052220.1.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR56-5p</i>	<i>Solyc10g007480.2.1</i>	GO:0008460	Dtdp-glucose 4 6-dehydratase

Estrés	miRNA	Diana	Término GO	Descripción diana
	<i>sly-newmiR56-5p</i>	<i>Solyc10g012470.1.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR56-5p</i>	<i>Solyc11g007780.1.1</i>	GO:0000166	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-like protein
	<i>sly-newmiR56-5p</i>	<i>Solyc12g036370.1.1</i>		Unknown Protein
	<i>sly-newmiR61-5p</i>	<i>Solyc03g115360.2.1</i>	GO:0005840	40S ribosomal protein S19-like
	<i>sly-newmiR63-5p</i>	<i>Solyc03g115360.2.1</i>	GO:0005840	40S ribosomal protein S19-like

Material suplementario

Capítulo 3

CLUSTAL O(1.2.4) multiple sequence alignment

```

scaffold:TGACv1:TGACv1_scaffold_114891_2AS:8990:9716:-1
SL3.0ch05:762601-763800      TTTGCAATGCATTTTGGAAATFAAATAAAGCACT-----CCTGACA
---AGGAAGAATTTTTAAATAGTTAAGAATCTTATTAATAAGAAAGGTAATATAAAA
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

scaffold:TGACv1:TGACv1_scaffold_114891_2AS:8990:9716:-1
SL3.0ch05:762601-763800      TCAGATTCGCATGAAACGAATATACCCGAGTAAATTTACCAGAAAGATCAATAAACTG
AAAGAGTTTCAACAAAACCTTAGATAATCTTAATTA-TGAAAAAAATCTCAATAATCAC
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

scaffold:TGACv1:TGACv1_scaffold_114891_2AS:8990:9716:-1
SL3.0ch05:762601-763800      ATGCAATACAT-----TTATCCTCCGA
TTAATATGAATTAGTGAAGTAAACAGAATTAACAGATAATTTTGAAAAATATCTTTGG
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

scaffold:TGACv1:TGACv1_scaffold_114891_2AS:8990:9716:-1
SL3.0ch05:762601-763800      C---AGACTCGGTGCAACAACAATCTTTAGG-----TTATCCTCCGA
CACAGGATCAATTTATCAATTAATTTTATTTAGACACTTAAATATATTTATTTAAATTA
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

scaffold:TGACv1:TGACv1_scaffold_114891_2AS:8990:9716:-1
SL3.0ch05:762601-763800      AATAATATACACGTGATAAAGTCATATCAGTTATTTCAATTTAAATTTTGAAACATT

scaffold:TGACv1:TGACv1_scaffold_114891_2AS:8990:9716:-1
SL3.0ch05:762601-763800      GATGCTTATGAGTTATGATATGTTCAATACATATTTATAAGATTAACTTCATCTATT

scaffold:TGACv1:TGACv1_scaffold_114891_2AS:8990:9716:-1
SL3.0ch05:762601-763800      ATTACCTTAATTTAATATACGAATTAATCTCAATAAATGTAAAAGTTAAAACCTCTTT

scaffold:TGACv1:TGACv1_scaffold_114891_2AS:8990:9716:-1
SL3.0ch05:762601-763800      ---CCGGCTTGGATGGACTGTAA-----TGTAATATAAT
ATTAAGCCTATCTATGTACCAAGCCTTATTTAATGATTTTGTTAGGGATAAGATAAT
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

scaffold:TGACv1:TGACv1_scaffold_114891_2AS:8990:9716:-1
SL3.0ch05:762601-763800      ACAGTTTACAGTGTATCCGGCACAAAACGATACGAACGTGCA---GGGGCTGTATA
GGAATTTCTGGGG-TTATCTTAAACTATAATGCAAAAGTCAATAATACAAATGCTCTA
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

scaffold:TGACv1:TGACv1_scaffold_114891_2AS:8990:9716:-1
SL3.0ch05:762601-763800      TTTTACATGTGTATCCAAA---GGAACACGATAATCCAAGCGCAGCCTTAGTGACAT
TGAAGATTTCTCTTAAAGTACAAATATTTTATTAATTAACCTTATCTTTCTTTGCT
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

scaffold:TGACv1:TGACv1_scaffold_114891_2AS:8990:9716:-1
SL3.0ch05:762601-763800      TATAACTCTCCTCCGTCAGAAATACTTCTCTTATAAATGGATAAAATGG---ATGTGT
TTCACCTCCTCCTCCGTCAGAAATACTTCTCTATGTCACCGCTTATTAAGTCAATATA
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

scaffold:TGACv1:TGACv1_scaffold_114891_2AS:8990:9716:-1
SL3.0ch05:762601-763800      CTATAATT-----TTAAAGATAAATAGATACATAAATTTGATATTTTAAACAAAAAATAGAT
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

scaffold:TGACv1:TGACv1_scaffold_114891_2AS:8990:9716:-1
SL3.0ch05:762601-763800      -----AAAATAAGTCTAGATACACCGATTTCTAGGACAAGTATTTCCGGA
ATTCTAAAACATATGAAAAGTACTATAAATACAAATTTTTCATAGTAAATATAATGA
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

scaffold:TGACv1:TGACv1_scaffold_114891_2AS:8990:9716:-1
SL3.0ch05:762601-763800      -CAGAGCATCTGTCATG---CTGCACGGTGGAGATTATTCAGAATCTGAGTTGACTGG
AAAATGCATCTTAAATATTAATCAAAAGTTTATTTTAAAC-----TTTAAATAA
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

scaffold:TGACv1:TGACv1_scaffold_114891_2AS:8990:9716:-1
SL3.0ch05:762601-763800      ACAGCCTGAGAAGGGGTGTCAGGGCG-----CCTGTGCC--
AAAACATGAAGAGTAATAATTATGCAATTGATTACATATATTTAGAGATTTTCTCG
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

scaffold:TGACv1:TGACv1_scaffold_114891_2AS:8990:9716:-1
SL3.0ch05:762601-763800      -----GCACCTCCTCCTTATGTCGAACCTTACCAATCGTACCCACATGTTGG-----
AGCTATTGCGCTAAAAGGATGACCAACCTCTCTACTCATTAACAAGTTGTGTAATTA
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

scaffold:TGACv1:TGACv1_scaffold_114891_2AS:8990:9716:-1
SL3.0ch05:762601-763800      -----GCTGCTCAACGGAGATGAATGTTATGGAGAGTCC-----AGTTTCA
ATGACATTATATATCACACAATAATTAATATAAAGTATTACTACTATATATCATTA
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

scaffold:TGACv1:TGACv1_scaffold_114891_2AS:8990:9716:-1
SL3.0ch05:762601-763800      CATCTAATGTGGTAGATTCTGTATCTTCGACATCTGAG-----GATTTCA
TAGATAATGAGATTTTCTTACTAATCAAAAGGTTGAGTTTAAATTTAATCAGAAGAT
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

scaffold:TGACv1:TGACv1_scaffold_114891_2AS:8990:9716:-1
SL3.0ch05:762601-763800      ---GCCCTTGACAAGATAAGAAGTAGAAATATGATCTTCTTTAGTCGTACAGAACATGAA
TCGAAGTTTATTAATAATTTATTTAAATAGGAATTTTATTTTAAATAAAATTTTA
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

scaffold:TGACv1:TGACv1_scaffold_114891_2AS:8990:9716:-1
SL3.0ch05:762601-763800      TAACGT-----TATTG----CGAAATAAACATG-----ACAGGC
TACCATACAACCTTAAATTAATGAATTAGTAAATTTGAAATGAAATAAATAAAAGGA
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

scaffold:TGACv1:TGACv1_scaffold_114891_2AS:8990:9716:-1
SL3.0ch05:762601-763800      AACAAATATG---
AAGAACACCAA
* * * *
  
```

Figura S1. Alineamiento de la secuencia genómica de trigo y tomate donde se encuentra el miARN *miR1127-3p*. En azul se indica la secuencia de este miARN.