

**Table S5. Estimates of proportions of different classes of miRNA genes under positive selection.** Both canonical miRNAs and mirtrons from different age groups were classified into two subgroups according to their expression levels: low ( $\leq 200$  RPM) and high ( $>200$  PRM). The number of genes in each category is given in the parentheses. D, divergence between *D. melanogaster* and *D. simulans*; P, polymorphism in populations of *D. melanogaster* (DPGP); DAF, derived allele frequency;  $\alpha$ , the fraction of adaptive fixations; b, the fraction of new mutants that are weakly deleterious; d, the fraction of new mutants that are strongly deleterious; f, the expected number of neutral segregating sites.

Site type		Site number	D	P (DAF>5%)	P (DAF<5%)	$\alpha$ (%)	b (%)	d (%)	f (%)
4-fold degenerate sites		3,495,672	378,361	83,996	84,983				
canonical miRNAs									
0-4 Myrs	low (60)	5,692	271	48	137	-15.3	15.4	33.9	50.7
	high (12)	1,118	86	4	4	79.1	0.0	6.1	14.8
4-30 Myrs	low (2)	192	8	1	3	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)
	high (10)	944	110	3	6	84.7	3.2	-4.4	16.5
30-60 Myrs	low (3)	287	3	1	0	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)
	high (9)	800	35	12	7	-12.2	-3.6	82.2	10.8
60-250 Myrs	low (3)	190	4	3	4	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)
	high (34)	2,931	114	14	23	36.0	3.1	37.9	23.0
>250 Myrs	low (0)	0	0	0	0	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)
	high (71)	6,355	72	18	42	-49.8	3.8	80.5	15.7
mirtrons									
0-4 Myrs	low (21)	1,372	105	13	24	32.6	8.1	11.6	47.7
	high (3)	355	11	9	5	-199.3	-21.2	-4.5	125.7
4-30 Myrs	low (3)	176	2	1	6	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)
	high (2)	116	2	1	1	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)
30-60 Myrs	low (1)	71	2	0	1	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)
	high (1)	68	0	2	1	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)
60-250 Myrs	low (0)	0	0	0	0	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)
	high (3)	191	0	3	4	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)
>250 Myrs	low (0)	0	0	0	0	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)
	high (0)	0	0	0	0	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)	(n. a.)