

EVOLUÇÃO DO RNA TRANSPORTADOR DE LEUCINA ENTRE ESPÉCIES DO GÊNERO *Linepithema* (FORMICIDAE: DOLICHODERINAE).

Cíntia Martins, Odair Correa Bueno, Vanderlei Geraldo Martins
- Genética – Ciência Biológicas – Departamento de Biologia - CEIS (Centro de Estudos de Insetos Sociais), UNESP Campus Rio Claro, SP.

Linepithema humile Mayr é nativa da Argentina e sul do Brasil e atualmente é encontrada em várias regiões do mundo (BUCZOWSKI et al., 2004), como decorrência de introduções acidentais através de atividades de comércio (NEWEL e BARBER, 1913; SMITH, 1965). A habilidade de a formiga argentina ter se tornado uma espécie invasora se deve ao fato, em partes, por sua conduta e mudanças genéticas que ocorreram durante sua introdução e estabelecimento em novas áreas.

Devido a uma grande similaridade entre a casta das operárias, é uma constante encontrar identificações errôneas de *L. humile*, além do fato de estudos indicarem a existência de ao menos três novas espécies de *Linepithema* ainda não descritas (WILD, 2004). A biologia molecular é uma ferramenta importante e pode auxiliar nessas questões.

A evolução de genomas pode ocorrer por substituição de uma base por outra, denominada mutação pontual, ou por inversões de seqüências de nucleotídeos. Como consequência, esses eventos podem gerar mutações neutras (KIMURA, 1983), as quais não afetam nem negativa nem positivamente o produto gênico, mutações deletérias, ou mutações vantajosas, as quais são raras. O genoma mitocondrial apresenta altas taxas evolutivas quando comparado ao genoma nuclear (BROWN et al., 1979), podendo ser devido a sua baixa fidelidade no processo de replicação do DNA na mitocôndria, a um ineficiente mecanismo de reparo e a uma alta concentração de substâncias mutagênicas resultantes do metabolismo da mitocôndria (LI e GRAUR, 1991).

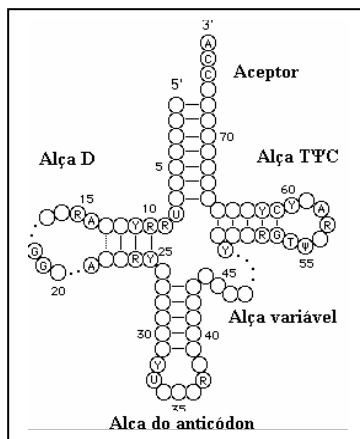
Os tRNA^{leu} são considerados como genes estruturais, e sua evolução está influenciada por restrições funcionais, que definem quais nucleotídeos podem ser aceitos em um sítio sem afetar negativamente a função ou a estrutura do produto gênico, ocorrendo uma inversa relação entre taxa de evolução e restrição funcional (PAGE e HOLMES, 1998).

Chiotis et al. (2000), fez uma revisão filogenética da subfamília Dolichoderinae, através da análise de seqüências de genes mitocondriais em diferentes espécies da subfamília e usaram parte das informações obtidas para desenhar o RNA transportador e analisar variações entre suas estruturas.

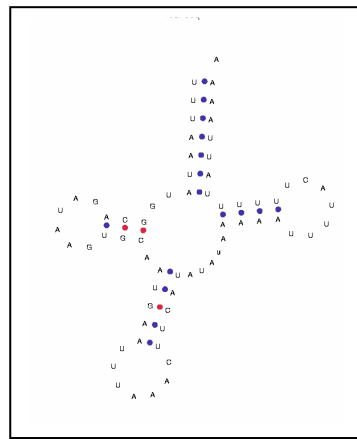
Com o intuito de caracterizar a variação do gene tRNA^{leu} mitocondrial foram utilizadas técnicas de amplificação por PCR e seqüenciamento de DNA. Foram obtidos fragmentos do DNA mitocondrial, que compreende o gene do RNA transportador de leucina de sete populações de *Linepithema*, localizadas nas cidades de Bento Gonçalves (RS), Curitiba (PR), Pindamonhangaba (SP), Rio Claro (SP), São Paulo (SP), Suzano (SP) e Vitória (ES), além de uma espécie ainda não identificada do gênero *Dorymyrmex* de Corumbá (MS).

As seqüências obtidas foram inicialmente analisadas e editadas manualmente com o uso do programa BioEdit, e em seguida alinhadas por meio do aplicativo Clustal. Com o uso do programa t-RNAscan-SE, foram montadas as estruturas secundárias dos tRNA^{leu}. A partir de seqüências obtidas no GenBank, foram montadas estruturas secundárias do tRNA^{leu} das espécies *Iridomyrmex lividus* (código de acesso no GenBank AF147048) e *Linepithema humile* (AF147050), ambas provenientes da Austrália.

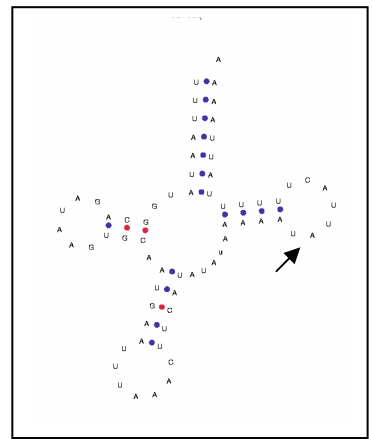
A Figura 1 ilustra as estruturas dos tRNA^{leu} obtidas das várias populações, além da estrutura básica de tRNA e as regiões que o compõem. A molécula de tRNA contém quatro regiões em hélice que são chamadas de alça do acceptor de aminoácido, alça D, alça TC, e alça do anticódon, sendo que esta estrutura em duas dimensões (estrutura secundária) é conhecida como folha trevo (KIM et al., 1973, 1974; RICH e KIM, 1978).



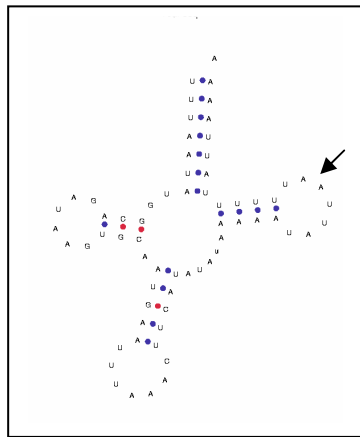
Estrutura básica



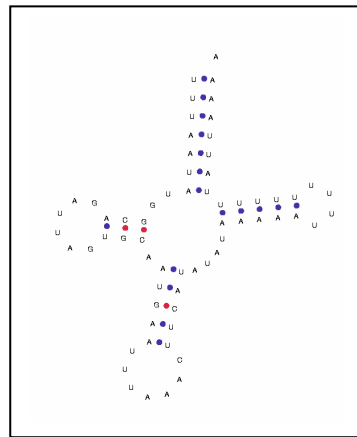
L. humile (AF147050)
Limeira, SP
Pindamonhangaba, SP
São Paulo, SP



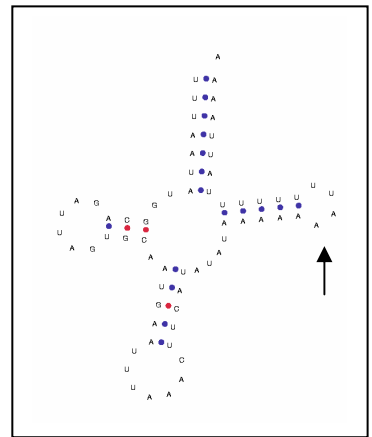
Bento Gonçalves, RS
Suzano, SP



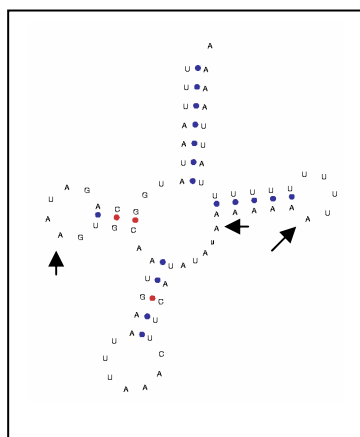
Curitiba, PR



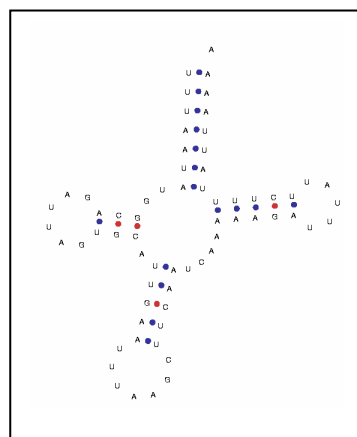
Iridomyrmex lividus



Rio Claro, SP



Vitória, ES



Dorymyrmex sp.

Figura 1: Estrutura básica do tRNA e estruturas dos tRNA^{leu} das populações estudadas.

A análise das estruturas dos tRNA^{leu} das diversas populações de *Linepithema* sugere padrão similar ao encontrado na análise filogenética obtida por MARTINS et al., 2006. As populações de *Linepithema* provenientes de Limeira (SP), São Paulo (SP), Suzano (SP), Pindamonhangaba (SP), Curitiba (PR) e Bento Gonçalves (RS) seguiram um padrão de tRNA^{leu} semelhante ao que ocorre para a população de *L. humile* australiana (AF147050), com o braço TC com quatro pares de nucleotídeos, a alça TC com sete nucleotídeos, a alça variável com seis nucleotídeos, o braço D com três pares de nucleotídeos e a alça D com seis nucleotídeos.

Algumas variações, entretanto, foram verificadas nessas estruturas. As populações de *L. humile* australiana, Limeira (SP), Pindamonhangaba (SP) e São Paulo (SP) possuem estruturas idênticas de tRNA^{leu}. As populações de Suzano (SP) e Bento Gonçalves (RS) também possuem estruturas similares, com substituição de um nucleotídeo na alça TC, quando comparadas com o primeiro grupo (variação indicada por seta). Já a população de Curitiba (PR) apresentou duas substituições de nucleotídeos na alça TC se comparada às populações que seguem o padrão de *L. humile*.

A análise das estruturas dos tRNA^{leu} da população de Rio Claro revela que apresenta o padrão de tRNA^{leu} encontrado na população de *I. lividus* australiana (AF147048). O braço TC tem cinco pares de nucleotídeos, a alça TC com quatro nucleotídeos, a alça variável com quatro nucleotídeos, o braço D com três pares de nucleotídeos e a alça D com seis nucleotídeos. Já a população de Vitória (ES), tem um padrão similar ao dessas duas populações, porém com variações na alça TC, que possui cinco nucleotídeos, e seis nucleotídeos na alça variável.

Comparando a estrutura do tRNA^{leu} do gênero *Dorymyrmex* com os outros dois gêneros ilustrados (*Linepithema* e *Iridomyrmex*), verifica-se a variação existente entre os diferentes gêneros, sendo os braços e a alças TC os locais de maiores variações, corroborando com o trabalho de Chiotis et al. (2000).

Portanto, os resultados sugerem que algumas populações são próximas à espécie *L. humile*, como as populações de Limeira (SP), São Paulo (SP), Suzano (SP), Pindamonhangaba (SP), Curitiba (PR), Bento Gonçalves (RS); porém, algumas populações podem ser agrupadas com outros gêneros, como as populações de Rio Claro (SP) e Vitória (ES) ou até mesmo podem pertencer a um novo gênero, considerando-se as diferenças marcantes encontradas em suas estruturas secundárias de tRNA^{leu}.

A análise das estruturas secundárias do tRNA^{leu} permitiu distinguir as possíveis novas espécies do gênero *Linepithema*, mas também espécies que tinham sido previamente incluídas no gênero, e que na realidade podem pertencer a outros gêneros.

Referências bibliográficas

- BROWN, W. M.; GEORGE, Jr.; WILSON, A. C. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA, **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 76, p. 1967-1971. 1979.
- BUCZKOWSKI, G.; VARGO E. L.; SILVERMAN J. The diminutive supercolony: the Argentine ant of the southeastern United States, **Molecular Ecology**, v. 13, p. 2235-2242. 2004.
- CHIOTIS, M.; JERMIIN, L. S.; CROZIER, R. H. A molecular framework for phylogeny of the ant subfamily Dolichoderinae, **Molecular Phylogenetics and evolution**, v. 17, p. 108-116. 2000.
- KIM, S. H.; McPHERSON, A.; SUDDATH, F. L.; QUIGLEY, G. J.; SNEDEN, D.; KIM, J. J.; WEINZIERL, J.; RICH, A. Three-dimensional structure of yeast phenylalanine transfer RNA: Folding of the polynucleotide chain, **Science**, v. 179, p. 285-288. 1973.
- KIM, S. H.; McPHERSON, A.; SUDDATH, F. L.; QUIGLEY, G. J.; WANG, A. H. J.; SEEMAN, N. C.; SUSSMAN, J. L.; RICH, A. Three-dimensional tertiary structure of yeast phenylalanine transfer TNA, **Science**, v. 185, p. 435-440. 1974.
- KIMURA, M. **The neutral theory of molecular evolution**. Cambridge: Cambridge University Press., 1983.

LI, W. H.; GRAUR, D. **Fundamentals of Molecular Evolution**. Sunderland, Massachusetts: Sinauer. 1991.

MARTINS, C.; BUENO, O. C.; MARTINS, V. G. Variações na seqüência de genes mitocondriais de *Linepithema humile* (Formicidae: Dolichoderinae) de algumas populações brasileiras. In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 21, 2005, Recife/PE. **Anais do XXI Congresso Brasileiro de Entomologia: Entomologia, da Academia à transferência de tecnologia**. Recife/PE: UFRPE & Sociedade Entomológica do Brasil, 2005. Resumo ID: 690-1.

NEWEL, W.; BARBER T. C. **The Argentine ant. Bulletin 122**. Washington, DC: U.S. Dep. Agric., Bureau of Entomology. 1913.

PAGE, R. D. M.; HOLMES, E. C. **Molecular Evolution: A phylogenetic Approach**. Blackwell Science. 1998.

RICH, A.; KIM, S. H. The three-dimensional structure of transfer RNA, **Sci Am.**, v. 238, p. 52-62. 1978.

SMITH, M. R. House infesting ants of the eastern United States their recognition, biology and economic importance, **USDA Teck. Bull.**, v. 1326, p. 105. 1965.

WILD, A. L. Taxonomy and Distribution of the Argentine Ant, *Linepithema humile* (Hymenoptera: Formicidae), **Entomological Society of America**, v. 97, p. 1204-1215. 2004.

Bolsa: FAPESP (Processo 04/11903-2).