

Análisis preliminar de la estructura primaria y secundaria del ARNt^{Trp} en tortugas marinas

Harvey Infante-Rojas y Javier Hernández-Fernández*

Universidad Jorge Tadeo Lozano, Facultad de Ciencias Naturales e Ingeniería, Departamento de Ciencias Naturales y Ambientales, Laboratorio de Genética, Biología Molecular y Bioinformática. Cra. 4 N° 22-61 Modulo 7 Piso 6. Bogotá D. C., Colombia

*Autor para correspondencia: javier.hernandez@utadeo.edu.co

Resumen

Actualmente existen siete especies de tortugas marinas, todas amenazadas o en riesgo inminente de extinción. Los estudios con ADN mitocondrial han permitido hacer acercamientos sobre filogenia, evolución, rutas migratorias y centros de dispersión, además para la identificación de polimorfismos y haplotipos, siendo base para planes de manejo y conservación. El presente estudio representa la primera descripción comparada de la estructura primaria y secundaria del ARNt^{Trp} mitocondrial en tortugas marinas. Se realizó un alineamiento múltiple de 26 secuencias del gen que codifica para el ARNt^{Trp} y se propuso la estructura secundaria utilizando el programa ARWEN. Se identificaron potenciales interacciones terciarias por homología comparada con el ARNt^{Trp} de mamíferos. Los resultados mostraron una secuencia consenso de 76 bases con siete regiones conservadas que representan el 76 % de la molécula. Se identificaron polimorfismos que representan tres haplotipos para *C. caretta*, dos para *C. mydas* y uno para cada una de las demás especies. Las estructuras secundarias mostraron cambios nucleotídicos puntuales para cada especie y también mostraron que el tallo aceptor, el brazo TψC y el bucle anticodón son motivos conservados en el ARNt^{Trp} de las tortugas marinas. Se encontró un enlace no canónico tipo A-A en el tallo DHU que podría considerarse característico de tortugas marinas. Además, se obtuvo una estructura secundaria consenso en donde se identificaron las siete regiones conservadas, seis posibles interacciones terciarias y el bucle DHU como región variable.

Palabras clave: ARNt^{Trp}, enlace canónico, homología, motivos conservados, tortugas marinas.

Editora: Pataquiva-Mateus, A. Y.

Citation: Harvey Infante-Rojas y Javier Hernández-Fernández (2015). Análisis preliminar de la estructura primaria y secundaria del ARNt^{Trp} en tortugas marinas. Revista Mutis 5(1); pp. 28-36.

Received: February 20, 2015; **Accepted:** May 2, 2015; **Published on line:** June 30, 2015

Copyright: ©2015 Infante-Rojas y Hernández-Fernández. This is an open-access article, which permits unrestricted use, distributions and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Competing Interests: The authors have no conflict of interest.

ARNt^{Trp} primary and secondary structure of sea turtle: first approach

Abstract

There are seven species of sea turtles, all threatened or in risk of extinction. Studies with mitochondrial DNA have allowed the understanding of phylogeny, evolution, migration routes, scattering centers, identification of polymorphisms and haplotypes, being the basis for management and conservation plans. In this study we did the first compared description between primary and secondary structures of the mitochondrial ARNt^{Trp} of sea turtles. a multiple



alignment of 26 sequences of the gene coding for ARNt^{Trp} was performed and a secondary structure was proposed using ARWEN. Potential tertiary interactions were identified through compared homology with ARNt^{Trp} present in mammals. The results showed a 76-base consensus sequence with seven conserved regions which represent the 76% of the molecule. We identified three haplotypes for *C. caretta*, two for *C. mydas* and one for each of the other species. The secondary structures showed specific nucleotide changes to each species and also that the acceptor stem, the T Ψ C arm and the anticodon loop are conserved motifs in the ARNt^{Trp} of sea turtles. A non-canonic A-A type link was found in the DHU stem which may be considered a characteristic of sea turtles. Furthermore, a consensus secondary structure was obtained where the seven conserved regions, six possible tertiary interactions and DHU loop as a variable region were identified as well.

Keywords: ARNt^{Trp}, canonic link, homology, conserved motifs, sea turtles.

Introducción

Las tortugas marinas evolucionaron de las tortugas de agua dulce hace más de 100 millones de años (CIT, 2004). Actualmente existen dos familias de tortugas marinas, la Cheloniidae, con seis especies: la tortuga plana (*Natator depressus*), la tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*), la tortuga lora (*Lepidochelys kempii*) la tortuga cabeza (*Caretta caretta*), la tortuga carey (*Eretmochelys imbricata*) y la tortuga verde (*Chelonia mydas*) (Pritchard *et al.*, 1999); y la familia Dermochelyidae, con una sola especie: la tortuga laúd (*Dermochelys coriacea*) (Trujillo, 2009). Las tortugas marinas se distribuyen ampliamente en océanos tropicales y templados y su papel ecológico va desde mantener sanos los pastos marinos hasta el control de la población de medusas, pero su función principal es trasladar la productividad del ecosistema marino a la costa (Pritchard, 2004). Todas las especies de tortugas marinas se encuentran en riesgo de extinción (UICN, 2015), por lo que en muchos países y organizaciones se adelantan investigaciones tendientes al manejo y conservación, para los cuales, los estudios moleculares en los que se analiza ADN mitocondrial (ADNmt) han tomado mucha importancia. Los mitogenomas de las tortugas marinas se han secuenciado totalmente (Kumazawa y Nishida, 1999; Duchene *et al.*, 2012; Drosopoulou *et al.*, 2012;

Otálora *et al.*, 2015) y los esfuerzos se han dirigido hacia el uso de genes mitocondriales como marcadores moleculares, los cuales han permitido hacer acercamientos sobre filogenia, evolución, rutas migratorias y centros de dispersión, además para la identificación de polimorfismos y haplotipos (Carreras *et al.*, 2011). El 50 % de patologías neurodegenerativas, respiratorias y musculares caracterizadas en humanos está relacionado con mutaciones de los ARNt mitocondriales (MITOMAP, 2015). En tortugas marinas, malformaciones y mortalidad embrionaria podrían deberse a factores genéticos (Azanza *et al.*, 2006), que podrían estar asociados a modificaciones en los ARN de transferencia mitocondriales (ARNt mt), siendo esta un área de interés para la conservación de la especie.

Los ARNt son moléculas adaptadoras entre la información codificada en el ARN mensajero y el aminoácido por lo que son clave en el proceso de síntesis de proteínas (Widmann *et al.*, 2010), además se encuentran entre las moléculas más antiguas y mejor conservadas (Widmann *et al.*, 2010; Florentz *et al.*, 2003). Se sintetizan primero como moléculas lineales monocatenarias de más o menos 76 nucleótidos y adquieren luego la apariencia de hoja de trébol en la cual se distinguen el brazo aceptor del aminoácido, el tallo y el bucle dihidrouridina (DHU), el tallo y el bucle del anticodón, el bucle variable, y el tallo y el bucle ribotimidina-pseudouridina-citosina (T Ψ C) (Lodish *et al.*, 1995; Klug *et al.*, 2006) y gracias a interacciones entre los bucles y las hélices se obtiene una estructura terciaria en forma de "L" plegada (Suzuki *et al.*, 2011). Los ARNt mitocondriales por su parte han mostrado fuertes desviaciones estructurales (Helm *et al.*, 2000) por lo que se los ha considerado extraños, algunos incluso carecen de uno de sus brazos (Laslett y Canbäck, 2008). Los ARNts pueden cambiar su especificidad por mutaciones puntuales que pueden afectar su interacción terciaria (Saks *et al.*, 1998), evidenciando la importancia de analizar los ARNt mitocondriales en las tortugas marinas. La disponibilidad de grandes bases de datos que contienen miles de secuencias de ARNts en cientos de genomas completos, ha impulsado el desarrollo del nuevo campo de la "tRNAomics" (Marck y Grosjean, 2002), pero a pesar de la importancia de los ARNt mt y de los estudios detallados que se han hecho en humanos, es muy poca la información reportada que describa los ARNt mt en tortugas marinas. Otálora (2014) reportó una mutación puntual en el gen que codifica el ARNt^{Trp} en un individuo de *C. caretta* del Caribe colombiano, que podrían causar modificaciones en su estructura 2D y 3D, y que

eventualmente podrían alterar la interacción ARNt-aminoacil sintetasa y ARNt-ribosoma. Este estudio es el primer acercamiento en la descripción de la estructura primaria y secundaria del ARNt^{Trp} de tortugas marinas, con el objetivo de analizar cambios y conformaciones que posiblemente tengan implicaciones evolutivas.

Metodología

Se obtuvieron 26 secuencias del gen que codifica para el ARNt triptófano a partir de genomas mitocondriales completos de siete especies de tortugas marinas, publicados previamente en GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/). La tabla 1 presenta los números de acceso y la referencia de los genomas utilizados. Se realizó un alineamiento múlti-

ple de las 26 secuencias usando el algoritmo Clustal W (Thompson *et al.* 1994) para definir el grado de conservación y variabilidad. Se dedujo la estructura secundaria del ARNt^{Trp} para cada una de las especies de tortugas mediante el software en línea ARWEN (Laslett y Canbäck, 2008) con el fin de identificar los dominios de la molécula y las posiciones de los polimorfismos. Se identificaron posibles interacciones terciarias por homología, indicando las bases y posiciones en la molécula respectiva para cada especie de tortuga. Finalmente se infirió una estructura secundaria o 2D consenso, en la cual se identificaron las regiones conservadas, las posibles interacciones terciarias, las regiones variables y la estructura general de la molécula de ARNt^{Trp} en tortugas marinas.

Tabla 1. Números de acceso de los 26 genomas mitocondriales de siete especies de tortugas marinas a partir de los cuales se obtuvieron las secuencias del ARNt triptófano

Especie	Número de Acceso	Referencia
Dermochelys coriacea	JX454969.1	Duchene et al. (2012)
	JX454973.1	Duchene et al. (2012)
	JX454989.1	Duchene et al. (2012)
	JX454992.1	Duchene et al. (2012)
Chelonia mydas	AB012104	Kumazawa y Nishida (1999)
	JX454974.1	Duchene et al. (2012)
	JX454972.1	Duchene et al. (2012)
	JX454971.1	Duchene et al. (2012)
	JX454976.1	Duchene et al. (2012)
Natator depressus	JX454990.1	Duchene et al. (2012)
	JX454975.1	Duchene et al. (2012)
Eretmochelys imbricata	NC_012398	Tandon, Trivedi & Kashyap (en prep)
	JX454970	Duchene et al. (2012)
	JX454980	Duchene et al. (2012)
	JX454986	Duchene et al. (2012)
Caretta caretta	NC_016923.1	Drosopoulou et al. (2012)
	JX454977.1	Duchene et al. (2012)
	JX454983.1	Duchene et al. (2012)
	JX454984.1	Duchene et al. (2012)
	JX454988.1	Duchene et al. (2012)
Lepidochelys kempii	KP256531	Otálora et al. (2015)
	JX454981.1	Duchene et al. (2012)
Lepidochelys olivacea	JX454982.1	Duchene et al. (2012)
	JX454979.1	Duchene et al. (2012)
	JX454987.1	Duchene et al. (2012)
	JX454991.1	Duchene et al. (2012)

Resultados y discusión

Estructura primaria

El gen mitocondrial ARNt^{Trp} exhibió una longitud de 76 bases (b) diferente a las 73 b reportadas para el mismo gen en mamíferos (Helm et al., 2000). Se observó que el gen para ARNt^{Trp} es de codificación exclusiva, es decir, no se solapa con genes adyacentes, presentando en todos los casos una base espaciadora que lo separa del gen que codifica para el ARNt^{Ala} en el extremo 3', y dos o una base como espaciador intergénico con el gen ND2 en el extremo 5', evidenciado el carácter reducido de la molécula mitocondrial al disminuir de dos a una sola base en algunos casos.

El análisis molecular del gen ARNt^{Trp} de las tortugas marinas se realizó utilizando 78 posiciones nucleotídicas resultado del múltiple alineamiento (figura 1), el cual mostró una secuencia consenso de 76 b, con siete regiones conservadas entre 1 y 18 b, que corresponden a las posiciones 1-13, 25-29, 31, 34-44, 47-50, 52-57, y 59-76 de la estructura secundaria (figura 1, bloques en verde), además de posiciones polimórficas con inserciones, deleciones, transiciones y transversiones.

Se encontró variación en la longitud de las secuencias entre las especies y también a nivel intraespecífico, se

observaron longitudes de 75, 76 y 77 b, explicada por inserciones y deleciones presentes. En el caso de *Caretta caretta*, todas las secuencias mostraron una timina adicional en la posición 25 (figura 1 y figura 2A), sin importar el origen geográfico del individuo, lo que podría indicar que esta mutación está fijada en la especie; además se identificaron transiciones en tres posiciones y una transversión, por lo cual se pudieron identificar 3 haplotipos.

Las seis secuencias del ARNt^{Trp} de *Chelonia mydas*, mostraron una deleción en la posición 14, lo que indicaría también que esta es una mutación puntual propia de la especie, no obstante, las secuencias de los individuos provenientes de Chipre, Costa Rica y océano Atlántico presentaron una adenina adicional en la posición 18, mostrando 2 haplotipos, y demostrando con estos polimorfismos la susceptibilidad a mutaciones puntuales por presiones evolutivas de los genes mitocondriales (Suzuki et al., 2011). Las tortugas *L. olivacea* y *L. kempii* presentaron un único haplotipo que además fue el mismo para ambas especies, definido por la transversión adenina por timina en la posición 20. *D. coriacea*, *E. imbricata* y *N. depressa* mostraron por su parte un solo haplotipo.

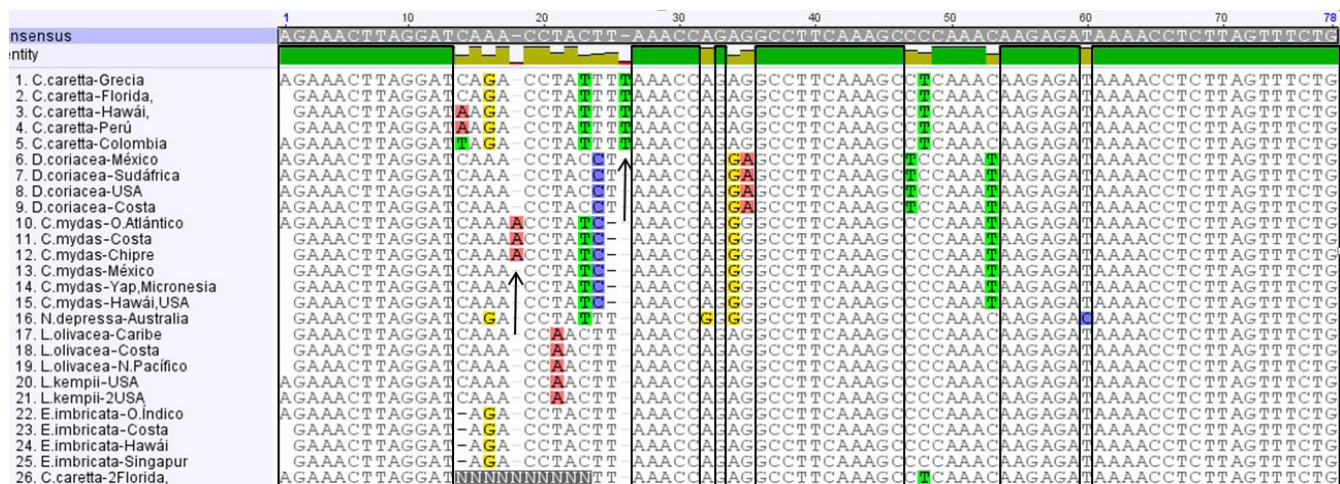


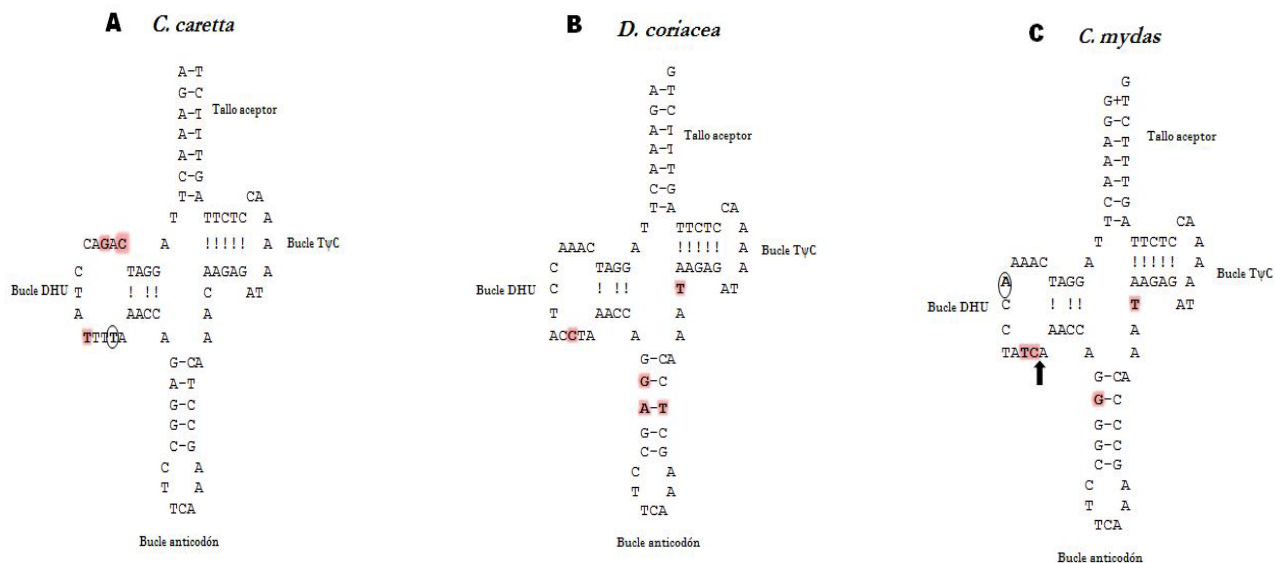
Figura 1. Múltiple alineamiento de 26 secuencias del gen ARNt^{Trp} de 7 especies de tortugas marinas. Se muestran las secuencias en sentido 5'-3'. La secuencia consenso en gris con 76 b, las zonas en los recuadros representan las regiones conservadas, las bases en color representan polimorfismos y las flechas señalan inserciones.

Otra fuente de variación en la longitud de las secuencias es la falta de A en el extremo 5' para algunas especies, mutación que puede estar sujeta a inconsistencias en la delimitación de la secuencia del gen, esta base aparece como espaciador entre el gen ARNt^{Trp} y ND2, lo que evidencia que la base está presente en la secuencia pero no está definida dentro del gen. Esta hipótesis está apoyada en el análisis de la estructura secundaria (figuras 2C y 2F), ya que el programa ARWEN adiciona una G para completar siete enlaces en el tallo aceptor como se reporta para el ARNt^{Trp} mitocondrial en otras especies (Helm *et al.*, 2000).

Estructura secundaria

La estructura secundaria mostró gran conformidad con la estructura canónica. La composición nucleotídica estuvo dominada por adenina y timina, solo entre el 37 y el 45 % correspondió a GC para todas las secuencias, como era de esperarse en un gen mitocondrial (Pérez *et al.*, 2008). Gracias a que el 76 % de la secuencia nucleotídica esta conservada para todas las especies, se pudieron identificar características estructurales comunes para todas ellas. El tallo aceptor fue consistente en todas las especies exhibiendo siete pb Watson-Crick y una G no pareada en el extremo 3'. El brazo TψC también fue consistente en todas la tortugas mostrando 5 apareamientos Watson-Crick for-

mando su tallo y 7 bases conformando su bucle, en donde solo *N. depressa* registró una transición (figura 2F). La presencia de dos bases conectoras entre el tallo aceptor y el tallo del brazo DHU y una base entre este último y el tallo del brazo anticodón, también fueron características compartidas en todas las especies. Se observó también que las siete bases que conforman el bucle del brazo anticodón son comunes en todas las especies y el tallo está constituido en todos los casos por cinco pb, sin embargo, dos de estos pares fueron fuente de variación. En las especies *L. kempii*, *L. olivacea* y *E. imbricata* se evidenciaron enlaces no canónicos tipo A-C en las posiciones 32-46 como se muestra en la figura 2 (ver D y E), lo que podría causar plegamientos extraños de su estructura 3D, ya que estas bases normalmente son determinantes en la formación de la estructura terciaria (Pérez *et al.*, 2008), pues interactúan con el brazo DHU y el bucle variable (Helm *et al.*, 2000). El brazo DHU muestra cuatro pares de bases en su tallo consistentes en todas las tortugas, de las cuales un par no es canónico, con enlace A-A, lo que se podría reconocer como una característica típica de los ARNt mt de tortugas marinas. El bucle del brazo DHU fue la región con mayor número de polimorfismos, presentándose en su secuencia dos inserciones, dos deleciones y una transversión, además de varias transiciones como se muestra en la figura 2, siendo este bucle la única región variable en longitud de la estructura secundaria.



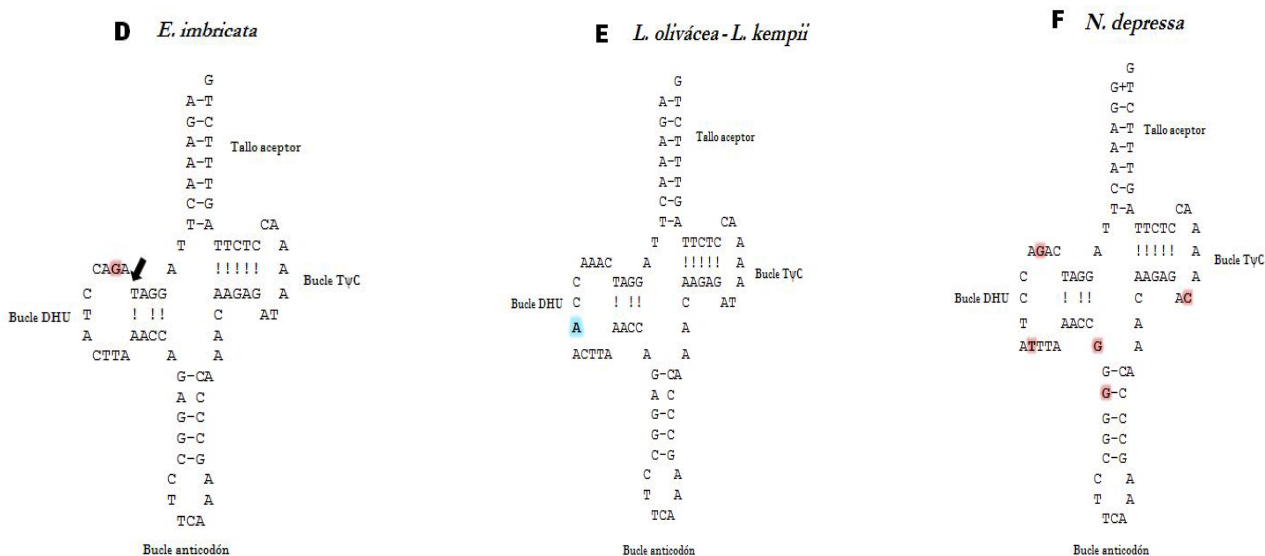


Figura 2. Estructuras secundarias inferidas para siete especies de tortugas marinas: A) *C. caretta*, B) *D. coriácea*, C) *C. mydas*, D) *E. imbricata*, E) *L. olivácea* y *L. kempíi*, F) *N. depressa*. Las letras resaltadas en rojo identifican transiciones, las letras en azul denotan transversiones, las elipses indican inserción y las flechas indican la posición de una deleción, de acuerdo con la secuencia consenso.

Potenciales interacciones terciarias

Nueve interacciones terciarias se definieron para ARNt canónicos con base en cristalografía de rayos X en los trabajos de Giegé *et al.* (1993) y Dirheimer *et al.* (1995). Helm *et al.* (2000) realizando estudios de homología y coincidencia de residuos, reportan que seis de estas interacciones pueden ser posibles en el ARNt^{Trp} mt en mamíferos. La tabla 2 y la figura 3 resaltan las posibles interacciones terciarias para el ARNt^{Trp} mt en tortugas marinas basadas en la comparación con las interacciones reportadas por Helm *et al.* Se observó que las seis interacciones son posibles, con coincidencia de las posiciones 8, 9, 10, 12, 13, 14 y 15 que se ubican antes del bucle DHU identificado como la fuente de variación de longitud de las secuencias en este estudio. Las posiciones siguientes al bucle DHU varían de 4 a 5 unidades debido a que este es más amplio en tortugas, también por las inserciones o deleciones y en general a una mayor longitud del gen en tortugas marinas respecto al de mamíferos. En cuanto a la identidad de las bases (tabla 2), se pudo observar que se conservan estrictamente para la interacción 4, y en la interacción 6 solo *N. depressus* cambia una A por G en la posición 30. Las interacciones 1, 2 y 5 muestran

que las bases que las componen coinciden para todas las especies de tortugas en este estudio (excepto *E. imbricata* en la interacción 1) pero varían en una base con respecto a lo reportado para mamíferos. Estas diferencias podrían representar estructuras terciarias con modificaciones propias para tortugas marinas.

Estructura secundaria consenso

Finalmente se realizó una estructura secundaria consenso debido al gran porcentaje de conservación global de secuencias nucleotídicas del gen ARNt^{Trp} entre las especies de tortugas marinas. Las estructuras como el tallo aceptor, el brazo TψC, el bucle anticodón y el tallo del brazo DHU que mostraron conservación nucleotídica y estructural, estarían evidenciando la importancia funcional que estos motivos tienen dentro de la molécula de ARNt^{Trp} de las tortugas marinas.

La alta conservación del gen ARNt^{Trp} se hace visible en la figura 3, donde se evidencia también la conservación de la mayoría de las bases involucradas en interacciones terciarias, lo que explica la gran conformidad con la estructura secundaria canónica clásica.

Sin embargo, se encontró que dos de estas bases cambiaron estrictamente de G a A y es común para todas las tortugas marinas en este estudio. Otro detalle que llama la atención son los enlaces no canónicos en el tallo del brazo anticodón y del brazo DHU. Estos enlaces no canónicos participan en la compleja estructura terciaria de los ARNt, y por lo tanto, en los procesos de reconocimiento molecular (Vivero et al., 2007), sin embargo, se requiere más investigación para determinar la importancia del cambio en las bases que interactúan en la estructura terciaria y de los enlaces no canónicos encontrados.

La mayoría de los polimorfismos ocurren en el bucle DHU, por lo que se puede deducir que esta región es la que goza de mayor libertad para mutar dentro de la molécula de ARNt^{Trp} de las tortugas marinas.

Conclusiones

A pesar de que en las bases de datos moleculares disponibles en línea se encuentran depositadas varias secuencias nucleotídicas de ARNt de tortugas marinas, y que las implicaciones de posibles mutaciones en estas secuencias no se conocen hasta la fecha, no existen estudios sobre la estructura secundaria de los ARNt mitocondriales de este importante grupo taxonómico en peligro de extinción.

El gen ARNt^{Trp} en tortugas marinas presentó alta conservación con un 76 % aproximadamente.

El bucle DHU se identificó como la región más variable, con la mayor cantidad de polimorfismos. El enlace no Watson-Crick tipo A-A presente en el tallo DHU puede considerarse como una interacción secundaria conservada en tortugas marinas, sin embargo no se puede afirmar que sea exclusivo de este grupo porque aún no se cuenta con información en otros grupos emparentados.

Las diferencias entre el ARNt^{Trp} de tortugas y mamíferos podrían representar la divergencia y presión evolutiva sobre la molécula de ADN mitocondrial.

Este estudio preliminar constituye la primera descripción comparada de la estructura secundaria del ARNt^{Trp} de las tortugas marinas.

Referencias

Azanza, J., Ruisanchez, Y., Ibarra, M., Ruiz Urquiola,

A., Luis, C., & Ríos Tamayo. (2006). Indicadores del éxito reproductivo de la tortuga verde (*Chelonia mydas*) en tres playas de la península de Guanahacabibes, Pinar del Río, Cuba. *Rev. Invest. Mar.* 27(1):69-78, 69

Carreras, C., Pascual, M., Cardona, L., Marco, A., Bellido, J. J., Castillo, J. J., ... & Aguilar, A. (2011). Living together but remaining apart: Atlantic and Mediterranean loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) in shared feeding grounds. *Journal of Heredity*, eSR089.

Dirheimer, G., Keith, G., Dumas, P., & Westhof, E. (1995). *Primary, secondary and tertiary structures of tRNAs*. En: Helm, M., Brulé, H. Friede, D. Giegé, R. Pütz, D. & Florentz, C. (2000). Search for characteristic structural features of mammalian mitochondrial tRNAs. *Rna*, 6(10), 1356-1379.

Drosopoulou, E., Tsiamis, G., Mavropoulou, M., Vittas, S., Katselidis, K. A., Schofield, G., ... & Scouras, Z. G. (2012). The complete mitochondrial genome of the loggerhead turtle *Caretta caretta* (Testudines: Cheloniidae): Genome description and phylogenetic considerations. *Mitochondrial DNA*, 23(1), 1-12.

Duchene, S., Frey, A., Alfaro-Núñez, A., Dutton, P. H., Gilbert, M. T. P., & Morin, P. A. (2012). Marine turtle mitogenome phylogenetics and evolution. *Molecular phylogenetics and evolution*, 65(1), 241-250.

Florentz, C., Sohm, B., Tryoen-Toth, P., Pütz, J., & Sissler, M. (2003). Human mitochondrial tRNAs in health and disease. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 60(7), 1356-1375.

Giegé, R., Puglisi, J. D., & Florentz, C. (1993). *tRNA structure and aminoacylation efficiency*. En: Helm, M., Brulé, H. Friede, D. Giegé, R. Pütz, D. & Florentz, C. (2000). Search for characteristic structural features of mammalian mitochondrial tRNAs. *Rna*, 6(10), 1356-1379.

Helm, M., Brulé, H. Friede, D. Giegé, R. Pütz, D. & Florentz, C. (2000). *Search for characteristic structural features of mammalian mitochondrial tRNAs*. *Rna*, 6(10), 1356-1379.

Klug, William S., et al. (2010). *Conceptos de genética*. n.p.: España: Pearson Educacion; Prentice Hall.

- Kumazawa, Y., & Nishida, M. (1999). Complete mitochondrial DNA sequences of the green turtle and blue-tailed mole skink: statistical evidence for archosaurian affinity of turtles. *Molecular Biology and Evolution*, 16(6), 784-792.
- Laslett, D. & Canbäck B. (2008). ARWEN, a program to detect tRNA genes in metazoan mitochondrial nucleotide sequences. *Bioinformatics* 24:172-175.
- Lodish, Harvey, Arnold Berk, Paul Matsudaira, Chris A. Kaiser, Monty Krieger, Matthew P. Scott, and Andrea Méndez. (1995). *Biología celular y molecular*. n.p.: Buenos Aires Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- Marck, Christian, and Henri Grosjean. (2002). tRNomics: analysis of tRNA genes from 50 genomes of Eukarya, Archaea, and Bacteria reveals anticodon-sparing strategies and domain-specific features. *Rna* 8, no. 10: 1189-1232.
- Márquez, R. (1990). *Las tortugas marinas y nuestro tiempo*. Fondo de Cultura Económica, Secretaría de Educación Pública. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. México.
- MITOMAP: A Human Mitochondrial Genome Database. (2015). <http://www.mitomap.org>
- NCBI, National Center for Biotechnology Information. Taxonomy Browser. (2015). [En línea] <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/>>
- Otálora Acevedo, Katherin Eliana Alejandra. *Obtención y análisis del genoma mitocondrial de la tortuga cabezona Caretta caretta (Testudines: Cheloniidae) anidante del Caribe-colombiano*. Tunja, (2014), 39 h. Trabajo de grado (Bióloga). Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Facultad de Ciencias Básicas, Escuela de Biología.
- Pérez, Alveiro, Bejarano Eduar Elías, and Vélez Iván Darío. (2008). Descripción del ARN de transferencia mitocondrial para Serina (UCN) de *Lutzomyia columbiana* (Diptera, Psychodidae) / Description of the mitochondrial serine transfer RNA (UCN) of *Lutzomyia columbiana* (Diptera, Psychodidae). *Revista Brasileira de Entomologia* no. 4: 591.
- Pritchard, P. C. H. & Mortimer J. A. (1999). *Taxonomy External Morphology, and Species Identification*, p. 21-38.
- Pritchard, P.C.H. (2004). *Estado global de las tortugas marinas: un análisis*. Documento INF-001 preparado para la Convención Interamericana para la Protección y Conservación de las Tortugas Marinas, Primera Conferencia de las Partes (COP1CIT)
- Saks, M. E., Sampson, J. R., & Abelson J. (1998). Evolution of a transfer RNA gene through a point mutation in the anticodon. *Science* 279: 1665-1670.
- Secretaría CIT (2004). *Una Introducción a las Especies de Tortugas Marinas del Mundo*. Octubre 2004, San José, Costa Rica.
- Suzuki, Tsutomu, Asutaka Nagao, and Takeo Suzuki. (2011). Human Mitochondrial tRNAs: Biogenesis, Function, Structural Aspects, and Diseases. *Annual Review Of Genetics* 45, 299.
- Thompson, J. D., D. G. Higgins, and T. J. Gibson. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids*
- Vivero, Rafael José, Contreras-Gutiérrez María Angélica, and Bejarano Eduar Elías. (2007). Análisis de la estructura primaria y secundaria del ARN de transferencia mitocondrial para serina en siete especies de *Lutzomyia* / Analysis of the primary and secondary structure of the mitochondrial serine transfer RNA in seven species of *Lutzomyia*. *Biomédica* no. 3: 429.
- Widmann, Jeremy, J. Kirk Harris, Catherine Lozupone, Alexey Wolfson, and Rob Knight. (2010). Stable tRNA-based phylogenies using only 76 nucleotides. *Rna* 16, no. 8: 1469-1477.