

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora,
o texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir
de 17/06/2022



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

Câmpus de São José do Rio Preto

Maryanna Cristiano Simão

Exaptação de elementos de transposição (TEs) em *Drosophila mojavensis* e viés de expressão de genes e TEs em gônadas de *D. mojavensis* e *D. arizonae* e seus híbridos

São José do Rio Preto
2022

Maryanna Cristiano Simão

Exaptação de elementos de transposição (TEs) em *Drosophila mojavensis* e viés de expressão de genes e TEs em gônadas de *D. mojavensis* e *D. arizonae* e seus híbridos

Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Biociências, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, Área de Genética e Biologia Evolutiva, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadores: CAPES
IDEX LYON

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Claudia Marcia Aparecida Carareto

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Cristina Vieira

São José do Rio Preto
2022



N°d'ordre NNT : 2021LYSE1327

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON

Opérée au sein de
L'Université Claude Bernard Lyon 1

Ecole Doctorale

N° ED 341 - Évolution, Écosystèmes, Microbiologie, Modélisation (E2M2)

Spécialité de doctorat :

Discipline : (Eventuellement)

Soutenue publiquement/à São José do Rio Preto, São Paulo, Brésil le
17/12/2021, par :

Maryanna Cristiano Simão

Exaptation d'éléments transposables (TEs) chez *Drosophila mojavensis* et biais d'expression des gènes et des TEs chez les gonades de *D. mojavensis* et *D. arizonae* et leurs hybrides

Devant le jury composé de :

Lilian Ravazzi, Prof, UNESP (qui pourrait être présidente), Université d'état Paulista São José do Rio Preto (Brésil) : Examinatrice

Maria del Pilar Garcia Guerreiro, Professeure Université Autonome de Barcelone (Espagne) : Rapporteur

Elgion Lucio da Silva Loreto, Professeur, Université Fédérale de Santa Maria (Brésil) : Rapporteur/Examineur

Gustavo Campos e Silva Kuhn, Professeur, Université du Minas Gerais (Brésil) : Rapporteur/Examineur

Marie Fablet, MCU HDR, Université Lyon1 (France): Examinatrice

Claudia Marcia Aparecida Carareto Professeur Université d'état Paulista São José do Rio Preto : Co-Directrice de thèse

Cristina Vieira, Professeure, Université Lyon1 (France) : Directrice de thèse

Simão, Maryanna Cristiano

Exaptação de elementos de transposição (TEs) em *Drosophila mojavensis* e viés de expressão de genes e TEs em gônadas de *D. mojavensis* e *D. arizonae* e seus híbridos / Exaptation d'éléments transposables (TEs) chez *Drosophila mojavensis* et biais d'expression des gènes et des TEs chez les gonades de *D. mojavensis* et *D. arizonae* et leurs hybrides / Maryanna Cristiano Simão. – São José do Rio Preto, 2022

139 p. : il., tabs., maps

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientadora: Claudia Marcia Aparecida Carareto

Tese (doutorado) – Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon

Orientadora: Cristina Vieira

1. Elementos de Transposição. 2. Exaptação. 3. Genes com viés sexual. 4. Híbridos. 5. *Drosophila*. I. Título.

Ficha catalografica gerada pela autora

Essa ficha não pode ser modificada

Maryanna Cristiano Simão

Exaptação de elementos de transposição (TEs) em *Drosophila mojavensis* e viés de expressão de genes e TEs em gônadas de *D. mojavensis* e *D. arizonae* e seus híbridos

Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Biociências, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, Área de Genética e Biologia Evolutiva, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadores:

CAPES

IDEX LYON

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Claudia Marcia Aparecida

Carareto
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Cristina Vieira

Comissão Examinadora

Prof^a Dr^a Claudia Marcia Aparecida CARARETO
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto – Orientadora

Prof^a Dr^a Cristina VIEIRA
Université Claude Bernard Lyon1 – Orientadora

Prof^a Dr^a Lilian MADI-RAVAZZI
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto

Prof. Dr. Elgion Lucio da Silva LORETO
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

Prof. D.r Gustavo Campos e Silva KUHN
Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

MCU HDR Dr^a Marie FABLET
Université Claude Bernard Lyon1

São José do Rio Preto
17 de dezembro de 2021

Este trabalho foi realizado sob convenção de co-tutela entre Universidade Estadual Paulista (UNESP) - Brasil e l'Université Claude Bernard (Lyon1 - UCBL) – França, no Laboratório de Evolução Molecular, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE/UNESP) –São José do Rio Preto/SP, e no Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive (LBBE/Lyon1).

Universidade Estadual Paulista (UNESP – IBILCE)
Laboratório de Evolução Molecular
Departamento de Biologia
Rua Cristóvão Colombo, 2265, Jardim Nazareth
15054-000 São José do Rio Preto-SP
Brasil

Université Claude Bernard – Lyon 1
Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive
CNRS UMR 5558
43 Boulevard du 11 novembre 1918
69622 Cedex Villeurbanne

Maryanna CRISTIANO SIMÃO

maryanna.simao@unesp.br
simaomc.bio@gmail.com
maryanna.simao@etu.univ-lyon1.fr

Palavras chaves – Mots clés – Keywords
Elementos de Transposição - Eléments transposables – Transposable elements
Exaptação – Exaptation - Exaptation
Domínios zf-BED - Domaines zf-BED, zf-BED domains
Gene lncRNAs - Gènes lncRNAs – lncRNAs genes
Genes com viés sexual - Gènes liés au sexe -Sex-biased genes
Híbridos - Hybrides – Hybrids
Drosophila mojavensis
Drosophila arizonae

*À Maria, minha avó, melhor amiga, e maior
saúde, que me ensinou o significado de
força.*

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Syllas Simão dos Santos e Lucelaine Aparecida Cristiano Simão dos Santos, e minha irmã Maraynna Cristiano Simão por estarem ao meu lado, tentando entender e me apoiar durante alguns momentos mais difíceis.

Às minhas orientadoras, Claudia Marcia Aparecida Carareto e Cristina Vieira, pela paciência, insistência e perseverança comigo durante todo esse processo. Obrigada por todo o tempo compartilhado, pela Ciência, pelas conversas e por mostrar a diferença entre o caminho mais fácil e o caminho que se deve ser feito. Obrigada por permitirem eu fazer parte desse grupo de mulheres que fazem Ciência e que mudam pessoas.

Aos amigos que eu fiz ao longo dos anos no IBILCE/UNESP, sem os quais não seria possível a finalização dessa jornada, dentre os quais destaco minha amiga e irmã Geisla de Oliveira por conhecer todos meus defeitos continuar ao meu lado. Meu companheiro e parceiro Gabriel Spanghero que participou dos meus melhores e piores devaneios e reverberações ao longo desses anos.

Aos amigos que meus itinerários me trouxeram e que hoje são parte fundamental de meus alicerces, meu amigo e confidente Raphael Silveiras que me mostrou que a paz só é possível através da contradição e caos interior. À Rafaella Garros, minha irmã, que há anos compartilha minhas aflições e medos me auxiliando em toda minha jornada. Também agradeço à minha amiga Natália Novelli que teve participação essencial na minha vida, em uns momentos mais difíceis e maravilhosos, que me mostrou que ainda há esperança para a humanidade, e que há pessoas que são irrevogavelmente boas.

Aos amigos e companheiros de trabalho que tive o prazer de conviver ao longo dos meus 10 anos de trabalho no laboratório de Evolução Molecular, Elaine Silva Dias, Adriana

Granzotto, Wellington Silva, Elias Carnelossi, Raduan Soleman, Marjorie Silva, Luis Gustavo Galego, Marcelo Jurado, Guilherme Matheus, Edoardo Estevam Lobl, Izabella Luisa Tambones, Lucas Moreira, Bianca Manfré, Felipe Santa-Rosa do Amaral e Camila Vieira, destaco em especial Cecilia Ártico Banho por compartilhar ideais e me apoiar durante todo o processo, não me permitindo desistir, também destaco a relação construída com meu amigo e companheiro de luta e proposito de vida William Vilas Boas Nunes, com o qual não compartilho apenas Ciência mas o desejo de um mundo melhor, e por fim, meus principais agradecimentos é para Daniel de Oliveira, amigo que tive o prazer de fazer em Lyon, sem o qual não teria terminado ou desenvolvido essa tese, sem o qual não teria continuado, agradeço a cada conversa e a todas as utopias compartilhadas. Daniel, obrigada!

A todos da Equipe do TREEP e do LBBE, Matthieu Boulesteix, Marie Fablet, Annabelle Haudry. À Nelly Burlet e Sonia Martinez pela paciência que tiveram comigo, e em especial agradeço as pessoas que tornaram minha estadia na França a mais agradável possível, apesar do momento em que estávamos, Pierre Marin, Angelo Jacquet, Valentina Rodrigues, Camille Mayeux, Alexis e Vicent Mérel.

A todos os técnicos, funcionários, e alunos que de alguma forma contribuíram para a finalização deste processo, em especial aos servidores do Pós-Graduação em Biociências.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Campus de São José do Rio Preto, que participou da minha rotina e da minha vida nos últimos 10 anos, e que contribuiu para minha formação como cidadã e pessoa.

À Université Claude Bernard Lyon 1 e ao Laboratoire de Biometrie et Biologie Evolutive, que fizeram parte da maior e mais desafiadora experiência da minha vida, que além da

contribuição acadêmica foram parte fundamental na minha formação como ser histórico-social.

Agradeço a FAPESP pela concessão auxílio fornecido ao meu grupo de pesquisa, sob o processo 2016/19271-2, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Também agradeço a ANR pela concessão auxílio fornecido ao meu grupo de pesquisa, sob o processo 14-CE19-0016, Agence Nationale de la Recherche.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

Elementos de transposição (TEs) são sequências repetitivas de DNA capazes de se mobilizar dentro e entre genomas que devido a essa habilidade, além de efeitos deletérios, podem trazer vantagens ao genoma hospedeiro, tais como o aumento do repertório proteico, ou influenciarem a regulação gênica. O material de estudo desta tese foi o genoma de *Drosophila mojavensis*, uma espécie cactofílica, nativa de regiões áridas e semiáridas, que utiliza como sítio de alimentação e reprodução um recurso menos rico que os utilizados pela maioria das espécies de *Drosophila* e, conseqüentemente, tal hábito deve estar relacionado a adaptações específicas. Como os TEs são fontes importantes de variação genética, particularmente em resposta ao estresse ambiental, como também podem fornecer matéria-prima para o surgimento de genes codificadores de proteínas (PCG) e de RNAs não codificantes (ncRNA), os quais podem assumir funções celulares importantes, um dos objetivos desta tese foi investigar a associação entre TEs e esses genes em espécies cactofílicas, como estratégia para ampliar nossa compreensão sobre a contribuição dos TEs para a evolução adaptativa. Além disso, mesmo sendo a maioria dos genes comuns aos genomas de machos e fêmeas, genes e TEs podem ser expressos diferencialmente entre testículos e ovários. A análise dos transcriptomas das gônadas torna possível investigar como ou se o viés de expressão de genes e de TEs afeta a reprodução de híbridos interespecíficos. A fim de entender melhor essas questões, foi estudado nesta tese o viés de expressão das gônadas de *D. mojavensis* e *D. arizonae* e de seus híbridos recíprocos. Neste estudo mostramos que o conteúdo de TEs representa 13,27% do genoma de *D. mojavensis* e que a proporção de genes que abrigam sequências de TEs dentro dos éxons é de 5,9%, e que a proporção de ordens de TEs dentro destes éxons difere daquela do genoma geral (LINEs: 78,8% > LTR: 18,5% > TIRs: 2,4% > Helitrons: 0,3%). Entre todas as inserções de TEs encontrados nos genes PCG e lncRNA, apenas 19 sequências apresentaram domínios proteicos preservados. Foram identificados vários genes candidatos à exaptação de TEs no genoma *D. mojavensis* e a maioria deles abrigam sítios de ligação ao DNA, particularmente domínios zinc-finger, destacando o papel dos TEs como fonte de novidades funcionais aos genomas, evidenciando que esta associação entre sítios

específicos de ligação de DNA e TEs é recorrente e talvez uma das fontes principais de novidades genômicas. A maioria dos genes e TEs com viés de expressão estão presentes em ambas as espécies parentais, sendo que em testículos a expressão de genes e TEs é cerca de três vezes maior do que em ovários, destacando que a expressão entre as gônadas em *Drosophila* é conservada e característica do grupo. Contudo, existem diferenças específicas de genes com viés de expressão entre as espécies parentais e entre os híbridos, que podem ter um papel importante na reprodução. Além disso, as famílias de TEs superexpressas em testículos são mais diversas que os genes superexpressos, esse fato pode estar diretamente relacionado com a influência dos piRNAs na regulação, principalmente devido ao fato dos piRNAs presente nos híbridos ter um padrão diferente dos encontrados nas espécies parentais.

Palavras-Chaves: Exaptação. Domínios Zf-BED. Genes De LncRNAs. Sex-biased Genes. Expressão Gênica Gonadal. Genes Diferencialmente Expressos. Isolamento Reprodutivo. *Drosophila mojavensis*. *Drosophila arizonae*.

ABSTRACT

Transposable elements (TEs) are repetitive DNA sequences able to mobilize within and between genomes that due to this ability, besides deleterious effects, can bring advantages to the host genome, such as increasing the protein repertoire or influencing gene regulation. The study material of this thesis was the genome of *Drosophila mojavensis*, a cactophilic species, native to arid and semi-arid regions, which uses as feeding and breeding site that is less rich in resource than those used by most *Drosophila* species and, consequently, such habits must be related to specific adaptations. As TEs are important sources of genetic variation, particularly in response to environmental stress, and can also provide raw material for the emergence of protein-coding genes (PCG) and non-coding RNAs (ncRNA), which can assume important cellular functions, one of the objectives of this thesis was to investigate the association between TEs and these genes in cactophilic species, as a strategy to broaden our understanding of TEs contribution to adaptive evolution. Furthermore, even though most genes are common to male and female genomes, genes and TEs may be differentially expressed between testes and ovaries. Analysis of the gonad transcriptomes makes it possible to investigate how or if the expression bias of genes and TEs affects the reproduction of interspecific hybrids. In order to better understand these questions, the expression bias of the gonads of *D. mojavensis* and *D. arizonae* and their reciprocal hybrids was studied in this thesis. In this study, we show that TE content represents 13.27% of the *D. mojavensis* genome and that the proportion of genes harboring TE sequences within exons is 5.9%, and that the proportion of TE orders within these exons differs from that of the overall genome (LINEs: 78.8% > LTR: 18.5% > TIRs: 2.4% > Helitrons: 0.3%). Among all TE insertions

found in PCG and lncRNA genes, only 19 sequences showed preserved protein domains. Several candidate genes for TE exaptation were identified in the *D. mojavensis* genome and most of them harbor DNA-binding sites, particularly zinc-finger domains, highlighting the role of TEs as a source of functional novelties to genomes, evidencing that this association between specific DNA-binding sites and TEs is recurrent and perhaps one of the major sources of genomic novelties. Most sex-biased genes and TEs are present in both parental species, and there are three times more testis-biased genes and TEs than ovary-biased, highlighting that expression between gonads in *Drosophila* is conserved and characteristic of the group. However, there are specific differences in sex-bias expression between parental species and between hybrids, which may play an important role in reproduction. Furthermore, testis-biased TE families are more diverse than testis-biased genes, this fact may be directly related to the influence of piRNAs on the regulation, mainly due to the fact that piRNAs from the hybrids have a different pattern than those found in the parental species.

Keywords: Exaptation. Zf-BED Domains. lncRNA Genes. Sex-biased Genes. Gonadal Gene Expression. Differentially Expressed Genes. Reproductive Isolation. *Drosophila mojavensis*. *Drosophila arizonae*.

RÉSUMÉ

Les éléments transposables (TEs) sont les séquences d'ADN répétitives capables de se mobiliser à l'intérieur et entre les génomes. Grâce à cette capacité, en plus des effets délétères, ils peuvent apporter des avantages au génome de l'hôte, tels que l'augmentation du répertoire de protéines ou influencer la régulation des gènes. Le matériel d'étude de cette thèse était le génome de *Drosophila mojavensis*, une espèce cactophile, originaire des régions arides et semi-arides, qui utilise comme site d'alimentation et de reproduction une niche moins riche en ressources que ceux utilisés par la plupart des espèces de drosophiles. Par conséquent, ce comportement doit être liées à des adaptations spécifiques. Comme les TE sont des sources importantes de variation génétique, notamment en réponse au stress environnemental, ils peuvent également fournir de la matière première pour l'émergence de gènes codant pour des protéines (PCG) et d'ARN non codants (ncARN), l'un des objectifs de cette thèse était étudier l'association entre les ET et ces gènes chez les espèces cactophiles, comme stratégie pour élargir notre compréhension de la contribution des ET à l'évolution adaptative. En outre, même si la plupart des gènes sont communs aux génomes mâles et femelle, les gènes et les TE peuvent être exprimés de manière différente entre les sexes et en particulier entre les tissus germinaux. L'analyse des transcriptomes des gonades permet d'étudier comment ou si le biais d'expression des gènes et de TEs affecte la reproduction des hybrides interspécifiques. Afin de mieux comprendre ces questions, le biais d'expression des gonades de *D. mojavensis* et *D. arizonae* et de leurs hybrides réciproques a été étudié dans cette thèse. Dans cette étude, nous montrons que le contenu en TE représente 13,27% du génome de *D. mojavensis* et que la proportion de

gènes hébergeant des séquences TE au sein d'exons est de 5,9%, et que la proportion des ordres de TE au sein de ces exons diffère de celle du génome global (LINEs: 78,8% > LTR: 18,5% > TIRs: 2,4% > Helitrons: 0,3%). Parmi toutes les insertions de TE trouvées dans les gènes PCG et lncRNA, seules 19 séquences ont montré des domaines protéiques conservés. Plusieurs gènes candidats pour l'exaptation de TEs ont été identifiés dans le génome de *D. mojavensis* et la plupart d'entre eux contiennent des sites de liaison à l'ADN, en particulier des domaines à doigts de zinc, soulignant le rôle des TEs comme source de nouveautés fonctionnelles pour les génomes, prouvant que cette association entre des sites spécifiques de liaison à l'ADN et des TEs est récurrente et peut-être l'une des principales sources de nouveautés génomiques. La plupart des gènes et TEs ont une expression sexe biaisé, avec une expression trois fois supérieures de gènes et TE dans les testicules. Cependant, il existe des différences spécifiques dans l'expression des gènes et TE, entre les espèces parentales et entre les hybrides, qui peuvent jouer un rôle important dans la reproduction. En outre, les familles de TEs surexprimés dans testicules sont très diversifiées, ce fait peut être directement lié à la production de piRNAs qui sont responsables de la régulation des TE.

Mots clés: Exaptation. Domaines Zf-BED. Gènes LncRNAs. Gènes Liés Au Sexe. Expression Gonadique. Gènes Différentiellement Exprimés. Isolement Reproductif. *Drosophila mojavensis*. *Drosophila arizonae*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Introdução

- Figura 1 - Mecanismos pelos quais os TEs podem gerar novidades genômicas29
- Figura 2 - Distribuição das espécies de *D. mojavensis* e *D. arizonae* utilizadas neste estudo35

Chapter One

- Figura 1 - Representation of *D. mojavensis* TE content and percentage of TEs contribution to the mobilome44
- Figura 2 - Distribution of lengths of TE insertions into 5'UTR (green), 3'UTR (red), exons (blue), and introns (gray)46
- Figura 3 - Proportion of TE insertions of each order in the *D. mojavensis* genes and genome. 5' UTR (red), 3' UTR (green), exon (blue), intron (grey) and genome (black) 47
- Figura 4 - Hopseu2 insertions within genes of *D. mojavensis*51
- Figura 5 - Galileo insertions in the 5' UTR of multidrug resistance-associated protein 7 gene and the coverage of expression in *D. mojavensis* transcriptome52
- Figura 6 - Homo 10 insertion in exon of lncRNA genes and the coverage of expression in *D. mojavensis* transcriptome56
- Figura 7 - Additional file 3. Amino acid alignment of exon 1 of the metalloprotease76 genes78
- Figura 8 - Additional file 4. Phylogenetic analysis (maximum likelihood) of exon1 of genes that present ZnMc domain79
- Figura 9 - Additional file 5. The alignment between the Hopseu2 sequence described and identified in *D. pseudoobscura* genome (NC_046679.1) and Hopseu2 present in intergenic region of *D. mojavensis* genome80

Chapter Two

- Figura 1 - Box plot. Box Plot representation of the distribution of log₂ fold-change of the parental species and their hybrids91
- Figura 2 - Scatter plots of RNA-seq normalized counts of genes of gonads in *D. mojavensis* and *D. arizonae*92
- Figura 3 - Venn diagram of testis-biased and ovary-biased orthologous genes in *D. mojavensis* and *D. arizonae* and reciprocal hybrids93
- Figure 4 - Gene enrichment analysis for testis-biased genes in *D. mojavensis* and *D. arizonae* and reciprocal hybrids96

Figura 5 - Ovary-biased genes in <i>D. mojavensis</i> and <i>D. arizonae</i> and reciprocal hybrids. The plot represents the Gene enrichment analysis of all species	99
Figura 6 - Scatter plots of log10 TE normalized counts in gonads of <i>D. mojavensis</i> and <i>D. arizonae</i> and their reciprocal hybrids	101
Figura 7 - Venn diagram of testis-biased TEs in <i>D. mojavensis</i> and <i>D. arizonae</i> and reciprocal hybrids	102
Figura 8 - Relationship between piRNA normalized counts between gonads in <i>D. mojavensis/D. arizonae</i> and their hybrids	105
Figura 9 - Supp Figure 1 Heatmap. Heatmap of normalized counts of the parental species and their hybrids	120
Figura 10 - Supp Figure 2. Difference between gonad replicates	121
Figura 11 - Supp figure 3. Principal component analysis of normalized counts of transcriptome gonads replicates of <i>D. melanogaster</i>	122

LISTA DE TABELAS

Chapter One

Tabela 1 - TE insertions in exons, 5' and 3'UTRs of PCGs and in lncRNA genes. TE families identified, genomic position of TE insertion, domain identified in the TE, predicted domain, and predicted gene function	48
Tabela 2 - Additional file 1. The NCBI access of each sequence species used to phylogenetic analyses	76
Tabela 3 - Additional file 2. TE content and superfamilies percentage identified in <i>D. mojavensis</i> genome (193.83 Mb)	77

Chapter Two

Tabela 1 - Total number of sex-biased genes for each sample, number of orthologous from <i>D. melanogaster</i> in parentheses and the mean of log ₂ LC	90
Tabela 2 - GO terms of testis-biased exclusive of one parental species	94
Tabela 3 - TOP15 enriched GO terms of DEG found in just one of the parental species	98
Tabela 4 - Relation between normalized counts from piRNAs and normalized counts from TEs in each gonad for all comparisons	103
Tabela 5 - Relation between normalized counts from piRNAs of ovaries and testes for all comparisons	104
Tabela 6 - Supp table 1. GO terms found for genes male-biased between <i>D. mojavensis</i> gonads	122
Tabela 7 - Supp table 2. GO terms found for genes male-biased between <i>D. arizonae</i> gonads	122
Tabela 8 - Supp table 3. GO terms found for genes male-biased between H♀mwri♂ari gonads	122
Tabela 9 - Supp table 4. GO terms found for genes male-biased between H♀ari♂mwri gonads	122
Tabela 10 - Supp table 5. GO terms found for genes female-biased between <i>D. mojavensis</i> gonads	122
Tabela 11 - Supp table 6. GO terms found for genes female-biased between <i>D. arizonae</i> gonads	122
Tabela 12 - Supp table 7. GO terms found for genes female-biased between H♀mwri♂ari gonads	122

Tabela 13 - Supp table 8. GO terms found for genes female-biased between H♀ari♂mwri gonads	122
---	-----

LISTA DE ABREVIÇÕES

DEG – Genes diferencialmente expressos

DETE – Elementos de transposição diferencialmente expressos

Drosophila arizonae – *D. ari*

Drosophila mojavensis – *D. moj*

GO – Gene Ontology

H_{♀ari}♂^{wri} - *D. arizonae* ♀ x *D. m. wrigleyi* ♂

H_{♀m^{wri}}♂^{ari} - *D. arizonae* ♂ x *D. m. wrigleyi* ♀

LINEs - Long Interspersed Nuclear Elements

lncRNAs - RNAs não codificantes longos

ncRNAs - RNAs não codificantes

PCA - Principal Component Analysis

PCG - Genes codificadores de proteínas

piRNA - Piwi-interacting RNA

RNA_m - RNA mensageiro

SINEs - Short Interspersed Nuclear Elements

TEs - Elementos de transposição

TIRs - Terminal inverted repeat

UTRs - untranslated regions

zf - zinc finger

ZnMc - Zinc-dependent metalloprotease

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
1.1 Elementos de transposição e o papel de dessas sequências na evolução genômica	24
1.2 Expressão diferencial de genes e TEs em gônadas	29
1.3 <i>D. mojavensis</i> e <i>D. arizonae</i> como modelos de estudo	34
2 OBJETIVOS	37
2.1 Objetivo Geral	37
2.2 Objetivos Específicos	37
3 Chapter One Transposable elements in <i>Drosophila</i> as drivers of genome evolution: the mobilome of <i>Drosophila mojavensis</i>	39
4 Chapter Two Sex-biased genes and transposable elements expression in gonads of <i>Drosophila mojavensis</i> and <i>D. arizonae</i> and their reciprocal hybrids.....	81
5 DISCUSSÃO	123
6 CONCLUSÕES	131

1 INTRODUÇÃO

Ao longo das várias décadas de estudos genéticos e genômicos muitas hipóteses foram criadas, validadas ou refutadas, dentre elas, a ideia de que os genes eram unidades fixas nos cromossomos e de que o genoma era estável. O conceito de estabilidade genômica foi desafiado no final da década de 40 por Barbara McClintock (MCCLINTOCK 1950) com a descrição de sequências genéticas em milho que podiam mudar de posição nos cromossomos e, dependendo do local onde se inseriam, podiam alterar reversivelmente o fenótipo do grão. A descrição dessas sequências de DNA móveis, e medianamente repetidas, em praticamente todos os organismos, denominadas elementos de transposição (TEs), iniciou um novo capítulo e um novo universo dentro do corpo de conhecimento sobre a estrutura e funcionamento do genoma. Entretanto, o reconhecimento sobre o papel desempenhado pelos TEs e o impacto de sua existência nos genomas sempre foi uma pauta muito controversa (BIÉMONT, 2010). Atualmente, há consenso que devido à capacidade intrínseca de se movimentarem no genoma grande parte das inserções de TEs tendem a ser desvantajosas, ou neutras; dependendo do local de inserção e da restrição funcional do mesmo, entretanto, eventualmente, algumas inserções podem desempenhar um papel funcional e adaptativo (BROSIUS, 1991; MCDONALD, 1993; MCDONALD, 1995; SHAPIRO, 1999; KIDWELL; LISCH, 2001). Isso é possível porque os TEs são sequências complexas, portadoras de domínios proteicos e sítios de fatores de ligação, que podem ser recrutadas e utilizadas pelo genoma hospedeiro (WICKER *et al.*, 2007; SUNDARAM *et al.*, 2014). Esta fração genômica repetitiva é coletivamente referida como mobiloma (do Inglês, *mobilome*), juntamente com outras repetições genômicas (KOONIN; WOLF 2008).

6 CONCLUSÕES

A partir da presente tese foi possível concluir:

1. A importância funcional dos TEs no genoma de *D. mojavensis* foi evidenciada nesse estudo. Identificamos diversos genes candidatos a exaptação de TEs, particularmente transposons de DNA que abrigam sítios de ligação de DNA, principalmente do tipo *zinc-finger*. Tais eventos parecem ter sido recorrentes na evolução dos genomas.
2. A diferença de expressão gênica e de TEs entre testículos e ovários nas espécies de *D. mojavensis* e *D. arizonae* é extensa e concordante com os estudos reportados anteriormente em *Drosophila*. Em testículos, a expressão de genes e TEs é cerca de três vezes maior do que em ovários, sendo que, globalmente a grande maioria dos genes e TEs superexpressos são os mesmos em ambas espécies parentais, evidenciando que a expressão entre as gônadas em *Drosophila* é conservada e característica do grupo.
3. Os híbridos, assim como as espécies parentais, apresentaram grande viés de expressão entre as gônadas e proporções similares de genes e TEs superexpressos. Contudo, encontramos diferenças de expressão em genes específicos que podem ter um papel importante na reprodução. Além disso, as

famílias de TEs superexpressas em testículos são mais diversas que os genes superexpressos, esse fato pode estar diretamente relacionado com a influência dos piRNAs na regulação do mobiloma

4. A regulação dos TEs em ovários foi marcante, evidenciada pelo baixo número de famílias de TEs superexpressas encontradas nessa gônada. Adicionalmente, ovários apresentam mais *counts* de piRNAs do que testículos, evidenciando que a regulação dos TEs pode estar diretamente relacionada a mecanismos de controle dos piRNAs. Ainda, em híbridos, observamos que as *counts* de piRNAs apresentam um padrão diferente das *counts* de piRNAs presentes nas espécies parentais.

7 REFERÊNCIAS

- ARENSBURGER, P., *et al.*, Phylogenetic and functional characterization of the hAT transposon superfamily. **Genetics**, v. 188, p. 45-57, 2011.
- ASSIS, R.; ZHOU Q.; BACHTROG, D. Sex-biased transcriptome evolution in *Drosophila*. **Genome Biol Evol**, v. 4, n.11, p. 1189-200, 2012.
- BANHO, C. A., MÉREL, V., OLIVEIRA, T.Y.K, CARARETO, C.M.A, VIEIRA, C., Comparative transcriptomics between *Drosophila mojavensis* and *D. arizonae* reveal transgressive gene expression and underexpression of spermatogenesis-related genes and hybrid testes. *Scientific Reports*, 2021.
- BANISCH, T.U., GOUDARZI, M., RAZ, E., Small RNAs in germ cell development. **Curr Top Dev Biol**, v. 99, p. 79–113. 2012.
- BIÉMONT C. A brief history of the status of transposable elements: from junk DNA to major players in evolution. **Genetics**, v. 186, n. 4, p. 1085-93, 2010.
- BRENNECKE, J. et al. Discrete small RNA-generating loci as master regulators of transposon activity in *Drosophila*. **Cell**, v. 128, n. 6, 1089–103, 2007.
- BRITTEN R. Transposable elements have contributed to thousands of human proteins. **PNAS**, v. 103, p. 1798–803, 2006.
- BROSIUS, J., Retroposons-seeds of evolution. **Science**, v. 251, n. 4995, p.753, 1991.
- BUNDOCK, P., HOOYKAAS, P., An Arabidopsis hAT-like transposase is essential for plant development. **Nature**, v. 436, p. 282–4, 2005.
- CAPY, P.; GASPERI, G. BIÉMONT, C.; Bazin, C. Stress and transposable elements: co-evolution or usefulparasites? **Herediy**, v. 85, p. 101-106, 2000.
- CARLEVARO-FITA, J., *et al.* Ancient exapted transposable elements promote nuclear enrichment of human long noncoding RNAs. **Genome Res**, v. 29, n. 2, p. 208-222, 2019.
- CARNELOSSI, E. A. G. et al. Specific activation of an I-like element in *Drosophila* interspecific hybrids. *Genome Biology Evolution*. v. 6, n. 7, p. 1806–1817, 2014.
- CARR, M., BENSASSON D., BERGMAN CM. Evolutionary genomics of transposable elements in *Saccharomyces cerevisiae*. **PLoS One**, v.7, n. 11, p. 50978, 2012.
- CASTRO, M. R. J., *et al.*, “Homology-Free Detection of Transposable Elements Unveils Their Dynamics in Three Ecologically Distinct *Rhodnius* Species.” **Genes**, v. 11, n. 2, p. 170, 2020.

- CHARLESWORTH, B., The effect of life history and mode of inheritance on neutral genetic variability. **Genet. Res.** v. 77, p. 157-166, 2001.
- CHU, C., *et al.* Systematic discovery of Xist RNA binding proteins. **Cell**, v. 161, p. 404–16, 2015
- CHUONG, E.B., ELDE, NC., FESCHOTTE C. Regulatory activities of transposable elements: from conflicts to benefits. **Nat Rev Genet**, v.18, n. 2, p.71–86, 2017.
- CHUONG, E.B., ELDE, NC., FESCHOTTE C. Regulatory evolution of innate immunity through co-option of endogenous retroviruses. **Science**, v. 351(6277), p. 1083–7, 2016.
- CLARK, A. G., *et al.* Evolution of genes and genomes on the *Drosophila* phylogeny. **Nature**, v. 450, p. 203–18. 2007.
- Congrains, C., *et al.* Evidence of Adaptive Evolution and Relaxed Constraints in Sex-Biased Genes of South American and West Indies Fruit Flies (Diptera: Tephritidae). **Genome Biol Evol**, v. 10, n. 1, p. 380-395, 2018.
- ELISAPHENKO, E.A., *et al.* A dual origin of the Xist gene from a protein-coding gene and a set of transposable elements. **PLoS One**, v. 3 p. 1–11, 2008.
- ELLEGREN, H., PARSCH, J., The evolution of sex-biased genes and sex-biased gene expression. **Nat Rev Genet**, v. 8, n. 9, p. 689–98, 2007.
- ETCHEGARAY, E., NAVILLE, M., VOLFF, J. N., HAFTEK-TERREAU, Z., Transposable element-derived sequences in vertebrate development. **Mobile DNA**, v. 12, p. 1-24, 2021.
- ETGES WJ., ETGES' W.J., Divergence in Cactophilic *Drosophila*: The Evolutionary Significance of Adult Ethanol Significance of Adult Ethanol Metabolism. **Source Evol**, v. 43, p. 1316–1319, 1989.
- FABLET, M. Host Control of insect endogenous retroviruses: Small RNA silencing and immune response. **Viruses**, v. 6, n. 11, p. 4447-64, 2014.
- FESCHOTTE, C.; PRITHAM E. J.; DNA transposons and the evolution of eukaryotic genomes. **Annu Rev Genet**, v. 41, p. 331–68, 2007.
- FINNEGAN, D. J., Eukaryotic transposable, 1989.
- FORT, V., KHELIFI, G., HUSSEIN, S. M I., Long non-coding RNAs and transposable elements: A functional relationship. **Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res**, v. 1868, p. 118837, 2021.
- GARCIA-PEREZ, J. L., WIDMANN, T. J., ADAMS, I. R., The impact of transposable elements on mammalian development. **Development**. v. 143, n. 22, p. 4101–14, 2016.
- GRANZOTTO, A.; CRUZ, G. M. Q. Regulação de Elementos de Transposição: Mecanismos Espigenéticos de Silenciamento, Autorregulação e Ativação por Estresse

em: Carareto, C. M. A.; Monteiro Vitorello, C. B.; Sluys, M. V. Elementos de Transposição Diversidade, evolução, aplicações e impacto os genomas dos seres vivos. Cap. 4, Ed. Fiocruz, 2015.

GUERREIRO, MP. Interspecific hybridization as a genomic stressor inducing mobilization of transposable elements in *Drosophila*. *Mob Genet Elements*. v. 4, p. e34394-1-e34394-1, 2014.

GUILLÉN, Y. *et al.* Genomics of Ecological Adaptation in Cactophilic *Drosophila*. **Genome Biology and Evolution**, v. 7, p. 349–366, 2015.

GUNAWARDANE, L. S., *et al.*, A slicer-mediated mechanism for repeat-associated siRNA 5' end formation in *Drosophila*. **Science**, v. 315, n. 5818, p. 1587–1590, 2007.

HAERTY, W., *et al.* Evolution in the fast lane: rapidly evolving sex-related genes in *Drosophila*. **Genetics**, v. 177, p. 1321–35, 2007.

HALDANE, J., B.S. Sex ratio and unisexual sterility in animal hybrids. **Journal of Genetics**, v. 12, n. 101, p. 101–109, 1922.

HANDLER, D., *et al.* The genetic makeup of the *Drosophila* piRNA pathway. **Mol Cell**, v. 50, p. 762–777. 2013.

HANS, E., PARSCH J. The evolution of sex-biased genes and sex-biased gene expression. **Nat Rev Genet**, v. 8, n. 9, p. 689-98, 2007.

HAYWARD, A., GHAZAL, A., ANDERSSON, G., ANDERSSON, L., JERN, P., ZBED Evolution: Repeated Utilization of DNA Transposons as Regulators of Diverse Host Functions. **PLoS One**, v. 8, 2013.

HUANG, X., FEJES TOTH K., ARAVIN, A.A., PiRNA biogenesis in *Drosophila melanogaster*. **Trends Genet**, v. 33, p. 882–894, 2017.

JANGAM, D., FESCHOTTE, C., BETRÁN, E., Transposable element domestication as an adaptation to evolutionary conflicts. **Trends Genet**, v. 33, n. 11, p. 817–31, 2017.

JOHNSON, R., GUIGÓ R., The RIDL hypothesis: Transposable elements as functional domains of long noncoding RNAs. **Rna**, v. 20, n. 9, p. 59–76, 2014.

JULIANO, C., WANG, J., LIN, H. Uniting germline and stem cells: The function of Piwi proteins and the piRNA pathway in diverse organisms. **Annu RevGenet**, v. 45, p. 447–469, 2011.

JURKA, J., *et al.*, Repbase Update, a database of eukaryotic repetitive elements. **Cytogenet Genome Res**, v. 110, n. 1-4, p. 462-7, 2005.

KAPITONOV, V.; JURKA, J., Rolling-circle transposons in eukaryotes. **Proc Natl Acad Sci U S A**. v. 98:8, p. 714–9, 2001.

- KELLEHER, E. S., MARKOW, T. A., Reproductive Tract Interactions Contribute to Isolation in *Drosophila*. *Fly*. 2007; v. 1, n. 1, p.33-37, 2007.
- KHURANA, J.S., THEURKAUF, W., iRNAs, transposon silencing, and *Drosophila* germline development. **J Cell Biol**, v. 191, p. 905–913, 2010.
- KIDWELL, M. G., LISCH, D.R., Transposable elements and host genome evolution. **Trends Ecol Evol**, v. 15, n. 3, p. 95–9, 2000.
- KOFLER, R., NOLTE, V., SCHLÖTTERER, C., Tempo and Mode of Transposable Element Activity in *Drosophila*. **PLoS Genet**, v. 11, n. 7, 2012.
- KOONIN, E. V., WOLF, Y. I., Genomics of bacteria and archaea: The emerging dynamic view of the prokaryotic world. **Nucleic Acids Res**, v. 36, 6688–719, 2008.
- LAKHOTIA, S. C., MALLIK, M., SINGH, A. K., RAY, M., The large noncoding hsrw-n transcripts are essential for thermotolerance and remobilization of hnRNPs, HP1 and RNA polymerase II during recovery from heat shock in *Drosophila*. **Chromosoma**, v. 121, p. 49–70, 2012.
- LAN, X., *et al.* A novel long noncoding RNA Lnc-HC binds hnRNPA2B1 to regulate expressions of Cyp7a1 and Abca1 in hepatocytic cholesterol metabolism. **Hepatology**, v. 64, p. 58–72, 2016.
- LANDER, E. S., *et al.* Initial sequencing and analysis of the human genome. **Nature**, v. 409, p. 860–921, 2001.
- LEE, H. E., AYARPADIKANNAN, S., KIM, H. S., Role of transposable elements in genomic rearrangement, evolution, gene regulation and epigenetics in primates. **Genes Genet Syst**, v. 90, n. 5, p. 245–57, 2015.
- LERAT, E. *et al.* TEtools facilitates big data expression analysis of transposable elements and reveals an antagonism between their activity and that of piRNA genes. **Nucleic Acids Res**, v. 45, n. 4, p. e17, 2017.
- LIPINSKA, A., *et al.* Sexual dimorphism and the evolution of sexbiased gene expression in the brown alga ectocarpus. **Mol Biol Evol**, v. 32, n. 6, p. 1581–97, 2015.
- LOPEZ-MAESTRE, H. *et al.* Identification of misexpressed genetic elements in hybrids between *Drosophila*-related species. **Scientific Report**, v. 7, n. 40618, 2017.
- LOPEZ-MAESTRE, H. *et al.* Identification of misexpressed genetic elements in hybrids
- LYNCH M. The origins of genome architecture, Sunderland (MA) Sinauer, 2007.
- Lyon, M., Gene action in the X-chromosome of the mouse (*Mus musculus* L) **Nature**, v. 190, p. 372–373, 1961.
- MAEDA, R.K., *et al.* The lncRNA male-specific abdominal plays a critical role in *Drosophila*

accessory gland development and male fertility. **PLoS Genet**, v.14, p.1–22, 2018.

MARKOW, T. A.; O'GRADY, P. Reproductive ecology of *Drosophila*. **Functional Ecology**, v. 22, n. 5, p. 747–759, 2008.

MATZKIN, L. M.; MARKOW, T. A. Transcriptional regulation of metabolism associated with the increased desiccation resistance of the cactophilic *Drosophila mojavensis*. **Genetics**, v. 182, n. 4, p. 1279–1288, 2009.

MCCLINTOCK, B., Controlling elements and the gene. **Cold Spring Harb Symp Quant Biol** v. 21, p. 197–216.

MCDONALD, J. F., Evolution and consequences of transposable elements. **Curr Opin Genet Dev**, v. 3, n. 6, p. 855-64, 1993.

MEIKLEJOHN, C. D., LANDEEN, E. L., COOK, J. M., KINGAN, S. B., PRESGRAVES D. C., Sex chromosome-specific regulation in the *Drosophila* male germline but little evidence for chromosomal dosage compensation or meiotic inactivation. **PLoS Biol**, v. 9, n. 8, p. e1001126, 2011.

MEIKLEJOHN, C. D., PARSCH, J., RANZ, J. M., HARTL, D. L., Rapid evolution of male-biased gene expression in *Drosophila*. **PNAS**, v. 100, n. 17, p. 9894-9. 2003.

MEIKLEJOHN, C. D., PRESGRAVES, D. C., Little evidence for demasculinization of the *Drosophila* X chromosome among genes expressed in the male germline. **Genome Biol Evol**, v. 4, n. 10, p. 1007-16, 2012

MÉREL, V., *et al.* The Worldwide Invasion of *Drosophila suzukii* Is Accompanied by a Large Increase of Transposable Element Load and a Small Number of Putatively Adaptive Insertions. **Mol Biol Evol**, v. 38, p. 4252–67, 2021.

MOHN, F. The Rhino-Deadlock-Cutoff complex licenses noncanonical transcription of dual-strand piRNA clusters in *Drosophila*. **Cell**, v. 157, p. 1364-1379, 2014.

MUEHLBAUER, G. J., *et al.* A hAT superfamily transposase recruited by the cereal grass genome. **Mol Genet Genomics**, v. 275, p. 553–63, 2006.

MURAOKA Y., *et al.* Genetic screening of the genes interacting with *Drosophila* FIG4 identified a novel link between CMT-causing gene and long noncoding RNAs. **Elsevier**, v. 310, p. 1–13, 2018.

PARDUE, M., LOU., DEBARYSHE, P. G., Retrotransposons Provide an Evolutionarily Robust Non-Telomerase Mechanism to Maintain Telomeres. **Annu Rev Genet**. v. 37, p. 485–511, 2003.

PARISI M., *et al.* Paucity of genes on the *Drosophila* X chromosome showing male biased expression. **Science**, v. 299, p. 697–700. 2003.

PARISI, M., *et al.* A survey of ovary-, testis-, and soma-biased gene expression in *Drosophila melanogaster* adults. **Genome Biol**, v. 5, n. 6, p. R40, 2004.

PEASE, B., BORGES, A. C., BENDER, W., Noncoding RNAs of the Ultrabithorax domain of the *Drosophila* bithorax complex. **Genetics**, v. 195, p. 1253–64, 2013.

PICARD, G., Non-mendelian female sterility in *Drosophila melanogaster*: hereditary transmission of I factor. **Genetics**, v. 83, p. 107–123, 1976.

PICCOLO, L., JANTRAPIROM, S., NAGAI, Y., YAMAGUCHI, M., FUS toxicity is rescued by the modulation of lncRNA hsrw expression in *Drosophila melanogaster*. **Springer US**, v. 7, p. 1–17, 2017.

PIEGU, *et al.* Doubling genome size without polyploidization: Dynamics of retrotransposition-driven genomic expansions in *Oryza australiensis*, a wild relative of rice. **Genome Research**, v.16, p. 1262-1269, 2011.

RIUS, N. *et al.* Exploration of the *Drosophila buzzatii* transposable element content suggests underestimation of repeats in *Drosophila* genomes. **BMC Genomics**, v. 17, p. 344, 2016.

ROBINSON, B.S., HUANG, J., HONG, Y., MOBERG, K. H., Crumbs regulates Salvador/Warts/Hippo signaling in *Drosophila* via the FERM-domain protein Expanded. **Curr Biol**, 2010.

ROJAS-RÍOS, P., SIMONELIG, M., piRNAs and PIWI proteins: regulators of gene expression in development and stem cells. **Development**, v. 145, n. 17, 2018.

ROMERO-SORIANO, V. *et al.* Transposable element misregulation is linked to the divergence between parental piRNA pathways in *Drosophila* Hybrids. **Genome Biol. Evol.** v. 9, n.6, p.1450–1470, 2017.

RUIZ, A.; HEED, W. B. Host-Plant Specificity in the Cactophilic *Drosophila mulleri* Species Complex. **Journal of Animal Ecology**, v. 57, p. 237, 1988a.

RUIZ, A.; HEED, W. B. Host-Plant Specificity in the Cactophilic *Drosophila mulleri* Species Complex. **Journal of Animal Ecology**, v. 57, p. 237–249, 1988b.

RUIZ, A.; HEED, W. B.; WASSERMAN, M. Evolution of the *mojavensis* cluster of cactophilic *Drosophila* with descriptions of two new species. **The Journal of heredity**, v. 81, p. 30–42, 1990.

SCHNABLE, P. S., *et al.* The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics. **Science**, v. 326, p. 1112-1115, 2009.

SCHRADER, L., SCHMITZ, J., The impact of transposable elements in adaptive evolution. **Mol Ecol**, v. 28, p. 1537–49, 2019.

SESSEGOLO, C., BURLET, N., HAUDRY, A., Strong phylogenetic inertia on genome size and transposable element content among 26 species of flies. **Biol Lett**, v. 12:0–3 2016.

SHAPIRO, J. A., Transposable elements as the key to a 21st century view of evolution, **Genetica**, v. 107, p. 171–179, 1999.

SHEEN, F. M., LEVIS, R. W., Transposition of the LINE-like retrotransposon TART to *Drosophila* chromosome termini. **Proc Natl Acad Sci U S A**. v. 91, p. 12510–4, 1994.

SINZELLE, L., IZSVÁK, Z., IVICS, Z., Molecular domestication of transposable elements: from detrimental parasites to useful host genes. **Cell Mol Life Sci**, v. 66, n. 6, p. 1073-93, 2009.

SMALL, C. M., CARNEY, G. E. M., VANNUCCI, M., JONES, A. G., A microarray analysis of sex- and gonad-biased gene expression in the zebrafish: evidence for masculinization of the transcriptome. **BMC Genomics**, v. 10:579, 2009.

SUNDARAM, V., *et al.* Widespread contribution of transposable elements to the innovation of gene regulatory networks. **Genome Res**. **24**, p. 1963-1976, 2014.

TONEGAWA, S., Somatic generation of antibody diversity. **Nature**, v. 302, p. 575–81, 1983.

VALANNE, S., WANG, J. H., RÄMET, M., The *Drosophila* Toll Signaling Pathway . **J Immunol**, v. 186, p. 649–56, 2011.

VELA, D., FONTDEVILA, A., VIEIRA C., GARCÍA GUERREIRO, M.P. A genome-wide survey of genetic instability by transposition in *Drosophila* hybrids. *PLoS One*. v. 9, p. e88992, 2014.

VOLFF, J. N., Turning junk into gold: Domestication of transposable elements and the creation of new genes in eukaryotes. **BioEssays**, v. 28, p. 913–22, 2006.

WARREN IA., *et al.* Evolutionary impact of transposable elements on genomic diversity and lineage-specific innovation in vertebrates. **Chromosome Res**, v. 23, n. 3, p. 505–31, 2015.

WEICK, E.M., MISKA, E.A., PiRNAs: From biogenesis to function. **Development**, v. 141, p. 3458–3471, 2014.

WHITTLE, C. A., EXTAVOUR, C. G., Rapid evolution of ovarian-biased genes in the yellow fever mosquito (*Aedes aegypti*). **Genetics**. v. 206, n. 4, p. 2119–37, 2017.

WHITTLE, C. A., EXTAVOUR, C. G., Selection shapes turnover and magnitude of sex-biased expression in *Drosophila* gonads. **BMC Evol Biol**, v. 19, n. 1, p. 60, 2019.

WHITTLE, C. A., JOHANNESSON, H. Evolutionary dynamics of sex-biased genes in a hermaphrodite fungus. **Mol Biol Evol**, v. 30, n. 11, p. 2435-46, 2013.

WICKER, T., *et al.* A unified classification system for eukaryotic transposable elements. **Nat Rev Genet**, v. 8, p. 973–82, 2007.

WRIGHT, S., FINNEGAN D., Genome evolution: sex and the transposable element. **Curr Biol**, v.11, n. 8, p. R296–9, 2001.

WUTZ, A., RASMUSSEN, T. P., JAENISCH, R., Chromosomal silencing and localization are mediated by different domains of Xist RNA. **Nat Genet**, v. 30, p. 167–74, 2002.

YELLAN, I., YANG, A. W. H., HUGHES, T. R. Diverse Eukaryotic CGG-Binding Proteins Produced by Independent Domestications of hAT Transposons. **Mol Biol Evol**, v.38, p. 2070–5, 2021.

ZHANG, Y., STURGILL, D., PARISI, M., KUMAR, S., OLIVER, B., Constraint and turnover in sex biased gene expression in the genus *Drosophila*. **Nature**. v. 450, n. 7167, p. 233–7, 2007.

ZHANG, Z., HAMBUCH, T. M., PARSCH, J., Molecular evolution of sex-biased genes in *Drosophila*. **Mol Biol Evol**, v. 21, n. 11, p. 2130–9, 2004.