

## Analiza genotipică a unor populații de *Drosophila melanogaster* colectate din Grădina Botanică București

Sînziana POPESCU, Adrian IONAȘCU, Ana Maria FLORESCU, Attila Cristian RAȚIU, Universitatea din București, Facultatea de Biologie, Departamentul de Genetică

**Introducere:** Grădina Botanică (GB) din București reprezintă o colecție de mini-biocenoze cu floră specifică, ceea ce poate influența distribuția și caracteristicile unor specii de insecte rezidente. În decursul a două săptămâni de toamnă au fost colectați prin utilizarea unor capcane specifice indivizi aparținând speciilor *Drosophila melanogaster*, *D. sukuzii*, *D. subobscura* și *Zaprionus tuberculatus*. Pentru indivizii de *D. melanogaster* colectați în șase dintre locații (mini-biocenoze), cât și pentru linia etalon *Oregon*, a fost realizată o analiză a diversității genotipice.

**Cuvinte cheie:** *Drosophila melanogaster*, genotip, restricție enzimatică, subpopulații naturale

**Scop, obiective:** Scopul experimentului a fost evaluarea diversității genotipice a unor subpopulații naturale de *D. melanogaster* dintr-un areal restrâns, aici reprezentat de GB (~0,22km<sup>2</sup>). Pentru aceasta, am obținut profile de digestie enzimatică a unor ampliconi corespunzători unor regiuni specifice din genele marker filogenetic *Adh* (Ashburner și colab., 1994) și *Co1* (deWaard și colab., 2003), care codifică proteinele alcool dehidrogenaza și, respectiv, subunitatea 1 a citocrom oxidazei C.

**Materiale și Metode:** Pentru cele 6 locații analizate (simbolizate 1, 3, 4, 6, 8 și 10) au fost realizate câte trei colecte distincte (notate A, B, C) din care au fost derivate culturi de *D. melanogaster*; fiecare dintre aceste culturi a reprezentat sursa de material biologic pentru o replică biologică experimentală (compusă din aproximativ 16 indivizi). Probele ADN extrase din fiecare replică biologică, inclusiv cele trei considerate pentru linia *Oregon*, au fost utilizate drept matrită pentru reacțiile PCR. Ampliconii obținuți au fost digerați cu endonucleazele de restricție *Sau3A1* și *Mnl1* pentru *Co1*, și *Sau3A1* și *Msp1* pentru *Adh*, conform protocolului recomandat de producător. Profilele de restricție au fost obținute consecutiv migrării colecțiilor de fragmente ADN în geluri de agaroză 1,5% TAE 1X.



Fig. 1: Harta locațiilor în care au fost colectați indivizii *D. melanogaster* din Grădina Botanică București

**Rezultate:** Profilele de restricție obținute au fost comparate manual și folosind programul PyElph (Pavel și Vasile, 2012). Astfel, am constatat că profilele caracteristice ampliconilor obținuți pentru linia *Oregon* sunt uniforme și similare celor obținute pentru replicile biologice 1C, 3B, 3C și 8B, indiferent de ampliconul și enzimele de restricție considerate. Profilele de restricție obținute pentru celelalte replici biologice corespunzătoare indivizilor colectați din GB diferă de cele obținute pentru linia *Oregon* și relevă o oarecare variabilitate intra-locație, cea mai pronunțată fiind specifică pentru 1. Totuși, se pot evidenția două grupuri distincte de genotipuri. Unul este caracteristic replicilor biologice 1C, 3B, 3C și 8B, iar al doilea este caracteristic subpopulațiilor din locațiile 4 și 10. O evaluare a componentei florei caracteristice mini-biocenzelor investigate a relevat o serie de specii comune locațiilor 4 și 10, respectiv locațiilor 1 și 3.

**Concluzii:** Studiul nostru indică faptul că subpopulații de *D. melanogaster* specifice unor mini-biocenoze dintr-un areal relativ restrâns au o variabilitate genotipică detectabilă prin utilizarea PCR și a digestiei enzimatică. Probabil că multe diferențe constau în mutații punctiforme neutre, dar o astfel de ipoteză poate fi testată eficient doar utilizând tehnici de secvențiere. Identificarea unor genotipuri similare a unor indivizi colectați în locații diferite indică mobilitatea relativ crescută a acestora, probabil stimulată de existența unor culoare de zbor accesibile, reprezentate de alei, și de disponibilitatea de surse de hrană specifice unor locații diferite. Nu poate fi exclusă posibilitatea ca unele dintre diferențele observate între profilele de restricție să fie determinate de anumite limitări asociate studiului nostru, precum digestii enzimatică incomplete și/sau neizogenizarea liniilor naturale. În acest context, în viitorul apropiat ne propunem să utilizăm tehnica secvențierii pentru a caracteriza genotipic o serie de linii izogenizate (>10 generații) derivate din populații naturale de *D. melanogaster* colectate din 11 regiuni îndepărtate din județul Tulcea, care încadrează un areal cu o suprafață de ~900km<sup>2</sup>.

### Bibliografie selectivă:

Ashburner, M., Jeffs, P.S., Holmes, E.C., 1994. The molecular evolution of the alcohol dehydrogenase and alcohol dehydrogenase-related genes in the *Drosophila melanogaster* species subgroup. *Mol. Biol. Evol.* 11(2): 287-304.  
deWaard, J.R., Hebert, P.D., Cywinska, A., Ball, S.L., 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. Biol. Sci.* 270(1512): 313-21.  
Pavel, A.B., Vasile, C.I., 2012. PyElph - a software tool for gel images analysis and phylogenetics. *BMC bioinformatics* 13(9). <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-9>.

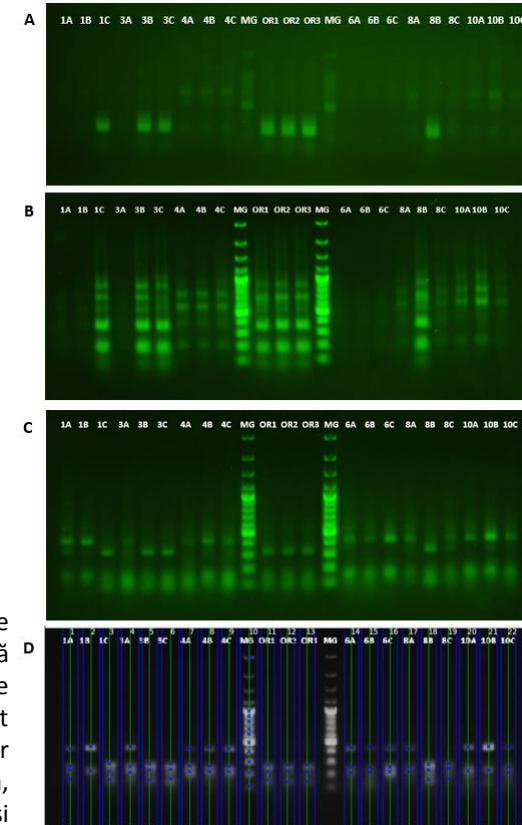


Fig. 2: Profilele de restricție a genelor analizate, *Co1* (A – *Mnl1*; B – *Sau3A1*) și *Adh* (C – *Sau3A1*; D – *Msp1*); profilul de restricție ilustrat în secțiunea D este analizat cu PyElph, care facilitează poziționarea și măsurarea benzilor electroforetice. OR indică culoarele unde au migrat profilele de restricție ale ampliconilor obținuți pentru indivizii *Oregon*.

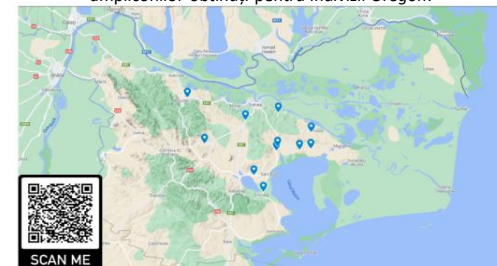


Fig. 3: Harta locațiilor în care au fost colectați indivizii *D. melanogaster* din județul Tulcea.