

INVESTIGAÇÃO DE ELEMENTOS DE TRANSPOSIÇÃO EM *DROSOPHILA SUZUKII* (MATSUMURA, 1931) (DIPTERA, DROSOPHILIDAE)

LUCAS REINALDO WACHHOLZ ROMANO¹; VERA LÚCIA DA SILVA VALENTE²;
MONICA LANER BLAUTH³

¹*Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Curso de Ciências Biológicas - lucasromano18@outlook.com*

²*Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Departamento de Genética - vera.valente@pq.cnpq.br; 00004887@ufrgs.br*

³*Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética - blauth.monica@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

Drosophila suzukii é uma espécie do subgênero Sophophora, do grupo *D. melanogaster* que tem ampliado sua distribuição mundialmente. Originalmente, esta espécie era encontrada no leste Asiático mas, nas últimas décadas, vem ampliando sua distribuição em diferentes continentes (BIRDSLEY, 2003). É uma invasora recente no neotrópico, sendo que foi registrada pela primeira vez no Brasil em 2013 (DEPRÁ et al., 2014).

As invasões biológicas são problemas evolutivos interessantes, pois são resultados de eventos estocásticos, frequentemente envolvendo pequenas populações que podem sobreviver em ambientes de transição, ou seja, que não são os mais adequados à espécie. Evidências suportam que há atributos genéticos para o sucesso da invasão como variância aditiva, epistasia, hibridação, tradeoffs genéticos, ação de alguns genes e rearranjos genômicos (LEE, 2002).

Uma importante fonte de variabilidade genômica são sequências de nucleotídeos chamadas de elementos de transposição (TEs). Essas sequências têm habilidade de, por diferentes mecanismos, alterar sua posição no genoma e se replicar nele. Quando mobilizados, podem causar alterações em regiões codificantes bem como alterações em sua expressão gênica, podendo acarretar efeitos deletérios, neutros ou adaptativos (CONTE et al., 2002; MARSANO et al., 2005). Ao mesmo tempo, os TEs podem ser agentes de diversidade genética de maneira indireta, quando cópias de um mesmo elemento em diferentes lócus atuam como sítios para recombinação homóloga, promovendo grandes reorganizações genômicas (CARARETO et al., 2015).

Tendo em vista a importância dos TEs para a evolução rápida do genoma, levando a potências fenótipos adaptativos, e o caráter invasor de *D. suzukii*, o presente trabalho tem como objetivo investigar a presença de TEs específicos nesta espécie de drosófila.

2. METODOLOGIA

A presença dos TEs *P*, *hobo*, *412*, *gypsy*, *BuT2*, *Galileo* e *Mar* foi investigada por *BlastN* (*Basic Local Alignment Search Tool*) do genoma de *D. suzukii* (<http://spottedwingflybase.org/blastN>) e por PCR de DNA genômico. O DNA genômico é de linhagem amostrada no Horto Botânico Irmão Theodoro Luís, Capão do Leão, RS, e foi extraído com o *kit NucleoSpin Tissue* (*Machery-Nagel*). As reações de PCR foram feitas com 1,5 mMol de MgCl₂ e temperatura de anelamento dos primers de 50°C. Os produtos de PCR foram verificados em eletroforese de gel de agarose 0,8%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado do *BlastN* do genoma de *D. suzukii* está na Tabela 1. A análise sugere a presença dos TEs *hobo*, *gypsy*, *412* e *But2* no genoma de *D. suzukii*, porém como sequências degeneradas. No caso de *hobo*, a identidade de 100% sugere a presença de uma cópia completa, porém esta identidade está restrita a extremidade 5' do TE. Não há sugestão da presença de *Galileo*, *Mar* e *P* nesta espécie.

Tabela 1: Resultado de maior escore em *BlastN* de sequências de TEs no genoma de *D. suzukii*.

TEs	Sequência usada no <i>BlastN</i>	Escore e valor e	Identidade e lacunas
<i>P</i>	<i>D. melanogaster</i> GenBank: X06779.1	Escore= 944 (1046) Valor e= 0	Identidade= 24/26 (92%), Lacunas= 0/26
<i>hobo</i>	<i>D. melanogaster</i> GenBank: M69216	Escore= 1171 (1298) Valor e= 0	Identidade= 649/649 (100%), Lacunas= 0/649
<i>gypsy</i>	<i>D. melanogaster</i> GenBank: M12927	Escore= 1539 (1706) Valor e= 0	Identidade= 1860/2533 (73%), Lacunas= 105/2533
<i>412</i>	<i>D. melanogaster</i> GenBank: X04132	Escore= 2810 (3116) Valor e= 0	Identidade= 2750/3536 (78%), Lacunas= 55/3536
<i>Galileo</i>	<i>D. buzzatii</i> GenBank: AY756168.1	Escore= 44.6 (48) Valor e= 0.016	Identidade= 30/34 (88%), Lacunas= 0/34
	<i>D. willistoni</i> GenBank: BK006360.1	Escore= 50 (54) Valor e= 0.001	Identidade 33/37 (89%), Lacunas= 0/37
<i>But2</i>	<i>D. buzzatii</i> GenBank: AH010794.2	Escore= 452 (500) Valor e= $1e^{-124}$	Identidade= 465/601 (77%), Lacunas= 19/601
<i>Mar</i>	<i>D. willistoni</i> GenBank: AF518731.1	Escore= 41 (44) Valor e= 0,064	Identidade= 24/25 (96%), Lacunas= 0/25

Os PCRs foram negativos nas condições de amplificação usados, com exceção do par de primer GalRF para o TE *Galileo*. O resultado da PCR foi um fragmento de aproximadamente 1.7 kb e fragmentos menores de 500pb.

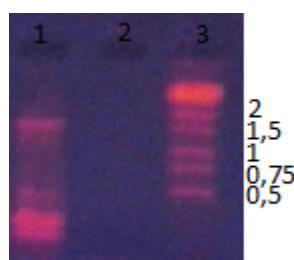


Figura 1- Gel de agarose 0,8% corado com Gel Red com os produtos de PCR do DNA genômico usando primers do TE *Galileo*. 1) Produto de PCR do DNA genômico

de *D. suzukii*; 2) controle negativo; 3) peso molecular 1kb DNA *ladder*, com os valores especificados no lado direito da figura.

O resultado positivo para *hobo* no *BlastN* do genoma de *D. suzukii* e negativo na PCR ocorreu porque os *primers* usados não abrangem a região 5' do TE o que sugere que apenas uma parte do TE foi conservada. No caso de *Galileo*, que foi positivo na PCR e negativo na investigação por *BlastN*, algumas possibilidades devem ser consideradas: o genoma da espécie não está completamente disponível; há linhagens com e sem a sequência do TE, sendo que a linhagem usada na PCR possuiria o TE; e, por fim, há a necessidade de confirmar, por sequenciamento, a identidade dos fragmentos amplificados. Pelo número de sequências geradas e pelo resultado do sequenciamento de um dos fragmentos da PCR, observamos baixa identidade a *Galileo*, sugerindo que o elemento está degenerando no genoma desta espécie. O resultado está de acordo com o estudo de outras espécies, que identificaram sequências não ativas e que estas estão amplamente difundidas em espécies do gênero *Drosophila* (MARZO; PUIG; RUIZ, 2008; MARZO et al, 2013). *Galileo* é particularmente interessante por ser um dos principais exemplos de quebra cromossômica promovido por TEs, estando envolvido em três inversões cromossômicas em *D. buzzatii* (DELPRAT et al, 2009). Quebras cromossômicas promovem alguns rearranjos cromossômicos, os quais podem ou não ser adaptativos aos diferentes ambientes (GOLÇALVES, 2010).

4. CONCLUSÕES

Até o momento, foi possível identificar a existência de *hobo* e *Galileo* no genoma de *D. suzukii*. O presente estudo, além de elencar elementos para a investigação na espécie de interesse, contribui com a informação da distribuição de TEs no grupo *D. melanogaster*, contribuindo com o entendimento da transferência horizontal e das perdas estocásticas dos elementos ao longo da evolução das espécies.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BIRDSLEY, J. S. *Drosophila malerkotliana* and *D. ananassae* in Florida. **Drosophila Information Service**, EUA, v. 86, p. 112-113, 2003.
- CARARETO, C. M. A. **Elementos de transposição: diversidade, evolução, aplicações e impacto nos genomas dos seres vivos**. In: PEARCE, VITORELLO, MONTEIRO, C. B.; ANNE VAN SLUZS, M. (Org.). Sociedade Brasileira de Genética. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2015.
- CONTE, C.; DASTUGUE, B.; VAURY, C. Promoter competition as a mechanism of transcriptional interference mediated by retrotransposons. **The EMBO Journal**, França, v. 21, n. 14, p. 3908-3916, 2002.
- DELPRAT, A.; NEGRE, B.; PUIG, M.; RUIZ, A. The transposon *Galileo* generates natural chromosomal inversions in *Drosophila* by ectopic recombination. **PLoS One**, EUA, v. 4, n. 11, 2009.
- DEPRÁ, M.; POPPE, J. L.; SCHMITZ, H. J.; DE TONI, D. C.; VALENTE, V. L. S. The first records of the invasive pest *Drosophila suzukii* in the South American continent. **Journal of Pest Science**, EUA, v. 87, n.3, p. 379–383, 2014.
- GOLÇALVES, J. W. **Elemento transponível *Galileo* no genoma de espécies do grupo willistoni de *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae)**. 2010. 76 f. Dissertação

- (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Curso de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- LEE, C. E. Evolutionary genetics of invasive species. **Trends in Ecology & Evolution**, EUA, v.17, n.8, p. 386–391, 2002.
- LEE, J. C.; BRUCK, D. J.; CURRY, H.; EDWARDS, D.; HAVILAND, D. R.; VANSTEENWYCK, R. A.; YOUNGEY, B. M. The susceptibility of small fruit and cherries to the spotted wing *Drosophila*, *Drosophila suzukii*. **Pest Management Science**, EUA, v. 67, p.1358-1367, 2011.
- MARSANO, R. M.; CAIZZI, R.; MOSCHETTI, R.; JUNAKOVIC, N. Evidence for a functional interaction between the *Bari1* transposable element and the cytochrome *P450 cyp12a4* gene in *Drosophila melanogaster*. **Gene**, EUA, v. 357, n. 2, p. 122-128, 2005.
- MARZO, H.; PUIG, H.; RUIZ, A. The Foldback element similar to *Galileo* belongs to the superfamily of DNA transposons *P* and is widespread in the genus *Drosophila*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, EUA, v. 105, n. 8, p. 2957-2962, 2008.
- MARZO, M.; BELLO, X.; PUIG, M.; MASIDE, X.; RUIZ, A. Striking structural dynamism and nucleotide sequence variation of the transposon *Galileo* in the genome of *Drosophila mojavensis*. **Mob DNA**, EUA, v. 4, n. 1, 2013.