IDENTIFICAREA COLEOPTERELOR DIN REPUBLICA MOLDOVA CU UTILIZAREA SECVENȚEI PARȚIALE A GENEI COI MITOCONDRIALE

IDENTIFICATION OF BEETLES FROM THE REPUBLIC OF MOLDOVA USING MITOCHONDRIAL COI GENE PARTIAL SEQUENCE

Sorina ISTRATI, ORCID: 0000-0001-5581-6320
Anna MOLDOVAN, ORCID: 0000-0001-8829-6640
Natalia MUNTEANU-MOLOTIEVSKIY, ORCID: 0000-0001-5796-3236
Universitatea de Stat din Moldova

CZU: 595.76:574.2(478)

e-mail: sorina26istrati@yahoo.com
e-mail: anna.moldovan@yahoo.com
e-mail: munteanu_natalia_v@yahoo.com

Introducere. Tehnica ADN barcoding este un instrument care utilizează diversitatea genetică ca mijloc de recunoaștere și identificare a organismelor [2]. Pentru reprezentanții regnului animal, în calitate de marker cod de bare ADN servește gena COI mitocondrială (segment de aproximativ 650 pb din capătul 5' al genei mitocondriale care codifică subunitatea I a citocrom-oxidazei c). Luând în considerație amploarea impactului negativ antropic din ultimii ani și amenințările la adresa biodiversității, aplicarea metodelor rapide de identificare a unui număr mare de exemplare este o necesitate primordială. Astfel scopul acestei lucrări a constat în elucidarea importanței și eficienței utilizării secvenței parțiale a genei COI mitocondriale în identificarea speciilor de coleoptere.

Materiale și metode. Insectele adulte au fost colectate în Nordul (Pelinia, Sadovoe, Sofia, Vrănești), Centrul (Chișinău, Malcoci) și Sudul (Bugeac, Ciumai) Republicii Moldova folosind metode clasice entomologice. Exemplarele de coleoptere selectate au fost utilizate pentru determinarea molecular-genetică. Rezultatele obținute au fost validate folosind metode clasice morfologice [6, 7]. Izolarea și purificarea ADN a fost realizată folosind protocolul optimizat [4] și, de asemenea, utilizând kit-ul de reactivi „Qiagen Dneasy Blood & tissue Kit". Regiunile cod de bare ADN au fost amplificate folosind perechile de primeri LCO1490/HCO2198 [1] și LepF1/LepR1 [3]. Produsul PCR a fost purificat și expediat pentru secvențiere către laboratoare specializate: Centrul Canadian pentru ADN Barcoding, Canada și StarSEQ GmbH, Germania. Secvențele nucleotidice ale porțiunilor de genă COI au fost aliniate cu secvențele similare disponibile în baza de date GenBank și BOLD System. Editarea, alinierea secvențelor și reconstrucția arborilor filogenetici a fost realizată cu ajutorul softurilor CodonCode Aligner și Mega X [5].

Rezultate și discuții. Algoritmii de căutare BLAST și BOLD IDS System au permis identificarea până la nivel de familie și subfamilie a 97% din numărul total de secvențe ale genei COI obținute. Analiza BLAST a permis identificarea a 93,9% din secvențe până la nivel de gen și 69,7% la nivel de specie, pe când analiza BOLD IDS

System a oferit rezultatul de 97% din secvențe identificate la nivel de gen și 72,73% la nivel de specie. Exemplarele identificate aparțin familiilor *Buprestidae, Cantharidae, Coccinellidae, Helophoridae, Melyridae, Nitidulidae, Phalacridae, Scarabaeidae* și *Scirtidae.* În studiul de față, ambele perechi de primeri au permis de a amplifica gena COI din genomul coleopterelor incluse în studiu, rata de succes fiind de 100 și 85,19% respectiv pentru cele două perechi de primeri utilizate. Secvențele nucleotidice obținute au fost depuse în bazele de date internaționale completând bibliotecile de succesiuni nucleotidice ale regiunii cod de bare ADN pentru coleoptere.

Referințe:

1. FOLMER, O., BLACK M., HOEH W., LUTZ R., VRIJENHOEK R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. In: *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 1994, 3, pp. 294-299.
2. HEBERT, P.D.N., CYWINSKA, A., BALL, S.L., DEWAARD, J.R. Biological identifications through DNA barcodes. In: *The Royal Society*, 2003, vol. 270, no. 1512, pp. 313-321.
3. HEBERT, P.D.N. et al. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(41), pp. 14812-14817.
4. IVANOVA, N.V., DEWAARD, J.R., HEBERT, P.D.N. An inexpensive, automation friendly protocol for recovering high quality DNA. In: *Molecular Ecology Resources,* 2006, vol. 6, pp. 998-1002.
5. KUMAR, S. ea al. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. In: *Molecular Biology and Evolution*, 2018, vol. 35, pp. 1547-1549.
6. Mike's Insect Keys [online]. Last edited: 19.08.2022 [citat 01.09.2022]. Disponibil: https://sites.google.com/view/mikes-insect-keys/mikes-insect-keys.
7. *Opredelitel' nasekomyh evropejskoj chasti SSSR*. Tom 2. Zhestkokrylye i veerokrylye. Redaktory toma: E.L. GUR'EVA i O.L. KRYZHANOVSKIJ. Moskva – Leningrad: Nauka, 1965. 668 s.

Rezultatele științifice expuse în prezenta lucrare au fost obținute grație suportului financiar al proiectelor: Global Taxonomy Initiative Training Course on Rapid Identification of Invasive Alien Species for Achieving Aichi Biodiversity Target 9, susținută de Secretariatul Convenției cu privire la Biodiversitate și Guvernul Japoniei prin Fondul Japoniei pentru Biodiversitate, „Training the new generation of entomologists in DNA-based molecular methods – international network (EntoMol)” (CPEA-LT-2016/10140), Program de stat (2020-2023) 20.80009.7007.12 „Diversitatea artropodelor hematofage, a zoo- și fitohelminților, vulnerabilitatea, strategiile de tolerare a factorilor climatici și elaborarea procedeelor inovative de control integrat al speciilor de interes socio-economic”.