

GENOTIPAREA MISTREȚULUI CU UTILIZAREA DISPOZITIVULUI *BENTO LAB*

Victor SÎTNIC, Victoria NISTREANU, Anatolie SAVIN

Institutul de Zoologie al Universității de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova

Autor corespondent: Victor Sîtnic, e-mail: sitnic.md@gmail.com**Cuvinte-cheie:***genotipare, ADN, mistreț, MC1R, Bento Lab, RFLP-PCR.*

Introducere. Mistrețul aparține genului *Sus* din familia *Suidae* și fiind strămoșul porcului domestic se poate încrucișa ușor cu acesta. Hibridizarea între mistreț și porcul domestic crește gradul de invazivitate și afectează integritatea genetică și potențialul de adaptare al mistreților. Deoarece astfel de hibridi de cele mai multe ori nu pot fi identificați morfologic, există mai multe metode și tehnici moleculare pentru diferențierea acestora de liniile pure. O astfel de metodă este genotiparea pe baza alelelor genei *MC1R*. Alelismul multiplu al acestei gene poate fi observat fenotipic prin diversitatea pigmentării pielii la porci. În prezent, gradul de hibridizare a mistreților din fauna Republicii Moldova este necunoscut, motivul principal fiind lipsa protocoalelor experimentale de laborator care ar permite identificarea specimenilor hibridi.

Scopul. În prezentul studiu ne-am propus utilizarea dispozitivului *Bento Lab* pentru genotiparea unor specimene de mistreț din Republica Moldova în baza alelelor genei *MC1R*.

Material și metode. Genotiparea a fost realizată prin digestia ampliconilor *MC1R* cu enzimele de restricție BspHI și BstUI (RFLP-PCR). Au fost prelevate 14 probe de la mistreț din diferite regiuni ale țării. ADN-ul genomic a fost extras conform protocolului *GeneJET Genomic DNA Purification Kit*, iar amplificarea s-a realizat cu utilizarea primerilor *MC1R-FW* și *MC1R-REV* modificați și a mastermixului *DreamTaq Green PCR Master Mix (2X)*. Ampliconii obținuți au fost supuși digestiei cu enzimele BspHI și BstUI, produșii de digestie fiind vizualizați pe gel de agaroză de 1 % cu agent de intercalare *GelGreen*. Etapele de extragere, de deamplificare și vizualizare a ADN-ului au fost realizate cu dispozitivul *Bento Lab*. Acest dispozitiv este portabil și combină cele mai importante echipamente necesare pentru realizarea unei reacții de PCR: microcentrifugă, termociclor, casetă pentru electroforeză, bloc de alimentare încorporat și transiluminator.

Rezultate. Analiza celor 14 probe a permis identificarea alelelor *E⁺*, *e* și a două genotipuri: *E⁺E⁺* și *E⁺e*. *E⁺* reprezintă alela sălbatică și la mistreții de linie pură se întâlnește în formă homozigotă, în timp ce alela *e* se întâlnește la unii porci domestici. Astfel, genotipul homozigot *E⁺E⁺* a fost identificat în 13 probe, iar genotipul heterozigot *E⁺e* – într-o singură probă (specimen hibrid). Protocoalele de lucru au fost optimizate și adaptate la condițiile și la resursele laboratorului. Dispozitivul *Bento Lab* a permis extragerea calitativă a ADN-ului genomic, realizarea reacției de PCR convențional și vizualizarea ADN-ului pe gel de agaroză. Produșii de digestie au putut fi clar vizualizați și au format un tablou electroforetic specific fiecărui genotip.

Concluzii. Dispozitivul *Bento Lab* și protocoalele experimentale menționate au fost utilizate cu succes pentru aplicarea metodei RFLP-PCR și genotiparea mistreților, și a permis identificarea unui specimen hibrid din cele 14 probe testate. Studiile de genotipare a mistreților din Republica Moldova ar eficientiza prevenirea focarelor de boli infecțioase (ex. pesta porcină africană), determinarea gradului de hibridizare în populațiile de mistreți și elaborarea măsurilor adecvate de conservare.

Notă. Studiul a fost efectuat în cadrul proiectului 20.80009.7007.02. „Schimbări evolutive ale faunei terestre economice importante, ale speciilor rare și protejate în condițiile modificărilor antropice și climatice”, Program de Stat (2020-2023).