

# Expressão diferencial da metiltransferase 2 e alterações no *fitness* de *Drosophila willistoni* e *D. paulistorum*: consequências de uma vida sem *Wolbachia*

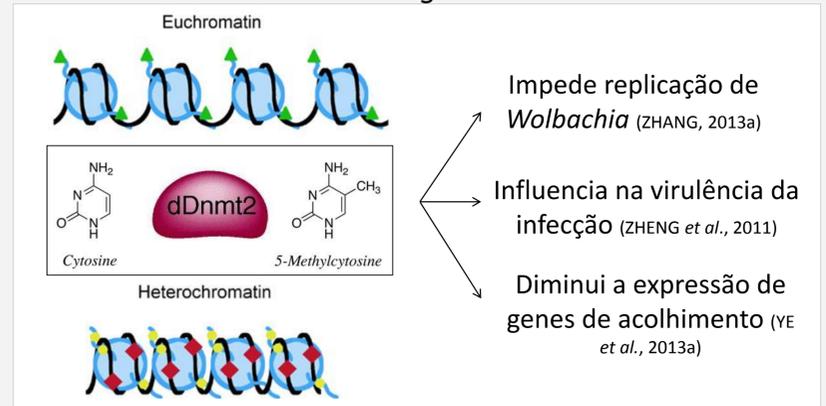
Lílian Caesar<sup>1</sup> e Victor Hugo Valiati<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Biologia Molecular, UNISINOS - RS

## Introdução

*Wolbachia pipientis* é uma bactéria endossimbiótica que induz diferentes fenótipos reprodutivos e possui a capacidade de modular o epigenoma de seus hospedeiros *Aedes aegypti* e *Drosophila melanogaster*, principalmente através de metiltransferases (Figura 1). O último gênero citado, especificamente o subgrupo *willistoni*, foi no qual investigamos a simbiose com *Wolbachia*. Este gênero possui como única metiltransferase a enzima metiltransferase 2 (*dDnmt2*), que pode estar influenciando a relação parasita-hospedeiro pela metilação e/ou hipometilação do DNA de *Drosophila*. Portanto, o objetivo deste trabalho foi estimar a expressão da enzima *dDnmt2* ao longo dos estágios de desenvolvimento de duas espécies do subgrupo *willistoni* (*D. willistoni* e *D. paulistorum*), bem como avaliar componentes do *fitness* das moscas selvagens e com infecção reduzida de suas respectivas estirpes de *Wolbachia*.

Figura 1: variedade de fenótipos não clássicos induzidos por *Wolbachia* na sua relação com *Aedes aegypti* e *Drosophila melanogaster*

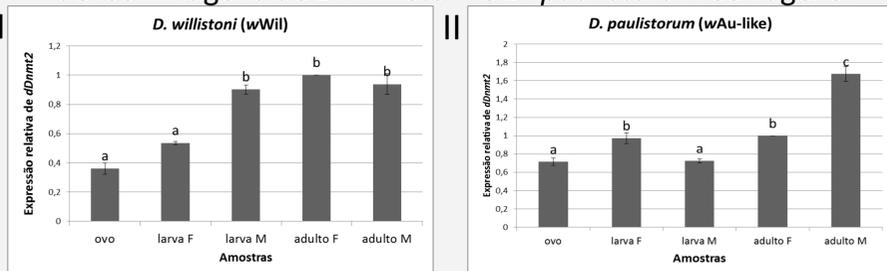


## Metodologia

Isolinhagens das espécies *Drosophila willistoni* e *D. paulistorum*, com alta densidade de infecção por *Wolbachia* (*wWil* e *wAu-like*, respectivamente), foram tratadas com tetraciclina, obtendo-se indivíduos com infecção reduzida (nomeados nos gráficos como “cura”). Tanto nas isolinhagens selvagens como nas com infecção reduzida foi então verificada a expressão da metiltransferase 2 (*dDnmt2*) via RT-qPCR de 15 moscas adultas machos e fêmeas, 35 larvas machos e fêmeas de 3º instar e 200 ovos. Além dos testes moleculares foram estabelecidos cruzamentos entre moscas selvagens e outros entre moscas com infecção reduzida com intuito de avaliar aspectos do *fitness* (fecundidade e viabilidade) das moscas. A posterior, todos os resultados foram analisados por ANOVA seguida do teste Tukey para comparações das médias. Diferenças estatisticamente significativas foram assumidas quando  $p < 0,05$ .

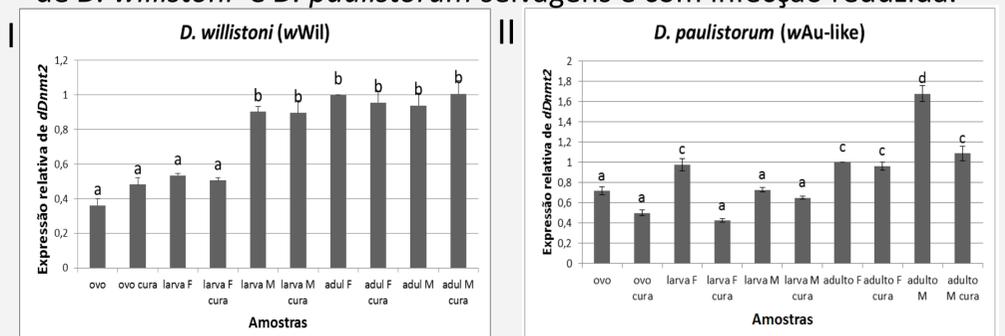
## Resultados

Figura 2: Expressão de *dDnmt2* ao longo do desenvolvimento de isolinhagens de *D. willistoni* e *D. paulistorum* selvagens.



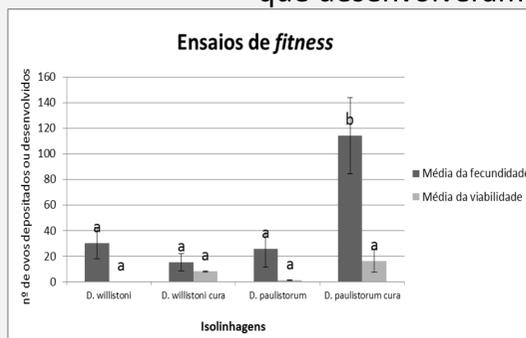
Gráficos, independentes, I (*D. willistoni*) e II (*D. paulistorum*) com as quantificações relativas da expressão do gene *dDnmt2* via RT-qPCR, nos estágios selvagens de ovo, larva e adulto, sendo os dois últimos de forma sexo-específica. Cada barra cinza representa o valor médio da expressão relativa de *dDnmt2* de cada estágio ontogenético, e sobre elas letras (“a”, “b” ou “c”). As letras diferentes representam as comparações par a par quando foram estatisticamente diferentes.

Figura 3: Expressão de *dDnmt2* ao longo do desenvolvimento de isolinhagens de *D. willistoni* e *D. paulistorum* selvagens e com infecção reduzida.



Gráficos, independentes, I (*D. willistoni*) e II (*D. paulistorum*) com as quantificações relativas da expressão do gene *dDnmt2* via RT-qPCR nos estágios, selvagens e com infecção reduzida, de ovo, larva e adulto, de forma sexo-específica nos dois últimos. Cada barra cinza representa o valor médio da expressão relativa de *dDnmt2* de cada estágio ontogenético, e sobre elas letras (“a”, “b”, “c” ou “d”) As letras diferentes representam as comparações par a par quando foram estatisticamente diferentes.

Figura 4: Média de ovos depositados (fecundidade) e média de ovos que desenvolveram-se (viabilidade).



Este gráfico apresenta a média de ovos depositados e viáveis das espécies *D. willistoni* e *D. paulistorum*, selvagens e com infecção reduzida. As barras cinza escura representam os valores médios da fecundidade e as barras cinza claro representam os valores médios da viabilidade. Sobre estas barras letras (“a” ou “b”) que quando diferentes, na comparação dentro do mesmo teste de *fitness*, houve diferença estatística.

Claramente observa-se um aumento da expressão de *dDnmt2*, promotor da metilação no DNA de drosófilas, nos estágios mais avançados de desenvolvimento e apenas *D. paulistorum* apresenta diferença entre selvagens e moscas com infecção reduzida (tratadas com antibiótico). De forma geral, também não há uma diferença significativa no *fitness* mas, em *D. paulistorum* observou-se um *fitness* aumentado nas moscas com redução da infecção pela estirpe *wAu-like* de *Wolbachia*.

## Discussão e conclusão

A remoção artificial de *Wolbachia* em *D. willistoni* e *D. paulistorum* não altera, na maioria dos casos, de forma significativa a expressão da *dDnmt2* quando comparados os estágios de desenvolvimento selvagem e os de infecção reduzida. Tal resultado pode representar que há outros mecanismos nesta relação simbiótica, em especial com as respectivas estirpes de *Wolbachia* hospedadas. Tal hipótese de especificidade pode ser o que foi verificada no caso de *D. paulistorum* e *wAu-like*. A diminuição significativa da expressão de *dDnmt2* foi associada ao aumento do *fitness* de *D. paulistorum* quando reduziu-se a infecção pela estirpe *wAu-like* de *Wolbachia*. Portanto, as estirpes de *Wolbachia*, via expressão de *dDnmt2*, podem estar influenciando no epigenótipo da hospedeira e, ainda, manipulando a ontogenia e *fitness*, de forma a sugerir que esta seja ainda uma relação parasítica entre *D. paulistorum* e *Wolbachia* (*wAu-like*).

Obrigada!

