

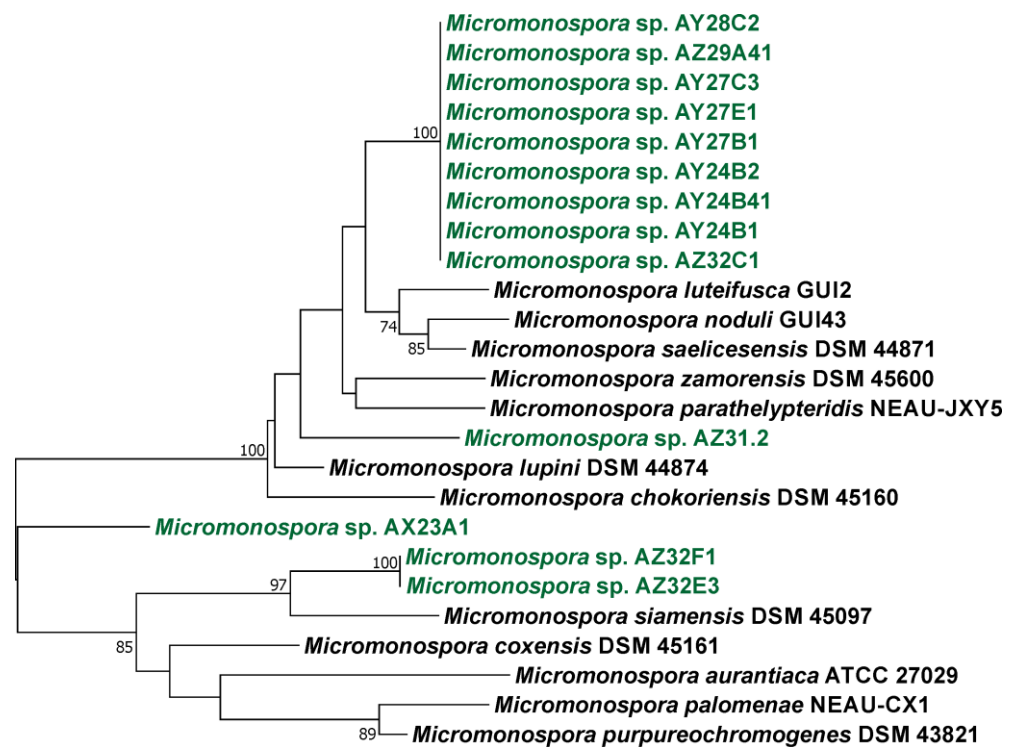
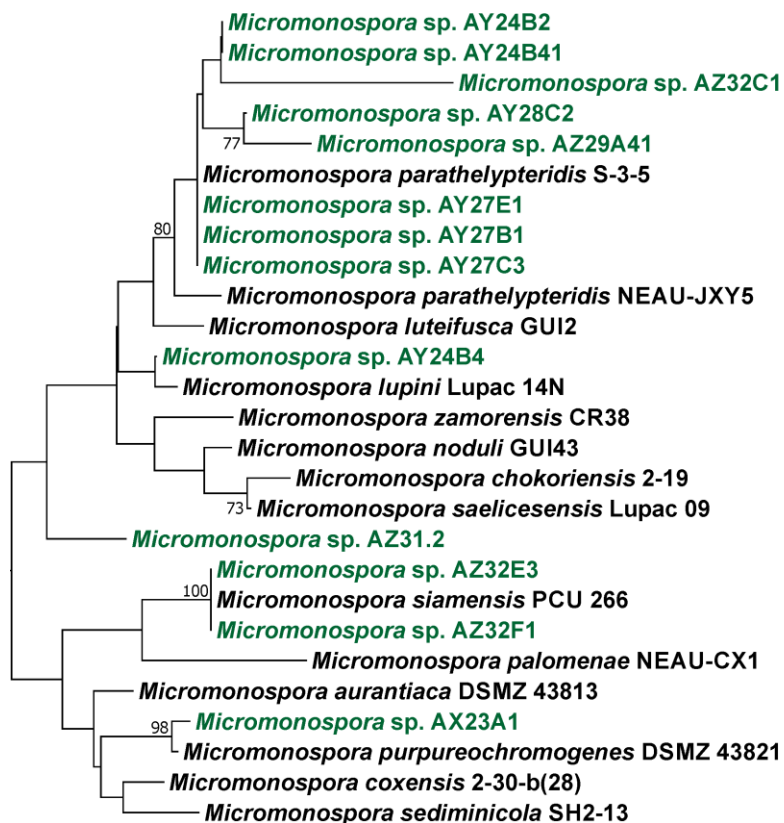
Michał Kalita<sup>1</sup>, Sylwia Wdowiak-Wróbel<sup>1</sup>, Monika Marek-Kozaczuk<sup>1</sup>, Wojciech Sokołowski<sup>1</sup>, Emanuela Di Iorio<sup>2</sup>, Olga De Castro<sup>2</sup>, Eleonora Manzo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Katedra Genetyki i Mikrobiologii, Instytut Nauk Biologicznych, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, <sup>2</sup>Dipartimento di Biologia, Orto Botanico, Università degli Studi di Napoli Federico II, Naples, Italy

# Analiza filogenetyczna endofitycznych promieniowców z rodzaju *Micromonospora* wyizolowanych z brodawek korzeniowych janowca barwierskiego (*Genista tinctoria*) rosnącego w południowych Włoszech

**Wstęp.** Pogląd, że brodawki tworzone na korzeniach roślin bobowatych zasiedlane są jedynie przez ryzobia, czyli bakterie wiążące azot atmosferyczny w układzie symbiotycznym z gospodarzem roślinnym, utrzymywał się przez wiele lat. Włączenie metod molekularnych do badań nad składem populacji mikroorganizmów różnych siedlisk wykazało, że zróżnicowanie bakterii tworzących mikrobiom brodawek korzeniowych jest znacznie bogatsze niż dotychczas sądzono. Jedną z takich nieryzobiowych grup bakterii zasiedlających brodawki korzeniowe roślin bobowatych są promieniowce.

**Materiały i metody.** Badaniami objęto izolaty z brodawek korzeniowych pobranych z janowca barwierskiego (*G. tinctoria*) rosnącego w południowych Włoszech, w regionie La Valle d'Ansanto (40° 58' 30" N, 15° 8' 31," E). Z wyprowadzonych kultur bakteryjnych izolowano DNA genomowy, który wykorzystano w reakcji PCR z uniwersalnymi starterami dla genu kodującego 16S rRNA oraz starterami dla sekwencji genu *gyrB*. Odczytane sekwencje porównywano z zasobami bazy NCBI Nucleotide z wykorzystaniem narzędzia BLAST. Sekwencje nukleotydowe 16S rDNA oraz *gyrB* wykorzystano do skonstruowania drzew filogenetycznych metodą Maximum Likelihood.



**Rys. 1.** Drzewo filogenetyczne sekwencji genu kodującego 16S rRNA szczepów z rodzaju *Micromonospora*, wyizolowanych z brodawek korzeniowych *G. tinctoria* (zaznaczonych na zielono) oraz znanych gatunków promieniowców, najbliższej spokrewnionych z badanymi izolatami.

**Rys. 2.** Drzewo filogenetyczne sekwencji fragmentu genu *gyrB* badanych izolatów z rodzaju *Micromonospora*, wyizolowanych z brodawek korzeniowych *G. tinctoria* (zaznaczonych na zielono) oraz blisko spokrewnionych z nimi gatunków.

## Wyniki i wnioski.

- Analiza filogenetyczna sekwencji 16S rDNA badanych izolatów potwierdziła ich przynależność do rodzaju *Micromonospora* oraz wykazała, że szczepy te nie tworzą na skonstruowanym drzewie jednorodnej grupy. Promieniowce wyizolowane z brodawek korzeniowych *G. tinctoria* wykazują pokrewieństwo z kilkoma różnymi gatunkami rodzaju *Micromonospora* (Rys. 1).
- Wyniki analizy porównawczej sekwencji fragmentu genu *gyrB* badanych izolatów i referencyjnych szczepów *Micromonospora* sugerują, że reprezentują one nowe gatunki w obrębie tego rodzaju. Stopień podobieństwa sekwencji genu *gyrB* między badanymi szczepami a znanymi gatunkami wynosił poniżej 98.5%, którą to wartość w przypadku rodzaju *Micromonospora* powszechnie przyjmuje się jako wskaźnik odrębności gatunkowej analizowanych izolatów. Badane izolaty brodawkowe tworzą na drzewie filogenetycznym fragmentu genu *gyrB* odrębne względem siebie i znanych gatunków grona lub gałęzie (Rys. 2), co dodatkowo wspiera wniosek o ich przynależności do nieopisanych dotychczas gatunków rodzaju *Micromonospora*.