

Analiza filogenetyczna szczepów *Rhizobium leguminosarum* sv. *viciae* wyizolowanych z brodawek korzeniowych bobu (*Vicia faba*)

Paulina Adamczyk¹, Aleksandra Król¹, Michał Kalita², Anna Gromada¹, Monika Janczarek¹

¹Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, ²Katedra Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie; paulina.adamczyk@mail.umcs.pl

WSTĘP

Rodzaj *Rhizobium* obejmuje bakterie Gram-ujemne, żyjące w symbiozie z roślinami motylkowatymi (*Fabaceae*). Bakterie te indukują tworzenie brodawek korzeniowych na korzeniach makrosymbionta, w których zachodzi proces wiązania azotu cząsteczkowego (N₂) do formy przyswajalnej przez roślinę.

METODYKA

Zbadano populację 28 szczepów *R. leguminosarum* zasiedlających brodawki korzeniowe bobu (*Vicia faba*). W celu określenia zróżnicowania genetycznego tych bakterii zastosowano technikę BOX-PCR opartą na PCR i starterze BOX1AR (5'-CTACGGCAAGGCGACGCTGACG-3') z wykorzystaniem repetytywnych regionów występujących w genomach bakterii. Mieszaniny uzyskanych fragmentów DNA rozdzielono w elektroforezie przy użyciu 1,5% żelu agarozowego. Uzyskane profile prążków zostały przeanalizowane przy użyciu programu BIO1D w celu skonstruowania dendrogramu obrazującego podobieństwo genetyczne badanych szczepów wykorzystując metodę UPGMA.

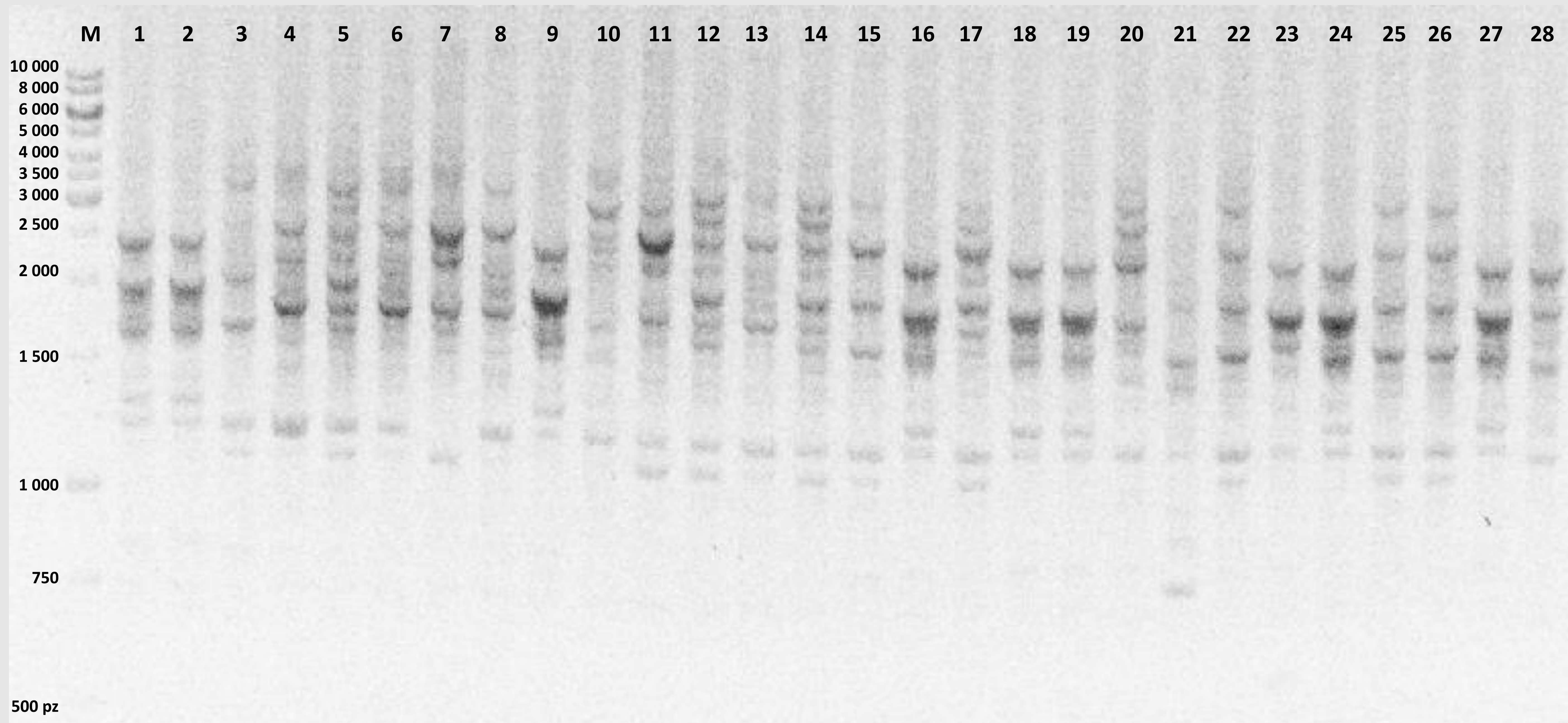


Fig. 1. Elektroforeza agarozowa produktów BOX-PCR 28 szczepów *Rhizobium leguminosarum* sv. *viciae*. M – marker wielkości fragmentów DNA (500-10 000 pz).

WYNIKI

Zaobserwowano dużą różnorodność w profilach uzyskanych dla poszczególnych izolatów, zarówno pod względem liczby, jak i wielkości fragmentów DNA, wynoszącą od 6 fragmentów (szczepy 9, 16, 18, 19, 28) do 12 fragmentów (szczepy 11 i 12) o długości od 750 do 3500 pz. Najczęściej powtarzały się amplikony o wielkości 1300, 1700 i 2300 pz. Podobieństwo określone na podstawie uzyskanych danych (tj. na podstawie macierzy podobieństwa między badanymi izolatami) wynosiło od 30 do 100% (Fig 2.). Zidentyfikowano 3 grupy szczepów o identycznym profilu (szczepy 2 i 3; szczepy 10, 17, 19, 20 i 28; szczepy 16, 26 i 27). Pozostałe profile były unikalne i specyficzne dla poszczególnych szczepów.

WNIOSKI

Wykorzystując technikę BOX-PCR wykazano duże zróżnicowanie populacji szczepów wyizolowanych z brodawek korzeniowych bobu. Zidentyfikowano dużą różnorodność produktów PCR pod względem liczby i wielkości fragmentów DNA. Wskazuje to, że metoda odcisku palca BOX-PCR jest efektywna w różnicowaniu populacji *R. leguminosarum* sv. *viciae*.

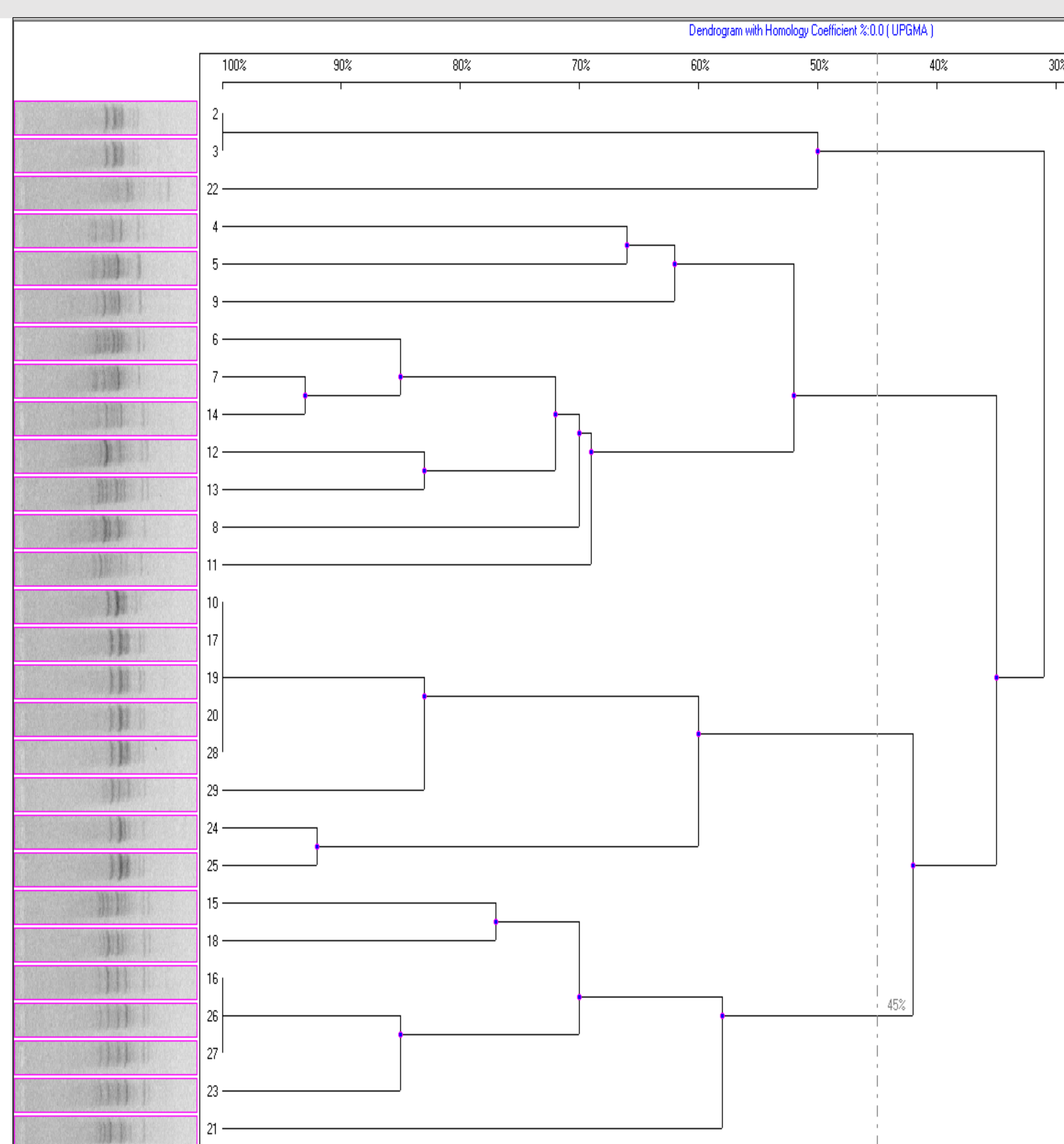


Fig. 2 Dendrogram skonstruowany na podstawie analizy profili BOX-PCR przedstawiający zróżnicowanie genetyczne szczepów *R. leguminosarum* pochodzących z korzeni bobu.