

# Streszczenie

---

**Temat:**

***Badania populacyjne bakterii z rodzaju *Bradyrhizobium* z wykorzystaniem metod mikrobiologii klasycznej oraz podejść metagenomicznych***

Bakterie należące do rodzaju *Bradyrhizobium* infekują co najmniej 24 z 33 tworzących brodawki plemion Fabaceae, wykazując tym samym największy spośród wszystkich ryzobiów zakres gospodarzy roślinnych. Szeroki zasięg występowania geograficznego oraz ich liczebna przewaga, zwłaszcza w rejonach zasiedlanych przez niezwykle zróżnicowaną florę Fabaceae spp., sprawia, że rodzaj ten stał się doskonałym materiałem do badań skupiających się na czynnikach kształtujących procesy ewolucyjne oraz różnicowanie się bakterii brodawkowych.

Głównym celem prezentowanej pracy było określenie zależności biogeograficznych w ewolucji bakterii należących do rodzaju *Bradyrhizobium*, w oparciu o metody bazujące zarówno na mikrobiologii klasycznej, jak i opracowane w tym celu narzędzia metagenomiczne.

Badania rozpoczęto od przygotowania baz danych oraz analiz filogenezy i filogeografii symbiontów ryzobiowych infekujących rośliny należące w szczególności do plemienia Genisteeae. W następnym etapie skupiliśmy się na szczepach *Bradyrhizobium* pozyskanych w jednym z najbogatszych pod względem występowania roślin z rodziny Fabaceae rejonów świata – południowej Brazylii, stanowiącej część krainy neotropikalnej. Analizy filogenetyczne przeprowadzone przy pomocy roślin-pułapek (głównie wspanięgi, *Macroptillium atropurpureum*) i oparte na pięciu genach metabolizmu podstawowego (*dnaK-glnII-gyrB-recA-rpoB*) wykazały przynależność prawie 85% użykanych izolatów do supergrupy *Bradyrhizobium elkanii*, a większości pozostałych do supergrupy *Bradyrhizobium japonicum*. Izolowane szczepy grupowały się jednak zwykle niezależnie od szczepów typowych dla znanych gatunków *Bradyrhizobium*. Większość z ponad 200 otrzymanych przez nas sekwencji symbiotycznego genu *nifD* należała natomiast do amerykańskich grup III.3D i III.4, pantropikalnej grupy III.3C oraz nowo utworzonego kladu XX. Zidentyfikowaliśmy także szczepy przynależne do australijskiego kladu I oraz europejskiego kladu II, co może wskazywać na ich przypadkową introdukcję do brazylijskich gleb wraz z ich roślinnymi gospodarzami, odpowiednio *Acacia mearnsii* oraz *Ulex europaeus*. W przypadku podejścia metagenomicznego, przy pomocy którego uzyskaliśmy 876 specyficznych sekwencji genu *nifD* i odkryliśmy aż 18 zupełnie nowych spośród wyodrębnionych 38 grup diazotroficznych bradyryzobiów, również potwierdziliśmy przewagę sekwencji należących do grupy III.3D. Druga najliczniej reprezentowana grupa, kład XXXVIII, nie była dotąd wykrywana w badaniach bazujących na hodowli czystych kultur, a amplifikacja już wcześniej identyfikowanego wśród brazylijskich izolatów *Bradyrhizobium* amerykańskiego subkladu

III.4 okazała się możliwa dopiero przy zastosowaniu pary nowo zaprojektowanych starterów. Również dzięki analizom metagenomicznym uzyskano 34 haplotypy należące do australijskiego kladu I, co stanowi potwierdzenie przypadków biologicznego „zanieczyszczenia” gleb obcymi gatunkami mikroorganizmów.

Opracowanie odpowiednich metod molekularnych jest pierwszym krokiem umożliwiającym charakterystykę społeczności bakterii z rodzaju *Bradyrhizobium* przy zastosowaniu technologii masowego sekwencjonowania DNA, pozwalającego na monitrowanie zmian w ich składzie, które z kolei mogą przyczyniać się do zaburzeń funkcjonowania wielu ekosystemów glebowych.