

WYSTĘPOWANIE GLONÓW Z RODZAJU *PROTOTHECA* W ŚRODOWISKU NATURALNYM



Joanna Rudna, Zofia Bakuła, Tomasz Jagielski

Zakład Mikrobiologii Stosowanej, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

Projekt finansowany przez Uniwersytet Warszawski i Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach programu „Strategia doskonałości”

* Autor korespondencyjny: Dr Tomasz Jagielski, Zakład Mikrobiologii Stosowanej, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski; 02-096 Warszawa; tel. 22 55-41-430; e-mail: t.jagielski@biol.uw.edu.pl

WPROWADZENIE

Glony z rodzaju *Prototheca* to rozpowszechnione w przyrodzie jednokomórkowe, bezchlorofilowe saprofity. Niektóre gatunki są oportunistycznie patogenne wywołując zakażenia człowieka i zwierząt, zwane prototekozami. Najczęstszą postacią prototekozy jest zapalenie wymienia u krów mlecznych (*mastitis*).

Obecnie do rodzaju *Prototheca* zaliczanych jest 14 gatunków (Jagielski i wsp., 2019, Alg. Res., 43:101639), z których dwa – *Prototheca wickerhamii* i *Prototheca bovis* (dawniej *Prototheca zopfii* gen. 2) odpowiadają w największej mierze za zachorowania u, odpowiednio ludzi i zwierząt. Przez długi czas identyfikacja gatunkowa glonów *Prototheca* spp. opierała się na metodach fenotypowych. Od blisko dwóch dekad stosuje się narzędzia molekularne, głównie wykorzystujące analizę sekwencji operonu rDNA oraz mitochondrialnego genu *cytb* (Jagielski i wsp., 2018, J. Clin. Microbiol., 56:e00584-18).

CEL

Celem pracy było zbadanie częstości występowania glonów *Prototheca* spp. w różnych ekosystemach naturalnych na terenie Polski.

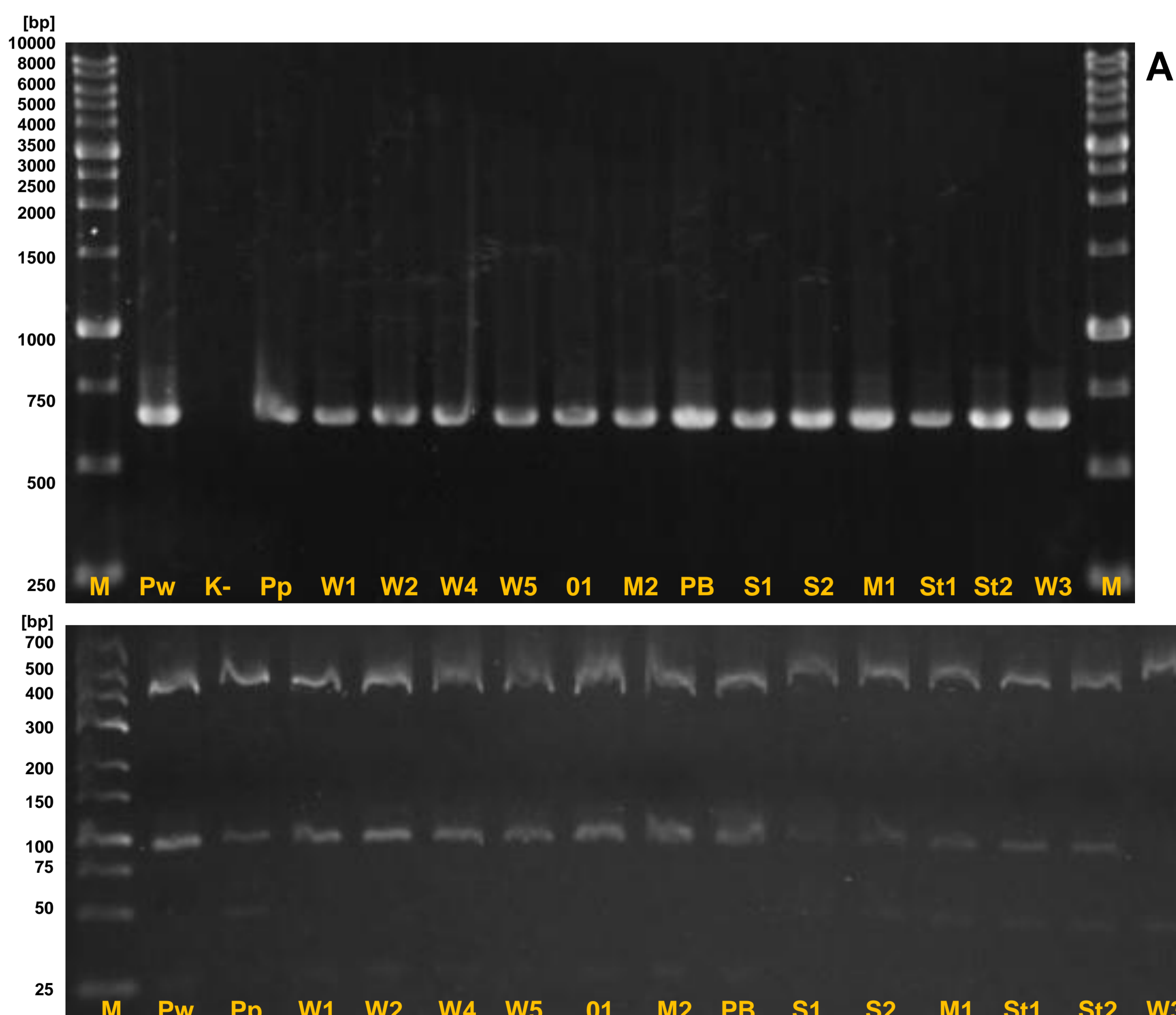
MATERIAŁY I METODY

Badanie objęło 139 prób pochodzących ze zbiorników wodnych, tj. stawów (n=38), rzek (n=35), jezior (n=16), zalewów (n=13), potoków (n=8) i innych, np. kanałów, oczek, glinianek (n=29), a także 54 próby ze środowisk lądowych, w tym gleby (n=16), piasku (n=6), osadu przybrzeżnego (n=4), mułu (n=4) i osadu dennego (n=1) z różnych zbiorników wodnych oraz 23 próby pobrane z obór i stajni (tj. wymazy ze ścian i drzwi budynków hodowlanych, żłobów, odpadów, odchodów zwierząt). Po pobraniu materiału, w zależności od konsystencji, posiewano na podłoże wybiórcze dla prototek (*Prototheca* Isolation Medium, PIM), w wypadku części prób stosując 48-godziną preinkubację w płynnej pożywce PIM.

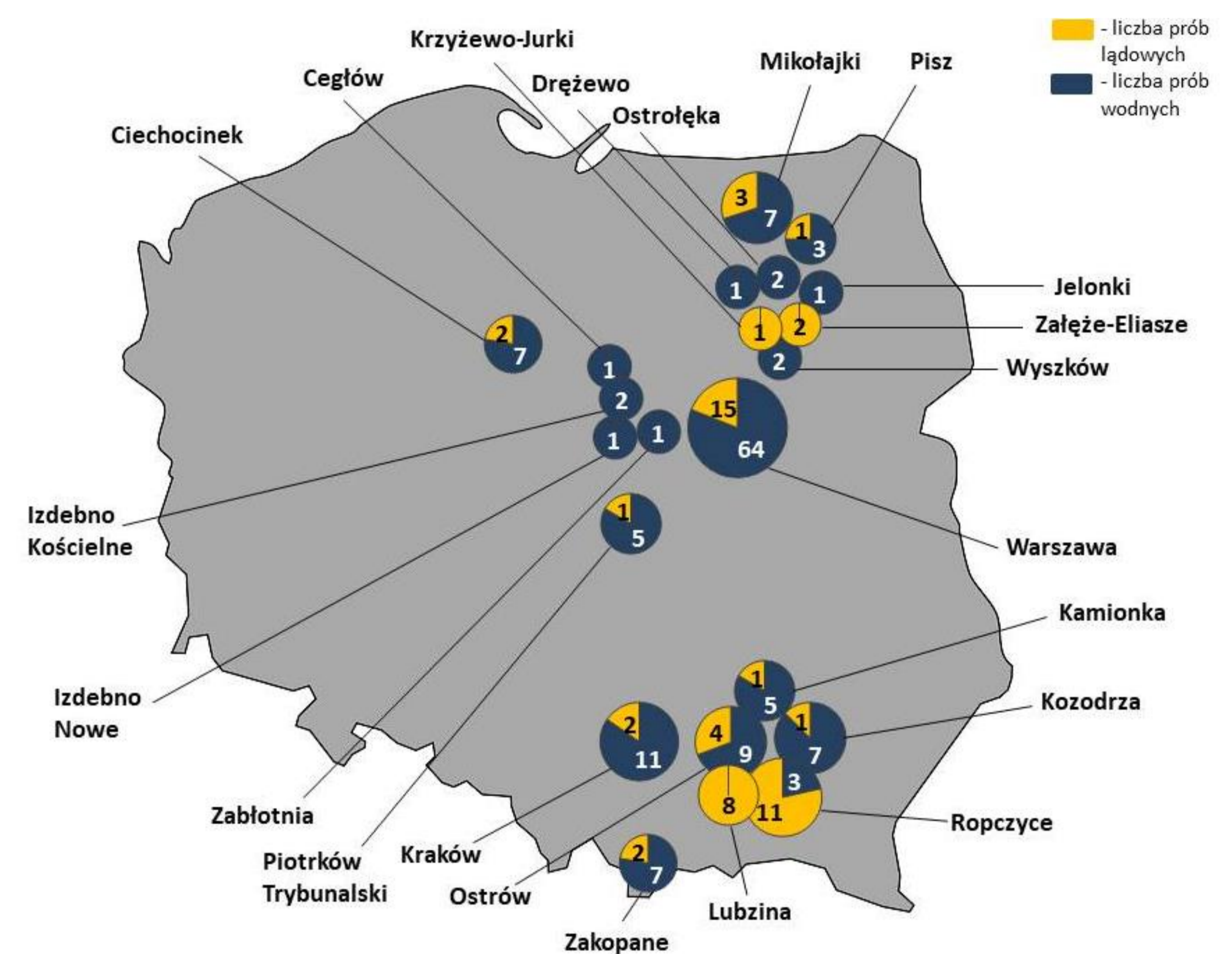
Wyroste na podłożu PIM (72 godz., temp. 30°C) kolonie, których morfologia przypominała glony *Prototheca* spp., poddawano obserwacjom mikroskopowym. Następnie izolowano genomy DNA, przy użyciu zestawu GenoLyse (HAIN, Francja), i używano go do typowania genetycznego metodą PCR-RFLP dla genu *cytb* (Jagielski i wsp., 2018, J. Clin. Microbiol., 56:e00584-18).

WYNIKI

Ogółem, z 193 prób środowiskowych, wyhodowano 13 (13/193; 6,7%) szczepów należących do rodzaju *Prototheca*. Większość (11/13; 84,6%) pochodziła ze środowisk wodnych. Szczepy te zidentyfikowano jako *Prototheca wickerhamii* (6/13; 46,1%) i *Prototheca pringsheimii* (4/13; 30,8%). Jeden szczep, pochodzący z Wisły, był inny od wszystkich opisanych dotąd gatunków. Wśród prób lądowych jeden (1/13; 7,7%) szczep zidentyfikowano jako *P. wickerhamii*, inny – jako *P. pringsheimii*. Oba szczepy wyizolowano z gleby pobranej przy Jeziorze Mikołajskim.



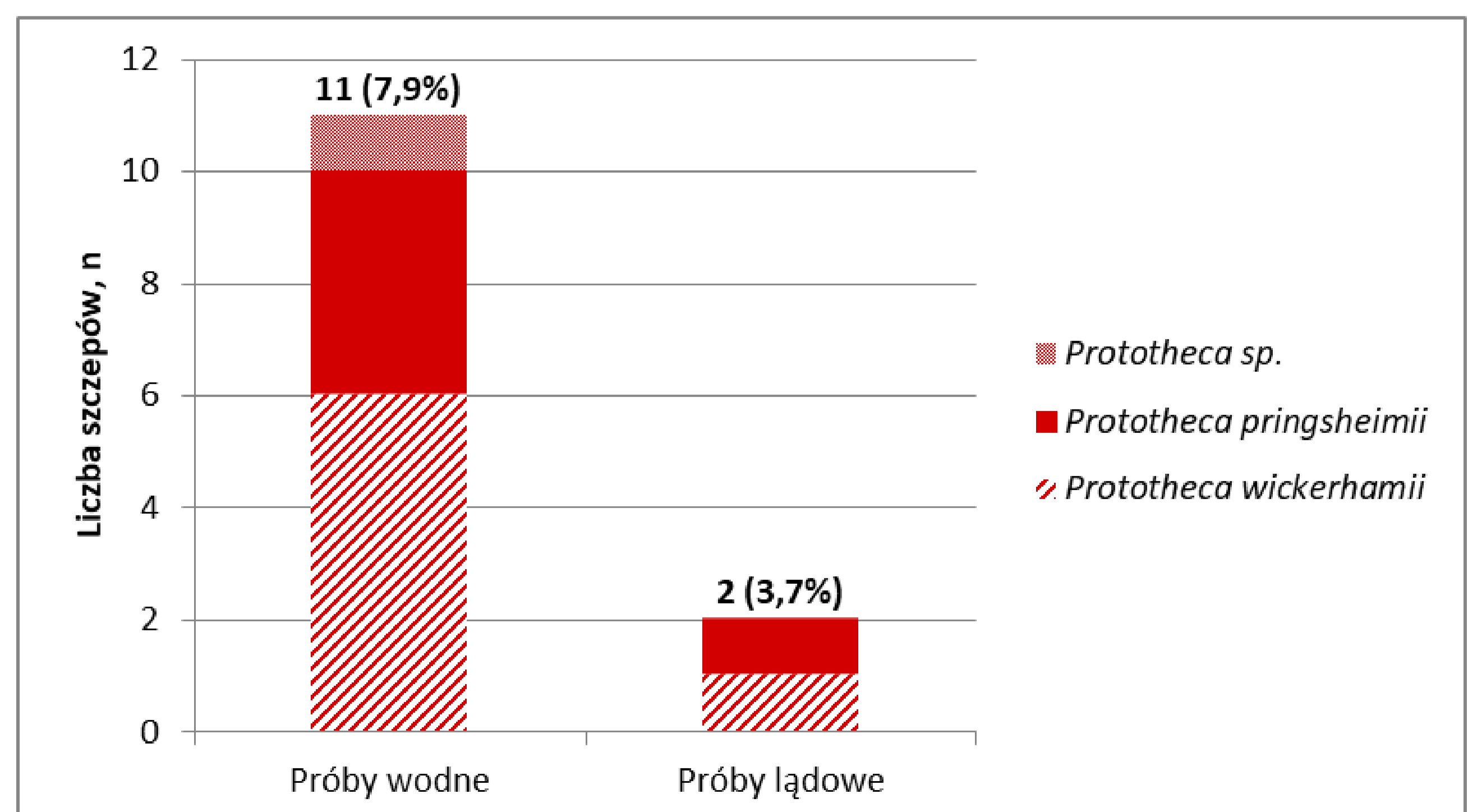
Ryc. 3. Identyfikacja gatunkowa 13 wyhodowanych szczepów przy wykorzystaniu metody PCR-RFLP dla genu *cytb*. Produkty amplifikacji wizualizowano na żelu agarozowym: A – amplifikacja DNA, B – trawienie restrykcyjne (RsaI/TaqI). Użyto markeru molekularnego GeneRuler Low Range. Za punkt odniesienia posłużyły wzorcowe szczepy *P. wickerhamii* (Pw) i *P. pringsheimii* (Pp). Wzorce molekularne oznaczone nazwami W1, W2, W4, W5, O1, M2, PB odnoszą się do gatunku *P. wickerhamii*, S1, S2, M1, St1, St2 – do gatunku *P. pringsheimii*, W3 – do szczepu wykazującego różnice względem wszystkich poznanych dotąd gatunków.



Ryc. 1. Miejsca poboru prób środowiskowych na terenie Polski, z uwzględnieniem ich rodzaju i liczby.



Ryc. 2. Początkowy schemat doświadczalny dla izolacji szczepów *Prototheca* spp. Od lewej strony: próbkowane środowisko, posiew i hodowla mikrobiologiczna, obserwacje mikroskopowe.



Ryc. 4. Rozkład zidentyfikowanych szczepów z rodzaju *Prototheca* w kontekście dwóch typów prób – wodnych i lądowych, pobranych z różnych ekosystemów naturalnych na terenie Polski.

WNIOSKI

Z łącznej liczby 193 pobranych prób środowiskowych, zaledwie 6,7% wykazało obecność glonów *Prototheca* spp. Glony *Prototheca* spp. częściej izolowano ze środowisk wodnych, niż lądowych. Najwięcej izolowanych szczepów należało do gatunku *P. wickerhamii*.