

**POSZUKIWANIE METODY IDENTYFIKACJI GRZYBÓW Z RODZAJU
SCOPULARIOPSIS NA PODSTAWIE ANALIZY SEKWENCJI GENÓW *COXI* I β -*TUB***

Zofia Bakuła¹, Małgorzata Kaliszewska¹, Joanna Kalita¹, Marek Gadzalski², Tomasz Jagielski¹

¹Zakład Mikrobiologii Stosowanej, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski,
ul. I. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa

²Zakład Genetyki Drobnoustrojów, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii
i Immunologii, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

WSTĘP

Rodzaj *Scopulariopsis* obejmuje przeszło 30 gatunków, z czego co najmniej dziewięć wymienianych jest w piśmiennictwie jako czynnik etiologiczny grzybic. Ponieważ metody diagnostyczne zakażeń grzybiczych oparte na cechach fenotypowych są czasochłonne, a ich wyniki nie zawsze są jednoznaczne, coraz częściej zwraca się ku metodom molekularnym. Obecnie nie istnieje metoda diagnostyczna pozwalająca na wykrywanie i różnicowanie chorobotwórczych grzybów z rodzaju *Scopulariopsis*.

CEL

Celem badania było określenie zróżnicowania genetycznego grzybów należących do rodzaju *Scopulariopsis* na podstawie analizy sekwencji fragmentów genów *COXI* i β -*TUB*, a także zaproponowanie molekularnej metody diagnostycznej, umożliwiającej identyfikację czynnika etiologicznego na poziomie gatunku.

MATERIAŁY I METODY

Przedmiotem badań była kolekcja 78 szczepów z rodzaju *Scopulariopsis* pochodzących z międzynarodowej kolekcji kultur grzybów CBS. Amplifikację fragmentów genów *COXI* i β -*TUB*, prowadzono przy użyciu zdegenerowanych starterów. Oczyszczone produkty PCR sekwencjonowano w pracowni sekwencjonowania firmy Genomed w Warszawie. Sekwencje genów dopasowano z wykorzystaniem programu ClustalX. Nieukorzenione drzewa wykonano przy użyciu programu MEGA6 metodą największej wiarygodności. Wytypowane zestawy enzymów restrykcyjnych testowano przy użyciu oprogramowania EMBOSS.

WYNIKI

Analiza otrzymanych sekwencji wykazała duże zróżnicowanie genetyczne w obrębie rodzaju *Scopulariopsis*. Zaobserwowano brak spójności w ocenie przynależności gatunkowej wykonanej metodami fenotypowymi i molekularnymi oraz dużą spójność w ramach metod molekularnych.

Reakcje analizy polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych specyficzne dla gatunku udało się opracować dla pięciu z dziewięciu klinicznie istotnych gatunków: (*S. brevicaulis*, *S. brumptii*, *S. konigii*, *S. acremonium* oraz *S. carbonaria*).

WNIOSKI

1. Brak spójności w ocenie przynależności gatunkowej wykonanej metodami fenotypowymi i molekularnymi może wskazywać na nieprawidłowości oznaczeń gatunkowych wykonanych dla bazy CBS.
2. Zaprojektowane reakcje analizy polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych wyróżniają tylko pięć z dziewięciu istotnych klinicznie gatunków *Scopulariopsis* sp. Niezbędne są dalsze analizy, które pozwoliłyby na uzupełnienie zaproponowanej metody identyfikacji.