

Zadanie 1.6: Diagnostyka oraz zmienność populacyjna bakterii *Erwinia amylovora*, sprawcy zarazy ogniowej

Kierownik zadania: dr J. Puławska

Wykonawcy: mgr A. Mikiciński, mgr M. Kałużna, dr A. Kuras, prof. dr hab. P. Sobiczewski, H. Kijańska

Erwinia amylovora ma status organizmu kwarantannowego na materiale rozmnożeniowym określonych roślin-gospodarzy. W opracowaniu efektywnej ochrony roślin przed chorobą bardzo ważne jest poznanie genetycznego zróżnicowania patogena, weryfikacja i udoskonalenie istniejących technik diagnostycznych oraz opracowanie nowych. W roku 2011 nasilenie występowania zarazy ogniowej było wysokie. Spośród 10 monitorowanych sadów drzew jabłoni i gruszy w województwach mazowieckim, łódzkim, dolnośląskim i śląskim chorobę stwierdzono w sześciu z nich. Ponadto *E. amylovora* wyizolowano z 15 próbek pochodzących z sadów jabłoniowych i gruszkowych w różnych rejonach kraju. Utrzymywana jest kolekcja izolatów i szczepów bakterii *E. amylovora*. Bakterie przechowywane są w zawiesinie glicerolu w temperaturze -70°C . W ciągu roku bakterie były wyszczepiane na pożywki mikrobiologiczne w celu oceny ich żywotności, morfologii kolonii i zdolności patogenicznych.

Porównano wirulencję 6 szczepów *E. amylovora* wyizolowanych w Polsce z różnych roślin-gospodarzy z 2 szczepami pochodzącymi z jabłoni z USA. Badania przeprowadzono na jednorocznych drzewkach jabłoni odmian Szampion, Elstar, Free Redstar i Quinte szczepionych na podkładce M.9. Najwyższą wirulencję na pędach każdej z odmian wykazały amerykańskie szczepy A90 i B62 (63-100%). Były one w stanie przełamać odporność na zarazę ogniową odmian Quinte i Free Redstar. Podobną wirulencję wykazały polskie izolaty na odmianach Elstar i Szampion. Natomiast na odmianach Quinte i Free Redstar szczepy pochodzące z Polski okazały się mało wirulentne (0-40%).

Sześć tygodni po inokulacji pędów drzewek czterech odmian jabłoni inokulowanych 5 szczepami (A90, B62, E2, 659 i 692) pobierano fragmenty makroskopowo zdrowych pędów w odległości 1 cm i 2 cm od granicy nekrozy i badano wielkość populacji *E. amylovora* stosując technikę Real-time PCR. Stwierdzono korelację między populacją szczepów a ich wcześniej badaną wirulencją, co mogłoby wskazywać na większe zdolności wysoko wirulentnych szczepów do pokonywania mechanizmów obronnych rośliny, a także na większe zdolności do kolonizacji tkanki roślinnej w porównaniu z innymi szczepami.

W osobnym doświadczeniu stwierdzono, że szczep B62 pochodzący z USA również był w stanie wywołać objawy zarazy ogniowej na odmianie Enterprise zaklasyfikowanej do grupy odpornych.

Analiza zróżnicowania genetycznego 60 szczepów *E. amylovora* wykazała, że grupują się one w 3 różnych klasterach o podobieństwie mniejszym niż 32%. Jeden z klasterów składa się tylko z dwóch szczepów pochodzących z Litwy. Szczepy wyizolowane w Polsce znalazły się w dwóch pozostałych klasterach. Szczepy pochodzące z USA, charakteryzujące się najwyższą wirulencją, znalazły się w klasterze razem z wieloma innymi szczepami i nie różniły się istotnie.