

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

Okres realizacji: 2008-2014

Kierownik zadania: **dr hab. Joanna Pulawska, prof. IO**

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

Celem badań było określenie przydatności różnych wariantów techniki Real-time PCR do wykrywania *Erwinia amylovora* w materiale roślinnym w tym również porażonym bezobjawowo, a także opracowanie metody wykrywania szczepów o standardowej i wysokiej wirulencji. Wykonano także analizę wpływu nowego plazmidu na wirulencję *Erwinia amylovora* i możliwości jego rozprzestrzeniania się wśród innych szczepów.

Ocena przeżywalności *E. amylovora* na kwiatach i pędach jabłoni po zabiegach ochronnych preparatami konwencjonalnymi i czynnikami biologicznymi wykazała, że kwiaty i pędy w kombinacji niechronionej były znacznie bardziej porażone niż w pozostałych kombinacjach. Liczba bakterii sięgała w kombinacji niechronionej 10^5 – 10^6 komórek/kwiat i była o 2-3 rzędy wielkości wyższa niż w próbkach po zastosowaniu zabiegów ochronnych. Określono sekwencje dwóch nowych plazmidów *E. amylovora* – pEA635 i pEA651. W celu empirycznego określenia ich wpływu na patogeniczność i wirulencję *E. amylovora* usunięto te plazmidy z komórek szczepów 635 i 651 za pomocą metod inżynierii genetycznej. Stwierdzono, że żaden z dwóch nowych plazmidów nie miał wpływu na poziom syntezy amylokoranu, natomiast komórki bakteryjne pozbawione plazmidu pEA635 wykazywały statystycznie niższą wirulencję niż dzikie komórki posiadające ten plazmid.

Efektom realizacji zadania jest wieloczynnikowa charakterystyka szczepów *E. amylovora*, wywołujących zarazę ogniową na roślinach z rodziny Rosaceae, w tym na jabłoniach i gruszach. Stwierdzono, że generalnie szczepy *E. amylovora* wykazują się dużą jednorodnością pod względem cech biochemicznych i genetycznych. Jednakże odkryto szczepy o odmiennej zawartości plazmidowego DNA izolowane z roślin pochodzących z importu. Może to sugerować, że zostały one zawleczone do naszego kraju razem z materiałem importowanym.

Przeprowadzone badania potwierdziły teorię o zróżnicowanej wirulencji wśród szczepów *E. amylovora*, która zaznaczyła się szczególnie na odmianach jabłoni uważanych za odporne na zarazę ogniową. Uzyskane wyniki wskazują, że odmiany jabłoni takie jak: 'Quinte', 'Enterprise' lub 'Free Redstar', są przydatne do selekcji izolatów/szczepów *E. amylovora*, przeznaczonych do testów skryningowych oceny materiału hodowlanego pod kątem odporności/podatności na zarazę ogniową.

Opracowano metodę wykrywania *E. amylovora* w materiale roślinnym z zastosowaniem techniki real-time PCR, którą wdrożono do CL PIORiN w Toruniu oraz metodę z zastosowaniem techniki PCR do rozróżniania szczepów *E. amylovora* o standardowej i wysokiej wirulencji. Stosując tą metodę nie stwierdzono występowania szczepów *E. amylovora* o wysokiej wirulencji na terenie naszego kraju.

Odkryto i scharakteryzowano 3 nowe plazmidy *E. amylovora*. Stwierdzono również, że obecność w komórce bakteryjnej jednego z nowych plazmidów (pEA635) zwiększa wirulencję bakterii.

Wykazano, że wybrane czynniki biologicznej ochrony znacznie zredukowały stopień porażenia kwiatów i pędów jabłoni i były podobnie skuteczne w ograniczaniu populacji *E. amylovora* jak środki na bazie miedzi.

Opracowana metoda wykrywania bakterii *E. amylovora* wdrożona do CL PIORiN może być pomocna w szybkiej ocenie materiału roślinnego pod kątem porażenia przez *E. amylovora*.