ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛАЗМИД *ERWINIA AMYLOVORA*

Магистерская диссертация
Горовика Ю. Н.

Научный руководитель:
к. б. н. Лагоненко А.Л.

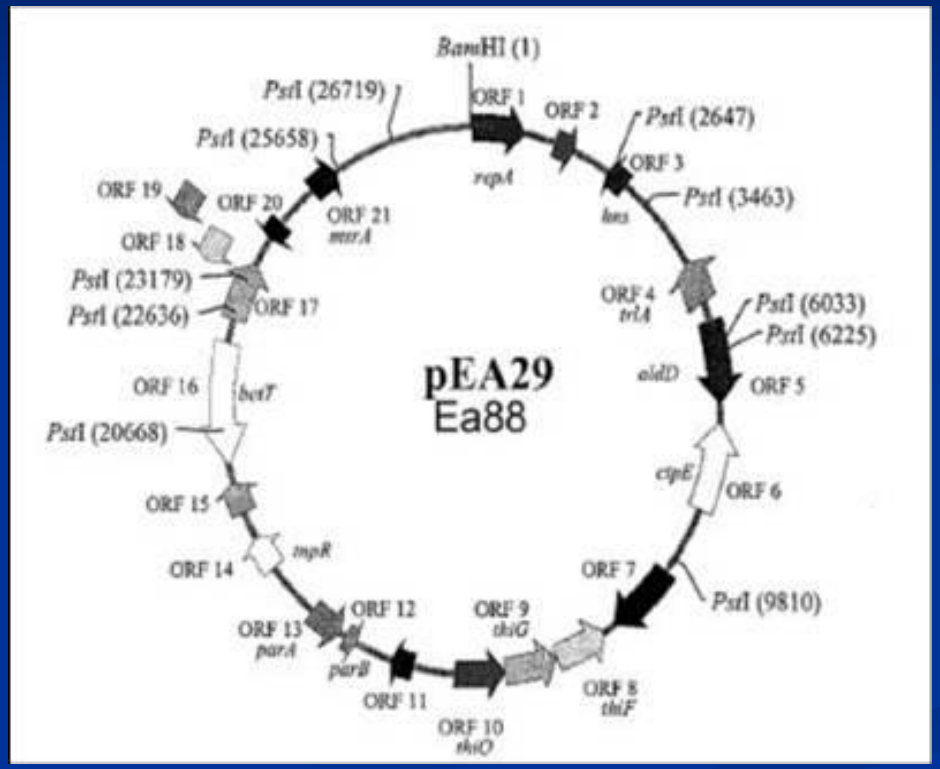
Цель:

- Изучить плазмидный состав бактерий *E. amylovora*, выделенных на территории Беларуси, оценить их патогенность по отношению к различным видам растений семейства *Rosaceae* и вирулентность по отношению к растениям груши

Erwinia amylovora это грамм-отрицательная бактерия семейства *Enterobacteriaceae*. Возбудитель ожога плодовых у большинства видов растений подсемейства *Maloideae* семейства *Rosaceae*.

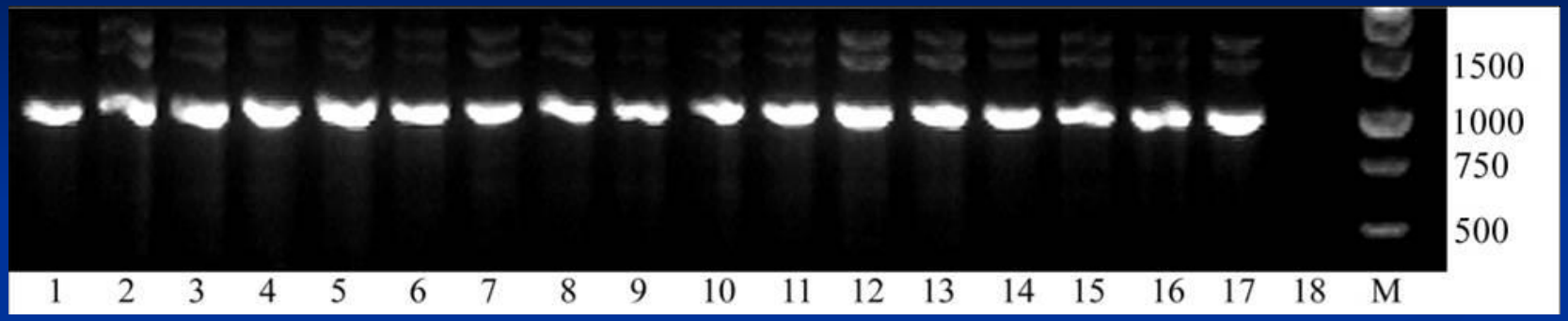
Плазмиды *Erwinia amylovora*

На сегодняшний день хорошо изучены пять плазмид *Erwinia amylovora.* pEU30, pEa34 и pEa8,7 обнаружены в американских штаммах, причем две последних несут гены устойчивости к стрептомицину. Плазмида pEL60 обнаруживается только в штаммах из Ливана. Самой распространенной является плазмида pEA29. Ее широко используют для генетической дифференцировки штаммов *Erwinia amylovora*

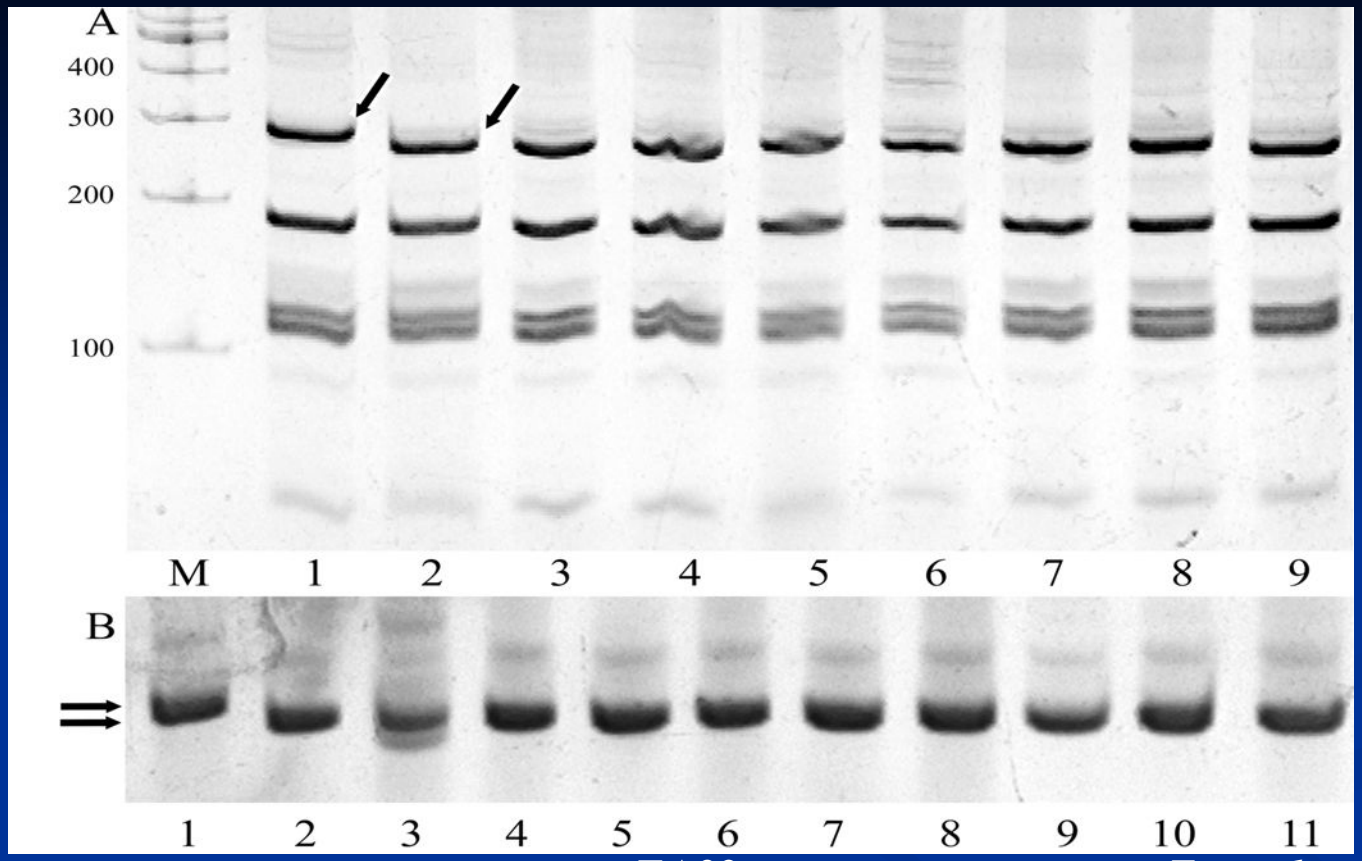


Растения, поражаемые бактериями *Erwinia amylovora*

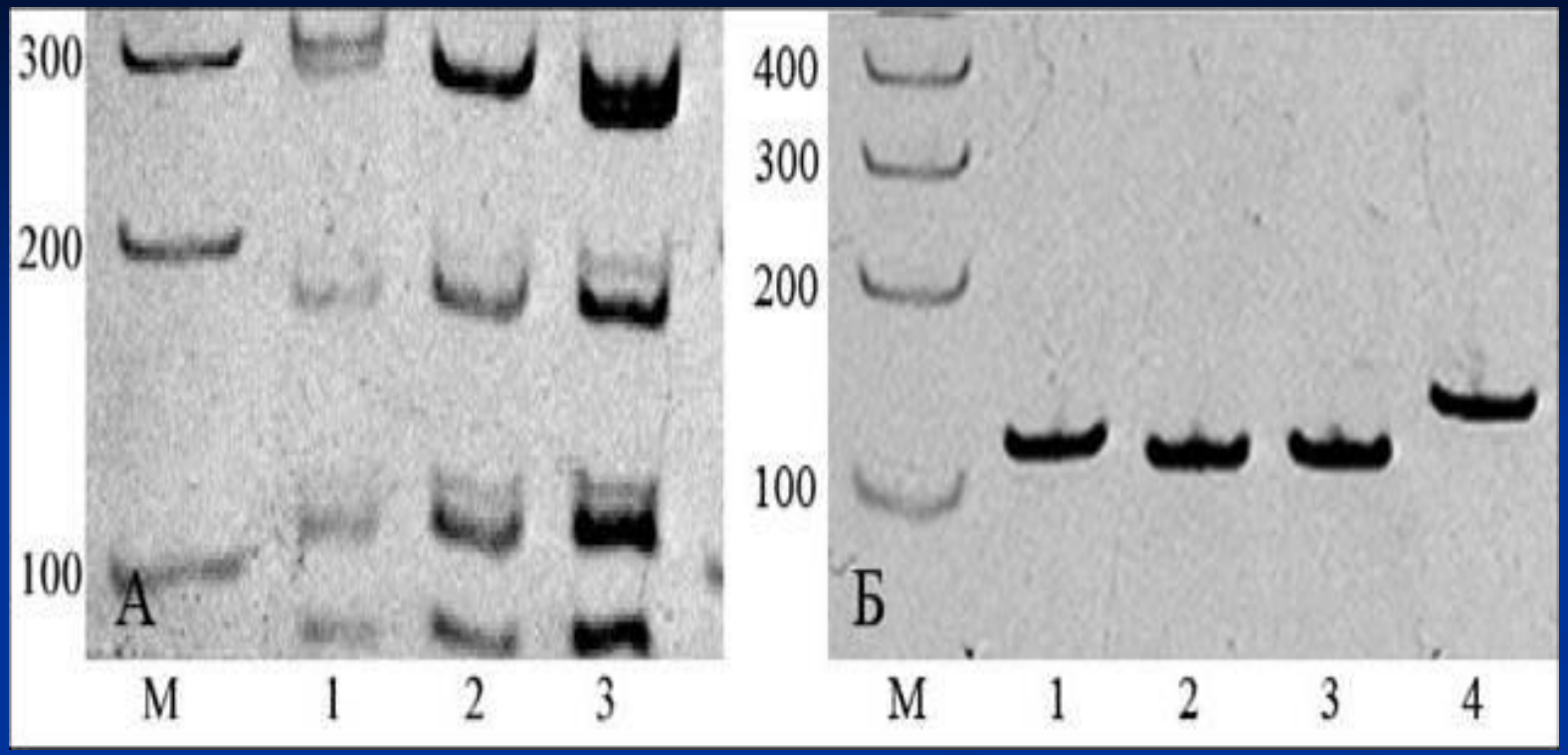
В целом, штаммы *Erwinia amylovora* не являются хозяевоспецифичными. К примеру, большинство штаммов, выделенных из растений яблони (*Malus domestica*) также патогенны для груши и других растений подсемейства *Maloideae*. Интересно, что штаммы *Erwinia amylovora*, выделенные из растений рода *Rubus*, не патогенны для груши и яблони. Штаммы, выделенные из азиатской груши (Хоккайдо, Япония), патогенны для Европейских сортов груши, но дифференциально патогенны по отношению к различным сортам яблони.



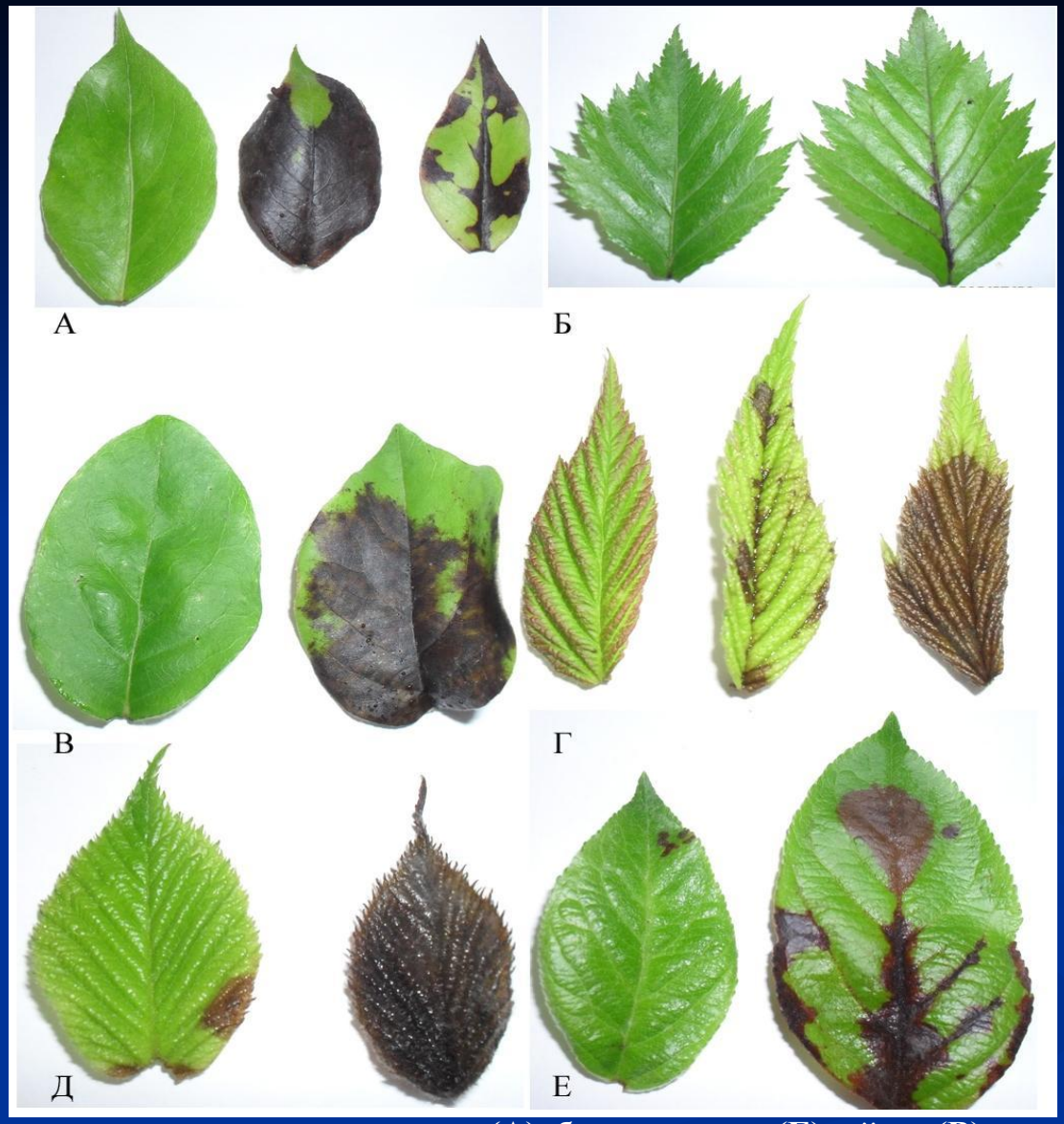
ПЦР-фрагменты, полученные после амплификации с pEA29-специфичными праймерами A/B. Дорожки: 1 – *E. amylovora* Ea1/79; 2 – LMG2024; 3 – Ea612; 4 – Ea646; 5 – Ea659; 6 – 133/95; 7 – EaL3-1; 8 – EaL3-2; 9 – EaL3-5; 10 – EaL3-6; 11 – EaL3-8; 12 – EaE1; 13 – EaE2; 14 – EaE3; 15 – EaE4; 16 – EaE5; 17 – EaL13; 18 – отрицательный контроль; M – маркерная ДНК



А. Анализ количества ssr в плазмиде pEA29 различных штаммов *E. amylovora*, на основании рестрикции *Sau*3A ПЦР фрагментов, полученных с помощью праймеров А и В. В. ПЦР фрагменты, полученные путем амплификации с праймерами RS1 и RS2c. Дорожки: 1 - *Erwinia amylovora* Ea1/79; 2 – LMG2024; 3 – Ea646; 4 – Ea659; 5 – 133/95; 6 – EaL3-2; 7 – EaL3-5; 8 – EaL13; 9 – EaE1; 10 – EaE2; 11 – EaE3; M – маркерная ДНК (стрелками указаны фрагменты ДНК, подвижность которых отличается)



А. Электрофореграмма продуктов рестрикции ферментом *Sau*3А ПЦР фрагментов, амплифицированных с праймерами А и В. 1 - *Erwinia amylovora* К2108; 2 - Еа1/79; 3 – ЕаЕ3. Б. Электрофореграмма продуктов амплификации фрагментов плазмиды рЕА29 из различных штаммов *Erwinia amylovora* с праймерами RS1 и RS2c. 1 - *Erwinia amylovora* Еа1/79, 2 - ЕаL3-1, 3 - Еа646, 4 - К2108. М – маркерная ДНК



Симптомы бактериального ожога на листьях груши (А), боярышника (Б), айвы (В), малины (Г), ежевики (Д) и яблони (Е), проявляющиеся при искусственном заражении бактериями *Erwinia amylovora* (листья в левой части каждой фотографии – отрицательный контроль).

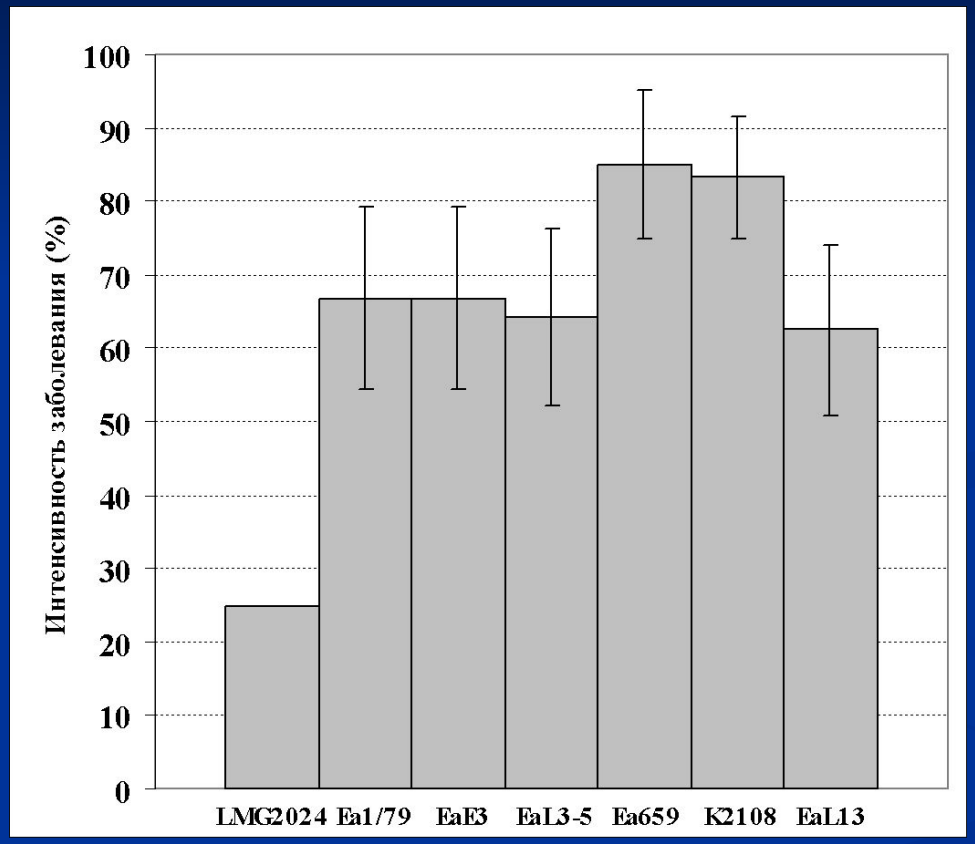
Определение спектра поражаемых видов растений, семейства *Rosaceae*

Вид растения	Штамм *Erwinia amylovora*						
	LMG 2024	Ea1/79	Ea659	EaL3-5	K2108	EaL13	EaE3
Груша (*Pirus* sp.)	+	+	+	+	+	+	+
Яблоня (*Malus* sp.)	+	+	+	+	+	+	+
Ирга (*Amelanchier* sp.)	-	-	-	-	-	-	-
Айва (*Cydonia* sp.)	+	+	+	+	+	+	+
Хеномелес (*Chaenoméles* sp.)	-	-	-	-	-	-	-
Малина (*Rubus idaeus*)	-	+	+	+	+	+	+
Боярышник (*Crataégus* sp.)	-	-	+	+	-	+	-
Рябина (*Sórbus* sp.)	-	-	-	-	-	-	-
Ежевика (*Rubus* sp.)	+	+	+	+	-	+	+
Земляника (*Fragária* sp.)	-	-	-	-	-	-	-
Арония (*Arónia melanocárpa*)	-	-	-	-	-	-	-

Примечание: «+» - развитие некроза листьев на шестые сутки после заражения;

«-» - отсутствие визуальных симптомов поражения листьев по сравнению с контролем.

Оценка вирулентности различных штаммов *Erwinia amylovora*, по отношению к растениям груши



Интенсивность развития бактериального ожога на отдельных листьях груши при заражении различными штаммами *Erwinia amylovora*.

Выводы:

1. Белорусские штаммы *Erwinia amylovora*, выделенные на территории Минской области содержат плазмиду pEA29 с пятью восьминуклеотидными повторами, штамм K2108, изолированный в Гродненской области, содержит эту же плазмиду с количеством повторов более шести.
2. При искусственном заражении все исследованные штаммы *Erwinia amylovora* патогенны по отношению к растениям яблони, груши и айвы и не поражают иргу, хеномелес, рябину, землянику и аронию. Штаммы Ea1/79, LMG2024, EaE3, K2108 не вызывают некроз листьев боярышника, LMG2024 не поражает листья малины, а K2108 – листья ежевики.
3. Вирулентность штаммов *Erwinia amylovora* Ea1/79, Ea659, EaL3-5, EaE3, K2108 и EaL13 достоверно не различается. Штамм LMG2024 характеризуется самой низкой вирулентностью по отношению к растениям груши.

Спасибо за внимание!