

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

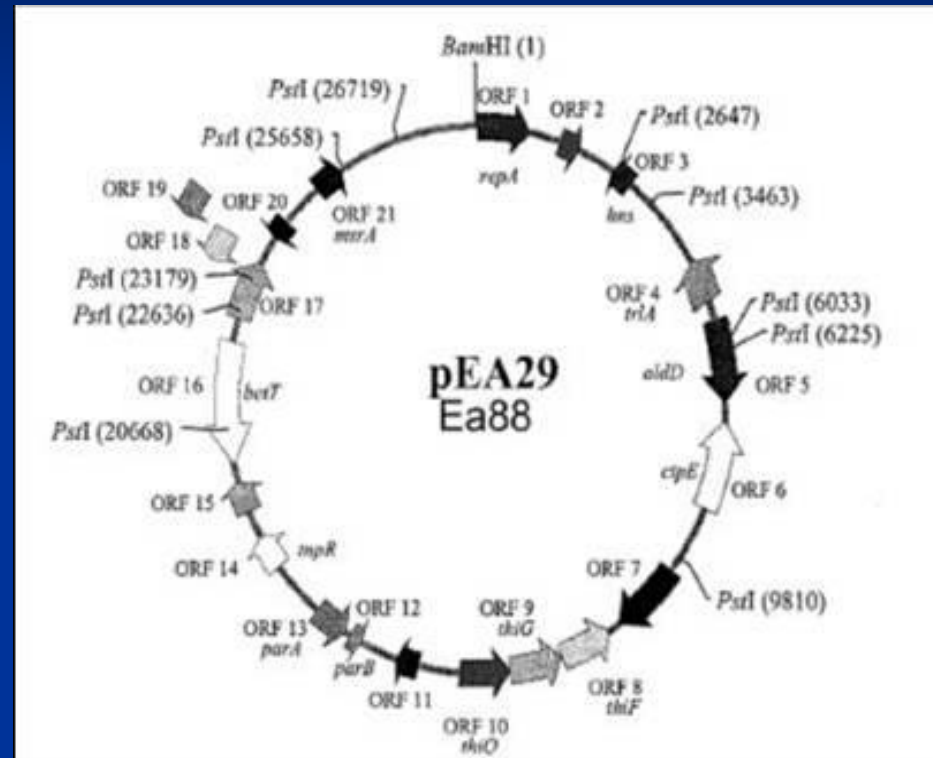


Erwinia amylovora это грамм-отрицательная бактерия семейства *Enterobacteriaceae*. Возбудитель ожога плодовых у большинства видов растений подсемейства *Maloideae* семейства *Rosaceae*.



Плазмиды *Erwinia amylovora*

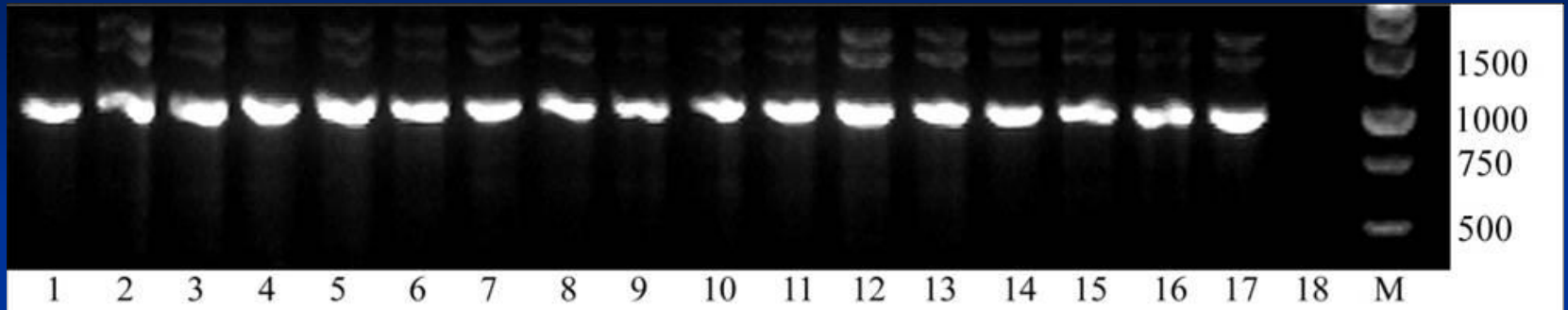
На сегодняшний день хорошо изучены пять плазмид *Erwinia amylovora*. pEU30, pEa34 и pEa8,7 обнаружены в американских штаммах, причем две последних несут гены устойчивости к стрептомицину. Плазмида pEL60 обнаруживается только в штаммах из Ливана. Самой распространенной является плазмида pEA29. Ее широко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



Растения, поражаемые бактериями *Erwinia amylovora*

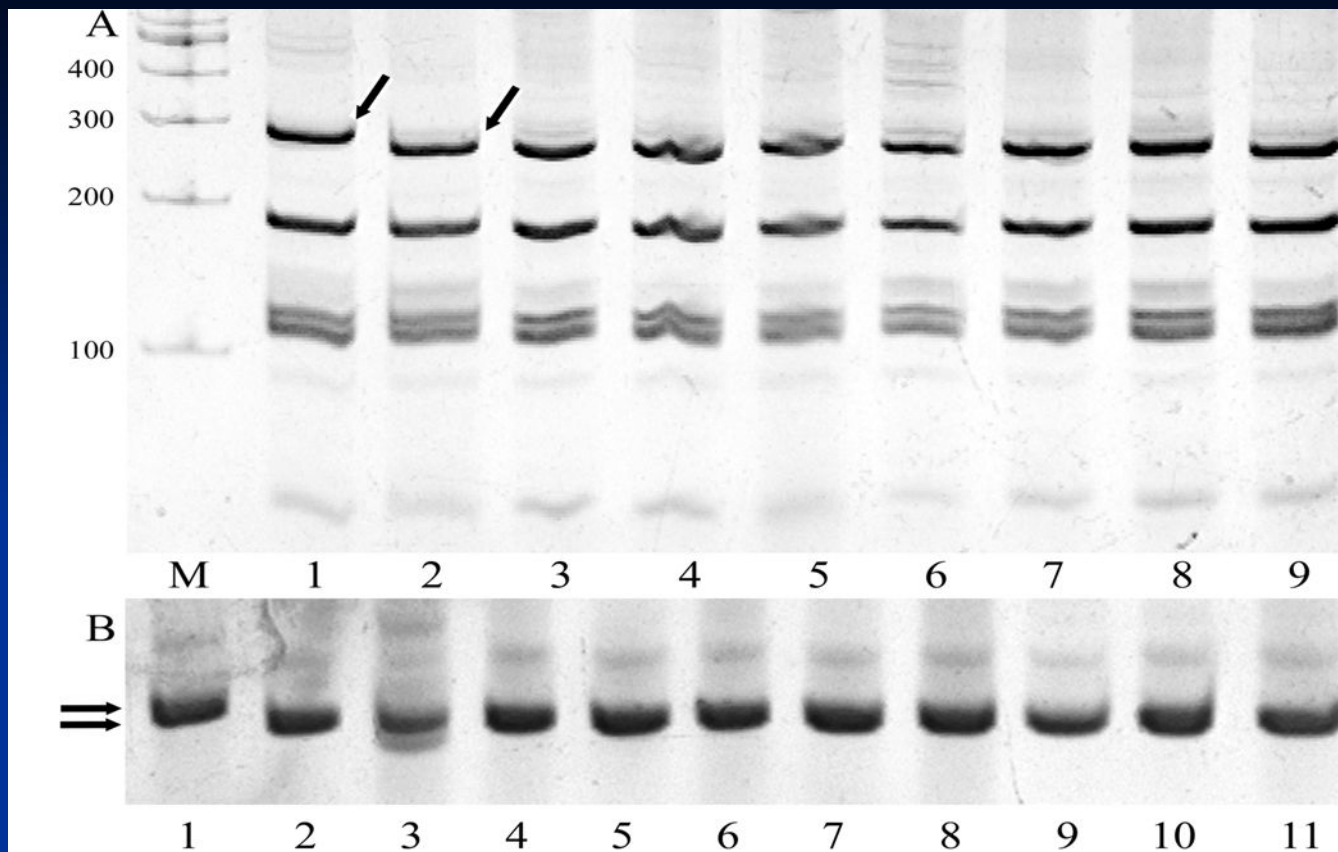
В целом, штаммы *Erwinia amylovora* не являются хозяевоспецифичными. К примеру, большинство штаммов, выделенных из растений яблони (*Malus domestica*) также патогенны для груши и других растений подсемейства *Maloideae*. Интересно, что штаммы *Erwinia amylovora*, выделенные из растений рода *Rubus*, 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.





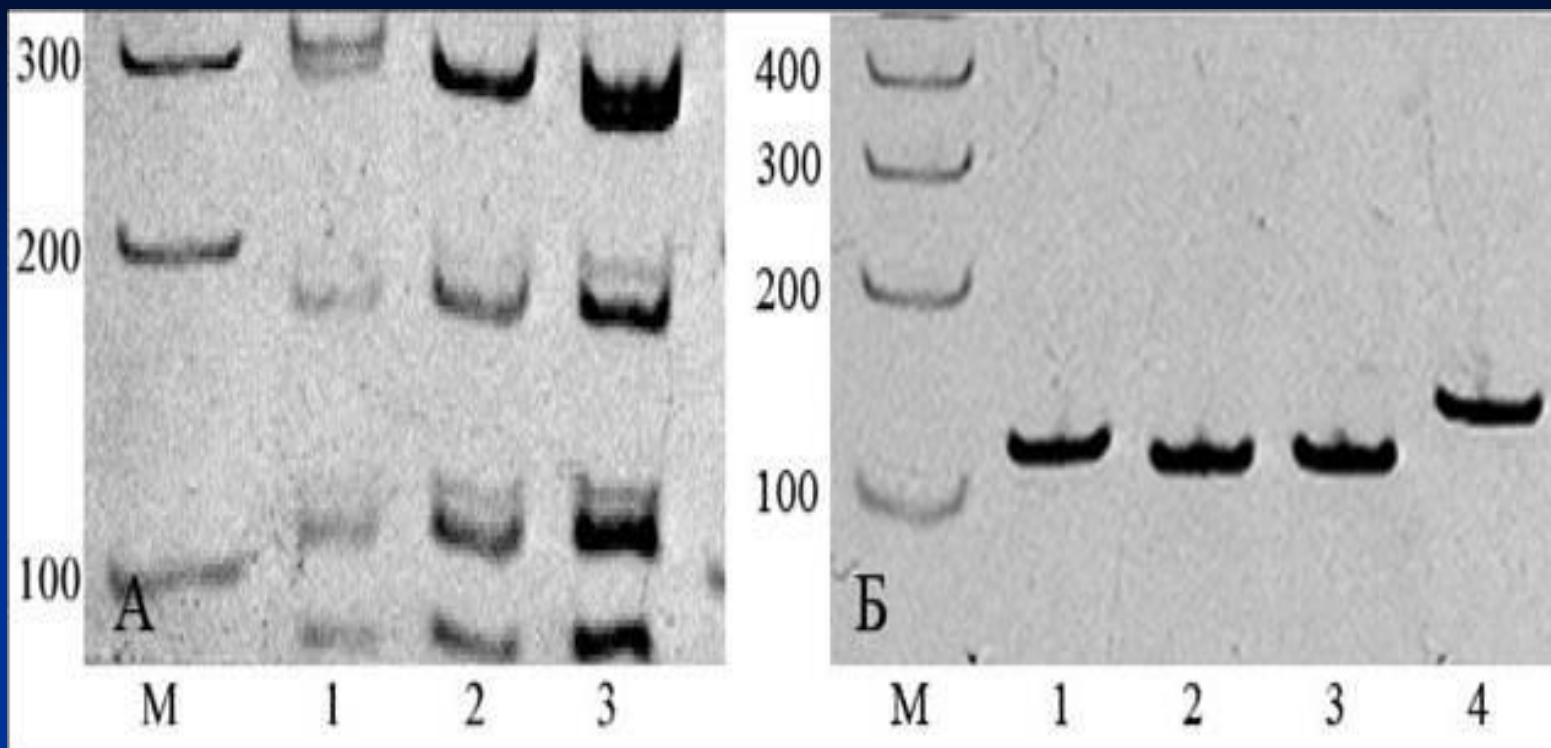
ПЦР-фрагменты, полученные после амплификации с рЕА29-специфичными праймерами А/В. Дорожки: 1 – *E. amylovora* Ea1/79; 2 – LMG2024; 3 – Ea612; 4 – Ea646; 5 – Ea659; 6 – 133/95; 7 – EaL3-1; 8 – EaL3-2; 9 – EaL3-5; 10 – EaL3-6; 11 – EaL3-8; 12 – EaE1; 13 – EaE2; 14 – EaE3; 15 – EaE4; 16 – EaE5; 17 – EaL13; 18 – отрицательный контроль; М – маркерная ДНК





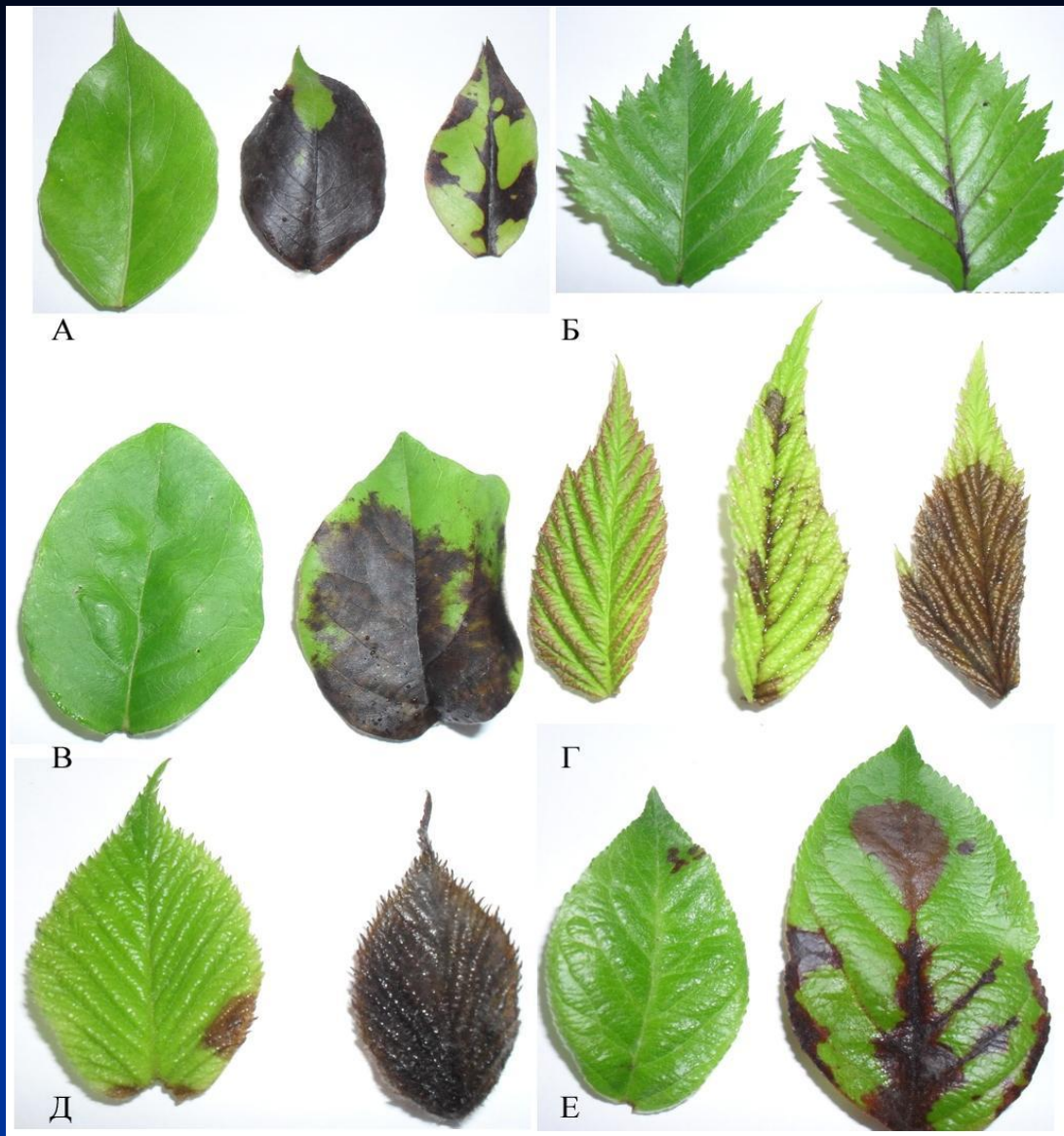
А. Анализ количества *ssr* в плазмиде pEA29 различных штаммов *E. amylovora*, на основании рестрикции *Sau3A* ПЦР фрагментов, полученных с помощью праймеров А и В. **В.** ПЦР фрагменты, полученные путем амплификации с праймерами RS1 и RS2с. Дорожки: 1 - *Erwinia amylovora* Ea1/79; 2 – LMG2024; 3 – Ea646; 4 – Ea659; 5 – 133/95; 6 – EaL3-2; 7 – EaL3-5; 8 – EaL13; 9 – EaE1; 10 – EaE2; 11 – EaE3; М – маркерная ДНК (стрелками указаны фрагменты ДНК, подвижность которых отличается)





А. Электрофореграмма продуктов рестрикции ферментом *Sau3A* ПЦР фрагментов, амплифицированных с праймерами А и В. 1 - *Erwinia amylovora* K2108; 2 - Ea1/79; 3 – EaE3.
Б. Электрофореграмма продуктов амплификации фрагментов плазмиды pEA29 из различных штаммов *Erwinia amylovora* с праймерами RS1 и RS2с. 1 - *Erwinia amylovora* Ea1/79, 2 - EaL3-1, 3 - Ea646, 4 - K2108. 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*

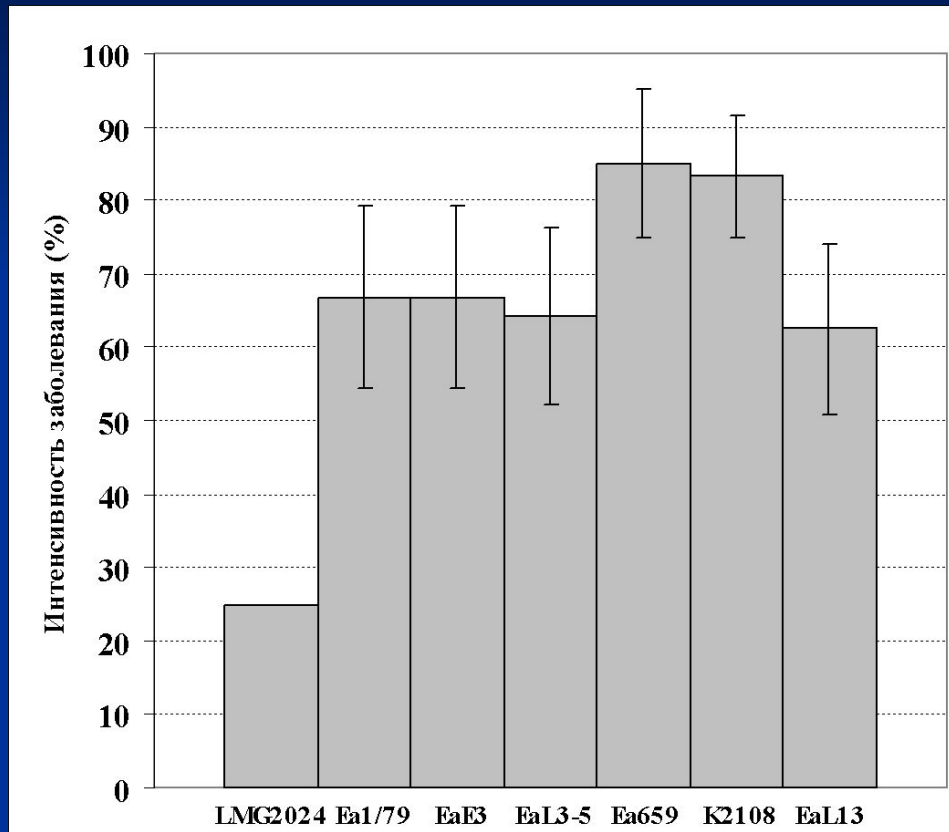
Вид растения	Штамм <i>Erwinia amylovora</i>						
	LMG 2024	Ea1/79	Ea659	EaL3-5	K2108	EaL13	EaE3
Груша (<i>Pirus sp.</i>)	+	+	+	+	+	+	+
Яблоня (<i>Malus sp.</i>)	+	+	+	+	+	+	+
Ирга (<i>Amelanchier sp.</i>)	-	-	-	-	-	-	-
Айва (<i>Cydonia sp.</i>)	+	+	+	+	+	+	+
Хеномелес (<i>Chaenoméles sp.</i>)	-	-	-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

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!

