



HAZAI ERWINIA AMYLOVORA IZOLÁTUMOK ÖSSZEHASONLÍTÁSA MOLEKULÁRIS VIZSGÁLAT ALAPJÁN

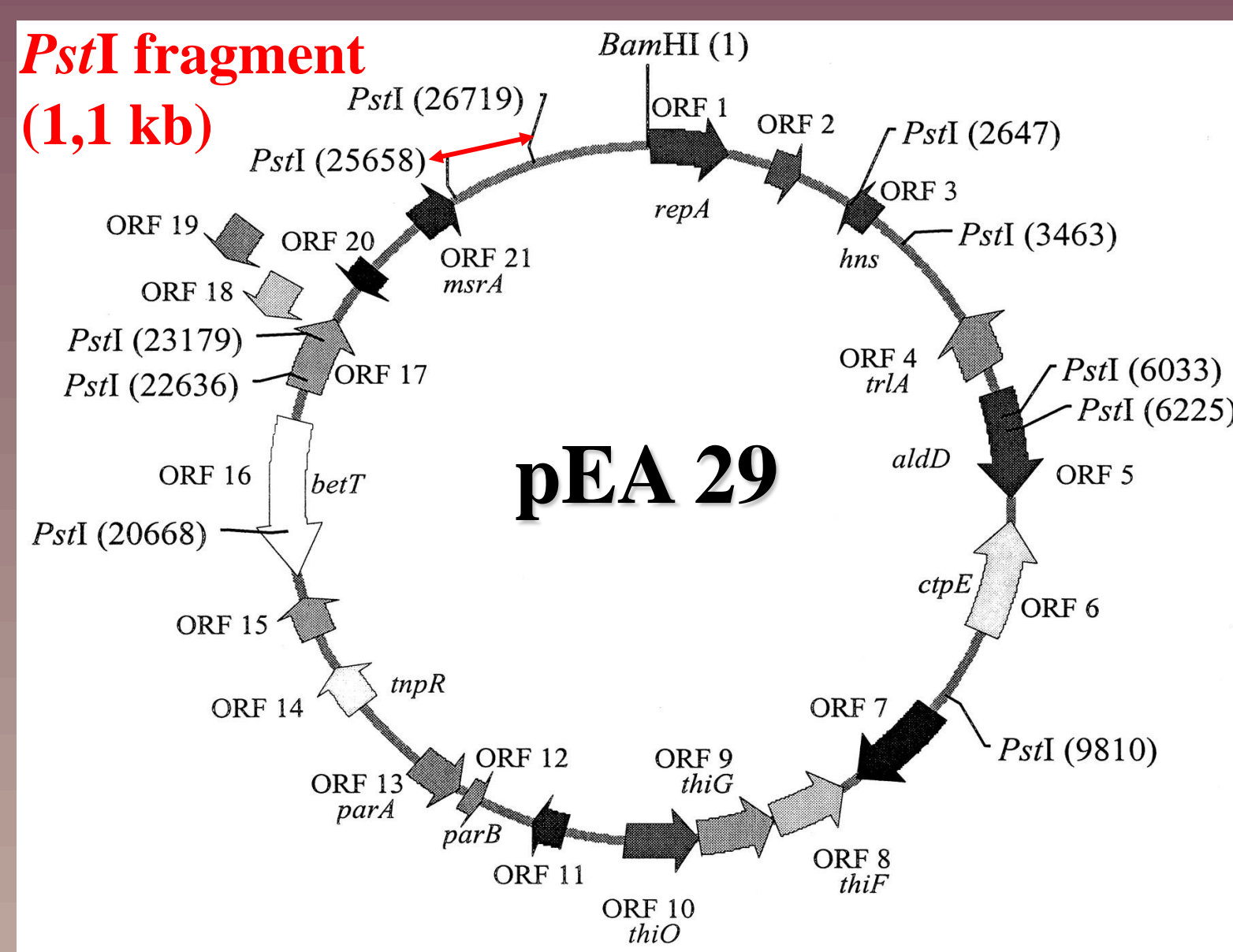
Végh A.¹ — Hevesi M.² — Pájtli É.¹ — Petrik K.¹ — Palkovics L.¹

¹ Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar, Növénykörtani Tanszék

² Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar, Gyümölcsstermő Növények Tanszék

Bevezetés

A „tűzelhalás betegségért” az *Erwinia amylovora* baktérium felelős, mely súlyos veszteséget okoz az alma- és körteültetvényekben az egész világon. Hazánkban a kórokozó 1996-ban jelent meg először. Megjelenése óta számos *Erwinia amylovora* izolátumot gyűjtöttünk és vizsgáltunk. Vizsgálatunk célja volt, hogy összehasonlítsuk a hazai *Erwinia amylovora* populációt molekuláris vizsgálat alapján, valamint összehasonlítsuk más külföldi izolátumokkal.



1. ábra: A vizsgált *PstI* fragment elhelyezkedése a pEA29 plazmidban (Gayle és Alan, 2000)

Anyag és Módszer

Az *E. amylovora* faj pEA 29 plazmidjára specifikus primereket használtunk (pEA29A: 5'-CGG TTT TAA CGC TGG G-3', pEA29B: 5'-GGG CAA ATA CTC GGA TT-3'). A primerek segítségével kiemeltük a plazmidból az 1,1 kb hosszú fragmentumot (1.ábra). A PCR terméket tisztítottuk, majd szekvenciáját meghatároztattuk. Ebben a szakaszban található egy 8 nukleotidból (ATTACAGA) álló ismétlődő régió (SSR), mely száma alapján, a fajon belüli különbségek, eltérések mutathatók ki (Ruppitsch és mtsai., 2004). Ezután az általunk izolált és a rendelkezésünkre álló 31 izolátum szekvenciáit összevetettük a nemzetközi adatbázisban található 27 homológ szekvenciával.

Izolátumok jelölése	Gazdanövény	Gyűjtés helyszíne	Izolálás éve	SSR száma (ATTACAGA)
Ea19	<i>Cydonia oblonga</i>	Pomáz	1997	5
Ea22	<i>Crataegus</i> sp.	Pécs	1998	5
Ea50	<i>Pyrus x communis</i> 'Dr. Guyot Gyula'	Zala	1999	5
Ea80	<i>Pyrus communis</i>	Zala	2001	5
Ea47	<i>Malus x domestica</i> 'Idared'	USA, Michigan	1999	5
Eam1	<i>Malus domestica</i>	Románia, Székelyudvarhely	2009	5
Ea10	<i>Pyrus communis</i>	Sarkad	1997	6
Ea15	<i>Cotoneaster dammeri</i>	Békéscsaba	1997	6
Ea16	<i>Cotoneaster salicifolius</i>	Pécs	1997	6
Ea88	<i>Malus x domestica</i> 'Idared'	Újfehértó	2002	6
Ea6	<i>Malus domestica</i>	Sarkad	1997	7
Ea12	<i>Cotoneaster horizontalis</i>	Sarkad	1997	7
Ea26	<i>Pyrus communis</i>	Zala	1998	7
Ea60	<i>Malus domestica</i>	Érd	2000	7
Ea67	<i>Malus domestica</i>	Monostorpályi	2000	7
Ea70	<i>Cydonia oblonga</i>	Monostorpályi	2000	7
Ea96	<i>Cydonia oblonga</i>	Ukrajna, Ungvár	2003	7
Eam8	<i>Cydonia oblonga</i>	Budapest	2011	7
Eam9	<i>Cydonia oblonga</i>	Szerbia	2011	7
Eam10	<i>Pyrus communis</i>	Szerbia	2011	7
Eam2	<i>Malus x adstringens</i> 'Helen'	Budapest	2010	8
Eam4	<i>Crataegus</i> sp.	Vecsés	2010	8
Eam5	<i>Crataegus</i> sp.	Budapest	2010	8
Eam6	<i>Crataegus</i> sp.	Debrecen	2010	8
Eam7	<i>Prunus</i> sp.	Budaörs	2011	8
Ea-PlumBo1	<i>Prunus x domestica</i> 'Ageni'	Budaörs	2011	8
Ea29	<i>Cotoneaster</i> sp.	Budapest	1998	9
Ea31	<i>Pyracantha</i> sp.	Budapest	1998	9
Ea1	<i>Malus domestica</i>	Nyárlőrinc	1996	9
Ea95	<i>Cydonia oblonga</i>	Rákoskert	2003	10
Ea329/98	<i>Malus domestica</i>	Ausztria, Vorarlberg	1998	12

1. táblázat: *E. amylovora* izolátumok jellemző tulajdonságai

NCBI adatbázis azonosító	Izolátum származása	SSR száma (ATTACAGA)
AF264948 (McGhee és Jones, 2000)	USA	4
NC_005706 (McGhee és Jones, 2000)	USA	4
NC_013972 (Sebahia és mtsai., 2010)	Anglia	4
FN666576 (Sebahia és mtsai., 2010)	Anglia	4
FR719212 (Powney és mtsai., 2011)	Németország	4
FN434114 (Smits és mtsai., 2010)	Németország	5
NC_013957 (Smits és mtsai., 2010)	Németország	5
EU725787	Bulgária	10
EU725788	Bulgária	13
EU725789	Bulgária	11
EU725790	Bulgária	8
EU725791	Bulgária	12
FN668618	Egyiptom	8
FN668619	Egyiptom	6
FN668620	Egyiptom	8
FN668621	Egyiptom	8
FN668622	Egyiptom	7
FN668623	Egyiptom	8
FN668624	Egyiptom	6
FN668625	Egyiptom	6
FN668626	Egyiptom	6
FN668627	Egyiptom	6
FN668628	Egyiptom	4
FN668629	Egyiptom	9
FN668630	Egyiptom	7
FN668631	Egyiptom	6
FN668632	Egyiptom	6

2. táblázat: A nemzetközi adatbázisban szereplő összes *Erwinia amylovora* izolátum SSR vizsgálatának eredménye

Eredmények és következtetések

A PCR termékek nukleotid szekvenciáját meghatároztuk. A szekvenciákban megkerestük a pEA29 plazmid ismétlődő régióját, a SSR-eket. Az *E. amylovora*-ra jellemző pEA29 plazmid ATTACAGA (ismétlődő kópiaszámának) szekvenciájának analízise azt mutatta, hogy a hazai törzsek domináns populációjában ez a szakasz 5, 6, 7, 8, 9, 10-szer ismétlődik (1. táblázat). A hazai izolátumok többsége a 7-8-szor ismétlődő szekvencia csoportba tartozik. A rendelkezésünkre álló szerb izolátumok 7, az osztrák 12, a román 5 és az ukrán 7 SSR számmal rendelkezik. Eredményeinket összehasonlítottuk az NCBI adatbázisban szereplő összes 27 *Erwinia amylovora* izolátummal (2. táblázat), mely vizsgálatok a pEA29 plazmid ismétlődő régiójára terjedtek ki. Az amerikai 4, az angol 4 és a német izolátumok 4-5 SSR számmal, míg a bolgár izolátumok magasabb SSR számmal rendelkeznek (10-13 SSR) a mieinkhez viszonyítva. Az egyiptomi vizsgálatok során kapott eredmények hasonlóan legfőképpen a saját vizsgálatainkhoz, hiszen ezek az izolátumok 4, 6, 7, 8, 9 SSR számmal rendelkeznek. Az egyiptomi izolátumok domináns populációja a 6-7-szer ismétlődő, míg a mi izolátumaink többsége a 7-8-szor ismétlődő csoportba tartozik. Járványtani szempontból az eredmények alapján feltételezzük, hogy a hazai izolátumok valószínűleg délről érkeztek hazánkba. A rendelkezésünkre álló hazai izolátumok további felmérése szükséges ahhoz, hogy epidemiológiai szempontból feltérképezzünk a hazai populációt.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS:

A kísérleteket a TÁMOP – 4.2.1./B-09/1-KMR-2010-0005, TÁMOP- 4.2.2./B-10/1-2010-0023 és OTKA-PD 75280 pályázatok támogatták.

IRODALOM

Hevesi M. (1996): Az *Erwinia amylovora* (Burill) Winslow et al. hazai megjelenése almán. *Növényvédelem* 32 (5): 225-228 p.
Ruppitsch W., Stoeger R.A. and Keck M. (2004): Stability of short sequence repeats and their application for the characterization of *Erwinia amylovora* strains. *FEMS Microbiology Letters* 234 (1): 1-8 p.