

DÉL-MAGYARORSZÁGI *ERWINIA AMYLOVORA* IZOLÁTUMOK JELLEMZÉSE KOLÓNIA TÍPUS ÉS SZÉNHIDRÁT HASZNOSÍTÁS ALAPJÁN

Hajagos Laura I. évf., Növényorvos MSc

Budapesti Corvinus Egyetem

Kertészettudományi Kar

Növénykórtani Tanszék

Konzulensek:

Végh Anita egyetemi tanársegéd

Dr. Palkovics László egyetemi tanár, tanszékvezető

A „tüzelhalás betegséget” az *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al. (1920) baktérium okozza. A *Rosaceae* család mintegy 40 nemzetségébe tartozó 200 termesztett és vadonélő növényfajt egyaránt képes megfertőzni (van der Zwet and Beer, 1995) Az egész világon az alma- és körte ültetvényekben súlyos gazdasági károkat okoz. A betegség a világ mintegy 40 országában előfordul. A kórokozó Európába 1955-ben (Anglia) jelent meg, majd fokozatosan terjedt a keleti országok irányába. Hazánkban 1995-ben jelent meg először (Hevesi 1996). Megjelenése óta számos *Erwinia amylovora* izolátum áll rendelkezésünkre és folyamatos gyűjtjük különböző évekből, különböző földrajzi helyről és különböző gazdanövényekről. Vizsgálatunk célja, hogy a dél-magyarországi *E. amylovora* izolátumokat összehasonlítsuk kolónia típus és szénhidrát hasznosítás alapján.

A vizsgálathoz használt *Erwinia amylovora* izolátumok különböző évekből, különböző földrajzi helyekről és gazdanövényekről származnak. Az izolátumokat liofilizálva és krioprezerválva tarjuk fenn. A hiperszenzitív reakciót (Klement, 1963) dohánylevélen (*Nicotiana tabacum* L. cv. White Burley) vizsgáltuk. A kórokozó tenyésztéséhez King-B táptalajt (King és mtsai, 1954) használtunk, melynek pH értéke 6,8. Az állandó inkubációs hőmérséklet 26 °C. A kolónia típus meghatározáshoz számos általános (Nutrient agar, King-B, Kado-Heskett, Miller-Schroth) és szelektív táptalajt (Crosse-Goodman és EMB –Eosine Methylene Blue agar) használtunk. Az izolátumokat a különböző táptalajokon tenyésztettük, majd inkubáltuk 26 °C-on. 24 óra elteltével a kolóniákat fénymikroszkóp segítségével értékeltük és kolónia típus alapján jellemeztük. A különböző szénhidrát hasznosítás meghatározáshoz API 50 CH kitet (BioMérieux, France) használtunk. A King-B agar lemezről a baktériumok 24 h- ás tiszta tenyészetéből steril desztillált vízzel szuszpenziót készítettünk, melynek töménysége 10^8 sejt/ml. A szuszpenziót az API folyékony táptalajba kevertük és ezzel a 49 féle szénhidrátot tartalmazó kit-mintahelyeit töltöttük meg, melyeket 26 °C-on inkubáltunk. Az eredményeket 24h, 48h, 66h, és 164h múlva értékeltük (Hevesi, 2004) és összehasonlítottuk az izolátumok jellemzőit.

Kísérletünkben összehasonlítottunk tizenkét dél-magyarországi *E. amylovora* izolátumot kolónia típus és szénhidrát hasznosítás alapján. A vizsgálatban használt táptalajokon minden izolátum nagyméretű, ép szélű, sima felületű, mukoid kolóniát képez. Az általános táptalajokon az izolátumok nem különböztethetők meg, egységes kolóniákat képeznek, míg a szelektív táptalajokon a kolóniák színe alapján különbségeket tudtunk tenni. A Crosse-Goodman táptalajon két csoportba (1. kékesszürke, 2. halvány rózsaszín) és az EMB agaron három csoportba (1. halvány rózsaszín, 2. sötét rózsaszín halvány rózsaszínű udvarral, 3. sötétlila pontszerű közép világos udvarral) soroltuk az izolátumokat. A nektár meghatározó cukor komponensei (fruktóz, glükóz, szacharóz) mellett csak néhány adat létezik az irodalomban más kevésbé gyakori szénhidrátok hatásairól az *Erwinia amylovora* szaporodásánál. Ezek mellett más cukrok hatásairól, mint a maltóz, melobióz és raffinóz, melyek előfordulnak számos *Rosaceae* családba tartozó növényfajok nektárjaiban, nem áll elegendő adat rendelkezésünkre (Percival, 1961). Valószínűleg a szénhidráttartalom jelentős szerepet játszhat az *Erwinia amylovora* virágfertőzésében. Vizsgálatainkban meghatároztuk az *Erwinia amylovora*

szaporodásánál kevésbé jelentős szénhidrátok hatását is, melyhez API 50 CH kitet használtunk (Végh, 2009). Az API 50 CH kit módszer színváltozást eredményez: ha az adott baktérium hasznosítja az adott szénhidrátot, akkor az eredeti piros színű oldat sárgára változik. Az izolátumok 49 szénhidrát hasznosítása alapján, két szénhidrát csoportot különítettünk el: “hasznosított” és “nem hasznosított” szénhidrátok. A teljes reakció idő 164 h volt. Az izolátumok 20 különböző szénhidrátot hasznosítottak ennek a periódusnak a végére. Ezeken kívül két másik szénhidrát (arbutin és raffinóz) alapján különbségeket találtunk az izolátumok között. Az izolátumokat három csoportba osztottuk (1. hasznosítja az arbutint, 2. hasznosítja a raffinózt, 3. hasznosítja az arbutint és a raffinózt is). Az eredmények alapján elmondható, hogy az izolátumok (melyek különböző évekből, különböző földrajzi helyről és gazdanövényről származnak, illetve akár hazai, akár külföldi származásúak) eltérő eredményeket adtak, amely feltételezi, hogy ezek nem egy törzset alkotnak. A kolónia típus és szénhidrát hasznosítás vizsgálatának eredményei hozzájárulnak az *Erwinia amylovora* populációjának feltérképezéséhez és alapját képezik a jövőbeli genetikai vizsgálatoknak.

A projektet az NTP-OKA-XXII-046 és a TÁMOP – 4.2.1./B-09/1-KMR-2010-0005 pályázat támogatta.

Felhasznált irodalom

- Hevesi M. (1996): Az *Erwinia amylovora* (Burill) Winslow et al. hazai megjelenése almán. *Növényvédelem* 32 (5): 225- 228.
- Hevesi M., Farkas Á., Kása K. and Orosz- Kovács Zs. (2004): Carbohydrate utilization of *Erwinia amylovora* in vitro. *International Journal of Horticultural Science*, 10 (2): 31- 34.
- King, E. O., Ward, M. K. and Raney, D. E. (1954): Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J. lab. Clin. Med.*, 44: 301- 307.
- Klement, Z. (1963): Rapid detection of the pathogenicity of phytopathogenic pseudomonads. *Nature*, Lond, 199- 300.
- Percival, M. S. (1961): Typesm of nectar in angiosperms. *New Phytol.* 60: 235- 281.
- van der Zwet, T., Beer, S. V. (1995): Fire Blight - Its Nature, Prevention and Control. *USDA Bulletin No.* 631-697.
- Végh, A. Palkovics, L. Tóth, M. and Hevesi, M. (2009): Rapid method of isolation and selection of *Erwinia amylovora*. Lippay János- Ormos Imre- Vas Károly Scientific Symposium, 28-29 october 2009., Budapest. Book of abstracts, p. 248-249.
- Winslow, C. E. A., Broadhurst, J., Buchanan, R. E., Krumwiede, Jr. C., Rogers, L. A., Smith, G. H. (1920): The families and genera of the bacteria. Final report of the Committee of the Society of American Bacteriologists on characterization and classification of bacterial types. *Journal of Bacteriology*, 5:191-229.