

Az I-es és a II-es csoportba tartozó *Botrytis cinerea* izolátumok patogenitása különböző növényeken

Mojtaba Asadollahi^{1,2} – Éva Fekete² – Erzsébet Fekete² – Levente Karaffa² – Erzsébet Sándor¹

¹Debreceni Egyetem, Növényvédelmi Intézet

²Debreceni Egyetem, Biomérnöki Tanszék

karaffa@agr.unideb.hu

ÖSSZEFOGLALÁS

A *Botrytis cinerea* a legújabb kutatások szerint egy I-es (*Botrytis pseudocinerea*) és egy II-es (*B. cinerea* sensu stricto) testvér fajokra elkülönülő fajkomplex. A két csoport patogenitásának összehasonlításához négy I-es és négy II-es csoportba tartozó *B. cinerea* vizsgátunk meg. A patogenitás mértéke szőlő, uborka és paprika levelén nagyobb volt a II-es csoportba tartozó (*B. cinerea*) izolátumoknál, de babon nem találtunk különbséget a két testvérfaj patogenitásának mértéke között.

SUMMARY

Botrytis cinerea has been reported as a species complex containing two cryptic species, groups I (*Botrytis pseudocinerea*) and II (*B. cinerea* sensu stricto). In order to compare the pathogenicity of group I and group II of *B. cinerea*, we have selected 4 strains of group I and 4 strains of group II. The results demonstrated that competitive infection of group II was more on grape, cucumber and paprika leaves, than group I. However the results on bean leaves did not correlate the applied *B. cinerea* group.

Kulcsszavak: *Botrytis cinerea*, *Botrytis pseudocinerea*, patogenitás

Keywords: *Botrytis cinerea*, *Botrytis pseudocinerea*, pathogenicity

BEVEZETÉS

A *Botrytis cinerea* Pers. Fr. (teleomorf: *Botryotinia fuckeliana* /de Bary/ Whetzel), a szürkerothadás kórokozója, az aszkuszos gombákhoz tartozó növényi patogén gomba. A *Botrytis* genuszon belül a *B. cinerea* rendelkezik a legszélesebb gazdanövénykörrel; több mint 200, jórészt a kétszikűek közé tartozó gazdanövénye ismert (Prins, 2000).

A *Botrytis cinerea* rendkívül változatos morfológiájú (Martinez *et al.*, 2003, Váczy *et al.*, 2005), és nagy genetikai diverzitású. Az RFLP markerekkel (Giraud *et al.*, 1997) és mikroszatellit markerekkel (Fournier és Giraud, 2008; Váczy *et al.*, 2008) vizsgált genetikai diverzitás rendkívül magas volt, és az eredmények alapján egyértelműen bizonyítható a rendszeres ivaros szaporodás annak ellenére, hogy ivaros termőtesteket nem találtak a területen. Kezdetben két szimpatikus csoportot különítettek el a transzpozonok jelenléte alapján: 1) a *transposa* típust, amely kétféle transzpozont (*Boty* és *Flipper*) is tartalmaz, és 2) a *vacuma* típust, amely nem tartalmaz transzpozonokat (Dioloz *et al.*, 1995; Levis *et al.*, 1997; Giraud *et al.*, 1997). A *Boty* és *Flipper* transzpozonok jelenlétét széles körben használták a *B. cinerea* populációk jellemzésére (Isenegger, 2008; Ma és Michailides, 2005; Munoz, 2002). Később, több gén szekvenciájának összehasonlító elemzése alapján (Genealogic Concordance of Phylogenetic Species Recognition) megállapították, hogy a *B. cinerea* fajkomplex, mely két testvérfajból áll (Fournier *et al.*, 2005). Ezek nem egyeznek meg a korábbi, transzpozonok jelenléte alapján felállított csoportokkal, mert mind a korábban I-es csoportként elnevezett *Botrytis pseudocinerea*, mind a II csoportba tartozó *B. cinerea* sensu stricto izolátumok között megtalálhatóak mind *vacuma*, mind *transposa* típusba tartozó törzsek, valamint a csak egyik transzpozont tartalmazó típusok is (Fournier *et al.*, 2005; Ma and Michailides, 2005; Váczy *et al.*, 2008, Fekete *et al.*, 2009, Walker *et al.*, 2011). Eddigi tanulmányok alapján a II csoportba tartozó *B. cinerea* van döntő mértékben jelen a fertőzött növényekről származó mintában (Fournier *et al.*, 2005.; Martinez *et al.*, 2005; Váczy *et al.*, 2008, Fekete *et al.*, 2009, Walker *et al.*, 2011). Továbbra is nyitott kérdés, hogy miért van a két testvérfaj közül mindig az egyik túlsúlyban a fertőzött növényi mintákról származó izolátumok között. Tanulmányunkban azonos termőhelyről izolált, szimpatikus *Botrytis pseudocinerea* (I-es csoport) és *B. cinerea* (II-es csoport) izolátumok patogenitását hasonlítottuk össze.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A vizsgálatban szereplő *Botrytis cinerea* (II-es csoport) és *Botrytis pseudocinerea* (I-es csoport) mintákat 2008 során, fertőzött repce, szamóca és málna növényekről izoláltuk Nagyréde térségéből. Az egyspórás izolátumokat burgonya dextróz agaron (PDA) tartottuk fenn. A konídiumokat -80°C-on, 50% glicerinben tároltuk. A törzsek számozása az izolálás sorrendjében történt, az izolálás helyének figyelembe vétele nélkül (*I. táblázat*). Az izolátumok pontos faji besorolását a karakterisztikus nukleotid szekvenciák alapján korábban már elvégeztük (Fekete *et al.*, 2009).

A kísérletekben használt I-es (*Botrytis pseudocinerea*) és II-es (*Botrytis cinerea*) csoportba tartozó minták

	Törzs neve (1)	Izolálás ideje (2)	Gazdanövény (3)
I-es csoport	8001	2008. 04.24.	repce
	8005	2008. 04.24.	repce
	8032	2008.05.18.	szamóca
	8047	2008.06.07.	szamóca
II-es csoport	8020	2008.05.18.	málna
	8025	2008.05.18.	szamóca
	8034	2008.05.18.	szamóca
	8061	2008.06.07.	szamóca

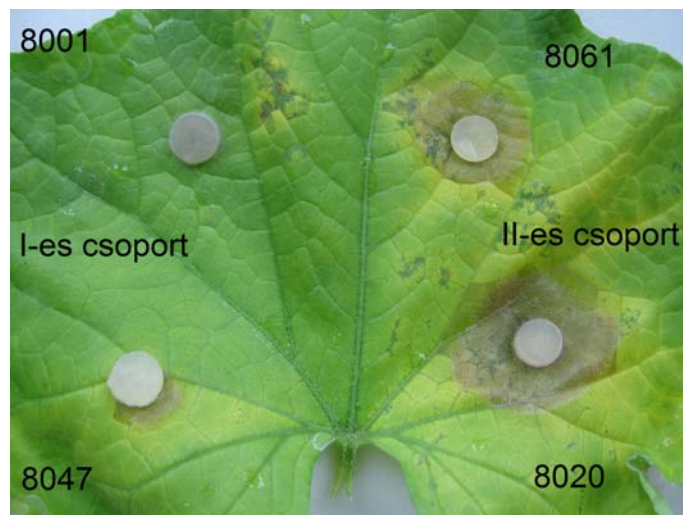
 Table 1: *Botrytis cinerea* group I and group II strains

Strain (1), Isolation date (2), host (3)

Az uborka és bab növényeket magról vetve, üvegházban neveltük 4 hétig, a második levél megjelenéséig. a kísérletekben a növényről leválasztott első és második levelet használtuk fel. A szőlőleveleket ültetvényből gyűjtöttük. A patogenitási kísérletekben 10 mm átmérőjű, PDA táptalajon növesztett gombatelep növekedési zónájából származó micélium korongokat helyeztünk a levelekre. Ezután a leveleket három napig 18°C-on, sötétben inkubáltuk, majd megmértük a léziók nagyságát. az eredményeket fényképfelvételeken is rögzítettük. Minden kísérletet két párhuzamossal végeztük, két ismétlésben.

EREDMÉNYEK

Az I-es (8001, 8005, 8032 and 8047) és II-es (8020, 8025, 8034 and 8061) csoportba tartozó *Botrytis cinerea* izolátumokat három napig 18°C-on növesztettük sötétben, majd 10 mm átmérőjű micélium korongokat helyeztünk különböző növények leveleire. Az uborka-, szőlő- és paprikalevéllal végzett kísérletekben a II-es csoportba tartozó *B. cinerea* izolátumok jóval nagyobb léziókat hoztak létre három nap után, mint az I-es csoportba tartozó, *B. pseudocinerea* izolátumok (1-3. ábra, 2. táblázat).

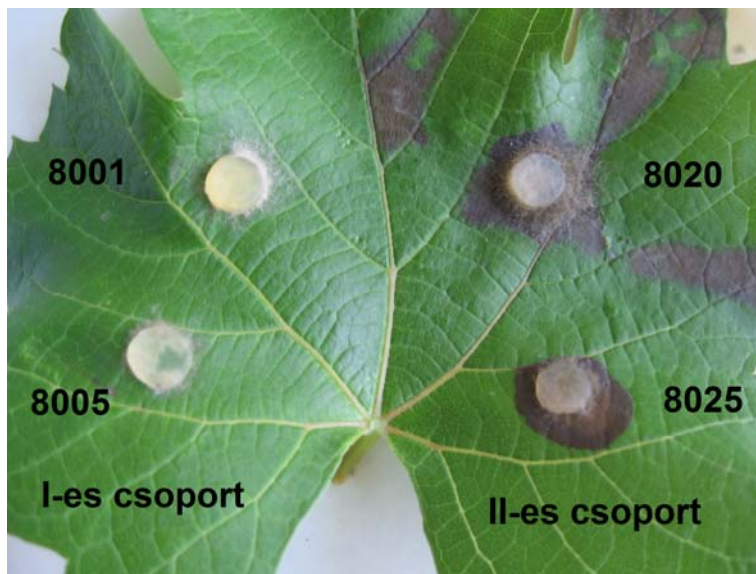
 1. ábra: *Botrytis cinerea* testvérfajainak patogenitása uborkalevélen


Az I-es (8001, 8047) és II-es (8020, 8061) csoportba tartozó *Botrytis cinerea* izolátumok által okozott lézióinak képe három nappal a micéliumkorongok felhelyezése után. Az inkubálás nedves kamrában, 18°C-on, sötétben történt.

 Figure 1: Pathogenicity of *Botrytis cinerea* cryptic species on detached cucumber leaf

The lesions on cucumber leaf following the mycelial discs of group I (8001, 8047) and group II (8020, 8061) isolates placed on the leaf and incubated at 18°C for 3 days in a humid, dark chamber.

2. ábra: *Botrytis cinerea* testvérfajainak patogenitása szőlőlevélen



Az I-es (8001, 8005) és II-es (8020, 8025) csoportba tartozó *Botrytis cinerea* izolátumok által okozott lézióinak képe három nappal a micélium korongok felhelyezése után. Az inkubálás nedves kamrában, 18°C-on, sötétben történt.

Figure 1: Pathogenicity of group I and group II of Botrytis cinerea on detached grape leaf.

The lesions on grape leaf following the mycelial discs of group I (8001, 8005) and group II (8020, 8025) isolates placed on the leaf and incubated at 18°C for 3 days in a humid, dark chamber.

3. ábra: *Botrytis cinerea* testvérfajainak patogenitása paprikalevélen

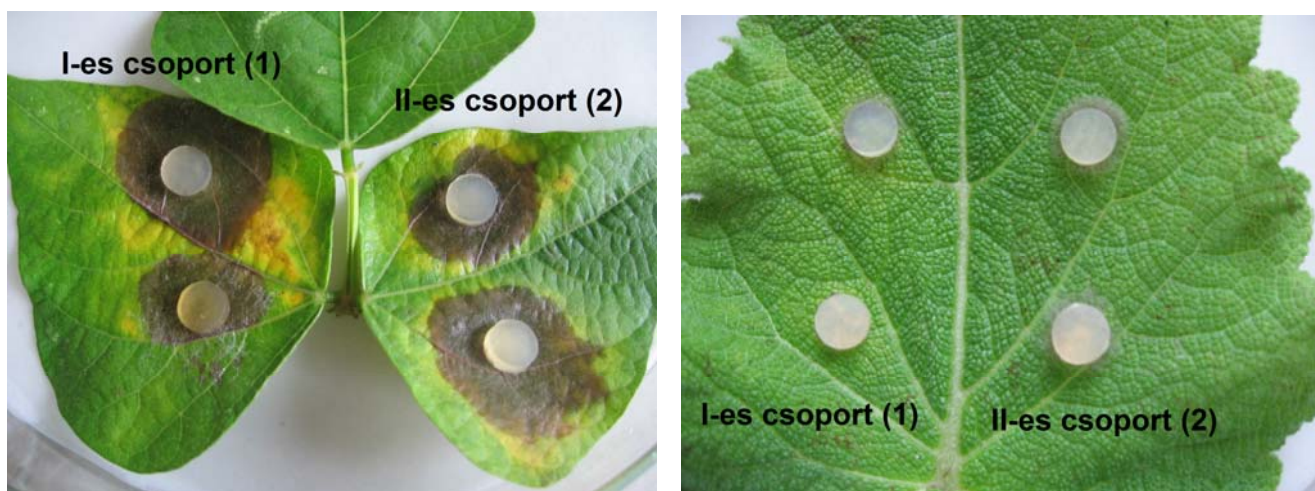


Az I-es (8005, 8032) és II-es (8025, 8034) csoportba tartozó *Botrytis cinerea* izolátumok által okozott lézióinak képe három nappal a micéliumkorongok felhelyezése után. Az inkubálás nedves kamrában, 18°C-on, sötétben történt.

Figure 1: Pathogenicity of group I and group II of Botrytis cinerea on detached paprika leaf.

The lesions on paprika leaf following the mycelial discs of group I (8005, 8032) and group II (8025, 8034) isolates placed on the leaf and incubated at 18°C for 3 days in a humid, dark chamber.

A bab levélre leoltott izolátumoknál nem találtunk különbséget a két testvérfaj patogenitása között többszöri ismétlésben sem, zsálya esetében a vizsgált törzsek közül egyik sem okozott léziókat (4. ábra).

4. ábra: *Botrytis cinerea* testvérfajainak patogenitása bab- és zsályalevélen


Az I-es és II-es (8025, 8034) csoportba tartozó *Botrytis cinerea* izolátumok által okozott lézióinak képe három nappal a micéliumkorongok felhelyezése után bab (bal oldali kép) és zsálya (jobb oldali kép) levélen. Az inkubálás nedves kamrában, 18°C-on, sötétben történt.

Figure 1: Pathogenicity of group I and group II of *Botrytis cinerea* on detached grape leaf.

The lesions on grape leaves following the mycelial disks of group I (8005, 8032) and group II (8025, 8034) isolates placed on the detached bean (left picture) and *Salvia* sp.(right picture) leaves and incubated at 18°C for 3 days in a humid, dark chamber.

2. táblázat

 A kísérletekben használt I-es (*Botrytis pseudocinerea*) és II-es (*Botrytis cinerea*) csoportba tartozó minták

Növényi levél (4)	Léziók átlagos nagysága (mm) (szórásérték) (1)			
	Leoltott I-es csoport (<i>Botrytis pseudocinerea</i>) (2)		Leoltott II-es csoport (<i>Botrytis cinerea</i>) (3)	
	8047	8001	8061	8020
Uborka (5)	12,00 (2,828)	11,00 (0,0)	25,00 (0,0)	32,00 (2,828)
	8001	8005	8020	8025
Szőlő (6)	13,50 (0,707)	14,00 (0,0)	23,00 (1,414)	18,50 (0,707)
	8032	8005	8025	8034
Paprika (7)	15,00 (2,828)	15,17 (0,0)	26,67 (0,0)	31,17 (2,828)

Table 1: *Botrytis cinerea* group I and group II strains

Average diameter of lesions (mm) (standard deviance) (1), Inoculated group I (*Botrytis pseudocinerea*) strain (2), Inoculated group II (*Botrytis cinerea*) strain (3), Plant leaf (4), Cucumber (5), Grape (6), Paprika (7)

KÖVETKEZTETÉSEK

A *Botrytis cinerea* rendkívül polifág kórokozó, mely több mint 200 növényt képes megtámadni, köztük több, gazdaságilag is jelentős. Napjainkban a *Botrytis cinerea*-t fajkomplexnek tekintik (Fournier *et al.*, 2005, Walker *et al.*, 2011), melyek morfológiailag hasonlóak. A két testvérfaj közötti patogenitási kísérleteket csak franciaországi izolátumok esetében végeztek (Martinez *et al.*, 2005, Walker *et al.*, 2011). az eredmények azonban nem voltak egyértelműek.

Magyarországi törzsekkel végzett patogenitási eredmények alapján az I-es csoportba tartozó *Botrytis pseudocinerea* izolátumok patogenitása általában kisebbnek mutatkozott, mint a *Botrytis cinerea* (I-es csoport) izolátumoké de az eredmények függtek a kísérletekben felhasznált növénytől. A *Botrytis cinerea* fajkomplex esetében a patogenitási tesztekben leggyakrabban használt bablevelén nem találtunk egyértelmű különbséget a két testvérfaj patogenitási között.

IRODALOM

- Dioloz A.F.-Marches D.-Fortini- Brygoo Y. (1995): Boty, a long-terminal-repeat retroelement in the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*. Applied & Environmental Microbiology 61(1):103-108.
- Fekete, É.-Fekete, E.-Karaffa, L.-Kövcis, G. J.-Sándor, E. (2009): *Botrytis cinerea* group I isolates from different hosts in Hungary. Journal of Agricultural Sciences, Debrecen, 2009/38 Supplement, 15-19.
- Fournier, E.-Giraud T. (2008): Sympatric genetic differentiation of a generalist pathogenic fungus, *Botrytis cinerea*, on two different host plants, grapevine and bramble. Journal of Evolutionary Biology, 21(1): 122-132.
- Fournier, E.-Giraud, T.-Brygoo, Y. (2005): Partition of the *Botrytis cinerea* complex in France using multiple gene genealogies. Mycologia, 97: 1251-1267.
- Giraud, T.-Fortini, D.-Levis, C.-Leroux, P.-Brygoo, Y. (1997): RFLP markers show genetic recombination in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) and transposable elements reveal two sympatric species. Molecular Biology and Evolution, 14(11): 1177-1185.
- Isenegger, D.A.-Ades P.K.-Ford R.-Taylor P.W.J. (2008): Status of the *Botrytis cinerea* species complex and microsatellite analysis of transposon types in South Asia and Australia. Fungal Diversity, 29: 17-26.
- Levis, C.-Fortini, D.-Brygoo, Y. (1997): Flipper, a mobile Fot1-like transposable element in *Botrytis cinerea*. Molecular & General Genetics, 254(6): 674-680.
- Ma, Z.H.-Michailides, T.J. (2005): Genetic structure of *Botrytis cinerea* populations from different host plants in California. Plant Disease, 89(10): 1083-1089.
- Martinez, F.-Blancard, D.-Lecomte, P.-Levis, C.-Dubos, B.-Fermaud, M. (2003): Phenotypic differences between vacuina and transposa subpopulations of *Botrytis cinerea*. European Journal of Plant Pathology, 109(5): 479-488.
- Martinez, F.-Dubos, B.-Fermaud, M. (2005): The Role of Saprotrophy and Virulence in the Population Dynamics of *Botrytis cinerea* in Vineyards. Phytopathology, 95: 692-700.
- Munoz, G. -Hinrichsen, P.-Brygoo, Y.-Giraud, T. (2002): Genetic characterization of *Botrytis cinerea* populations in Chile. Mycological Research, 106: 594-601.
- Váczy K.-Karaffa L.-Kövcis Gy.-Holb I.-Sándor E. (2005): *Botrytis cinerea* izolátumok morfológiai változékonysága és fungicid rezisztenciája az egri borvidéken. 10. Tiszántúli Növényvédelmi Fórum Proceedings 309-314.
- Váczy, K.Z.-Sándor, E.-Karaffa, L.-Fekete, E.-Fekete, É.-Árnyasi, M.-Czeglédi, L.-Kövcis, G.J.-Druzhinina, I.S.-Kubicek, C.P. (2008): Sexual recombination in the *Botrytis cinerea* populations in Hungarian vineyards. Phytopathology, 98: 1312-1319.
- Walker, A.S.-Gautier, A.-Confais, J.-Martinho, D.-Viaud, M.-Le Pêcheur, P.-Dupont, J.-Fournier, E. (2011): *Botrytis pseudocinerea*, a new cryptic species causing grey mould in French vineyards in sympatry with *Botrytis cinerea*. Phytopathology. Accepted for publication DOI: 10.1094/PHYTO-04-11-0104.