

Etiologia miękkiej zgnilizny alokazji amazońskiej (*Alocasia amazonica*)



Artur Mikiciński, Michał Warabieda, Jacek S. Nowak, Joanna Puławska
Instytut Ogrodnictwa – Państwowy Instytut Badawczy



Alokazja amazońska – zdrowa roślina

Na młodych roślinach alokazji (odm. Dwarf), importowanych z Chin obserwowano objawy chorobowe w postaci beżowych, nekrotycznych, uwodnionych plam, zlokalizowanych u podstawy pędów liściowych. Rozprzestrzeniały się one w kierunku blaszek liściowych, powodując ich macerację a następnie zamieranie całych roślin.



Z pogranicza zmarłych i zdrowych fragmentów pędów liściowych wykonano izolacje na pożywkę NAS (nutrient agar z 5% sacharozą) a następnie spośród wyrosłych kolonii wyosobniono 18 izolatów bakterii.



Objawy rozpoczynały się od maceracji podstawy pędów liściowych



Zmarła roślina

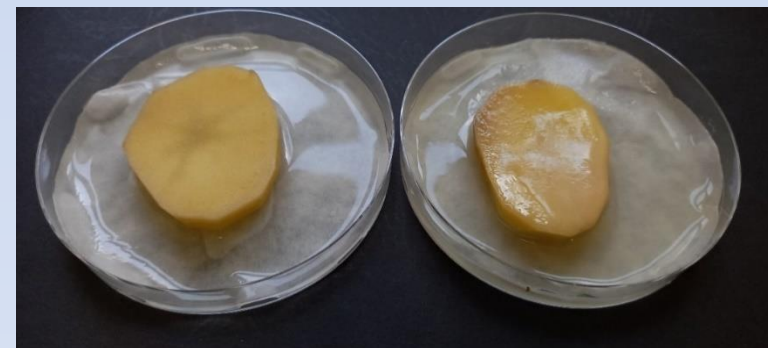
Testy patogeniczności

W kolejnym etapie podjęto badanie zdolności wyosobnionych 18 bakterii do **maceracji tkanek bulw ziemniaka** oraz wywołania **reakcji nadwrażliwości na tytoniu (HR)**.

Dziesięć izolatów posiadało obie cechy (I grupa), jeden powodowało tylko reakcję HR (II grupa), a pozostałe siedem nie miało żadnej z tych zdolności.



Wynik reakcji nadwrażliwości po wprowadzeniu zawiesin bakterii do mezofilu liścia tytoniu.



Rozkład tkanek ziemniaka w teście plastrowym.

Z lewej kontrola (wyschnięta powierzchnia plastra ziemniaka).

Z prawej izolat AL1a (powierzchnia uwodniona - następstwo rozkładu tkanek).

Test patogeniczności na **odciętych ogonkach liściowych i liściach alokazji** przeprowadzono z izolatami AL1a i AL8, należącymi do I grupy izolatów, uzyskując objawy chorobowe obserwowane wcześniej na chorych roślinach.

Z porażonych tkanek reizolowano bakterie o tej samej morfologii, co użyte do inokulacji.

Końce fragmentów ogonków liściowych zanurzano w sterylnej wodzie destylowanej (kontrola) lub w zawieszynie bakterii [10^8 jtk/ml], a następnie umieszczano w probówkach w warunkach wysokiej wilgotności.



Kontrola



Izolat AL1a
po 48 godz.



Izolat AL8
(48 godz.)

Odcięte liście umieszczano na wilgotnej bibule w szalkach Petriego, a następnie wykonywano zranienie sterylną igłą na które wprowadzano wodę destylowaną (kontrola) lub zawieszinę bakterii [10^8 jtk/ml]



Miejsce inokulacji

Kontrola

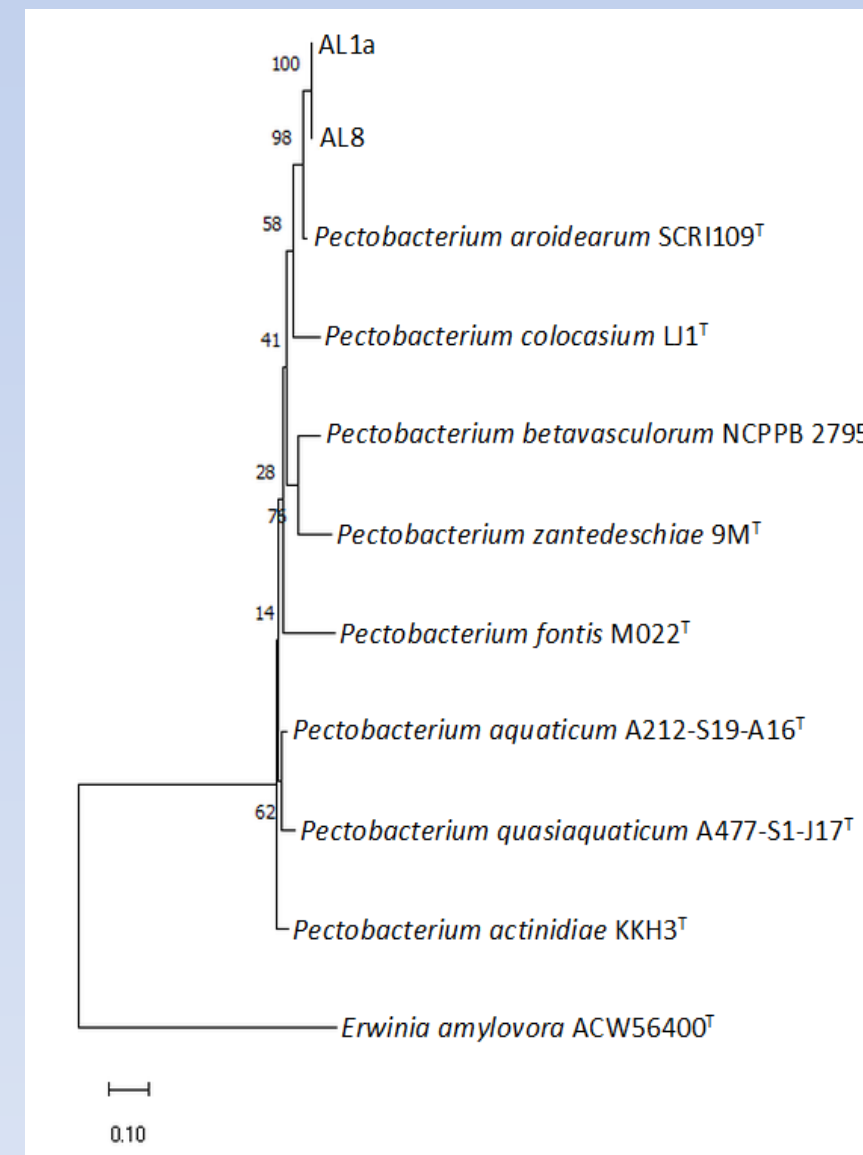
Izolat AL1a
po 48 godz.

Identyfikacja bakterii

Patogeniczne izolaty identyfikowano na podstawie analizy sekwencji 16S rRNA.

Dziesięć izolatów, w tym AL1a i AL8, zaklasyfikowano do rodzaju *Pectobacterium* spp., a jeden (AL5b) jako *Pseudomonas protegens*.

Dla izolatów *Pectobacterium*, sekwencjonowano geny *acnA* i *proA* i ich połączone sekwencje użyto do analizy filogenetycznej z sekwencjami szczepów typowych innych gatunków *Pectobacterium*.



Drzewo maximum likelihood przedstawiające stopień pokrewieństwa filogenetycznego pomiędzy szczepami AL1a oraz AL8 i szczepami typowymi innych gatunków *Pectobacterium*. Analiza wykonana w oparciu o połączone sekwencje dwóch genów metabolizmu podstawowego *acnA* oraz *proA*. Podane wartości liczbowe przy węzłach oznaczają współczynnik poparcia – bootstrap (wyrażone jako procent z 500 powtórzeń). Skala umieszczona w lewym dolnym rogu oznacza długość gałęzi odpowiadającą 0,1 podstawienia nukleotydowego na jedną zasadę porównywanych sekwencji

Podsumowanie: Pierwszy raz wykazano aby bakterie z gatunku *Pectobacterium aroidearum* i *Pseudomonas protegens* były czynnikiem sprawczym miękkiej zgnilizny alokacji