

Karanténní bakterie v povrchové vodě

Původce bakteriální hnědé hniloby bramboru, *Ralstonia solanacearum*, se řadí mezi škodlivé organismy sledované v České republice i Evropské unii. Jejich zavlékání a šíření je na území členských států Evropské unie zakázáno, proti jejich šíření je nutné přijímat předepsaná opatření. Průzkum výskytu původce bakteriální hnědé hniloby bramboru v ČR se zaměřuje především na porosty brambor a rajčete nebo na partie hlíz brambor ve skladech. Provádí se vizuální prohlídka rostlin v porostech, hlíz na poli i ve skladech, anebo se odebírají a testují vzorky hlíz bramboru. Kontrolují se vzorky vod z vodních zdrojů používaných k závlaze brambor a rajčat. Vzorkují se i odpadní vody z podniků, které průmyslově zpracovávají hlízy bramboru.

Průzkum výskytu tohoto patogenu se řídí směrnici Rady č. 98/57/ES, o ochraně proti *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al., v platném znění, a pro území České republiky ve vyhlášce č. 331/2004 Sb., o opatřeních k zabezpečení ochrany proti zavlékání a šíření původce bakteriální kroužkovitosti bramboru a bakteriální hnědé hniloby, ve znění vyhlášky č. 328/2008 Sb.

Charakteristika druhu (biologie)

Bakterie *Ralstonia solanacearum* (Rs) jsou gramnegativní tyčinky s několika bičíky na jednom pólu. Je zařazena do kmenů Proteobacteria třídy Betaproteobacteria. Jedná se o heterogenní druh, který se podle biochemických vlastností člení na pět biovarů, podle hostitelského okruhu se dělí na několik ras a podle nejnovějšího přístupu – genové sekvenční analýzy, se dělí na čtyři phylotypy. Nejjednodušší a nejrozšířenější je dělení podle hostitelského okruhu, přičemž pro naše území má největší význam rasa tři, biovar 2.

Epidemiologie bakteriálního vadnutí

Každý patogen způsobující onemocnění musí nejprve proniknout do hostitele. *Ralstonia solanacearum* obvykle vstupuje do hostitele přes různá poranění kořenů, stonků nebo přes průduchy. V době, kdy se kořeny rozrůstají a boční kořeny vnořují z pletiva, může dojít k průniku bakterií do vodivých pletiv. Poranění kořenů mohou způsobit i různé kultivační zásahy, stejně tak i přítomnost hádátek. Jakmile je patogen uvnitř rostliny, dochází ke kolonizaci xylémové části cévních svazků rostlin a důsledkem jejich postupného ucpávání je nevratné vadnutí rostlin často končící uhynutím rostliny (obr. 1). Symptomy se mohou vyvinout v jakékoli fázi vývoje rostliny. K úplné destrukci rostliny dochází především při napadení v raných fázích jejího vývoje.

Ralstonia solanacearum je schopná přežít v půdě při absenci hostitelských rostlin do dvou let, její přežití je závislé na teplotě půdy a půdní vlhkosti. Bylo popsáno přežití bakterie v čisté vodě při teplotě 20–25 °C více než 40 let. *Ralstonia solanacearum* může přezimovat v závlahových vodách v těsném spojení s bezpříznakovými vodními plevelnými hostiteli (*Solanum dulcamara*), a tak napomáhat k šíření patogenu pomocí vody. Kontaminovaná závlahová voda byla zdrojem mnoha výskytů bakteriálního vadnutí na různých plodinách. Patogen je obvykle zavlečen na místa polní produkce pěstováním latentně infikovaných rostlin a dále rozšiřován přes vodní cesty. Bakterie může být izolována ve velkých vzdálenostech (více než 80 km) od zdroje inokula.

Průzkum výskytu patogenu v České republice

Průzkum výskytu původce bakteriální hnědé hniloby bramboru v České republice je zaměřen především na porosty brambor a rajčete nebo na partie hlíz brambor ve skladech. Provádí se vizuální prohlídka rostlin v porostech, hlíz na poli i ve

a jižním Švédsku byla naprosto neočekávaná a odhalila nedostatky znalostí o oblasti šíření patogenu. Proto byl zahájen rozsáhlý průzkum s cílem zjistit zdroj infekce. Jediná významná shoda mezi postiženými farmami byla závlaha užívající povrchovou vodu z vodního toku. Vodní tok Pinnam byl podroben průzkumu doprovodných hostitelských

mocněním brambor. Bakterie byla rovněž detekována v kořenech *Solanum dulcamara* ponořených do vody. V mnoha případech byla bakterie detekována ve vodních zdrojích v těsné blízkosti podniků zpracovávajících brambory, což naznačuje, že proces čištění odpadních vod není efektivní na usmrcení bakterie.

Detekce bakterie Rs v závlahových vodách v ČR

V České republice je výskyt bakterie *Ralstonia solanacearum* v povrchových vodách monitorován od roku 2002. V současné době je monitoring prováděn rostlinolékařskými inspektoři Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského (ÚKZÚZ) a vzorky jsou rozborovány v diagnostické laboratoři Havlíčkův Brod, která je nedílnou součástí Národní referenční laboratoře pro škodlivé organismy jako oddělení Odboru diagnostiky s uděleným osvědčením o akreditaci ČIA.

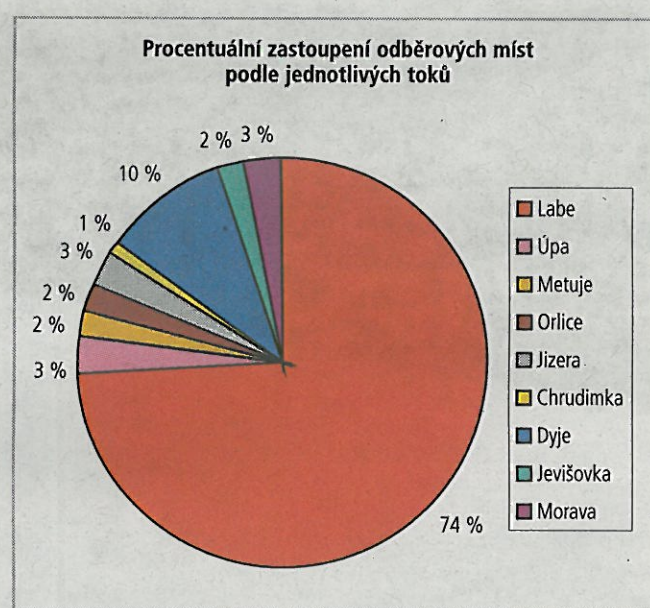
Závlahové vody se odebírají do sterilních lahví nebo nádob na jedno použití dvakrát ročně. První odběr se provádí v období květen až červen, kdy teplota závlahové vody dosáhne 15 °C. Druhý odběr probíhá v období srpen až říjen, opět s přihlédnutím k aktuálním teplotám. Vzorky se odebírají z hloubky 30–40 cm ve vzdálenosti dvou metrů od okraje toku z oblasti, kde jsou zavlažovány produkční plochy brambor.

Vzorky se po odběru ukládají do chladicích boxů a přepravují do laboratoře, kde se do 24 hodin zpracovávají. Doporučená velikost vzorku je 500 ml. Základní vyšetřovací metodou je selektivní izolace patogenu na vhodné živné půdy, kde se sleduje nárůst typických kolonií *Ralstonia solanacearum*. Podařené kolonie se očkují na univerzální živné půdy s cílem získat čistou kulturu, která je pak identifikována některým ze screeningových testů (například IF test, PCR, FISH) a testem patogenity. Citlivost testu selektivní izolace je ovlivňována především populací konkurenčních saprofytických bakterií. Touto metodou je možné zachytit patogen již při koncentraci 10³ buněk na litr závlahové vody.

Bakterie Rs v závlahových vodách v letech 2010–2015

V letech 2010–2015 bylo v Diagnostické laboratoři Havlíčkův Brod celkem vyšetřeno 404 vzorků povrchových vod, u kterých bylo provedeno 880 testů (selektivní izolace, test patogenity, IF test, FISH, PCR). Vzorky byly odebírány ze 74 vzorkovacích míst, především z řek Labe a Dyje a z jejich hlavních přítoků (obr. 2, graf 1). V tabulce jsou uvedeny celkové počty odebraných vzorků z jednotlivých toků včetně pozitivních nálezů.

■ Pozitivní nálezy v Čechách
První pozitivní nález Rs v Čechách a zároveň i v České repub-



Výsledky detekčního průzkumu na přítomnost bakterie *Ralstonia solanacearum* v letech 2010–2015

Odběrové místo	Počet odebraných vzorků podle výsledků (negativní/ pozitivní)					
	rok 2010	rok 2011	rok 2012	rok 2013	rok 2014	rok 2015
Labe	25/1	33/1	57/0	52/2	54/0	72/1
Úpa				5/0	4/0	4/0
Metuje				2/0	2/0	2/0
Orlice				2/0	2/0	4/0
Jizera	2/0	2/0	1/0	2/0	2/0	5/0
Chrudimka					3/0	2/0
Dyje	9/0			8/2	9/1	8/2
Jevišovka	2/0			1/0	2/0	2/0
Morava	4/0			2/0	4/0	4/0
Celkem	421	35	58	74	82	103

lice byl zaznamenán v roce 2010 na dolním toku řeky Labe v okolí Počepic. V dalších letech pak následovaly nálezy v Předměřicích nad Labem, Kovanicích, Doubravě u Kostomlat nad Labem a Lukovně.

■ Pozitivní nálezy na Moravě
První nález byl zaznamenán v roce 2013 na řece Dyji, a to hned na dvou lokalitách – Hevlín a Hodonice. Na těchto lokalitách byly potvrzeny výskyt i v následujících letech.

nepodařilo nalézt ani zdroj kontaminace povrchových vod.

Letošní výskyt bakterie Rs v závlahových vodách

I v letošním roce pokračují průzkumy výskytu bakterie Rs v závlahových vodách na sledovaných lokalitách. Testování ještě stále probíhá, a proto výsledky nejsou zahrnuty do celkového vyhodnocení. Pravděpodobně dojde k mírnému nárůstu pozitivních nálezů. Při odběrech vzorků



Obr. 1 – Příznaky bakteriálního vadnutí na baklažánu (*Solanum melongena*, odrůda Black Beauty)

Foto Lenka Wasserbauerová, Roman Zavadil

skladech, anebo odběr a testování vzorků bezpříznakových hlíz bramboru na přítomnost *Ralstonia solanacearum* diagnostickými metodami.

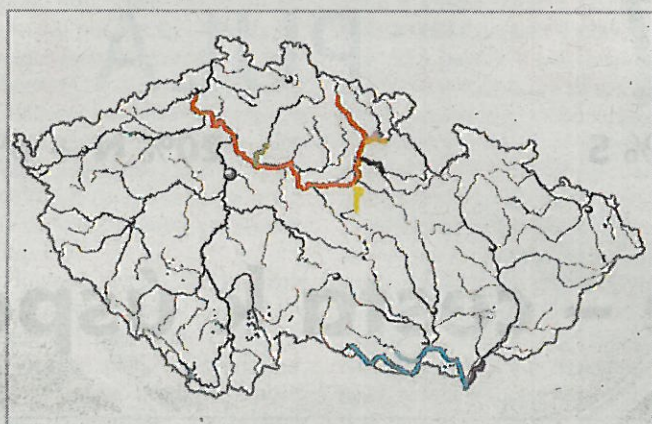
Pro zajištění průzkumu rozsahu výskytu Rs na území ČR se odebírají i vzorky vod z vodních zdrojů používaných k závlaze hostitelských rostlin (brambor, rajčete), včetně vzorků doprovodných hostitelských rostlin z pobřežní vegetace. Vzorkují se i odpadní vody z podniků, které průmyslově zpracovávají hlízy bramboru.

Výskyt bakterie Rs v Evropě v závlahových vodách

První zpráva o výskytu *Ralstonia solanacearum* v Evropě pochází ze Švédska. Předtím byla

rostlin z pobřežní vegetace. Na březích se vyskytoval především lilce potměchuť (*Solanum dulcamara*). Bakterie byla izolována z rostlin rostoucích tři kilometry po toku řeky od podniku zpracovávajícího brambory, který využíval brambory domácí i dovozové produkce. Odpadní voda z podniku byla vypouštěna přímo do vodního toku.

Po prvních výskytech *Ralstonia solanacearum* ve Švédsku byly popsány výskyt i v dalších evropských zemích včetně Belgie, Francie, Itálie, Nizozemska, Portugalska, Španělska a Velké Británie. V mnoha z těchto výskytů se druhy genotypicky odlišovaly a zdroje infekce byly neznámé. Předpokládá se, že patogen se rozšířil do těchto zemí



Obr. 2 – Mapa toků a odběrových míst sledovaných v ČR v rámci detekčního průzkumu na přítomnost bakterie *Ralstonia solanacearum* v závlahových vodách

tato bakterie striktně považována za patogen teplých oblastí, zvláště tropických. Nicméně v roce 1972 byla hnědá hniloba nalezena na hlízách konzumních brambor během rutinní inspekce. Tento vyizolovaný druh způsobil během pěti dnů vážné vadnutí mladých rostlin rajčat (odrůda Dansk Export) a lilku (odrůda Black Beauty). Druh byl klasifikován jako biovar 2. Identifikace bakterie v severním

přes latentně infikované sadbové brambory z Nizozemska v roce 1995, kde způsobil epidemické výskyt na více než 90 farmách pěstujících sadbové a konzumní brambory. I rozsáhlý průzkum v Nizozemsku při hledání možných zdrojů infekce odhalil přítomnost bakterie *Ralstonia solanacearum* v závlahových vodách a pobřežní vegetaci a další studie naznačily souvislost mezi používáním vody na závlahu a one-



Obr. 3 – Lilce potměchuť (*Solanum dulcamara*) na řece Dyji, poblíž obce Hodonice (rok 2016) Foto Lenka Wasserbauerová, Roman Zavadil

Ve všech případech se jednalo o druhé odběrové termíny (srpen až říjen). Současně se závlahovými vodami byly odebírány i vzorky pobřežní vegetace v zastoupení těchto plevelných rostlin: *Urtica dioica*, *Rumex* spp., *Chenopodium album*, *Silene alba*, *Bidens pilosa*, *Solanum nigrum*, *Atriplex* spp. V žádné z plevelných rostlin odebraných v okolí vzorkovacích míst se Rs nepodařilo prokázat. Stejně tak se

plevelných hostitelských rostlin z pobřežní vegetace se na řece Dyji podařilo nalézt první kontaminované rostliny bakterií *Ralstonia solanacearum*, a to hned v několika rostlinách lilky potměchuti (*Solanum dulcamara*, obr. 3).

Ing. Lenka Wasserbauerová
Ing. Roman Zavadil
ÚKZÚZ, Odbor diagnostiky,
Oddělení diagnostická
laboratoř, Havlíčkův Brod