



ÚSTŘEDNÍ KONTROLNÍ A ZKUŠEBNÍ ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝ

ISO 9001:2015

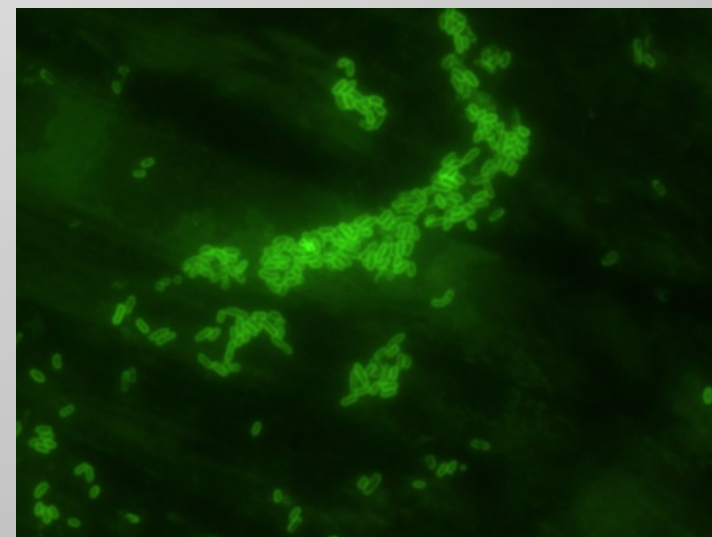
www.ukzuz.cz



Problematika karanténnych bakterií v ČR a EU



Diagnostická laboratoř Havlíčkův Brod



Karanténní bakteriózy

- Cms



- Rs



Karanténní bakteriózy

Ralstonia solanacearum

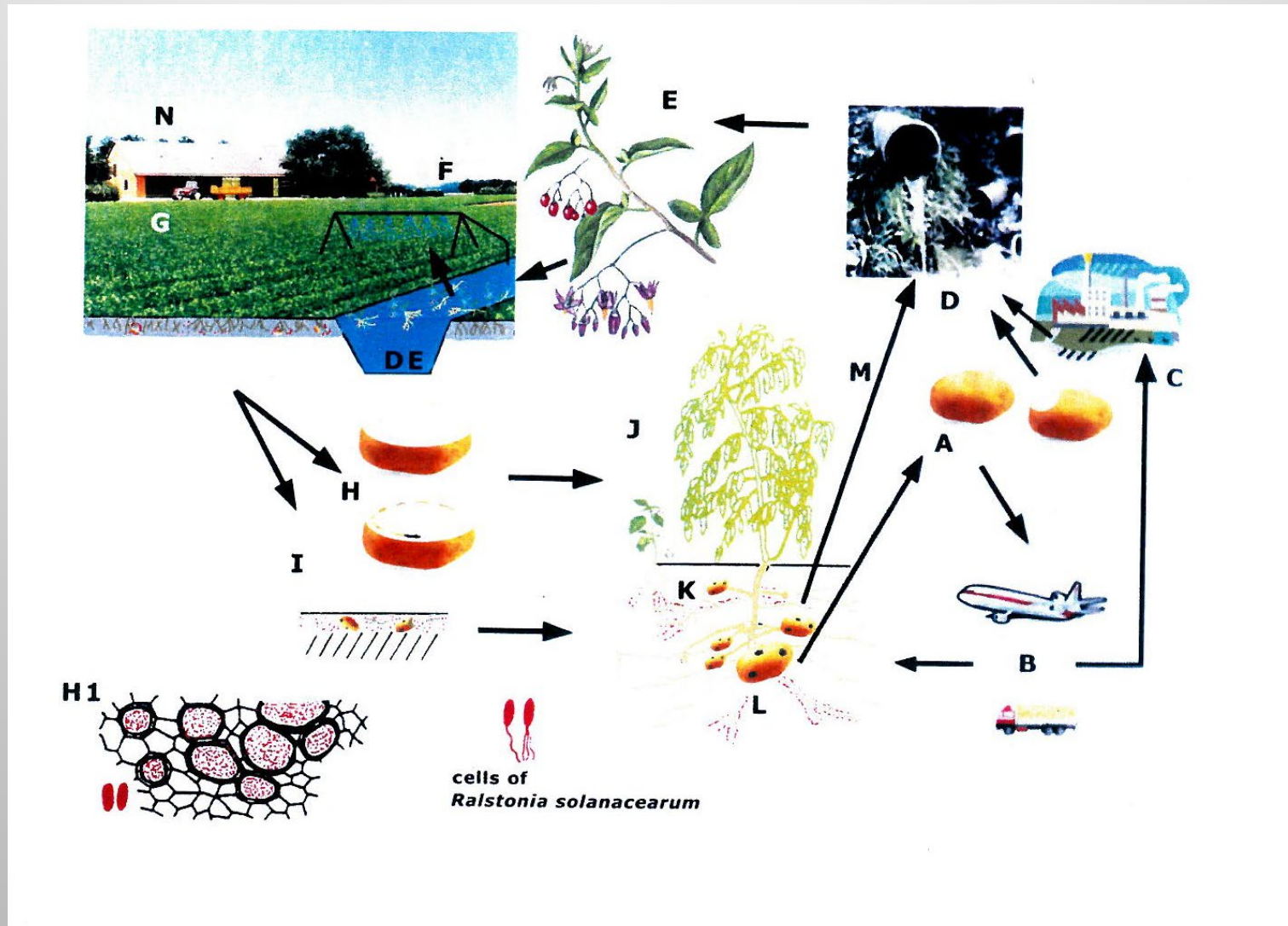
- Gramnegativní tyčinky s několika bičíky na jednom pólu
- Napadá xylémovou část cévních svazků rostlin, způsobuje vadnutí rostlin
- Infikuje široký okruh hostitelských rostlin(uvádí se 200 až 450 hostitelských druhů)
- Jedná se o komplex variet, jež byl dříve členěn do 5 patogenních ras a 5 biovarů. Nyní překlasifikován na 3 druhy: *Ralstonia solanacearum*, *Ralstonia pseudosolanacearum* a *Ralstonia syzygium*

Clavibacter michiganensis.subsp. sepedonicus

- Grampozitivní bakterie kyjovitého tvaru
- Kolonizuje cévy(tracheje) rostlin
- Napadá pouze brambory



Možnosti šíření karanténních bakterióz



Ralstonia solanacearum Rasa 3 biovar 2

Nižší teplotní optimum pro růst
(okolo 27°C)



KARANTÉNNÍ BAKTERIÁLNÍ CHOROBY (BAKTERIÁLNÍ KROUŽKOVITOST A HNĚDÁ HNILOBA) BRAMBOR A OSTATNÍCH LILKOVITÝCH ROSTLIN

Evropská a Česká legislativa

- Směrnice Komise 2006/56/ES ze dne 12.6.2006, kterou se mění přílohy směrnice Rady 93/85/EHS o ochraně proti bakteriální kroužkovitosti bramboru
- Směrnice Komise 2006/63/ES ze dne 14.7. 2006, kterou se mění přílohy II až VII směrnice Rady 98/57/ES o ochraně proti *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al.
- Vyhláška 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.

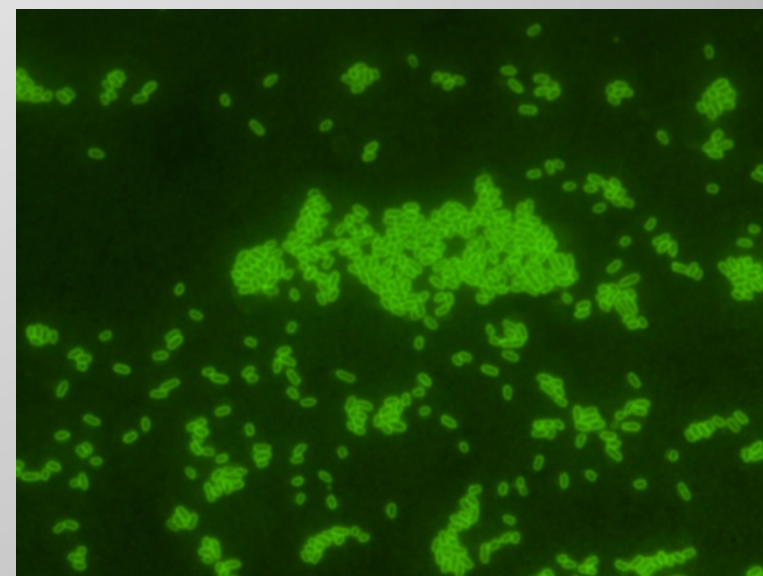
Diagnostické metody

Screeningové testy

- Imunofluorescenční test (IF test)
- PCR test
- Selektivní izolace

Biologické testy na lilku (*Solanum melongena*), vhodné kultivary rajčat:

- Biologický test (biotest)
- Test patogenity



Ralstonia solanacearum, pozitivní IF test

Matrice: Rostlinný materiál, odpadní a závlahová voda!!



Sledování a detekce karanténních bakterióz v laboratoři Havlíčkův Brod

- Během let **2010** až **2019** bylo v naší laboratoři testováno dohromady 8 169 vzorků na přítomnost Cms a 9 697 na přítomnost Rs
- Cms byla za toto období detekována ve **44** vzorcích (40 hlízových vzorků, 1 odpadní voda, 3 dovozy)
- Oficiální potvrzení výskytu Cms na území ČR bylo v roce **1995**
- Rs byla v tomto období detekována v u **149** vzorků (povrchové vody 84, lilek potměchuť 38, 16 vz. hlízy brambor domácího původu, 3 vz. dovozových brambor, 2 vz. odpadní voda)
- Výskyt bakterie *Ralstonia solanacearum* v povrchových vodách České Republiky je sledován o roku 2002
- V laboratoři Havlíčkův Brod je detekce bakterie *Ralstonia solanacearum* prováděná od roku 2010
- První pozitivní nález bakterie *Ralstonia solanacearum* v povrchových vodách ČR byl zaznamenán v roce 2010 v dolní části řeky Labe
- První nález bakterie *Ralstonia solanacearum* na Moravě byl v roce 2013 na řece Dyji
- V roce 2016 byla bakterie *Ralstonia solanacearum* nalezena a potvrzena v kořenech vodního plevelu *Solanum dulcamara*



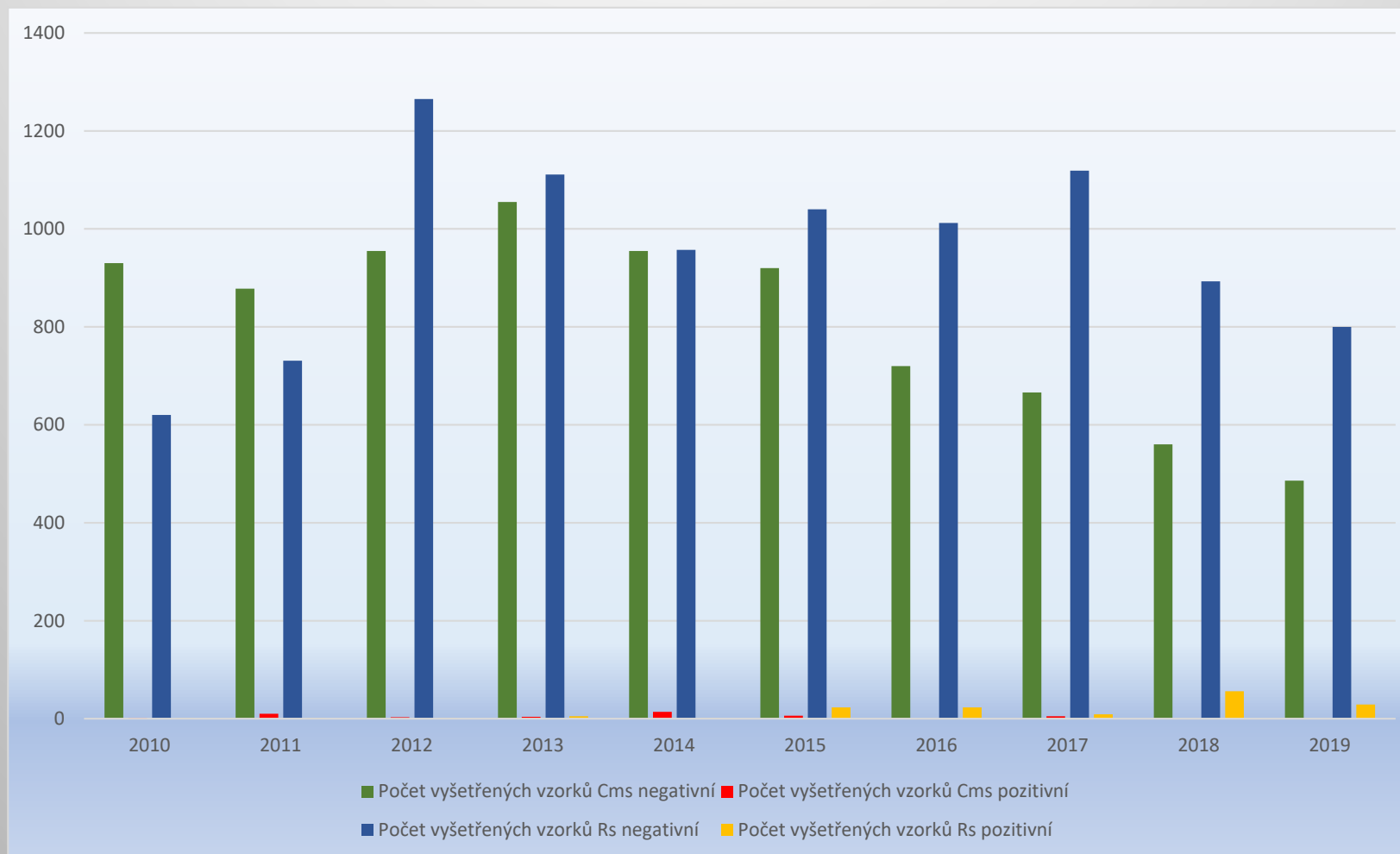
Přehled vzorků na karanténní bakteriózy v letech 2010-2019

Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus			Původ pozitivních vzorků		
Rok	Počet vyšetřených vzorků	Pozitivní vzorky	Hlízy ČR	Hlízy dovoz	Odpadní vody
2010	932	2	1	0	1
2011	888	10	8	2	0
2012	958	3	2	1	0
2013	1059	4	4	0	0
2014	969	14	14	0	0
2015	926	6	6	0	0
2016	720	0	0	0	0
2017	671	5	5	0	0
2018	560	0	0	0	0
2019	486	0	0	0	0
Celkem	8169	44	40	3	1

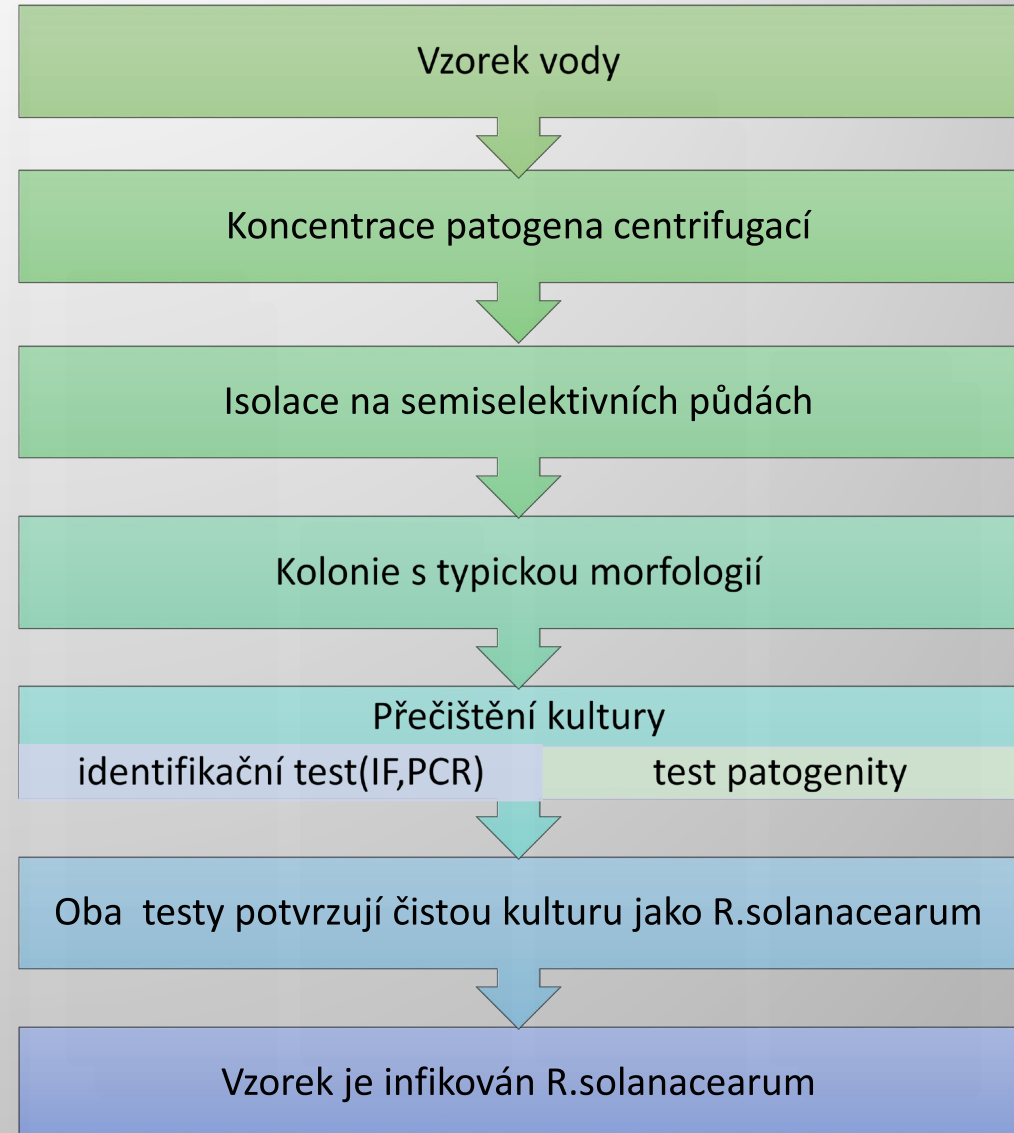
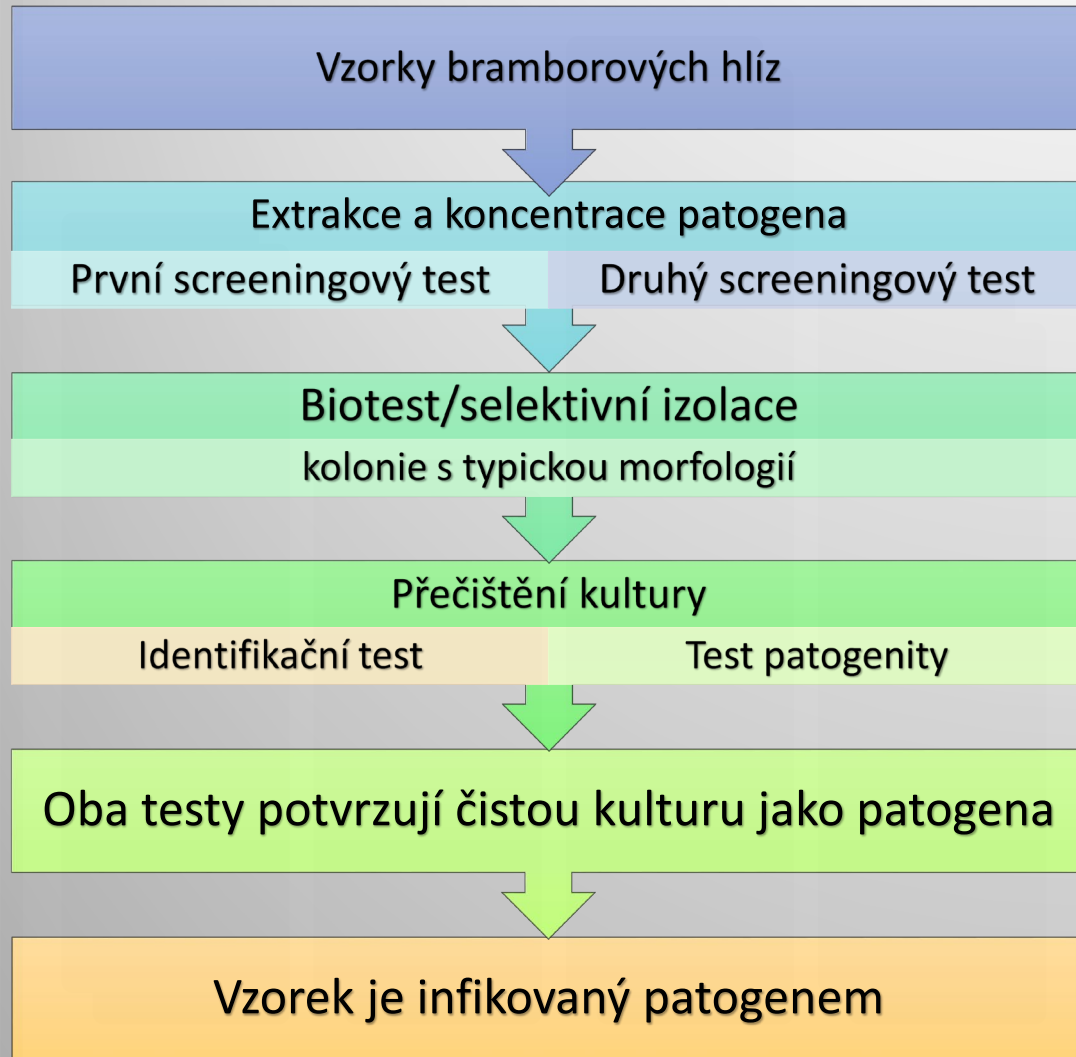
Ralstonia solanacearum			Původ pozitivních vzorků				
Rok	Počet vyšetřených vzorků	Pozitivní vzorky	Hlízy ČR	Hlízy dovoz	Povrchové vody	Odpadní vody	Rostliny
2010	621	1	0	0	1	0	0
2011	732	1	0	0	1	0	0
2012	1266	1	1	0	0	0	0
2013	1116	5	0	1	4	0	0
2014	958	1	0	0	1	0	0
2015	1063	23	20	0	3	0	0
2016	1035	23	0	0	18	2	2
2017	1128	9	0	0	8	0	1
2018	949	56	0	2	34	0	20
2019	829	29	0	0	14	0	15
Celkem	9697	149	21	3	84	2	38



Počty vyšetřených a pozitivních vzorků na karanténní bakterie v letech 2010-2019



Schémata detekce a identifikace karanténních bakterií

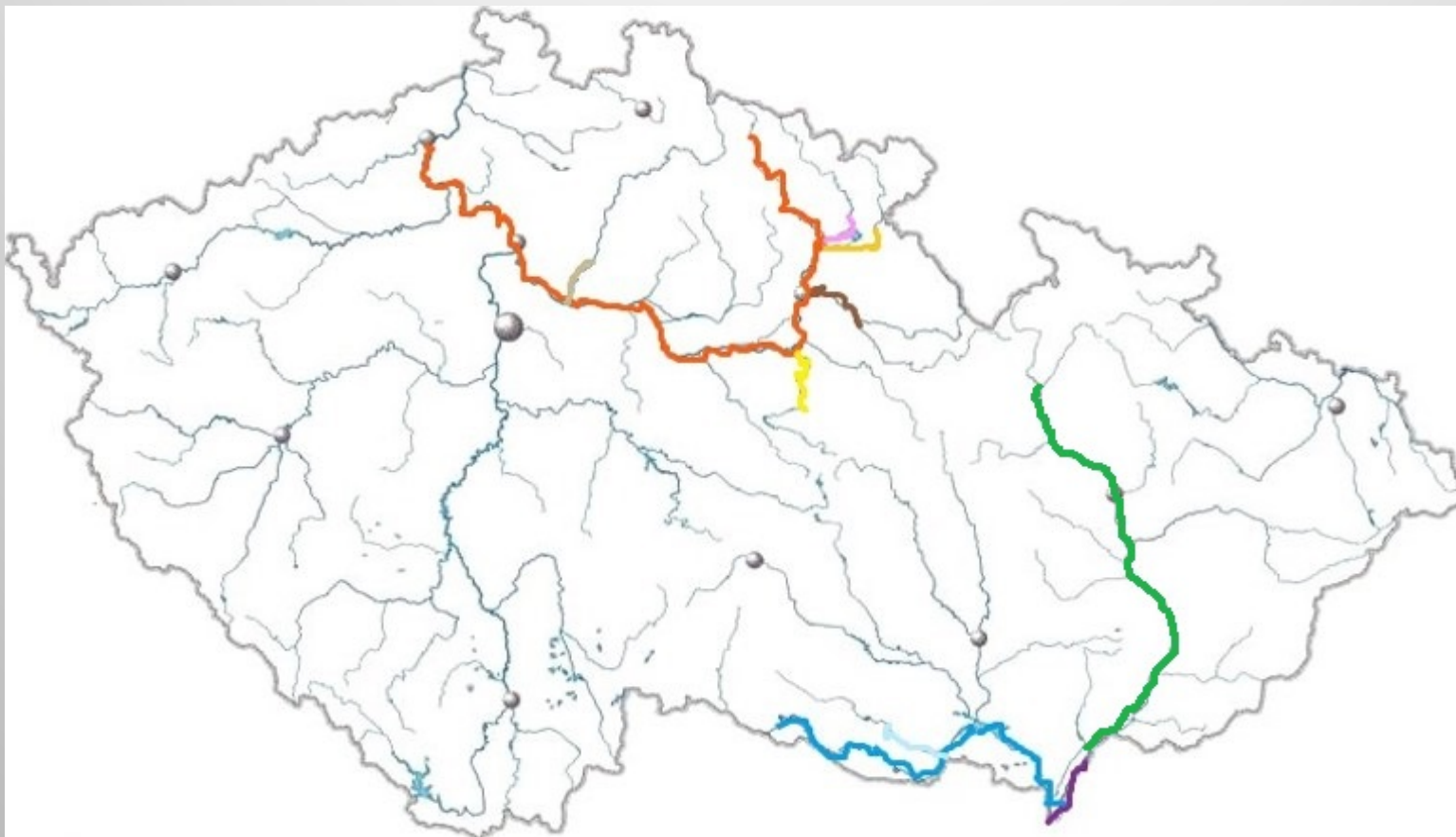


Vzorky:

- 220 hlíz na každých 40 t brambor
- povrchové vody určené k závlaze 2×ročně, 2×500 ml



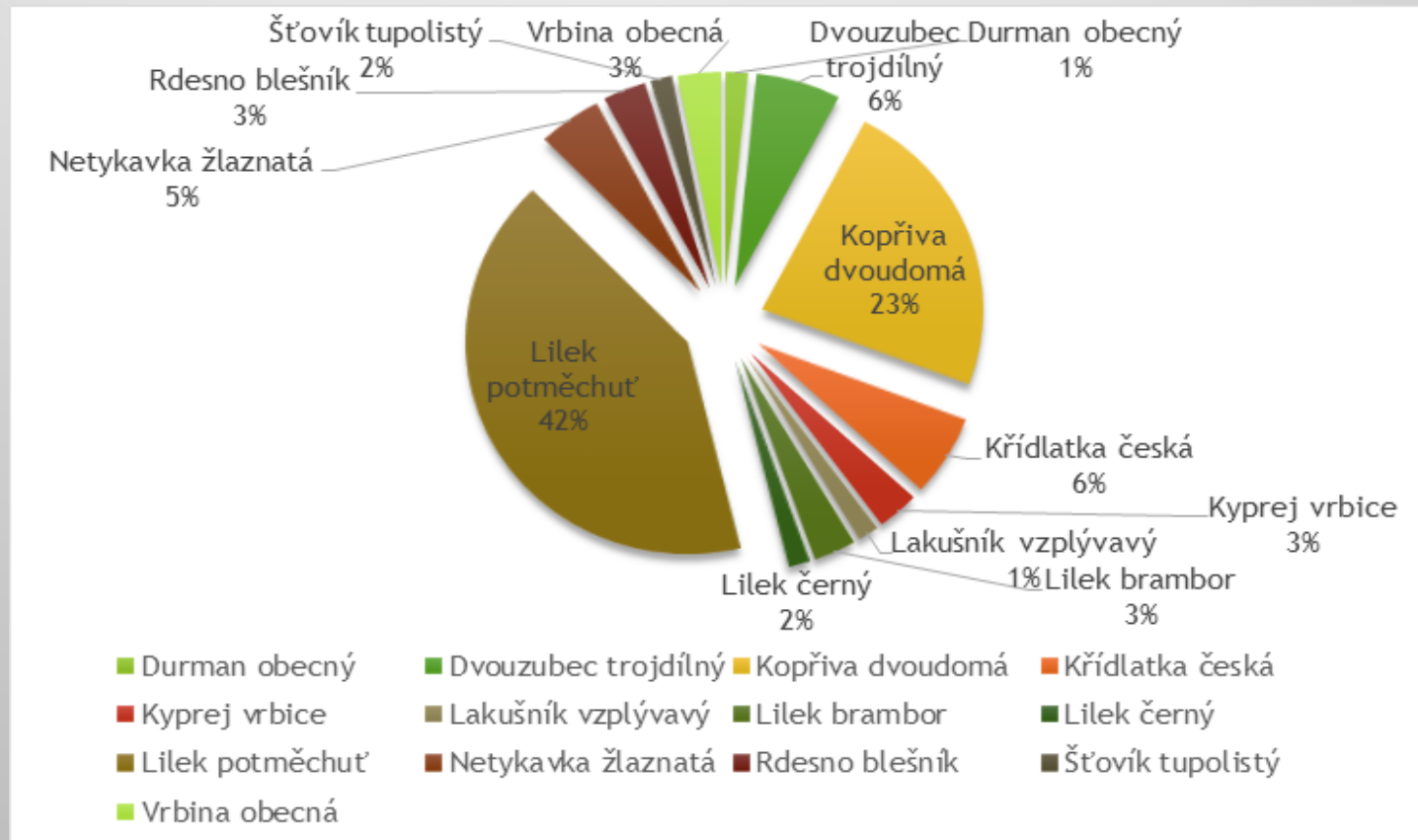
Mapa vodních toků sledovaných na výskyt bakterie *Ralstonia solanacearum*



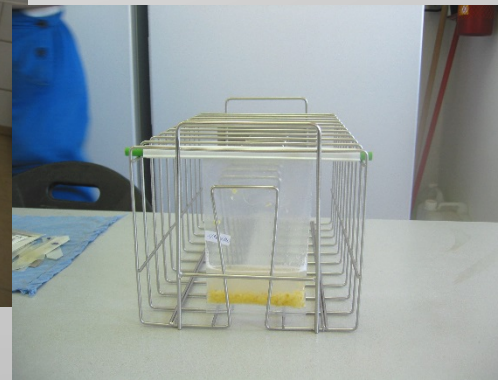
Výsledky průzkumu pobřežní vegetace v roce 2016- Dyje

Současně s odběry povrchových vod byla odebírána i pobřežní vegetace v tomto zastoupení:

- ☐ Počet odebraných vzorků pobřežní vegetace- 65 rostlin
- ☐ Patogen detekován u **9 rostlin**, ve všech případech se jednalo o jeden rostlinný druh – **lilek potměchuť** (*Solanum dulcamara*)
- ☐ Bakterie byla vyizolována z kořenů ponořených ve vodě



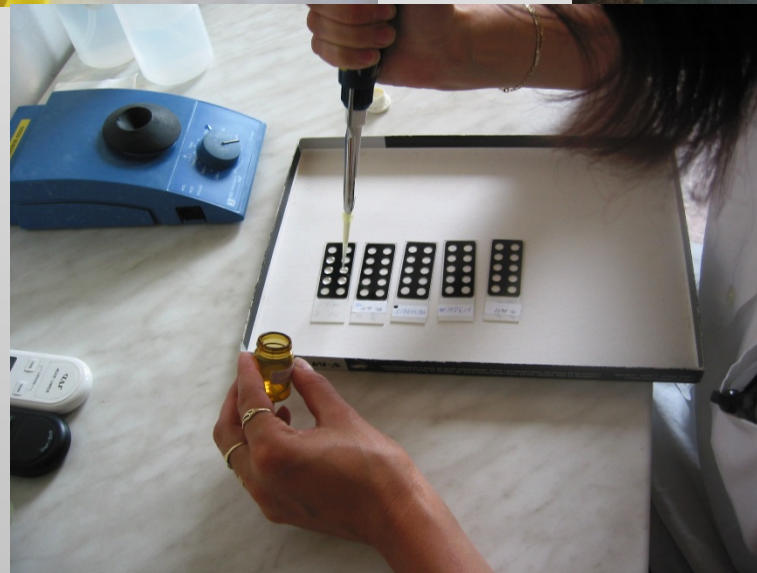
Příprava výkrojů



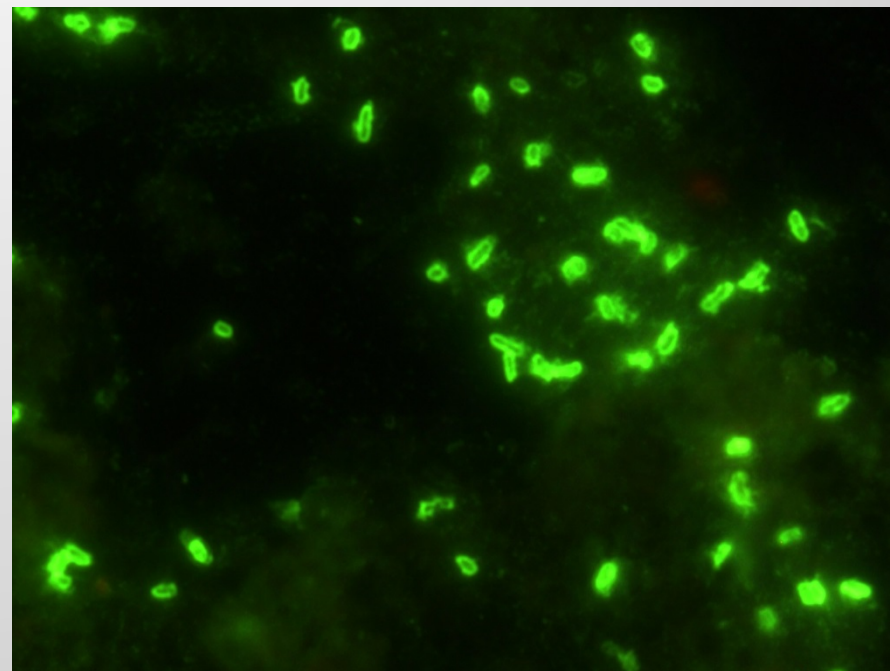
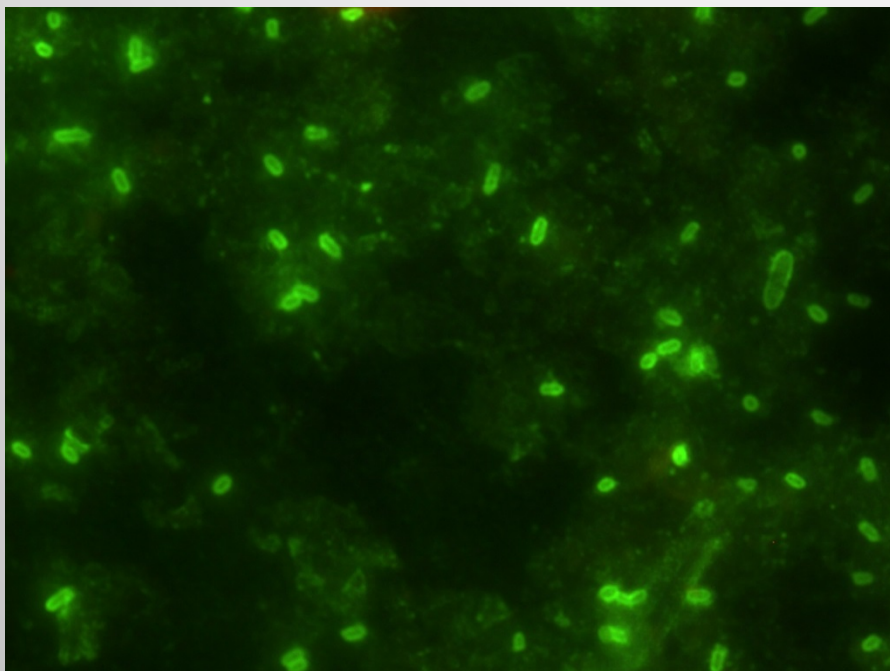
Příprava pelet z extraktu



Příprava sklíček



Ralstonia solanacearum
imunnofluorescence
Lilek potměchut'



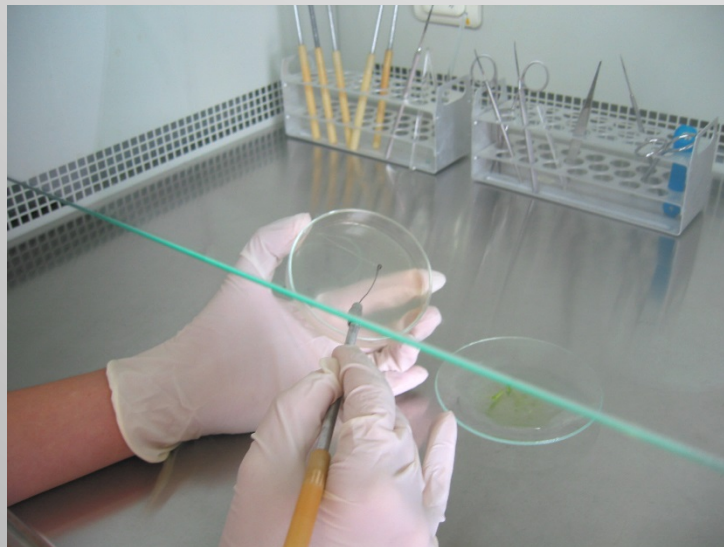
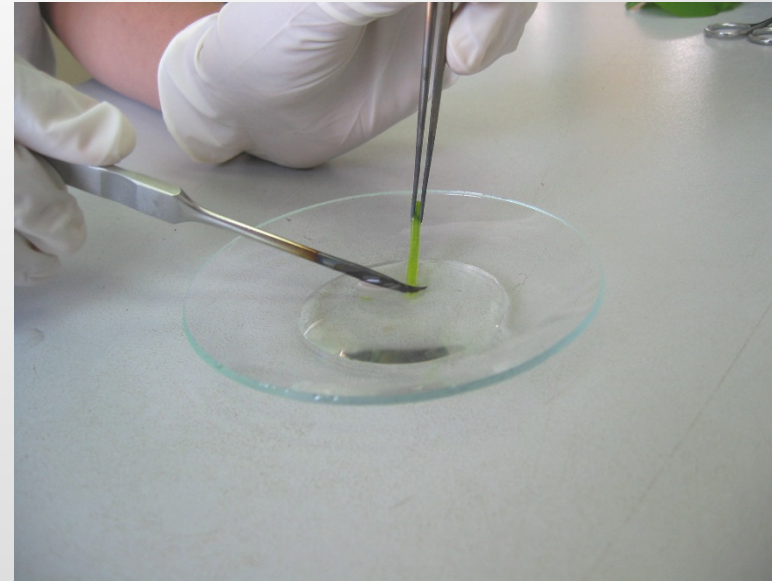
Zakládání biotestu



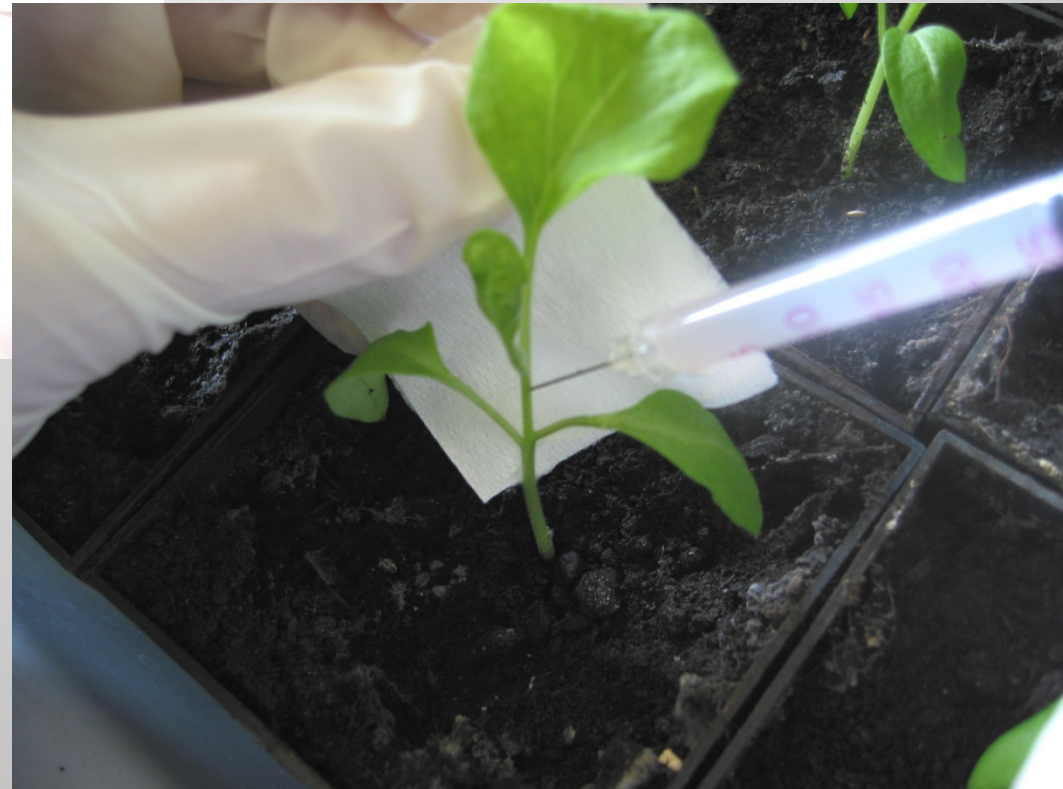
Pozitivní lilky



Izolace bakterie



Inokulace rostlin lilku



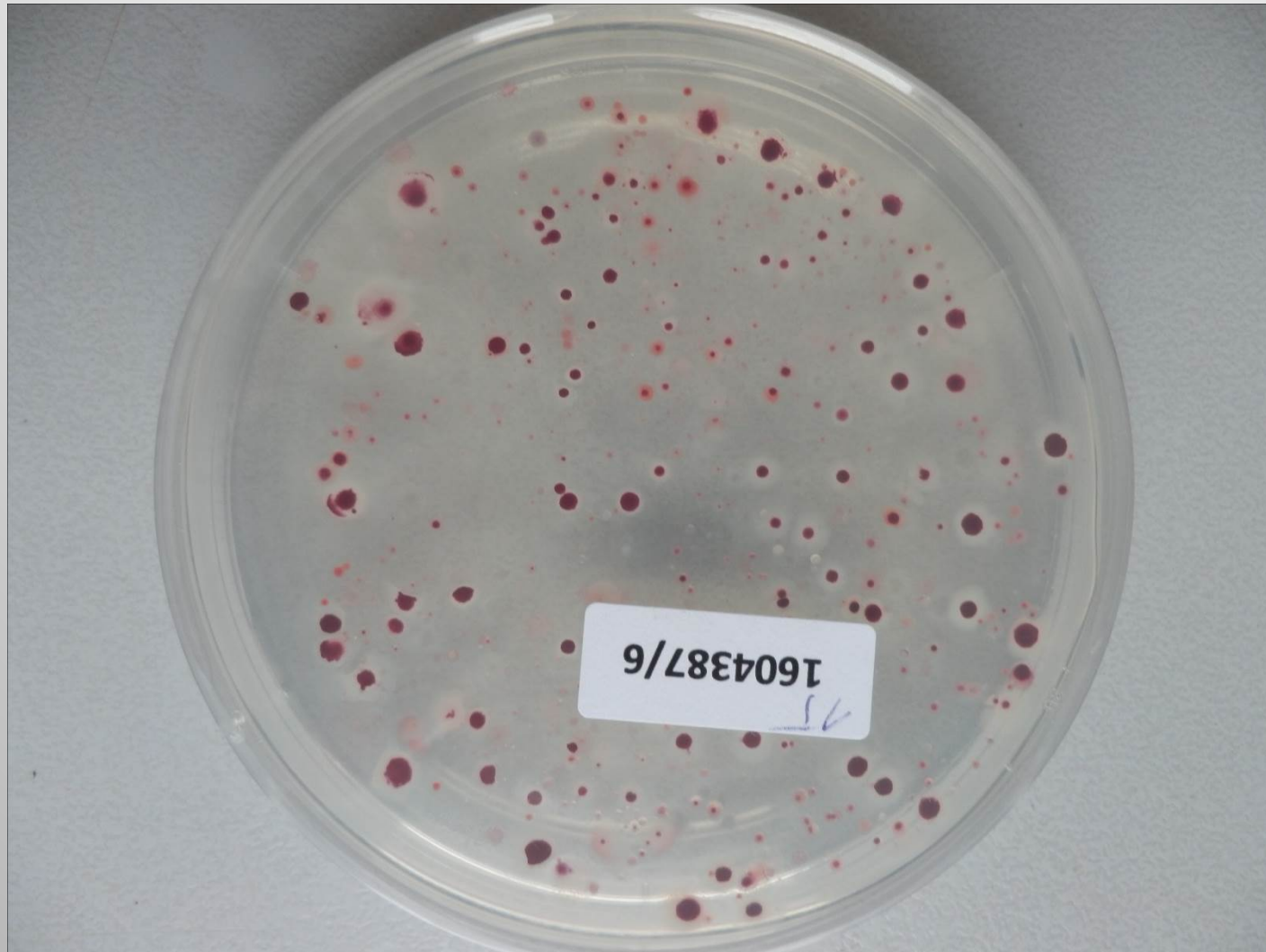
Pozitivní test patogenity



Kultivace závlahových vod

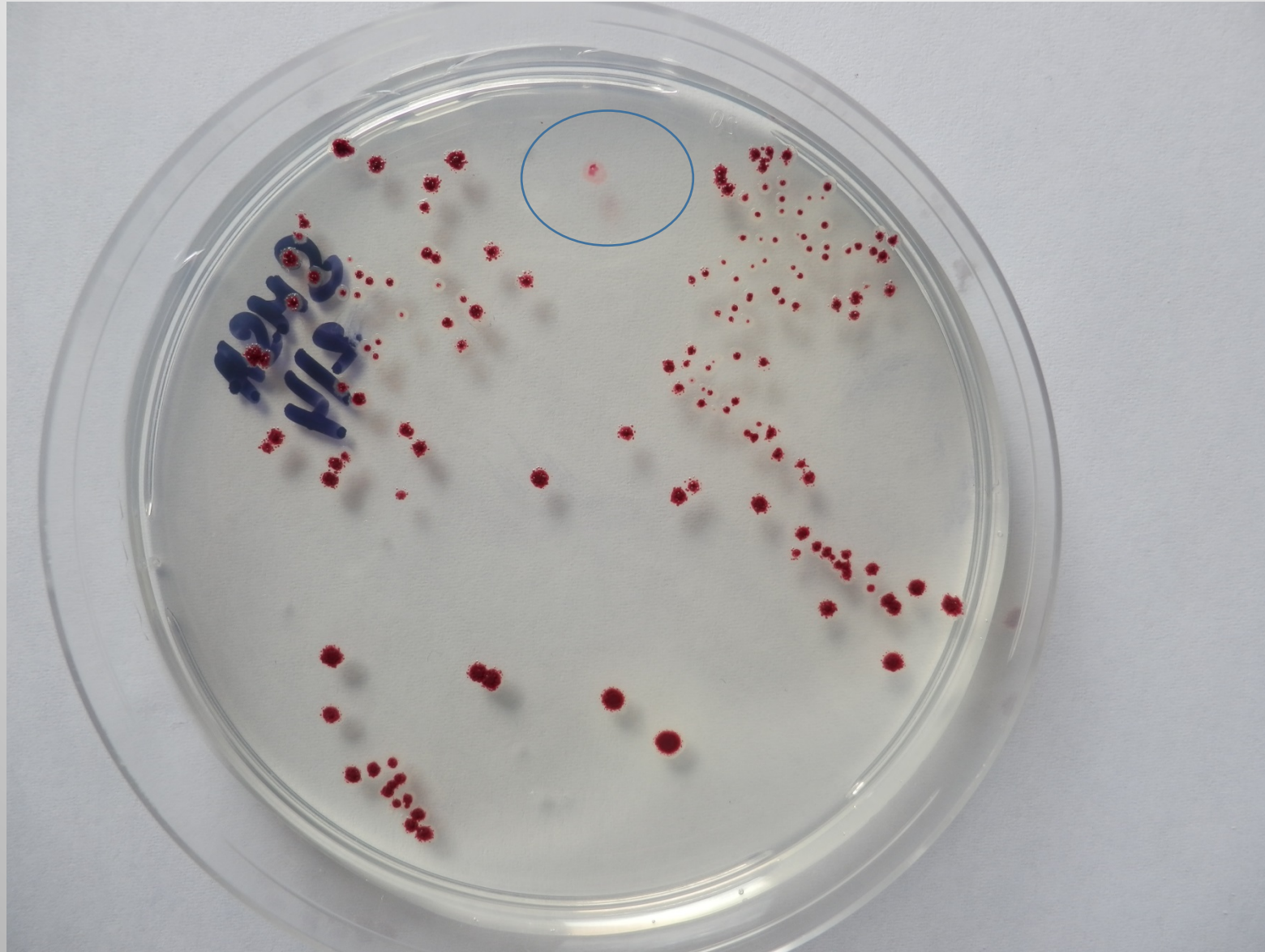


Ralstonia solanacearum
Kultivační média



Ralstonia solanacearum

Kultivační média

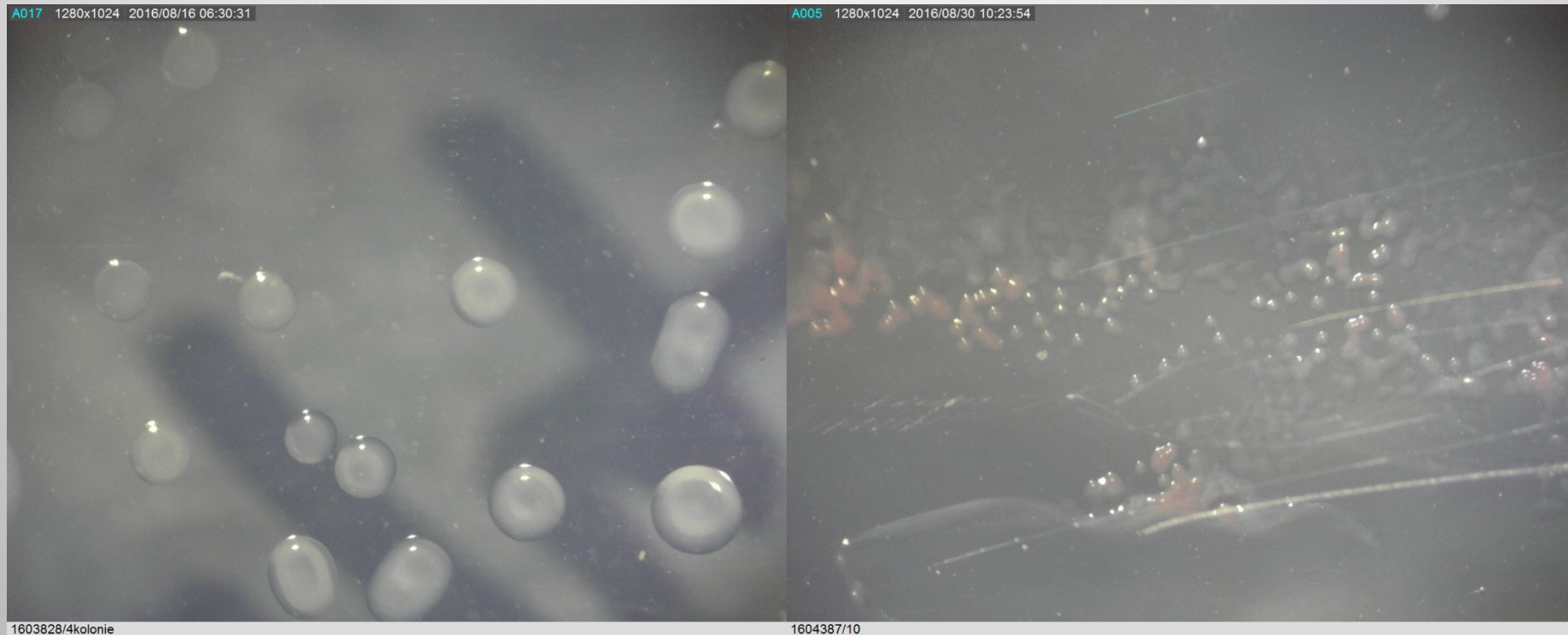


Ralstonia solanacearum

Kultivační média

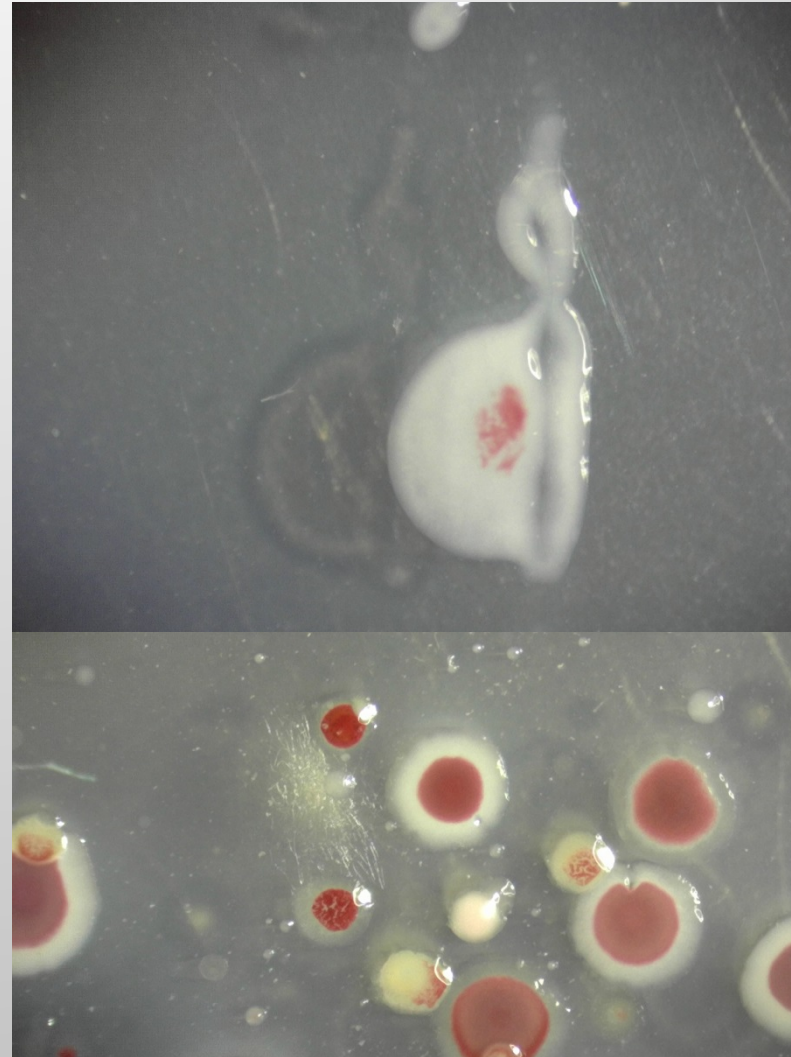


Ralstonia solanacearum **kultivace lilek potměchut'**



Vyhodnocení kultivací:

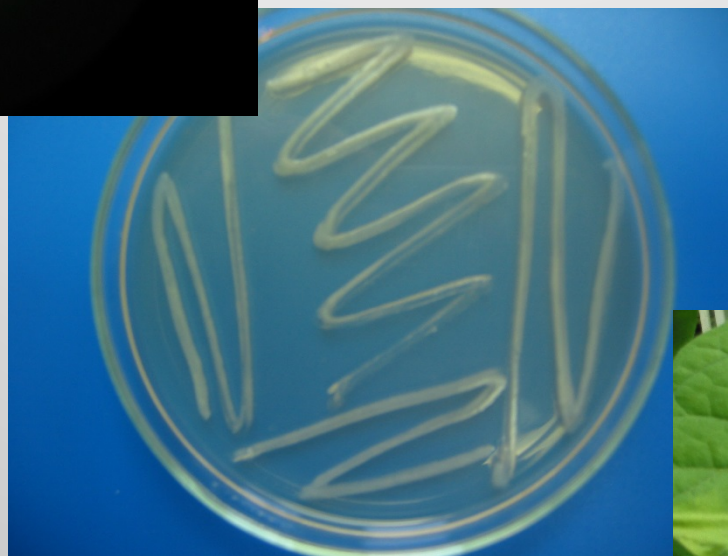
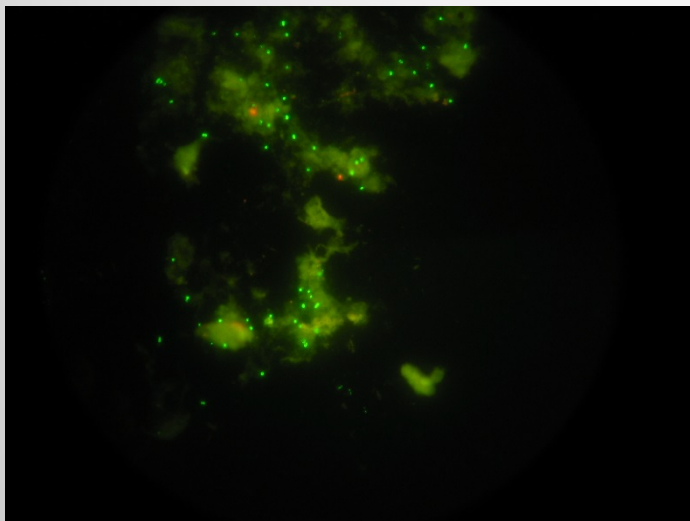
- Sledovat pravidelně nárůst typických kolonií po dobu 6 dní
- Podezřelé kolonie převést na univerzální kultivační médium (KING)



Získání čisté kultury



Pozitivní vzorek



Solanum dulcamara



Lilek potměchut' (*Solanum dulcamara*) na Labi



Solanum dulcamara



Solanum dulcamara



Odběr Labe 2017- *Solanum dulcamara*





**Děkuji za
pozornost**