

***Candidatus Liberibacter solanacearum* – biológia, hostitelia a účinná diagnostika**

ÚSTREDNÝ KONTROLNÝ A SKÚŠOBNÝ ÚSTAV POĽNOHOSPODÁRSKY V BRATISLAVE
833 16 Bratislava, Matúškova 21 Odbor laboratórnych činností, Oddelenie všeobecnej a karanténnej diagnostiky
tel.: 055 / 69 30 291, web: www.uksup.sk, e-mail: richard.malik@uksup.sk
Spracoval: RNDr. Richard Malík, PhD. Zdroj obrázkov: INTERNET © 2016

Candidatus Liberibacter solanacearum – charakteristika a biológia

- r. 2000 - v USA nová choroba zemiakov „zebra chip“ niektorými symptómami pripomínajúca aj prítomnosť vírusu PLRV (zvinutka) , výskyt choroby aj u papriky a rajčiaka
- r. 2006 – výskyt ochorenia aj na Novom Zélande, u viacerých hostiteľov z čeľade *Solanaceae* včítane rajčiakov a zemiakov, výskyt CLs u exotických druhov zeleniny (napr. tamarillo) bol zaznamenaný len u asymptomatických rastlín u ktorých sa predpokladá súvis s prenosom CLs na produkčné plochy symptomatických rajčiakov a zemiakov
- nekultivovateľný organizmus v *in vitro* podmienkach – vlastnosti podobné fytoplazme
- **Domain: Bacteria**
- **Phylum: Proteobacteria**
- **Class: Alphaproteobacteria**
- **Order: Rhizobiales**
- **Family: Phyllobacteriaceae**
- **Genus: Candidatus Liberibacter**
- **Species: Candidatus Liberibacter solanacearum (syn. *psyllaureus*)**
- r. 2008 – Liefting a kol. identifikovali túto Gram-negatívnu baktériu ako nový druh – výhradne osídľujúci floém a tráviaci trakt vektorov z čeľade *Psyllidae* (méry), nekultivovateľná v *in vitro* podmienkach
- r. 2009 - baktéria zaradená do EPPO výstražného zoznamu, r. 2013 - neskôr do EPPO A1 zoznamu patogénov doporučených na reguláciu (spolu so známym vektorom *Bactericera cockerelli*)

Candidatus Liberibacter solanacearum – charakteristika a biológia

- vektor *Bactericera cockerelli* je známy prenosom CLs na rastlinách zemiaka a rajčiaka v USA, Mexiku, Strednej Amerike (Guatemala, Honduras, Nikaragua) a na Novom Zélande (pôvodne zavlečený z USA, od r. 2006 udomácnený), **v EPPO regióne nie je (zatiaľ) zaznamenaný výskyt tohto vektora!**
- v EPPO regióne je výskyt CLs zaznamenaný od r. 2010 - zatiaľ len na **mrkve** (Fínsko, Nórsko, Švédsko) kde prenos CLs spôsobuje vektor *Trioza apicalis*, na **zelerí a mrkve** v Španielsku a na Kanárskych ostrovoch, kde ale prenos spôsobuje vektor *Bactericera trigonica* (potenciálne aj iné rastliny z čeľade *Apiaceae* (mrkvovité) môžu byť v dotknutých regiónoch zdrojom /cieľom infekcie CLs...)
- potenciálnymi hostiteľmi CLs môžu byť mnohé druhy rastlín z 20 čeľadí, preferovanými hostiteľmi vektora *Bactericera cockerelli* sú rastliny z čeľade *Solanaceae* (ľuľkovité), *Convolvulaceae* (pupencovité) a *Lamiaceae* (hluchavkovité)
- experimenty potvrdili možný vertikálny (z rastliny na rastlinu cez dcérske hl'uzy) aj horizontálny prenos CLs (cez vektory) u zemiakov, vertikálny prenos je ale veľmi zriedkavý pretože väčšinou napadnuté rastliny ani nevyklíčia – šírenie CLs je tak zapríčinené najmä jej vertikálnym prenosom (vektormi)
- od r. 2012 je známych **5 haplotypov CLs** (LsoA, LsoB, LsoC, LsoD, LsoE), LsoA a LsoB spôsobujú ochorenia zemiakov a iných rastlín z čeľade *Solanaceae*; LsoC, LsoD a LsoE spôsobujú ochorenia na mrkvovitých rastlinách
- CLs je oproti príbuzným druhom *Candidatus Liberibacter*, spôsobujúcim „zelenavosť“ citrusov (citrus greening) **citlivejšia na vyššiu teplotu** (nad 32°C CLs hynie)

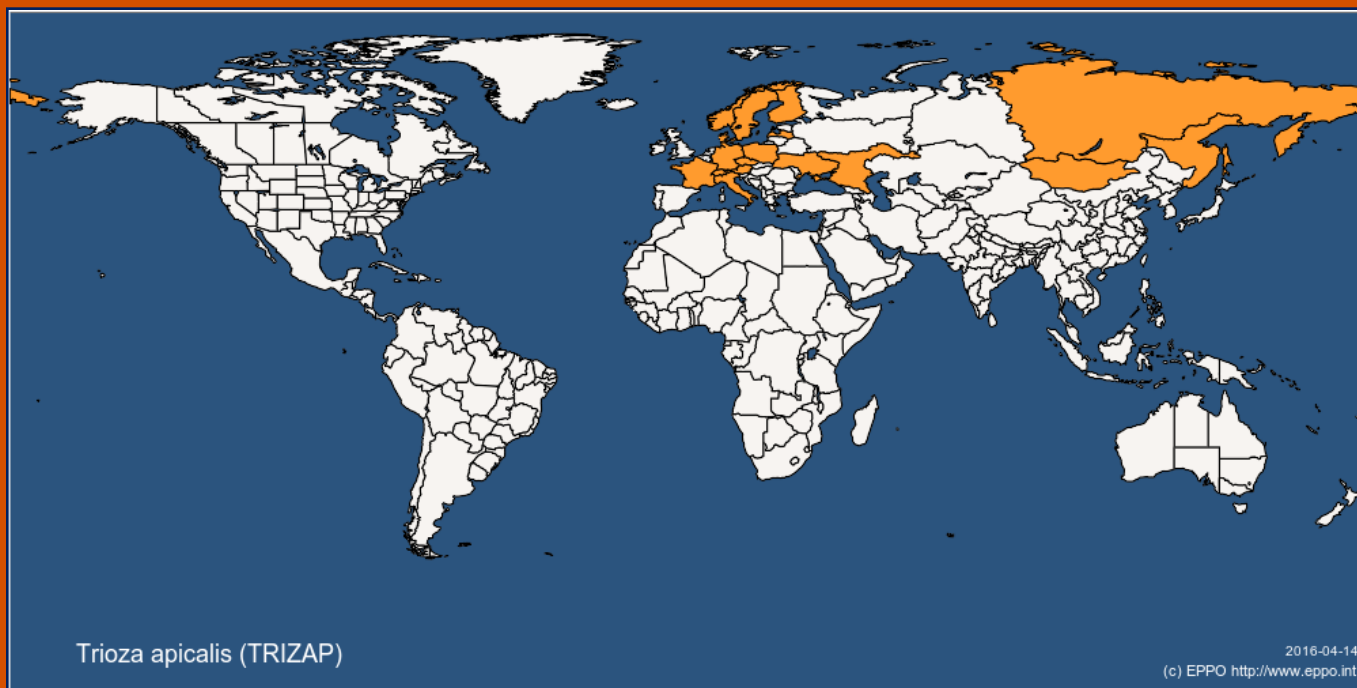
Candidatus Liberibacter solanacearum – vektory



Bactericera cockerelli – prenos CLs na zemiaky a rajčiaky (zaznamenaný v USA, Strednej Amerike a na Novom Zélande)

EPPO a EÚ región (zatiaľ) bez výskytu tohto vektora !!!

Candidatus Liberibacter solanacearum – vektory

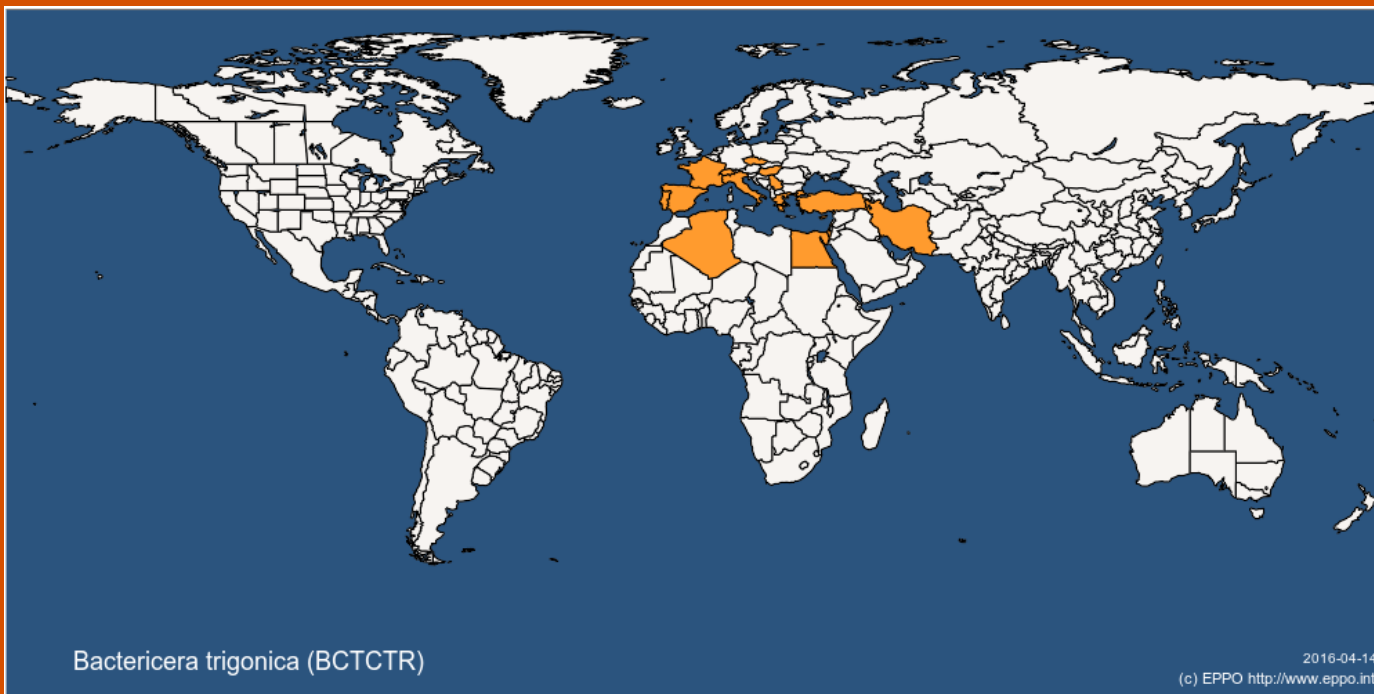


Trioza apicalis – prenos CLs na mrkvu v EÚ (zaznamenaný vo Fínsku, Nórsku, Švédsku, čiastočne aj vo Francúzsku)



Vektor nenapáda rastliny z čeľade *Solanaceae* !

Candidatus Liberibacter solanacearum – vektory



Bactericera trigonica – prenos CLs na mrkvu a zeler
(zaznamenaný v Španielsku a Kanárskych ostrovoch)

Vektor nenapáda rastliny z čeľade *Solanaceae* !

Candidatus Liberibacter solanacearum – symptómy ochorenia



Typické príznaky na rastline zemiaka

- „fialovatenie“ vrcholovej časti rastliny, skrátené internódiá, menšie listy, zhrubnutie stoniek, opuch púčikov v pazuchových jamkách a rast nadzemných hľúz (symptómy pripomínajú napadnutie fytoplazmou - stolbur-om)

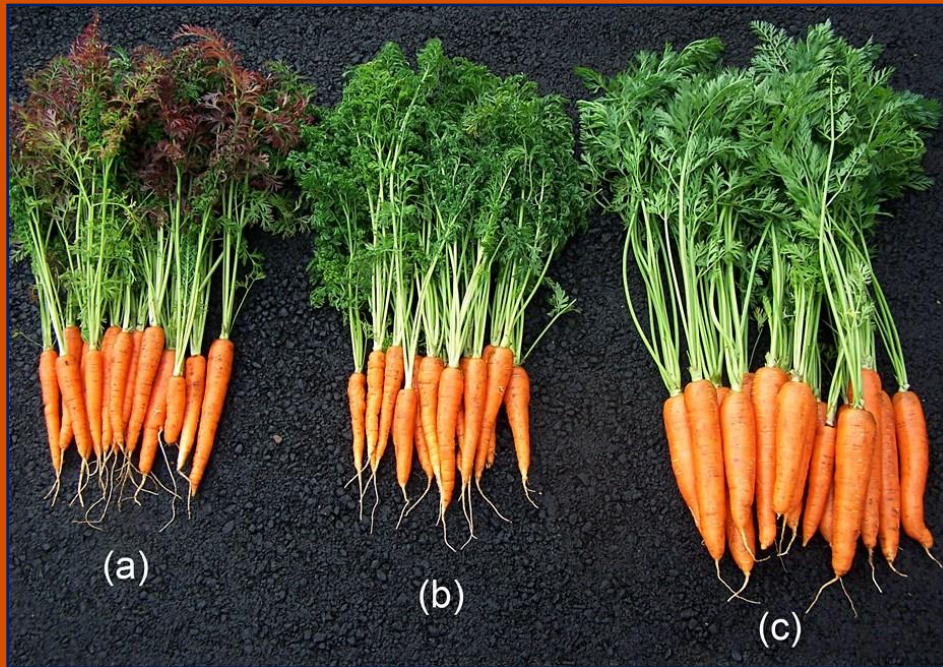
Candidatus Liberibacter solanacearum – symptómy ochorenia



Typické príznaky na hľúzách a podzemných častiach zemiaka

- hnednutie cievneho pletiva sprevádzané nekrotickými škvrnami na vnútorných pletivách hľúz a pruhovaným dreňovým lúčom – zasahujú celú hľuzu
- po tepelnom spracovaní takýchto hľúz sú symptómy ešte zreteľnejšie - nevhodné na spracovanie!

Candidatus Liberibacter solanacearum – symptómy ochorenia



Typické príznaky na mrkve a zelerí

- žltnutie, fialovatenie a kučeravosť listov, zakrpatenosť koreňov a výhonkov, proliferácia sekundárnych koreňov (obr. vľavo: (a) a (b) napadnuté, (c) zdravé rastliny mrkvy)
- množstvo bočných výhonkov a stáčanie stonky zeleru (obr. vpravo hore: A napadnutá rastlina (vľavo), zdravá rastlina zeleru (vpravo), B napadnutá rastlina; obr. vpravo dole: napadnuté stonky (vľavo), zdravá stonka zeleru (vpravo))

Candidatus Liberibacter solanacearum – symptómy ochorenia



Typické príznaky na rajčiaku a paprike

- „mérová žltáčka“ (psyllid yellows) – žltnutie, stáčanie a škvrnitosť listov, „ostrý“ a chlorotický vrchol rastliny, menší vzrast rastliny a u niektorých odrôd deformácia plodov
- chlorotické alebo svetlozelené listy, ostré zúženie vrcholu listu, stáčanie listov smerom nahor, skrátené internódiá a stopky listov, nekróza vrcholového meristému, strata kvetov, menší vzrast rastliny

Candidatus Liberibacter solanacearum – účinná diagnostika

- v prípade symptomatických rastlín by sa malo odobrať 3 až 5 listov a / alebo stoniek – **symptomatická vzorka**
- v prípade asymptomatických rastlín by sa malo odobrať 5 až 10 listov a / alebo stoniek reprezentujúcich celú rastlinu – **asymptomatická vzorka**
- vzorka by mala obsahovať čo možno najviac vodivého pletiva zo stopky a stredného rebra listov
- vzorka hľúz zemiakov – laboratórne testovanie je obtiažne kvôli nerovnomernému osídleniu CLs v jednej ako aj medzi viacerými hľuzami (je preto nutné odobrať pletivo z viacerých častí hľuzy, najmä cievne zväzky)
- vzorka osiva mrkvy – mala by predstavovať 20 000 semien, ktoré by sa mali v laboratóriu rozdeliť do 2 podvzoriek po 10 000 semien, tieto by sa mali pred samotnou extrakciou DNA opláchnuť v destilovanej vode s 0.5% Triton X-100 na odstránenie fungicídnej ochrany
- vzorka vektorov – mala by pozostávať z 10 dospelcov zachytených lepovými pascami alebo odchytnom pomocou sieťky na motýle (CLs je možné laboratórne detegovať z vektorov prichytených na lepovej pasci aj po 10 mesiacoch, v prípade dlhšej doby je potrebné vektory uchovať v 70% etanole)
- laboratórna diagnostika – použitie konvenčnej **PCR** alebo **real-time PCR** (táto vhodnejšia pre vyššiu citlivosť a menšie riziko kontaminácie – falošnej positivity vzorky)