

Xylella fastidiosa – biológia, hostitelia, účinná diagnostika a fytošanitárne opatrenia

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

Xylella fastidiosa – jej charakteristika a biológia

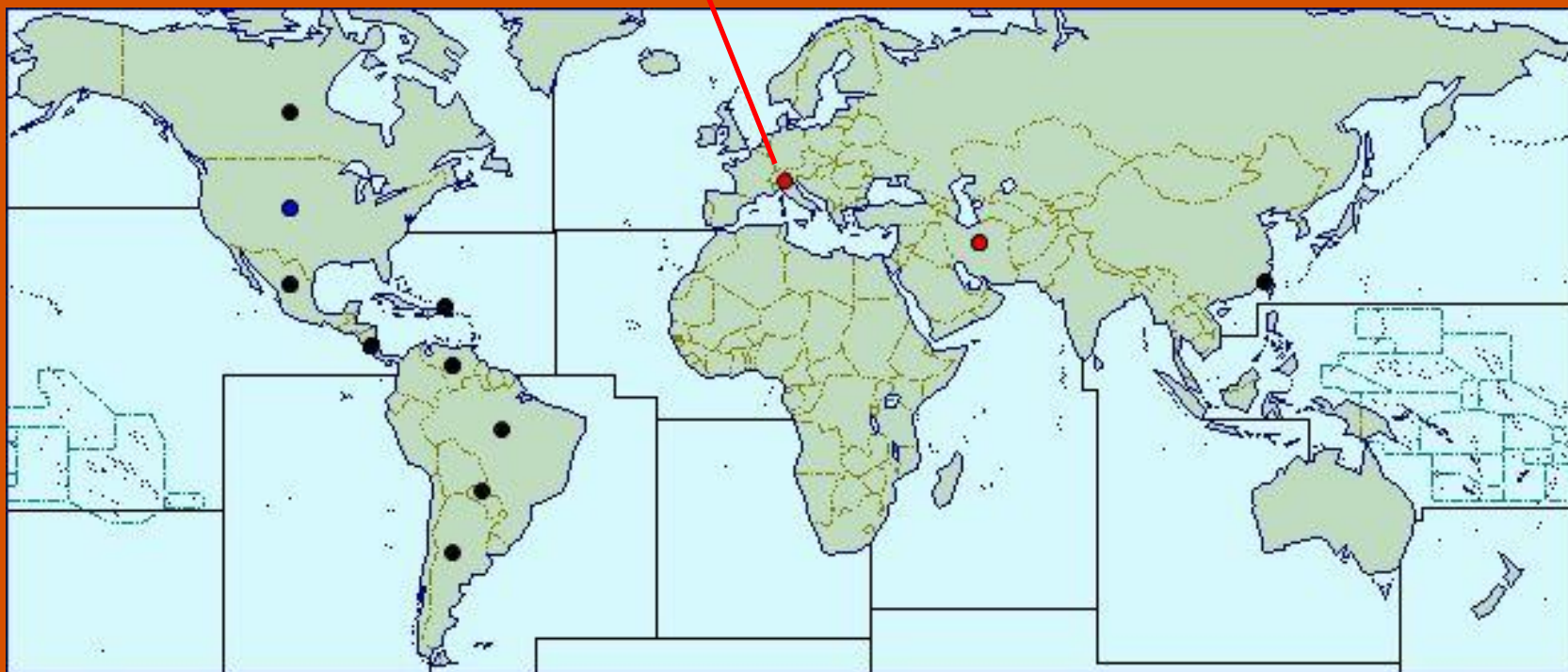
- **r.1887** - v USA (Kalifornia) nová choroba viniča (tzv. **Pierce-ová choroba**; PD – Pierce's disease) a následne tiež na broskyniach (PPD – Phony peach disease, Georgia v r.1929)
- do 70. rokov 20. storočia nekultivovateľný organizmus v *in vitro* podmienkach (vírus, rickettsia?...)
- r.1978 - Davis a kol. prvýkrát úspešne izolovali z napadnutého pletiva viniča čistú bakteriálnu kultúru v *in vitro* podmienkach; neznáma **veľmi pomaly rastúca baktéria** na viacerých selektívnych živných médiách
- **r.1987** – Wells a kol. ako prví podrobne charakterizovali, klasifikovali a pomenovali **nový bakteriálny druh *Xylella fastidiosa* (XF)**
- **XF** neskôr identifikovaná na ďalších rastlinách (citrusy – Brazília v r.1993, kávovníky – Brazília v r. 1995, kôstkoviny, divorastúce rastliny - tráv, kroviny, dreviny... (**EFSA v r. 2016 pomenovala pre XF 359 známych hostiteľských druhov rastlín** zo 75 čeľadí vrátane viniča, duba, brestu, javora, hrušky, broskyne, moruše, platanu, lucerny... hojne zastúpených aj na Slovensku)
- **XF sa stala kvôli jej nebezpečnosti prvou fytopatogénnou baktériou u ktorej sa sekvenoval celý genóm (!)**
- mnohé druhy hostiteľských rastlín (tráv, dreviny) nevykazujú symptómy napadnutia **XF** (sú latentné) tzn. predstavujú „skrytý“ (o to nebezpečnejší !) zdroj sekundárnej nákazy a šírenia baktérie v prostredí ...
- väčšinou má **XF deštruktívne dopady na napadnuté kultúrne rastliny** a to s vysokými stratami na ich úrode

Xylella fastidiosa – jej charakteristika a biológia

- je známych niekoľko patogénnych genotypov **XF**, ktorých **virulencia je závislá na druhu hostiteľskej rastliny** (napr. genotyp XF virulentný na olivovníkoch v Taliansku nie je virulentný na viniči)
- doposiaľ sú známe a akceptované 3 poddruhy **XF**: *X. fastidiosa* subsp. **fastidiosa** (virulentný najmä na viniči, lucerne, mandľovníku, javore), *X. fastidiosa* subsp. **multiplex** (virulentný najmä na broskyni, breste, slivke, platane, mandľovníku), *X. fastidiosa* subsp. **pauca** (virulentný najmä na citrusoch, olivovníkoch, pravdepodobne aj na kávovníkoch)
- baktéria **XF** je **od r.1981 zaradená do EPPO A1 zoznamu**, spolu s jej možnými vektormi *Draeculacephala minerva* (na trávach a burinách v Severnej a Strednej Amerike), *Graphocephala atropunctata* (na viniči v USA), *Homalodisca vitripennis* (na viniči, citrusoch, mandľovníkoch, oleandri v Severnej Amerike), *Xyphon fulgida* (= *Carneocephala fulgida*, na trávach v USA)
- nedávno **adaptované vektory *Homalodisca vitripennis* a *H. coagulata* (méry)** v juhozápadnej časti USA spôsobujú vďaka účinnejšiemu prenosu **XF** (oproti jej ostatným lokálnym vektorom) značné škody na produkcii viniča, kôstkovín a oleandra – hlavný dôvod je **prezimovanie dospelého vektora spolu s XF v jeho tráviacom trakte** (tzn. priamy **prenos XF na vinič už v skorú jar!**) a **schopnosť preletu vektora na viac ako 100 m !**
- potenciálne vektory na území južnej Európy sú aj *Cicadella viridis* a *Philaenus spumarius*
- v Strednej a Južnej Amerike sa **XF** stala už v 90-tych rokoch 20. storočia extrémne nebezpečnou vďaka jej **prieniku v množiteľskom materiáli citrusov a kávovníkov**

Xylella fastidiosa – jej výskyt vo svete

- rozsiahly výskyt
- výskyt bez informácií o jeho rozsahu
- lokálny (ohraničený) výskyt (r. 2013 Taliansko, od r. 2015 aj Francúzsko –Korzika)



Xylella fastidiosa – jej známe vektory na americkom kontinente



Draeculacephala minerva



Graphocephala atropunctata



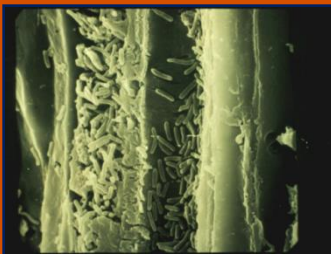
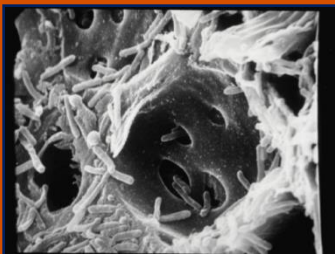
Homalodisca vitripennis



Xyphon fulgida

Xylella fastidiosa – jej charakteristika a biológia

- Gram-negatívna, striktne aeróbna (bezbičíkatá) baktéria (0,2 – 0,4 x 1,0 – 4,0 µm) výhradne lokalizovaná v rastlinnom pletive (xyleme) a prenášaná vektormi, teplotné optimum rastu je 26 – 28 °C



- baktéria známa tvorbou biofilmov blokujúcich prúdenie miazgy u rastlín s pokročilým štádiom infekcie ale tiež v prednom čreve vektorov
- sekrečný systém baktérie produkuje exoenzyémy degradujúce bunkovú stenu rastlinných buniek čo umožňuje kolonizáciu XF v xyleme, zabezpečuje adaptabilitu baktérie k rôznym typom xylemu a tiež umožňuje toleranciu baktérie k environmentálnym stresom
- na živiny chudobný xylem (na rozdiel od floemu) obsahuje popri organických a anorganických kyselinách aj aminokyseliny glutamín a asparagín, ktoré využíva na svoj rast vektor aj XF, po prieniku XF je jej pohyb v xyleme smerom nahor zabezpečený pomocou jej pilusov / bráv, taktiež aj nadol do koreňov, ktoré môžu byť ďalšou cestou šírenia XF – napr. v prípade rozmnožovania koreňmi / koreňovými odrezkami / pakoreňmi
- u väčšiny hostiteľských rastlín XF spôsobuje typické symptómy vädnutia a vysychania listov, chradnutie a odumieranie výhonkov (konárov), u broskýň spôsobuje nižší vzrast, u lucerny zakrpatenie

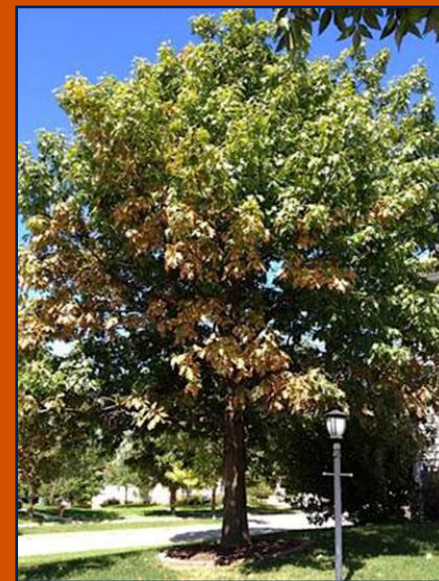
Xylella fastidiosa – symptómy na viniči



Xylella fastidiosa – symptómy na viniči



Xylella fastidiosa – symptómy na dube



Xylella fastidiosa – symptómy na javore



Xylella fastidiosa – symptómy na oleandri



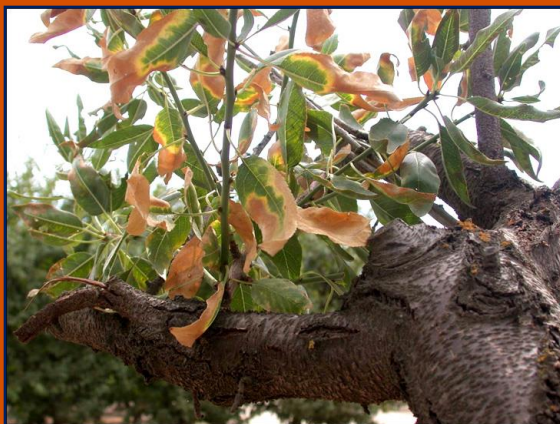
Xylella fastidiosa – symptómy na citrusoch



Xylella fastidiosa – symptómy na olivovníkoch



Xylella fastidiosa – symptómy na mandľovníkoch



Xylella fastidiosa – symptómy na kávovníkoch



Xylella fastidiosa – symptómy na vybraných hostiteľoch

Hostiteľ	Typické symptómy
citrus (pomarančovník)	chlorotické bodky na vrchnej časti listov, medzižilnatinová chloróza, stromy chradnú kvôli strate listov, malé plody s extrémne tvrdou kôrou, pomalý rast stromov
vinič	listy na okrajoch akoby náhle spálené, neskôr zhnednuté a okolité pletivo zožltnuté alebo začervenané, listy opadávajú ale ich stopky zostávajú prichytené, stonky a výhonky nepravidelne vyzrievajú so striedajúcimi sa zelenými a hnedými časťami pletiva, chronicky napadnuté rastliny majú zmenšené a skrútené listy s medzižilnatinovou chlorózou, výhonky majú skrátene internódiá, celkový rast a dozrievanie sú zabrzdené, v závislosti na odrode a jej citlivosti ku XF napadnuté rastliny väčšinou hynú do 2 – 3 rokov
kávovník	okrajové a apikálne vysychanie mladých listov, predčasné opadnutie napadnutých listov, výhonky sú zakrpatené, apikálne listy zmenšené a chlorotické, v neskorších fázach listy stočené a zdeformované, rastliny zakrpatené so skrátene internódiami
broskyňa, slivka	mladé výhonky zakrpatené a preto olistenie hustejšie, laterálne výhonky rastú v horizontálnej polohe alebo smerom nadol, koruna stromov je tak celkovo zaoblená, tmavšie zelená a kompaktná, listy a kvety sa vyvíjajú skôr a zostávajú na napadnutom strome dlhšie oproti normálnemu stavu (u sliviek listy akoby oparené), úrodnosť významne klesá a plody sú zreteľne menšie, plody môžu byť krajšie sfarbené a o niekoľko dní skôr dozrievajú, po 3 – 5 rokoch od napadnutia sú stromy z hľadiska úrody bezcenné
lucerna	zakrpatenosť, menšie a mierne tmavšie (namodralé) listy (bez škvrn, žltnutia a deformácií)

Xylella fastidiosa – niektoré známe vektory u vybraných hostiteľov a lokalít

Hostiteľ	Hmyzí vektor
citrus (Brazília)	<i>Acrogonia terminalis</i> <i>Dilobopterus costalimai</i> <i>Oncometopia fascialis</i> <i>Oncometopia nigricans</i>
vinič (USA)	<i>Carneocephala fulgida</i> <i>Draeculacephala minerva</i> <i>Graphocephala atropunctata</i> <i>Homalodisca coagulata</i> <i>Oncometopia nigricans</i>
oleander (USA, Južná Amerika)	<i>Homalodisca coagulata</i> <i>Homalodisca lacerta</i>
broskyňa, slivka (USA)	<i>Graphocephala versuta</i> <i>Homalodisca coagulata</i> <i>Homalodisca insolita</i> <i>Oncometopia orbona</i>
olivovník (Taliansko)	<i>Philaenus spumarius</i>

Xylella fastidiosa – diagnostika a fytosanitárne opatrenia

- u symptomatických rastlín je možné baktériu izolovať zo stopiek typicky (ale len čiastočne!) „spálených“ listov alebo z ich listovej žilnatiny, zo symptomatických drevín s „nespálenými“ listami (alebo bez olistenia) je možné izolovať baktériu z vodivých pletív výhonkov / konárikov, z koreňov symptomatických rastlín (napr. u broskyne) je taktiež možná izolácia XF
- na všeobecných kultivačných médiách kolónie XF nerastú, na selektívnych médiách PD2, PW, CS20 a BCYE je ich rast veľmi pomalý – nevýhoda časovej náročnosti diagnostiky
- kolónie XF rastúce na najčastejšie využívanom PW médiu sú okrúhle s jasnými okrajmi, konvexné (vyduté) a opalizujúco biele (až žlté), ich veľkosť po 2 – 3 týždňovej inkubácii pri teplote 26 – 28 °C je len 0,7 – 1,0 mm
- u viniča je najvhodnejším obdobím na odber vzoriek neskoré leto až skorá jeseň (s vysokými dennými teplotami a suchým počasím), oblasti pestovania viniča s priemernou januárovou teplotou pod 3°C sú menej ohrozené Pierce-ovou chorobou!

Xylella fastidiosa – diagnostika a fytosanitárne opatrenia

- na väčšine napadnutých hostiteľov **XF** vytvára **ojedinelé / ohraničené oblasti** s typickými zaschnutými listami a vetvičkami – na rozdiel od abiotických faktorov prejavujúcich sa na celej rastline (napr. **nedostatok zinku**)
- vo všeobecnosti sa vo svete pri detekcii **XF** u veľkého počtu **symptomatických** vzoriek osvedčila imunochemická metóda **ELISA**, u ktorej nebol zaznamenaný efekt inhibície a tým falošného negatívneho výsledku (ako je tomu u molekulárnej metódy PCR), selektívna izolácia **XF** na živnom médiu je pri „ELISA-pozitívnych“ vzorkách nevyhnutná (nevýhoda časovej náročnosti), potrebná je u týchto vzoriek aj potvrdzujúca molekulárna metóda (PCR, LAMP, real-time PCR) v **EPPO** regióne je smerodajný diagnostický protokol **PM 7/24(2)** – **v súčasnosti revidovaný!**
- u **asymptomatických** vzoriek (a vzoriek vektorov) je potrebné vykonať detekciu **XF** pomocou molekulárnej metódy **PCR** (rádovo citlivejšia oproti ELISA metóde), v posledných rokoch sa osvedčila **real-time PCR** metóda, ktorá je omnoho rýchlejšia, citlivejšia a špecifickejšia ako ostatné využívané metódy (napr. IF mikroskopia, LAMP, ELISA, PCR)
- v súčasnosti uplatňované ochranné opatrenia proti chorobám spôsobených **XF** na voľne pestovaných hostiteľských rastlinách spočívajú najmä v **insekticídnej ochrane** pred známymi vektormi **XF**, **výsadbe zdravého (certifikovaného) materiálu**, **likvidácii symptomatických častí alebo celých rastlín**, obmedzení alebo **zákaze dovozu sadbového materiálu z krajín s výskytom XF**, výsadbe menej citlivých alebo tolerantných odrôd, kontrole a/alebo obmedzení výskytu možných hostiteľských druhov v okolí množiteľských a produkčných plôch

Xylella fastidiosa – diagnostika a fytosanitárne opatrenia

symptomatická vzorka

- **vinič** - ideálna vzorka z 1 rastliny predstavuje **starší výhonok** (výhonky) s niekoľkými dozretými listami (celkovo **10 – 25 ks listov**), môže byť aj združená vzorka odobraná z viacerých rastlín s podobnými symptómami
- **broskyňa** - niekoľko starších olistených výhonkov alebo **časť koreňov**
- **citrus** - **niekoľko dozretých listov** zo starších výhonkov

asymptomatická vzorka

- vo všeobecnosti by mala reprezentovať celú nadzemnú časť rastliny – z 1 rastliny minimálne **4 – 10 výhonkov** (konárikov) v závislosti na jej druhu a veľkosti (napr. zo zásielky asymptomatických kávovníkov bola až zo 100 – 200 ks listov úspešne detegovaná **XF**)
- vzorka predstavujúca **XF-vektory** – na záchyt dospelcov doporučená sieťka na motýle (lepové pasce nevhodné), obdobie záchytu vektorov predstavuje neskorú jar až skorú jeseň, ideálna vzorka predstavuje 5 ks dospelcov (na izoláciu **XF** v diagnostickom laboratóriu potrebná len hlavička)

Xylella fastidiosa – diagnostika a fytosanitárne opatrenia

Kontrola importu hostiteľských druhov

- krajiny EÚ by mali vyžadovať pri dovoze zásielok s rastlinami určenými na pestovanie **doklad o absencii XF** a potvrdenie o správnom ošetrovaní a pestovateľských postupoch potrebných na prevenciu proti prieniku **XF a jej vektorov**
- v miestach importu by mali byť vytvorené vhodné podmienky a kapacity na efektívnu vizuálnu kontrolu zásielok (adekvátny počet kontrolovaných rastlín v každej zásielke), **ISPM č.31. Metodiky vzorkovania zásielok** (IPPC, r. 2009)
- všetky zásielky so symptomatickými rastlinami je nutné po vizuálnej kontrole otestovať aj v diagnostickom laboratóriu na overenie prítomnosti **XF a jej vektorov**
- zásielky s rastlinami v stave dormancie by mali byť alebo zadržané a vizuálne kontrolované až v období rastu, alebo ovzorkované a testované na latentnú infekciu **XF**
- u zásielok ktoré pochádzajú z krajín **bez známeho výskytu XF** je nutná kontrola 448 rastlín z 10 000 ks, čo by malo na 99 % zaručiť **odhalenie 1 % symptomatických rastlín**
- u zásielok ktoré pochádzajú z krajín **so známym výskytom XF** je nutná kontrola 3689 rastlín z 10 000 ks, čo by malo na 99 % zaručiť **odhalenie 0,1 % symptomatických rastlín**
- v prípade zásielky s malým počtom rastlín je nutná kontrola všetkých rastlín
- vzorky odobraté na testovanie by mali byť bezodkladne odoslané do diagnostického laboratória a mali by byť uschované v chlade kvôli zamedzeniu teplotného šoku rastlín alebo ich častí