Aphanomyces cochlioides – významný původce spály a kořenové hniloby cukrové řepy

APHANOMYCES COCHLIOIDES – SIGNIFICANT AGENT OF DAMPING OFF AND ROOT ROT OF SUGAR BEET

Rod *Aphanomyces* se řadí do říše Chromista, třídy Oomycetes, což jsou houbám podobné eukaryotické orgasnismy. Rod *Aphanomyces* je zařazen do čeledi Saprolegniaceae, kam patří velké množství patogenních organismů rostlin a živočichů (1).

Aphanomyces cochlioides je půdní patogen a je v této skupině jeden z nejvýznamnějších. Patogenita *A. cochlioides* byla poprvé popsána ve státu Michigan v USA v roce 1929 (2). Může napadat kořeny cukrové řepy (*Beta vulgaris* L.), špenátu (*Spinacia oleracea* L.) a řadu dalších zástupců čeledi Chenopodiaceae a Amaranthaceae (3). Přítomnost *A. cochlioides* byla zaznamenána ve všech hlavních řepařských oblastech, patří např. k významným hrozbám pěstování cukrové řepy v USA, zvláště v oblasti Red River Valley v Severní Dakotě, v Minesotě (4), západní Nebrasce a Wyomingu (5). Škodí také v Chile (6), Evropě, Turecku a Japonsku (7).

Bionomie Aphanomyces cochlioides

Životní cyklus obsahuje pohlavní a nepohlavní stadium. *Aphanomyces cochlioides* je homothalický organismus, kdy samičí a samčí orgány se vyskytují současně na téže hyfě. Během pohlavního stadia jsou po oplodnění v oogoniu uvnitř napadeného pletiva kořene produkovány oospory. V samčím pohlavním orgánu anteridiu se formují samčí gamety (8, 9). Oospory jsou tlustostěnné buňky velikosti 16–24 µm. Uvolňují se do půdy z pletiva odumírajících napadených rostlin. Mohou přežívat v půdě i v nepříznivých podmínkách až 10 let i bez přítomnosti hostitelských rostlin (10). Kdykoli v průběhu vegetace a růstu cukrovky i dalších hostitelských rostlin za optimálních podmínek oospory klíčí a vytváří vegetativní mycelium – houbová vlákna, jež přímo napadají kořeny (11). Nicméně i přes možnost přímého napadení oosporami, většina napadení probíhá pomocí zoospor, což jsou malé jednojaderné buňky (velikosti 7–11 µm) produkované během nepohlavního stadia. V této fázi dochází k diferenciaci vláken mycelia na zoosporangia, v nichž se zoospory nepohlavně tvoří (obr. 1.). Zoospory se uvolňují do půdy a díky dvěma bičíkům se ve volné půdní vodě pohybují směrem k povrchu kořenů hostitelských rostlin. Tam se přichytí, encystují a pronikají do pletiva během 30–40 minut a popřípadě kolonizují povrch kořenů (12, 13).

Přítomnost mycelia *Aphanomyces cochlioides* byla zjištěna v mezibuněčných prostorách primárního pletiva (kortexu) kořene (10). Pohyblivost zoospor je aktivována kořenovými eksudáty produkovanými u hostitelských rostlin (14). Zoospory jsou přitahovány druhově specifickým flavonoidem, známým jako cochliophilin A., který byl prvně izolován z kořenů špenátu a vyskytuje se také v kořenech cukrovky (14, 15). Pokud jsou zoospory přilákány cochliophilinem A, pak se velmi rychle encystují a klíčí v rozmezí 30 až 60 minut.

Obr. 1. Aphanomyces cochlioides – sporangium se zoosporami (foto V. Rossi)

Symptomy napadení

Aphanomyces cochlioides je hlavním původcem spály mladých rostlin cukrovky, ale často se vyskytuje jako součást komplexu dalších kořenových hnilob cukrovky, jako je *Rhizoctonia solani* a *Fusarium* spp. (16). Pokud je napadení velmi silné, může dojít k poškození celého pole s cukrovou řepou a k výraznému snížení výnosu cukru (10, 17). Optimální podmínky pro napadení kořenů rostlin jsou ve vlhké půdě (zvláště s obsahem množství volné vody v půdních mikropórech) při teplotách půdy 20–30 °C (18). *A. cochlioides* je teplomilnější než *Pythium* sp., další patogen také působící spálu řepy. Půdní typ a chemické složení půdy, kde se cukrová řepa pěstuje, jsou rovněž pro intenzitu napadení a šíření velmi důležité. Přítomnost a škodlivost *A. cochlioides* je limitována obsahem volného vápníku v půdě, přičemž při obsahu 250 mg Ca na 100 g zeminy a vyšším klesá napadení (19). Pro růst *A. cochlioides* jsou příznivější kyselé půdy a na takových půdách za optimálních podmínek pro růst patogena může dojít k totálnímu poškození porostu (20). K infekci může dojít ve dvou rozdílných fázích vývoje řepy:

– v rané fázi se napadení projeví jako akutní spála rostlin a dochází k jejich totálnímu odumírání,
– v pozdějších fázích vývoje cukrovky při vlhké půdě a vhodných teplotách se může vyvinout chronické napadení plně vyvinutých kořenů řepy (10).

K akutnímu napadení obvykle dochází v době vzcházení a krátce po vzejití rostlin (18). Napadené rostliny cukrové řepy mají hnědý až zčernalý a zaškrcený kořínek obvykle v oblasti hypokotylu (obr. 2.) a v případě vlhkého a teplého počasí dojde k úplnému úhynu rostlin (17).

Pokud se ovšem půda prosuší a ochladí se, méně napadené kořeny se mohou uzdravit, přežít a dále růst. Napadené rostliny mohou tedy odrůst ranému napadení a v pozdější fázi vegetace se projeví zaškrcení kořene v oblasti hypokotylu, přičemž kořen se nevyvíjí normálně, tloustne jen na nenapadených místech a je deformovaný (obr. 3.). Napadení může být často tak silné, že dochází k lámání kořene řepy při sklizni (obr. 4.).

Chronická fáze napadení kořenů rostlin probíhá obvykle od konce června do konce srpna na starších rostlinách. Dalším z diskutovaných příznaků napadení v pozdějším období vegetace (i v srpnu a v září, při dostatku volné vody v půdě) je odumírání drobných kořínků (tmavě hnědošedé zbarvení) a obnova nových (bílé zbarvení). Z takto napadených kořínků lze obvykle izolovat patogena či provést mikroskopickou analýzu s nalezením sporangií či oospor. Pletivo kořene při silném napadení může být i vodnaté a může praskat (obr. 5.)

Méně napadené kořeny mají často na povrchu žlutohnědé leze, které později tmavnou a nekrotizují (10) (obr. 6.). Tento příznak bývá také často zaměňován s příznaky napadení strupovitostí řepných kořenů, které mohou působit aktinomycety. Kořeny cukrovky napadené *Aphanomyces cochlioides* v pozdějších fázích mají nejen nižší hmotnost, ale i výrazně nižší cukernatost (6).

Situace v České republice

S napadením kořenů cukrové řepy patogenem *A. cochlioides* se lze setkat v Česku pravidelně a každoročně. Bohužel četnost výskytu napadení i rozsah poškození kořenů cukrové řepy narůstá. V roce 2020 díky vysokému podílu volné vody v půdě bylo chronické napadení kořenů řepy velmi vysoké, a to ve všech pěstitelských oblastech Česka. Často bylo zaznamenáno napadení celého honu, nezřídka i na úrovni větší než 80 %. Existuje domněnka, že jedním z faktorů ovlivňujících nízkou cukernatost při sklizni v některých oblastech způsobilo chronické napadení *Aphanomyces cochlioides*. Při laboratorní analýze kořenů cukrové řepy s nízkou cukernatostí byl patogen často nalezen.

Obr. 2. Mladé rostliny cukrovké řepy silně napadené spálou Aphanomyces cochlioides (foto V. Rossi)

Obr. 3. Zaškrcení kořene v oblasti hypokotylu při napadení Aphanomyces cochlioides (foto V. Bittner)

Obr. 4. Silné zaškrcení při napadení Aphanomyces cochlioides působí lámání kořene (foto V. Bittner)

Obr. 5. Silně napadený kořen může mít příznaky vodnaté hniloby – řez kořenem (foto V. Rossi)

Možnosti ochrany

Kořenová hniloba cukrovky působená *A. cochlioides* patří k nejproblematičtějším chorobám z hlediska ochrany v důsledku chybějících účinných metod. Agrotechnickými metodami jako časnějším setím, úpravou vodního režimu, zvýšeným vápněním půdy s cílem zvýšit pH lze do určité míry omezit negativní vliv *A. cochlioides* na výnosy a cukernatost cukrovky (21, 22). V případě pravidelných výskytů je vhodné dlouhodobě uplatňovat meliorační vápnění, neboť napadení přímo souvisí s obsahem volného vápníku v půdě. Je velmi nutné podrývání s cílem narušení utuženého podorničí a bylo by nutné řešit funkčnost meliorací na zamokřených polích. Bohužel na silně zamořených půdách jsou tyto agrotechnické metody nedostatečné a nepomáhá ani delší odstup pěstování v osevním sledu, protože oospory patogena mohou přežívat v půdě dlouho (23). Akutní napadení spálou v raných fázích vývoje rostlin lze do určité míry omezit mořením osiva cukrovky (fungicidní úč. l. *hymexazole*). Nicméně pro chronické napadení kořenů cukrovky v pozdějších fázích růstu neexistují účinné strategie ochrany. Proto většina šlechtitelských firem pro cukrovku má své šlechtitelské programy zaměřené na vývoj a produkci odrůd s vysokou tolerancí až rezistencí k chronické spále působené *A. cochlioides*.

Šlechtění na odolnost

Šlechtitelé zaměřují své aktivity ve šlechtění odrůd cukrové řepy na odolnost vůči chorobám, jako je komplex virových žloutenek řepy, rizománie, *Cercospora beticola*, *Aphanomyces cochlioides* a *Rhizoctonia solani*. Ve společnosti MariboHilleshög pracují v kvalitně vybavených skleníkových a laboratorních prostorách, které umožňují špičkové molekulární a mikroskopické analýzy určené ke studiu vztahů hostitel – patogen. Společnost vyvinula výkonný a vhodný skleníkový test s cílem hodnocení šlechtitelských linií a screening zdrojů odolnosti materiálů k *A. cochlioides*. Hodnocení úrovně odolnosti a tedy i napadení je prováděno vizuálně na rostlinách dle příznaků napadení (obr. 7.) a posléze laboratorně molekulární analýzou s cílem detekce a kvantifikace úrovně napadení kořenů cukrové řepy patogenem. Vysoce výkonné genotypy jsou dále testovány v polních pokusech v delší časové řadě a v různých podmínkách prostředí pro selekci kandidátů k vývoji nových hybridů cukrovky.

Tolerantní odrůdy cukrové řepy jsou dobře známé v zemích s vysokou a pravidelnou škodlivostí *A. cochlioides*, jako jsou USA, Rusko, Japonsko, Dánsko, Švédsko či Finsko. Šlechtitelský program MariboHilleshög je zacílen na další zlepšování odolnosti odrůd vůči tomuto patogenu. Proto probíhá i aktivní spolupráce ve společných výzkumných projektech se Švédskou zemědělskou univerzitou (SLU) v Uppsalle s cílem identifikace nových šlechtitelských metod pro nalezení vysoké odolnosti odrůd. Tyto projekty jsou zacíleny na identifikaci hlavních kvantitativních znaků a jejich genetické lokalizace (QTLs, quantitative trait locus) pro identifikaci genů a skupin genů v genomu cukrové řepy odpovídajících za rezistenci vůči *Aphanomyces cochlioides*.

Genetické mapování genů rezistence ve spojení s chromozomovou analýzou a spolu s QTLs přináší významné poznání o vazbách kvantitativních znaků s geny rezistence. Posiluje se tak významně znalost genetické odolnosti vůči *A. cochlioides*. Dalším objektem výzkumného zájmu je sledování možností biologické ochrany rostlin proti napadení s cílem vývoje trvale udržitelných metod ochrany.

Obr. 6. Méně napadené kořeny mají v oblasti hypokotylu světle hnědé leze s prasklinami (foto V. Rossi)

Závěr

V posledních letech věnují šlechtitelé řepy značnou pozornost zvyšování odolnosti odrůd k hlavním chorobám cukrovky, jako je rizománie a *Cercospora beticola*. Nicméně *Aphanomyces cohlioides* stále zůstává v zorném poli

Obr. 7. Screening šlechtitelských materiálů ve skleníkovém testu A. cochlioides: citlivé linie na horním obrázku a částečně rezistentní šlechtitelské linie (foto V. Rossi)

a význam rezistentního šlechtění dále narůstá. V tomto ohledu je důležitá identifikace nových zdrojů rezistence k *Aphanomyces* a určení major genů odpovědných za odolnost. Pokud se soustředíme pouze na chemickou ochranu, může dojít k velké kumulaci fungicidních účinných látek v půdě, a to může způsobit negativní změny v půdním prostředí a může to vést k selekci rezistentních ras *A. cochlioides* k některým fungicidům. Proto je velmi vhodné doplnit šlechtění odrůd cukrové řepy na odolnost hledáním možností biologického boje a uplatněním antagonických bioagens vůči *A. cochlioides*. To znamená integrovaný přístup a novou strategii ochrany proti spále řepy.

Valentina Rossi, MariboHilleshog Research AB, Švédsko,
přeložil Vít Bittner, MariboHilleshog ApS, Česko

Literatura

1. Diéguez-Uribeondo, J. et al.: Phylogenetic relationships among plant and animal parasites, and saprotrophs in Aphanomyces (Oomycetes). *Fungal Genetics and Biology*, 46, 2009 (5), s. 365–376.
2. Drechsler, C.: The beet water mold and several related root. *Journal of Agricultural Research*, 38, 1929, s. 309.

3. Jacobsen, B. J.: Root rot diseases of sugar beet. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*, 110, 2006, s. 9–19.
4. Beale, J. W.; Windels, C. E.; Kinkel, L. L.: Spatial distribution of *Aphanomyces cochlioides* and root rot in sugar beet fields. *Plant disease*, 86, 2002 (5), s. 547–551.
5. Harveson, R. M.: First report of *Aphanomyces* root rot of sugar beet in Nebraska and Wyoming. *Plant disease*, 84, 2000 (5), s. 596–596.
6. Windels, C. E.: Aphanomyces root rot on sugar beet. *Plant Health Progress*, 1, 2000 (1), s. 8.
7. *Invasive Species Compendium. Datasheet on Aphanomyces cochlioides (root rot of beet).* CABI, 2020, [online] https://www.cabi.org/isc/datasheet/6405#todistributionDatabaseTable, cit. 20. 11. 2020.
8. Dick, M. W.: Morphology and Taxonomy of the Oomycetes, with Special Reference to Saprolegniaceae, Leptomitaceae and Pythiaceae: I. Sexual Reproduction. *New Phytologist*, 68, 1969 (3), s. 751–775.
9. Malloch, D. G.: *The Mycology Web Pages.* New Brunswick Museum, 2017.
10. Papavizas, G. C.; Ayers, W.A.: *Aphanomyces* Species and Their Root Diseases in Pea and Sugarbeet: A Review. *Agricultural Research Service, USDA*, 1974.
11. Dyer, A. T.; Windels, C. E.: Viability and maturation of *Aphanomyces cochlioides* oospores. *Mycologia.* 95, 2003 (2), s. 321–326, doi: 10.1080/15572536.2004.11833117.
12. Walker, C. A.; van West, P.: Zoospore development in the oomycetes. *Fungal biology reviews*, 21, 2007 (1), s. 10–18.
13. Tofazzal Islam, M.: Ultrastructure of *Aphanomyces cochlioides* zoospores and changes during their developmental transitions triggered by the host specific flavone cochliophilin A. *Journal of basic microbiology*, 50, 2010 (S1), s. S58–S67.
14. Islam, M. T.; Tahara, S.: Chemotaxis of fungal zoospores, with special reference to *Aphanomyces cochlioides. Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 65, 2001 (9), s. 1933–1948.
15. Horio, T. et al.: A potent attractant of zoospores of *Aphanomyces cochlioides* isolated from its host, Spinacia oleracea. *Experientia*, 48, 1992 (4), s. 410–414.
16. Harveson, R. M.; Rush, C. M.: The influence of irrigation frequency and cultivar blends on the severity of multiple root diseases in sugar beets. *Plant disease*, 86, 2002 (8), s. 901–908.
17. Taguchi, K. et al.: Molecular mapping of a gene conferring resistance to Aphanomyces root rot (black root) in sugar beet (Beta vulgaris L.). 2010, doi: 10.1007/s10681-010-0153-8.
18. Biancardi, E.: *Genetics and breeding of sugar beet.* CRC Press, 2005, 392 s., ISBN 9781578083664.
19. Olsson, Å.; Persson, L.; Olsson, S.: Variations in soil characteristics affecting the occurrence of Aphanomyces root rot of sugar beet–Risk evaluation and disease control. *Soil biology and biochemistry*, 43, 2011 (2), s. 316–323.
20. Williams, G. E.; Asher, M. J. C.: Selection of rhizobacteria for the control of Pythium ultimum and Aphanomyces cochlioides on sugar-beet seedlings. *Crop Protection*, 15, 1996 (5), s. 479–486.
21. Bresnahan, G. A. et al.: Influence of soil pH on Aphanomyces cochlioides in sugarbeet. *Sugarbeet Research and Extension Reports*, 32, 2001, s. 264–268.
22. Brantner, J. R.; Chanda, A. K.: Addition of supplemental spent lime to previously limed soils for control of aphanomyces root rot on sugarbeet. *Phytopathology*, 106, 2016 (12), s. 80.
23. Takenaka, S.; Ishikawa, S.: Biocontrol of sugar beet seedling and taproot diseases caused by Aphanomyces cochlioides by Pythium oligandrum treatments before transplanting. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 47, 2013 (1), s. 75–83, doi: 10.6090/jarq.47.75.

Zhojený kořen po silném napadení Aphanomyces cochlioides