

***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 organismy. 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 řepářských 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

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



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 přežít 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 prostorech primárního pletiva (kortexu) kořene (10). Pohyblivost zoospor je aktivována kořenovými exsudáty 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 přiláhány cochliophilinem A, pak se velmi rychle encystují a klíčí v rozmezí 30 až 60 minut.

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 kyselá 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 vzházení a krátce po vzejití rostlin (18). Napadené rostliny cukrové řepy mají hnědý až zčernalý a zaškrčený 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 zaškrčení 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 sporangii či oospor. Pletivo kořene při silném napadení může být i vodnaté a může prskat (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 cukrové řepy silně napadené spálou *Aphanomyces cochlioides* (foto V. Rossi)



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



Obr. 4. Silné zaškrčení 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. cochliformis* patří k nejproblematičtějším chorobám z hlediska ochrany v důsledku chybějících účinných metod. Agrotechnickými metodami jako časnějším setím, úpravou vodního režimu, zvýšením vápněním půdy s cílem zvýšit pH lze do určité míry omezit negativní vliv *A. cochliformis* 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 podřívání 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

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



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. I. *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. cochliformis*.

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 cochliformis* 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. cochliformis*. 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. cochliformis*, 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 cochliformis*.

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. cochliformis*. Dalším objektem výzkumného zájmu je sledování možností biologické ochrany rostlin proti napadení s cílem vývoje trvale udržitelných metod ochrany.

Závěr

V posledních letech věnují šlechtitelé řepy značnou pozornost zvyšování odolnosti odrůd k hlavním chorobám cukrovky, jako je rizománie a *Cercospora beticola*. Nicméně *Aphanomyces cochliformis* 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)



ALMIRO

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 antagonistických bioagens vůči *A. cochlioides*. To znamená integrovaný přístup a novou strategii ochrany proti spále řepy.

Valentina Rossi, MariboHillesbog Research AB, Švédsko,
přeložil Vít Bittner, MariboHillesbog 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. PAPAIVAS, 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*