

ROD *Pythium* SE ZAMĚŘENÍM NA JEHO MYKOPARAZITISMUS

MARKÉTA KULIŠOVÁ a IRENA KOLOUCHOVÁ

Ústav biotechnologie, Vysoká škola chemicko-
technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
kulisovm@vscht.cz

Došlo 10.11.20, přijato 1.2.21.

Klíčová slova: *Pythium*, mykoparazitismus, ochrana rostlin

Obsah

1. Rod *Pythium*
 - 1.1. Využití rodu *Pythium*
2. Mykoparazitismus
 - 2.1. *Pythium oligandrum*
 - 2.1.1. *Pythium oligandrum* v ochraně rostlin
 - 2.2. Srovnání nejvýznamnějších mykoparazitických druhů *Pythium* (*P. oligandrum*, *P. acanthicum*, *P. periplocum*)
 - 2.3. Biokontrola *Botrytis cinerea* různými druhy *Pythium*
3. Závěr

1. Rod *Pythium*

Rod *Pythium* zahrnuje přes 350 druhů vyskytujících se v rozmanitých ekologických nikách^{1,2}. Patří do třídy Oomycota z kmene Stramenopiles³. Identifikace a taxonomie druhů rodu *Pythium* byla vždy obtížná kvůli nedostatku stabilních morfologických znaků a to navzdory rozsáhlým studiím provedených řadou vědeckých týmů v minulosti. Plaäts-Niterink¹ sestavil v roce 1981 zatím nejkomplexnější monografii o tomto rodu s identifikačními znaky 85 druhů. Primárními diagnostickými znaky jsou tvary sporangií a oogonií, které jsou doplněny dalšími rysy jako velikost oogonií a oospor či původ, tvar, počet a způsob uchycení antheridií na oogonium. Zmíněné diagnostické rysy činí identifikaci druhů rodu *Pythium* stále náročným úkolem vzhledem k vnitrodruhové variabilitě a mezidruhovému překrývání těchto morfologických znaků, nehledě na celou řadu nově objevených druhů od roku 1981. S rozvojem technik molekulární biologie se pro stanovení fylogeneze tohoto rodu využívá sekvenování oblastí interního transkribovaného spaceru ribozomální DNA^{4,5}.

Hyfy rodu *Pythium* jsou hyalinní, vícejaderné, neobsaňují křížová septa. Sporangia vznikají běžně ve vodě a nejsou obvykle zcela oddělena od sporangioforu. Zoo-

spory se vyvíjí ve vezikule, která se tvoří na konci zárodečné trubice vzniklé ze sporangia, kterou proudí protoplazma. Zoosporý po určité době germinují v jeden či více zárodečných útvarů, které se vyvíjí v mycelium. Oosporý se tvoří v hladkém či zvrásněném oogoniu po oplodnění antheridiem². Tvorba zoospor ve vezikule je charakteristická pro *Pythium* a liší se od morfologicky podobných rodů, jako jsou *Phytophthora* a *Halophytophthora*. Na druhou stranu je proces tvorby zoospor podobný rodu *Lagenidium*, ale tento rod vykazuje endobiotické a holokarpické rysy, které nebyly identifikovány u žádného zástupce rodu *Pythium*⁶.

1.1. Využití rodu *Pythium*

Velká část zástupců rodu *Pythium* patří mezi významné patogeny jednoděložných rostlin, způsobující vážné poškození obilnin a trav, což vede primárně k hnilobě plodů, kořenů a stonků. Infikovány jsou taktéž semena a mladé sazenice, u kterých je napadení zprostředkováno skrz nezralá či sukuletní pletiva⁷. Další druhy způsobují onemocnění ryb, mořských červených řas a savců, včetně lidské populace, u které se infekce projevuje jako pythiíza¹. Pythiíza je vzácné onemocnění vyskytující se ve čtyřech formách – subkutánní, diseminovaná, oční a vaskulární. Průběh nemoci je velmi proměnlivý a její vzácný výskyt vedl k nedostatečné diagnostice, což přispělo k přítomnosti pokročilejších stádií ovlivňující samotné přežití pacienta⁸.

Na druhou stranu, některé druhy tohoto rodu mohou produkovat cenné sloučeniny využitelné ve farmaceutickém a potravinářském průmyslu¹. Jednou skupinou těchto sloučenin jsou polynenasycené mastné kyseliny, které se významně podílejí na řízení řady metabolických pochodů v organismu. *Pythium irregulare* je považováno za nejlepšího producenta těchto kyselin, zejména kyseliny eikosapentaenové⁹. Nicméně, další druhy jako *Pythium ultimum*¹⁰, *Pythium splendens*¹¹ a *Pythium acanthicum*¹² mohou být také využívány k syntéze polynenasycených mastných kyselin.

Některé mykoparazitické druhy rodu *Pythium* jsou schopny potlačovat choroby rostlin a živočichů způsobené jinými houbami. Z *Pythium oligandrum* byla na základě jeho schopnosti mykoparazitismu vyvinuta řada biopreparátů, které jsou využívány na postřik semen, rostlin a půdy¹³. Kromě toho další druhy vykazují entomopatogenní vlastnosti, díky čemuž by je šlo využít v prostředcích biologické kontroly proti komárům a jinému škodlivému hmyzu¹⁴. Studie *Pythium guiyangense* izolovaného z infikovaných larev *Aedes albopictus* prokázala jeho snadné přizpůsobení různému ekologickému prostředí, vysokou virulenci vůči larvám komárů se širokou škálou hostitelských druhů a snadnou kultivaci ve velkém měřít-

ku. Mimoto byla prokázána bezpečnost této oomycety pro necílové organismy. Všechny tyto vlastnosti činí z *Pythium guiyangense* potenciální slibné entomopatogenní biokontrolní činidlo¹⁵.

2. Mykoparazitismus

Mykoparazitismus, definován jako nutriční závislost jednoho fungálního druhu na jiném, je velmi častým jevem přirozeně existujícím v přírodě¹⁶. Mykoparazity lze rozdělit do dvou hlavních skupin na základě způsobu parazitismu. Nekrotrofní (destruktivní) parazit naváže kontakt se svým hostitelem, vyloučí toxickou látku ničící hostitelské buňky a využije uvolněné živiny. Biotrofní (vyvážený) parazit je schopen získat živiny z živé hostitelské buňky, aniž by došlo k jejímu zásadnímu poškození. Během mnoha let úzkého vztahu s hostitelem ztratili někteří z těchto parazitů schopnost syntetizovat jednu či více požadovaných živin a stali se tím závislími na hostiteli, který zajišťuje nepřetržitý přísun potřebných látek¹⁷. Mykoparazitismus členů rodu *Pythium* je dobře známý. Nejvíce etablovaným zástupcem je bezpochyby *Pythium oligandrum*, následovaný *Pythium acanthicum* a *Pythium periplocum*. Dalšími popsány mykoparazitickými druhy jsou *Pythium acanthophoron*, *Pythium radiosum* a *Pythium lycopersicum*. Společným strukturálním znakem těchto mykoparazitů jsou stěny oogonií vybavené trny. Druhy s hladkými stěnami oogonií vykazují schopnost mykoparazitismu jen velmi zřídka, mezi ně patří *Pythium nunn*, *Pythium mycoparasiticum*, *Pythium contiguanum* a *Pythium paroecandrum*^{16,18,19}.

2.1. *Pythium oligandrum*

Pythium oligandrum patří mezi půdní oomycety kolonizující kořenové ekosystémy mnoha druhů rostlin. Způsob života může být saprofytní, ale převládá parazitický způsob života na mnoha fungálních hostitelích stejného i odlišného rodu či antagonismus mezi *Pythium oligandrum* a jeho hostitelem. Disponuje schopností průniku do hostitelských hyf a přežití uvnitř těchto hyf²⁰. Různé interakce mezi *Pythium oligandrum* a rostlinnými patogeny ukazují, že antagonismus tohoto mykoparazita není jednoduchý proces zprostředkovaný jediným antimikrobiálním metabolitem. Studie naznačují, že každá interakce spočívá v řadě vysoce specifických kroků, které determinují její výsledek²¹. *Pythium oligandrum* produkuje tři proteinové sloučeniny – oligandrin, POD-1 a POD-2, které aktivují obranné systémy rostlin. Picard a spol.²² prokázali účinek oligandrinu při vyvolání rezistence vůči *Phytophthora parasitica* u rajčat. Mohamed a spol.²³ uvedli, že při aplikaci *Botrytis cinerea* na listy rostlin ošetřené oligandrinem byla fungální infekce listů omezena a úroveň ochrany dosáhla zhruba 75 %. Takenaka a spol.²⁴ extrahovali elicitin z proteinové frakce buněčné stěny *Pythium oligandrum*, která obsahovala dva hlavní proteiny, POD-1 a POD-2. Ošetření listů cukrové řepy pomocí proteinových frakcí

vyvolalo expresi genů odpovědných za obranu rostlin. Tyto geny byly rychleji exprimovány v listech ošetřených proteiny buněčné stěny než v kontrolních listech ošetřených pouze destilovanou vodou.

Benhamou a spol.²¹ provedli rozsáhlou studii vlivu *Pythium oligandrum* na řadu patogenních oomycet a mikromycet. Ze strukturálních a cytochemických změn daných mikroorganismů se ukázalo, že antagonismus je mnohostranný proces závislejší na zúčastněných mikrobiálních druzích. Ke strukturálním změnám hyf patogenů *Pythium ultimum*, *Pythium aphanidermatum*, *Fusarium oxysporum*, *Verticillium albo-atrum* a *Rhizoctonia solani* došlo velmi brzy po kontaktu s antagonistou *Pythium oligandrum*. Přímé interakci hyf patogenního hostitele a antagonisty předchází sled degračních událostí včetně agregace hostitelské cytoplazmy a penetrace hostitelských hyf. Během experimentu *Pythium oligandrum* vykazovalo dobrý nárůst na hyfách rostlinných patogenů a kolonizovalo agarové médium. Po přenesení na čerstvé médium mycelium *Pythium oligandrum* nadále dobře rostlo, zatímco hyfy patogenů schopnost růstu zcela ztratily. V případě *Phytophthora megasperma* vůbec nedošlo k interakcím hyf, hyfy tohoto patogenu přestaly růst již první den po zaočkování. Morfologické změny hyf byly viditelné na okraji hostitelských kolonií. Buňky *Phytophthora megasperma* byly vážně poškozeny, i když nedošlo ke kontaktu mezi hyfami antagonisty a patogenu. Ve většině případů byla cytoplazma dezorganizována na agregované nebo vezikulární struktury, oproti tomu struktura buněčných stěn zůstala zachována. Světelnou a elektronovou mikroskopii bylo zjištěno, že hyfy *Pythium oligandrum* na počátku mykoparazitismu hojně obtáčely hyfy hostitelského patogenního mikroorganismu *Rhizoctonia solani*. V této fázi procesu kolonizace nebylo na propletených hyfách hostitele viditelné žádné vnější poškození. Došlo k neobvyklému usazování amorfního materiálu v místech možného průniku, ale antagonistu byl schopen tuto bariéru obejít. Interakce *Pythium oligandrum* a *Rhizoctonia solani* vedla k dezorganizaci většiny hostitelské cytoplazmy, zatímco silná buněčná stěna zůstala zachována. V pozdější fázi interakce utrpěl jak rostlinný patogen, tak antagonistu poškození v určité míře, u patogenu charakterizované zejména výraznou ztrátou turgoru a zjevnými morfologickými změnami. Antagonistu postihly změny spočívající v dezorganizaci cytoplazmy hyf.

Pythium oligandrum může také ovlivnit sporulaci napadených rostlinných patogenů. Výrazné snížení sporulace proběhlo u *Fusarium culmorum*, kde byla zjištěna významná korelace mezi tvorbou zoospor *Pythium oligandrum* a degrační konidii *Fusarium culmorum*. Náhodný kontakt mezi hyfami mykoparazita a patogenu byl v případě hyf patogenu následován zastavením růstu, lyzí nebo vakuolizací a koagulací cytoplazmy. Dále nastala penetrace a růst mykoparazita v postižených hyfách. Parazitismus na konidii byl zřetelný prostřednictvím rychlé dezorganizace cytoplazmy následované degrační buněčných stěn²⁵.

2.1.1. *Pythium oligandrum* v ochraně rostlin

Pythium oligandrum může být využito pro biologickou kontrolu širokého spektra plodin díky své schopnosti účinně napadat rostlinné patogeny. Mezi tyto patogeny patří *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phytophthora parasitica* a další¹⁸. Aplikace mykoparazita probíhá různými způsoby – naočkování povrchu semen před vysetím sporami, promáčení půdy či postřik rostlin. Tyto aplikace mají spíše preventivní účinek na výskyt rostlinných chorob, tudíž je důležité je využít co možná nejdříve²⁶.

Aplikace oospor *Pythium oligandrum* na semena cukrové řepy tlumila jejich odumírání způsobené *Pythium ultimum* stejně účinně jako pesticid fenaminosulf. Zlepšen byl i samotný vývoj rostlin cukrové řepy. Když byly oospory mykoparazita aplikovány přímo do půdy přirozeně infikované *Pythium ultimum*, růst sazenic byl ve srovnání s neošetřenými kontrolami významně podpořen²⁶. V další studii byla semena řechy a cukrové řepy ošetřena oospory *Pythium oligandrum* pomocí dvou komerčních postupů. Oba typy snížily odumírání řechy způsobené *Pythium ultimum* a *Rhizoctonia solani* v uměle infikovaném písku a kompostu. Úroveň biologické kontroly byla ekvivalentní použití fungicidu. Úhyn cukrové řepy v půdě přirozeně zamořené *Aphanomyces cochlioides* a *Pythium ultimum* byl rovněž snížen za pomoci *Pythium oligandrum*. Míra biologické kontroly byla ekvivalentní výsledkům dosažených při použití fungicidu hymexazolu²⁷. Podobně pozitivních výsledků jako u cukrové řepy a řechy bylo dosaženo i u dalších infekcí způsobených zejména *Pythium ultimum* u okurek, tulipánů, rajčat a cizrn. U okurek bylo zajímavým zjištěním, že mykoparazit *Pythium oligandrum* stimuloval absorpci fosfátů, zatímco patogen *Pythium ultimum* ji inhiboval. Tyto účinky se odrážely ve změnách metabolismu fosforu, ačkoli žádný z mikroorganismů neovlivňoval eflux fosfátů. *Pythium oligandrum* také způsobilo zvýšení obsahu kyseliny indol-3-octové a podpořilo rostlinný růst, naopak *Pythium ultimum* obsah této kyseliny snížilo a růst inhibovalo²⁰.

Ošetření rostlin biopreparáty by mělo nejen snížit výskyt patogenů, ale také bránit infekci a stimulovat rostlinný růst. Je zřejmé, že biopreparáty obsahující oospory *Pythium oligandrum* mají skutečně pozitivní vliv na rostliny i při absenci patogenu. Semena cukrové řepy ošetřené přípravkem Polygandron produkovala zdravější rostliny s vyšší rychlostí klíčení v pozdějších fázích vývoje než semena neošetřená. Po aplikaci biopreparátu byla pozorována počáteční retardace rychlosti růstu, dokud se nevytvořily děložní lístky. Poté byl růst rostlin stimulován, přičemž ke změně od potlačení k podpoře růstu došlo ve fázi vzniku jednoho až dvou párů pravých listů. Stimulační účinky preparátu byly většinou výrazné při sklizni. Někdy bylo pozorováno malé snížení počtu rostlin při sklizni, ale bez významného vlivu na výnosy. Polygandron obecně vykazoval shodnou biologickou kontrolu jako fungicid thiram²⁸. Další biofungicid Polyversum byl registrován v roce 1994 a je připravován v České republice. Obsahuje účinnou látku v podobě oospor *Pythium oligandrum*

v množství $10^6 - 10^7 \text{ g}^{-1}$ přípravku. Biopreparát je formulován jako smáčitelný prášek a jeho konkrétní složení není přístupné. Je licencován na ošetření osiva a sazenic stromů, proti fungálním chorobám okurek a odumírání pšenice. Účinnost ošetření hrachu pomocí preparátu Polyversum proti *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* a *Fusarium oxysporum* byla výrazně ovlivněna vlastnostmi kultivaru a kvalitou půdy. Kořeny rostlin vypěstovaných ze semen ošetřených biofungicidem byly napadeny méně než rostliny z neošetřených nebo chemicky ošetřených semen. V polní studii poskytla aplikace práškového přípravku *Pythium oligandrum* dobrou kontrolu chorob ve srovnání s rostlinami ošetřenými Agronalem (fenylrtuť + hexachlorbenzen). Efektivita biopreparátu Polyversum silně závisí na přírodních podmínkách, jako je teplota, vlhkost, pH půdy, druh rostliny nebo kultivar. Polyversum lze úspěšně aplikovat pro rozvoj rostlin z *in vitro* kultur, například u gerber, kapradin a filodendronů²⁰.

U révy vinné je nutná každoroční kontrola plísně šedé (*Botrytis cinerea*), jelikož toto onemocnění by mohlo způsobit vysoké ztráty výnosů. Ve tříleté studii byly testovány antagonistické vlastnosti *Pythium oligandrum* proti *Botrytis cinerea* na révě vinné a byl prokázán velmi dobrý účinek biopreparátu Polyversum při aplikaci na listy. V roce 1995, kdy byla infekce patogenem silná, byla účinnost aplikace 13,2 %, zatímco během nižší míry infekce v roce 1996 byla účinnost 56,8 %. Na rozdíl od Polyversa mají chemické fungicidy úspěšný účinek také při prvních aplikacích až v měsíci srpnu, Polyversum musí být aplikováno dříve během vegetačního roku. Ošetření révy vinné biopreparáty mělo také pozitivní vliv na senzorycké vlastnosti vína. Při sledování inhibice fermentace zbytky postřiku révy vinné byla zjištěna slabší míra inhibice při využití biopreparátů než chemických postřiků²⁰. Další významnou chorobou sužující *Vitis vinifera* je Esca. Esca je výsledkem fungální patogení aktivity řady mikroorganismů, včetně *Phaeoemoniella chlamydospora*. Tyto patogení druhy postupně rozkládají dřevo a způsobují řadu nekrot. Infekce obvykle končí po několika letech uhynutím hostitelské rostliny. Kromě toho, že Esca a podobné choroby způsobují ztráty na výnosech, mohou mít také nezanedbatelný vliv na senzoryckou kvalitu vína²⁹. Lorrain a spol.³⁰ uvádějí, že již při napadení pouhých 5 % hroznů využitých k výrobě vína značně poklesla jeho senzorycká kvalita. Od zákazu používání arzeničnanu sodného v roce 2001, který byl jediným registrovaným přípravkem pro kontrolu Escy a podobných chorob, se stalo nezbytným použití alternativních metod. Biokontrola za pomoci *Pythium oligandrum* byla shledána jako velmi účinná při ochraně mladé révy vinné proti *Phaeoemoniella chlamydospora*. Během testování většího množství izolátů *Pythium oligandrum* se potvrdilo, že se jedná o společný rys všech izolátů²⁹.

2.2. Srovnání nejvýznamnějších mykoparazitických druhů *Pythium* (*P. oligandrum*, *P. acanthicum*, *P. periplocum*)

Pythium periplocum se ve studii Ribeiro a spol.³¹ ukázalo jako agresivní parazit mnoha fungálních hostitelů.

Jeho hyfy se běžně vinou kolem hyf hostitelských, mohou do nich pronikat a následně růst. Podobně se chovají kongenní mykoparazitické druhy *Pythium oligandrum* a *Pythium acanthicum*. Další shodnou vlastností těchto tří zástupců je produkce množství oogonií a oospor. Morfologicky jsou obtížně separovatelné, všichni se vyznačují ostnatými, velikostně shodnými oogonií. *Pythium periplocum* má však výrazná laločnatá sporangia, což ho odlišuje od zbývajících zástupců. Rozlišení *Pythium oligandrum* a *Pythium acanthicum* na základě sporangii je obtížnější, oba druhy mají subglobózní sporangia, která často tvoří komplexy. Kromě morfologických znaků je dalším užitečným parametrem identifikace denní rychlosti růstu na CMA (corn meal agar). *Pythium acanthicum* vykazovalo trvale pomalejší růst mycelia než *Pythium periplocum* a *Pythium oligandrum*.

Mykoparazitické druhy *Pythium* se liší ve spektru půdního výskytu ve vztahu k různým postupům obdělávání půdy. *Pythium oligandrum* se na rozdíl od většiny mykoparazitických druhů hojně vyskytuje v půdách nezavlažovaných. Jeho schopnost využívat živiny získávané pomocí extracelulárních enzymů hostitele mu umožňuje přežít nepříznivé podmínky nezavlažovaných půd. Naproti tomu je *Pythium periplocum* spojováno převážně s půdami zavlažovanými. Vysoký obsah vlhkosti může zvýšit produkci a pohyblivost zoospor u druhů *Pythium* s vláknitými či laločnatými sporangii, které snadno produkují zoospory. Tato skutečnost vysvětluje častý výskyt *Pythium periplocum*, které se vyznačuje laločnatými sporangii, ve vlhkých zavlažovaných půdách³².

Co se týče biokontroly odumírání rostlin, z testovaných druhů byly účinnější *Pythium oligandrum* a *Pythium periplocum* než *Pythium acanthicum*. Při aplikaci *Pythium oligandrum* do výsadbové směsi byl zvýšen počet zdravých sazenic po sedmi dnech o 109 %, v případě *Pythium periplocum* o 103 %. Využití *Pythium acanthicum* způsobilo nárůst pouze o 64 %. Jedním z možných důvodů rozdílné účinnosti antagonistických izolátů je výrazně slabší nárůst populace *Pythium acanthicum*. Toto vysvětlení je podpořeno denní mírou růstu, která je u tohoto druhu významně nižší než u zbylých dvou. Vyšší rychlost růstu umožňuje lepší usazení a proliferaci v půdě nebo jiných substrátech a tím snadnější schopnost kompetice o živiny a prostor. Schopnost mykoparazita kolonizovat a založit velkou populaci v rhizosféře je rozhodujícím faktorem, který určuje úspěšnou biologickou kontrolu³². Martin a Hancock³³ uvedli, že nárůst populace mykoparazita v půdě může potlačit choroby rostlin snížením saprofytické aktivity patogenu a tím eliminovat významný nárůst inokula *Pythium ultimum*. Z toho lze vyvozovat, že *Pythium acanthicum* díky svému slabému nárůstu nemusí být dostačující ke kontrole onemocnění způsobených *Pythium ultimum*. Účinnost mykoparazitů při kontrole odumírání rostlin se také snižuje s postupnými výsadbami. *Pythium oligandrum* a *Pythium periplocum* ztratily účinnost po druhém růstovém cyklu, *Pythium acanthicum* již po prvním. Tato zjištění jsou analogická k poklesu nárůstu populací daných mykoparazitů. Existuje několik vysvětlení tohoto úbytku – nedostatek živin vedoucí

k neschopnosti zvýšeného nárůstu antagonisty, přítomnost toxických látek v kořenovém exsudátu či přítomnost antagonistických nebo konkurenčních mikroorganismů. Tyto mikroorganismy mohou soutěžit s biokontrolním činitelem o živiny nebo produkovat metabolity toxické pro mykoparazitické druhy³².

2.3. Biokontrola *Botrytis cinerea* různými druhy *Pythium*

Botrytis cinerea (plíseň šedá) je jedním z nejničivějších nekrotrofních fytopatogenů, způsobujícím ekonomické ztráty jak na rostlinných hostitelích, tak při skladování plodin. I když na trhu existuje široká škála fungicidů pro kontrolu tohoto patogenu, nejsou považovány za udržitelné z hlediska životního prostředí a lidského zdraví³⁴. Alternativou k těmto prostředkům by mohla být biokontrola za pomoci rodu *Pythium*. *Pythium oligandrum* a *Pythium periplocum* jsou již etablovanými mykoparazity *Botrytis cinerea*. Další druhy (*Pythium bifurcatum*, *Pythium citrinum*, *Pythium contiguanum*, *Pythium paroecandrum*) účinné v biokontrolě tohoto mikroorganismu spojují oogonia s hladkými stěnami, což je u mykoparazitických druhů poměrně výjimečné^{35–38}.

Pythium bifurcatum je pomalu rostoucí nesporulující druh s kulovitými oogonií a monoklinními antheridii. Zástupci tohoto druhu neprodukují zoospory, takže lze usuzovat, že jsou dobře adaptovány na prostředí s malým množstvím vody. V půdě se mohou jejich sporangia vyvíjet přímo zárodečnými trubicemi za vzniku mycelia. Přítomnost *Pythium bifurcatum* v kultivané půdě naznačuje vysokou odolnost vůči běžným fungicidům, které jsou v pravidelných intervalech do půdy aplikovány. Experimenty zkoumající interakce hyf ukázaly schopnost mycelia *Pythium bifurcatum* obtáčet hyfy *Botrytis cinerea*. Tento jev způsobuje rychlou koagulaci cytoplazmy hyf *Botrytis cinerea*, mykoparazit následně fyzicky do těchto hyf vstupuje a způsobuje rozsáhlou destrukci. Důsledkem je neschopnost produkce charakteristických symptomů *Botrytis cinerea* na listech révy vinné³⁵.

Pythium citrinum získalo svůj název díky citrónovité podobě sporangii, která se tvoří ve velkém množství. Tento druh je pomalu rostoucí s kulovitými oogonií, disponující výrazným antagonismem vůči *Botrytis cinerea*. Mycelium *Pythium citrinum* přerůstá fytopatogen a způsobuje rychlou koagulaci cytoplazmy. Antagonizované mycelium *Botrytis cinerea* tak ztratí schopnost vyvolat příznaky napadení na hostitelské rostlině *Vitis vinifera*³⁶.

Pythium contiguanum spadá do skupiny pomalu rostoucích druhů s menšími oogonií. Přítomnost souvislých sporangii jej spojuje s řadou druhů jako *Pythium oligandrum*, *Pythium acanthicum* či *Pythium periplocum*, které mají však oogonia vybavená ostny. Při inokulaci *Pythium contiguanum* a *Botrytis cinerea* do shodného prostředí byl růst plísně šedé značně zpomalen. Mycelium *Botrytis cinerea* nebylo schopné přerůst kulturu mykoparazita, jako je tomu u neantagonistických druhů. Mikroskopicky *Pythium contiguanum* vstupuje do hostitelských hyf, koaguluje jejich protoplazmu a na závěr protoplazmu destrukuje³⁷.

Pythium paroecandrum je středně rychle rostoucí druh s kulovitými oogonii, která jsou poskytována jednodukonnými přisedlými či stopkatými antheridii. Mycelium *Pythium paroecandrum* může způsobit rychlou koagulaci a následnou smrt *Botrytis cinerea*. Mykoparazit nevstupuje fyzicky do hostitelských hyf ani je neobtěžuje. Rozsáhlá destrukce je způsobena enzymatickými aktivitami *Pythium paroecandrum*. Antagonismus ústí v eliminaci poškození rostlin révy vinné typickými znaky napadení *Botrytis cinerea*³⁸.

Všechny zmiňované druhy *Pythium* nejsou pro révu vinnou patogenní, tudíž by mohly v budoucnu sloužit jako primární prvek při vývoji biokontrolních preparátů pro postřiky této rostliny.

3. Závěr

Většina zástupců ubikvitního rodu *Pythium* spadá do kategorie patogenů jak rostlin, tak celé řady zvířat. Některé druhy jsou však výrazně benefiční, kdy nejvýznamnější podporou boje proti fungálním infekcím je mykoparazitismus. Mykoparazitismus je důležitou metodou biologické kontroly spočívající v antagonismu zahrnujícím přímý fyzický kontakt a následnou destrukci mycelia hostitele. Na bázi tohoto mechanismu byly vyvinuty účinné přírodní preparáty, které potlačují rozvoj rostlinných chorob. Nejvíce využívaným mykoparazitem je *Pythium oligandrum*, které je v dnešní době hojně využíváno v biokontrolle onemocnění rostlin, zvířat i člověka.

Tento výstup vznikl v rámci projektu Specifického vysokoškolského výzkumu – projekt č. A2_FPBT_2021_014.

LITERATURA

1. Ho H. H.: J. Bacteriol. Mycol. 6, 40 (2018).
2. Plaäts-Niterink A. J.: Stud. Mycol. 21, 1 (1981).
3. Beakes G. W., Glockling S. L., Sekimoto S.: Protospasma 249, 3 (2012).
4. Schroeder K. L., Martin F. M., Cock A. W. A. M., Lévesque C. A., Spies C. F. J., Okubara P. A., Paulitz T. C.: Plant Dis. 97, 4 (2013).
5. Lévesque C. A., Cock A. W. A. M.: Mycol. Res. 108, 1363 (2004).
6. Dick M. W.: *Straminipilous Fungi*. Springer, New York 2001.
7. Hendrix F. F., Campbell W. A.: Annu. Rev. Phytopathol. 11, 77 (1973).
8. Chitasombat M. N., Larbcharoensub N., Chindamporn A., Krajaejun T.: Int. J. Infect. Dis. 71, 33 (2018).
9. Liang Y. I., Zhao X., Strait M., Wen Z.: Bioresour. Technol. 111, 404 (2012).
10. Stredansky M., Conti E., Salaris A.: Enzyme Microb. Technol. 26, 304 (1999).
11. Ren L., Zhou P., Zhu Y., Zhang R., Yu L.: Appl. Microbiol. Biotechnol. 101, 3769 (2017).
12. Singh A., Ward O. P.: J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 20, 187 (1998).
13. Jones E. E., Deacon J. W.: Biocontrol Sci. Technol. 5, 27 (1995).
14. Su X. Q.: Mycosystema 25, 523 (2006).
15. Wang C., Shen D., Chen Y., Dong Y., Tang Z., Xia A.: Fungal Biol. 123, 87 (2019).
16. Paul B.: FEMS Microbiol. Lett. 181, 277 (1999).
17. Barnett H. L., Binder F. L.: Annu. Rev. Phytopathol. 11, 273 (1973).
18. Karaca G., Tepedelen G., Belghouthi A., Paul B.: FEMS Microbiol. Lett. 288, 163 (2008).
19. Adams P. B.: Annu. Rev. Phytopathol. 28, 59 (1990).
20. Brožová J.: Plant Prot. Sci. 38, 29 (2002).
21. Benhamou N., Rey P., Picard K., Tirilly Y.: Phytopathology 89, 506 (1999).
22. Picard K., Ponchet M., Blein J. P., Rey P., Tirilly Y., Benhamou N.: Plant Physiol. 124, 379 (2000).
23. Mohamed N., Lherminier J., Farmer M. J., Fromentin J., Beno N., Houot V., Milat M. L., Blein J. P.: Phytopathology 97, 611 (2007).
24. Takenaka S., Tamagake H.: J. Gen. Plant Pathol. 75, 340 (2009).
25. Hockenhull J., Madsen A. M., Davanlou M.: SP Rapport 4, 37 (1995).
26. Martin F. N., Hancock J. G.: Phytopathology 77, 1013 (1987).
27. Whipps J. M., McQuilken M. P., Budge S. P.: Pestic. Sci. 37, 309 (1993).
28. Veselý D., Vančura V., Kunc F.: Dev. Soil Sci. 18, 445 (1989).
29. Yacoub A., Gerbore J., Magnin N., Chambon P., Dufour M. C., Corio-Costet M. F., Guyoneaud R., Rey P.: Biol. Control 92, 7 (2016).
30. Lorrain B., Ky I., Pasquier G., Jourdes M., Guérin-Dubrana L., Gény L., Rey P., Donéche B., Teissedre P. L.: Aust. J. Grape Wine Res. 18, 64 (2012).
31. Ribeiro W. R., Butler E. E.: Mycol. Res. 99, 963 (1995).
32. Ali-Shtayah M. S., Saleh A. S. F.: Mycopathologia 145, 143 (1999).
33. Martin F. N., Hancock J. G.: Phytopathology 76, 1221 (1986).
34. Bolívar-Anillo H. J., Garrido C., Collado I. G.: Phytochem. Rev. 19, 721 (2020).
35. Paul B.: FEMS Microbiol. Lett. 224, 215 (2003).
36. Paul B.: FEMS Microbiol. Lett. 234, 269 (2004).
37. Paul B.: FEMS Microbiol. Lett. 183, 105 (2000).
38. Paul B.: FEMS Microbiol. Lett. 230, 177 (2004).

M. Kulišová and I. Kolouchová (Department of Biotechnology, University of Chemistry and Technology, Prague): **Genus *Pythium* with Focus on Its Mycoparasitism**

Mycoparasitism, the ability to parasitize fungal hosts, is an important mechanism useful in plant biocontrol. *Pythium* species shows the ability of mycoparasitism on pathogenic fungi invading not only plant hosts. Due to this fact, the oomycete genus *Pythium* has a potential to be

used in the development of biocontrol agents for the treatment of fungal infections.

Keywords: *Pythium*, mycoparasitism, plant protection

Acknowledgement

This work was supported from the grant of Specific university research – grant No. A2_FPBT_2021_014.