

Sazná nemoc kůry – hrozba pro naše kleny?

Horká a suchá léta, která jsme za poslední roky zažili, houbám moc nesvědčí. Tedy alespoň ne houbám s velkými plodnicemi, které jsou tvořeny až z 90 % vodou. Nicméně existují i houby, pro které může být nedostatek srážek naopak přínosem. Sazná nemoc kůry, jíž věnujeme následující článek, je nemoc známá svým zvýšeným výskytem právě po rocích s extrémně suchými a horkými letními měsíci. Její původce, vrčkovýtusná houba *Cryptostroma corticale* (*Ascomycota*), těžší z oslabení hostitele těmito extrémními podmínkami a v současnosti se šíří v České republice, což z ní dělá aktuální téma hodné naší větší pozornosti.

Historie popisu druhu

Ačkoli popsán před více než 120 lety, nebyl v České republice tento druh houby donedávna známý. V Evropě je totiž *C. corticale* a onemocnění jí způsobené relativní novinkou. Úplně první nález byl učiněn r. 1945 ve Velké Británii ve Wansteadském parku v Londýně. Z původně jediného javoru kleny (*Acer pseudoplatanus*) odumřelého v důsledku neznámého onemocnění vzrostl počet případů během dvou let na 40 jedinců a v dalších letech byly pozorovány až 20% ztráty z celkové populace javoru kleny na této lokalitě. Během následujících let nastalo dalších několik vln odumírání klenů nejen v Londýně, ale i v jeho blízkém okolí a posléze v celé Velké Británii. Dvojice britských mykologů P. H. Gregory a S. Waller identifikovala původce choroby jako *Coniosporium corticale*, druh původně popsáný jako saprotrof

(tedy rozkládající odumřelý materiál) rostoucí na dřevě javoru cukrového (*A. saccharum*) v Severní Americe. Na základě morfologie rozmnožovacích struktur (viz dále) houby přeřadili do nového rodu *Cryptostroma* a onemocnění jí způsobené nazvali anglicky sooty bark disease – sazná nemoc kůry. Zajímavé je, že žádný z pramenů neuváděl tuto houbu v Americe jako fytopatogenní a lze tedy předpokládat, že vlivem přenosu do nového prostředí a na nové hostitele změnila svou životní strategii ze saprotrofní na parazitickou. V drtivé většině nálezů byla sazná nemoc nacházena v Evropě na javorech klenech, v malé míře pak i na javorech mléčích (*A. platanooides*). K podobnému přechodu k parazitismu došlo např. u houby *Cryphonectria parasitica*, jež způsobuje tzv. rakovinu kůry kaštanovníku zubatého (*Castanea dentata*) v Americe a kaštanovníku jedlého (*C. sa-*

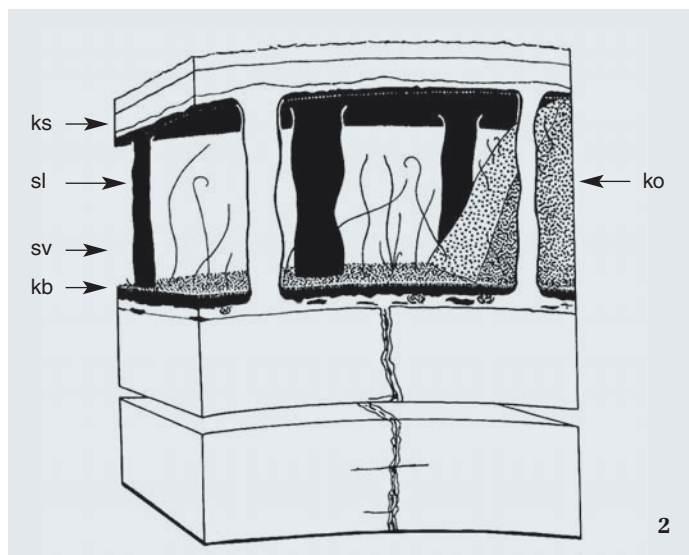
tiva) v Evropě, ačkoli v původní domovině v Asii kaštanovníkům neškodí. Další případ představuje v Evropě invazně se šířící voskovička jasanová (*Hymenoscyphus fraxineus*) způsobující nekrózu jasanu ztepilého (*Fraxinus excelsior*), j. zimnáře (*F. ornus*) a j. úzkolistého (*F. angustifolia*). I ta pochází z Asie, kde roste saprotroficky na řapících jasanu mandžuského (*F. mandshurica*) a živé dřeviny nenapadá (více viz Živa 2014, 1: 7–10).

Lokality výskytu a současné trendy šíření

Nedlouho po prvním nálezu v Británii byla sazná nemoc kůry zaznamenána také ve Francii a Itálii. Ačkoli se v Británii i Francii nálezy opakovaly v dalších letech, ve zbytku Evropy nebyl zjištěn jediný výskyt. Přesto lze ovšem předpokládat, že se druh *C. corticale* nadále šířil a zřejmě jen unikál pozornosti lesníků a fytopatologů díky svému převážně skrytému způsobu života v pletivech hostitele, aniž by došlo k projevu onemocnění (endofytní fáze). O nenápadném rozšíření infekce v endofytní fázi svědčí první nálezy sazné nemoci kůry ve střední Evropě, kde se onemocnění vyskytlo během dvou let (2003–05) hned na čtyřech lokalitách: ve Švýcarsku, Rakousku, Německu a v České republice. Nedávné nálezy z Nizozemí (2013) a Bulharska (2014) naznačují nejen další postup na sever a východ Evropy, ale také větší povědomí o vlastní nákaze. Ačkoli seznam lokalit narůstá, javorům v Evropě zatím žádná významná rána zasazena nebyla. Bez ohledu na reálnou míru rozšíření houby *C. corticale* v endofytní fázi je výskyt stromů odumřelých následkem sazné nemoci jen ostrůvkovitý. Mluvíme-li o nálezu v určitém

1 Starší nekróza na větvi javoru kleny (*Acer pseudoplatanus*) ve stadiu odlupování svrchních vrstev kůry – na snímku spolu s vnější stěnou stromatu vrčkovýtusné houby *Cryptostroma corticale*, která je v Evropě původcem sazné nemoci kůry.





2 Průřez zralým stromatem *C. corticale*; kb – konidiogenní buňky, ko – konidie, ks – kůra s vnější vrstvou stromatu, sl – stromatický sloupek vyztužující dutinu, sv – sterilní vlákna mezi konidiogenními buňkami. Převzato a upraveno podle: P. H. Gregory a S. Waller (1951)

3 Nepohlavní spory – konidie *C. corticale*

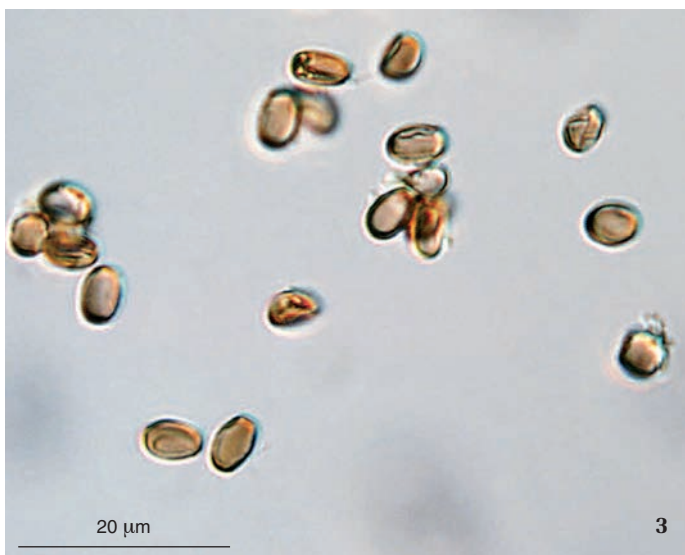
4 Stroma jiné vrčkovýtrusné houby – bradavkatky javorové (*Eutypa maura*) na větvi javoru s patrnými rýhami po okusu hlodavcem. Snímky I. Kelnarové, pokud není uvedeno jinak

státě, obvykle jde o několik desítek stromů odumřelých po jedné vlně na jedné lokalitě. Zvláštností je spojení většiny pozorování s městským prostředím. Tento trend může být způsoben dvěma faktory. Jednak vyšší míra stresu činí dřeviny ve městech náchylnějšími ke vzniku onemocnění, a dále musíme mít na paměti, že stromy v městském prostředí jsou pod pečlivějším dohledem než lesní porosty, a jejich onemocnění si tudíž častěji všimneme.

Příležitost dělá patogena

Zvláštnost výskytu *C. corticale* a sazná nemoci kůry souvisí s tím, že tento druh je příležitostný neboli oportunní patogen. Nechová se tedy jako patogen celý svůj život, ale jen po jeho část. Zda a kdy dojde k projevu patogenních vlastností, záleží pravděpodobně do velké míry na vnějších podmínkách, úlohu možná hraje i stáří stromu. Jak dlouho může houba růst skrytě v endofytní fázi a zda vůbec musí v každém případě dojít k přechodu do patogení fáze, zatím nevíme. Pokud k němu ale dojde, pak se projevy choroby objeví náhle a hostitel může odumřít během několika let od prvních příznaků onemocnění.

Vnější podněty ovlivňující oportunní patogeny mají různý charakter. Obvykle jde o zhoršení zdravotního stavu hostitele vlivem stresových podmínek. Vodítkem k hledání příčin vzniku sazná nemoci se stal její výskyt typicky po létech s nadměrně suchými a horkými měsíci. Nejprve byla hledána příčina ve vyšší průměrné teplotě, která by umožnila intenzivnější růst houby. Experimentální studie skutečně potvrdily, že houba roste rychleji při teplotě 25 °C než při 15 °C, a to jak v kultu-



ře, tak na uměle infikovaných pokusných rostlinách (Dickenson a Wheeler 1981). Jako rizikové tak byly vyhodnoceny roky, kdy po dobu dvou měsíců neklesla denní teplotní maxima pod 23 °C. Nicméně porovnání záznamů výskytu sazná nemoci ve Velké Británii s klimatickými daty ukázalo, že ne všechna takto nadměrně teplá léta byla doprovázena úhyny javorů. Rozhodujícím faktorem byla vlhkost půdy daná množstvím srážek ve sledovaném roce. Na základě nálezů v České republice se dá říci, že vlivů může být mnohem více, např. stres z přemokření (dlouhodobé zaplavení kořenového systému), kořenové hniloby nebo silná konkurence jiných dřevin.

Studie přesného mechanismu snížení odolnosti hostitelů stresovaných suchem vůči nákaze *C. corticale* zatím chybějí, nicméně představu si můžeme udělat na základě všeobecných principů obranných mechanismů rostlinných pletiv. Pro většinu patogenů jsou krycí pletiva rostlin neprostupná, ke vstupu proto využívají místa bez silné vrstvy ochranných pletiv (květy, úžlabí listů, průduchy, kořeny) či místa mechanicky narušená. Poranění nejen otevírá bránu infekci, ale rovněž v nich dochází k lokálnímu vysychání pletiv, čímž se snižuje jejich obrannost. Vodní nasycenost hraje v této souvislosti významnou roli – pomáhá udržovat pro patogeny nepříznivě nízký poměr kyslíku a dusíku a umožňuje transport volných radikálů, minerálů a dalších látek podílejících se na tvorbě mechanických bariér v pletivech.

Příznaky onemocnění a životní cyklus

Sazná nemoc kůry dostala název podle nejvýraznějšího vnějšího symptomu onemocnění, kterým jsou rozsáhlá stromata (kompaktní podpůrné struktury tvořené hyfami houby pro rozmnožovací útvary) pod kůrou produkující masu tmavých nepohlavních spor (konidií), jež při dotyku ulpívají na prstech podobně jako saze (obr. 1). Stromata se tvoří v pokročilé fázi onemocnění, kdy se houba rozšíří z jádrového dřeva až k periferii kmene. V konečné fázi se mohou stromata nacházet na velké části povrchu větví i kmene a strom vypadá jako ohořelý (obr. 7).

Časná stadium korové nekrózy – podkorní stroma – si můžeme představit jako několik decimetrů čtverečních velkou lézi tvořenou hyfami houby a vznikající mezi vrstvami kůry (obr. na 4. str. obálky). V průběhu jejího zrání se uvnitř vytvoří dutina. Na její vnitřní straně směrem ke středu kmene narůstají konidiofory produkující konidie. Dutinu příčně vyztužují sloupky z houbových hyf – stromatické sloupky. Volný prostor mezi stěnami vyplňují drobné konidie (obr. 2), které jsou nejprve světlé a hranaté, později tmavnou a zaoblují se (obr. 3). Po dozrání stromatu se odlupují vnější vrstvy kůry stromu spolu se stěnou stromatu, čímž se odhalí masa konidií a následuje jejich šíření větrem. Na šíření konidií se může kromě větru podílet hmyz, ptáci nebo i veverka okusující stromata. Okus stromat *C. corticale* byl popsán konkrétně u severoamerické veverky popelavé

(*Sciurus carolinensis*), která je v Británii nepůvodní, přemnožená a způsobuje škody okusem výhonů a loupáním kůry stromů. Po odchycení několika jedinců bylo zjištěno, že veverky přenášejí konidie *C. corticale* na povrchu těla, v dutině ústní a rovněž trusem. Stopy po okusu veverkami (ale i jinými druhy hlodavců) se často nacházejí také u dalšího druhu stromatické věckovýtrusné houby, bradavkatky javorové (*Eutypa maura*, obr. 4). Co veverky k takovému počínání vede, se lze jen dohadovat, ale vzhledem k minimu živin v tomto substrátu je důvodem pravděpodobně potřeba broušení chrupu. Uvedený způsob přenosu je však považován spíše za výjimečný a hlavní roli v rozšiřování spor hraje vítr.

K infekci nových stromů dochází přes poranění kůry, např. ulámané větve v koruně nebo praskliny. Z místa infekce pak houba prorůstá dřevními pletivy do dalších částí stromu a nakonec až do báze kmene. Pletiva se jejím šířením přirozeně brání, a tak v místě prorůstání houby dostávají typické zelenošedé zbarvení s výrazným okrajem v podobě tenké zelené linky, nazývaným také někdy aktivní zónou (obr. 5). V oblasti této zóny se předpokládá aktuálně probíhající interakce mezi houbou a hostitelem. Na rozdíl od dřevokazných hub zde však neprobíhá rozklad pletiv, ale pouze ukládání sekundárních metabolitů v reakci na šíření houby. Na průřezu kmenem tak pozorujeme rozsah infikovaného pletiva, které se obvykle jeví jako kruhová či hvězdicovitá skvrna procházející přibližně středem větví a posléze i kmene. V místě, kde patogen proroste k povrchu, vzniká podkorní stroma.

Systematické zařazení

Ve srovnání s řadou jiných houbových patogenů nebyla dosud v životním cyklu *C. corticale* pozorována tvorba pohlavního stadia (teleomorfy). Houba se rozmnožuje a šíří jen nepohlavně, pomocí konidií. Nepřítomnost teleomorfy u věckovýtrusných hub je jev poměrně častý, nicméně může být způsoben pouze nedostatečným poznáním dané houby. Nalezení teleomorfy má přitom v mykologii zásadní význam pro taxonomické zařazení druhu. Při prvotním hledání teleomorfy *C. corticale* upřeli mykologové pozornost k podobnosti nepohlavních stadií (anamorf), která produkují konidie. Problém spočívá v tom, že *C. corticale* se svou morfologií nepochybně neliší od ostatních anamorfám známých věckovýtrusných hub. Rod *Cryptostroma* je monotypický, což znamená, že *C. corticale* představuje jediný známý druh v tomto rodu, a proto byly prvotní názory na zařazení často nepřesné. Francouzští vědci např. nesprávně považovali za možnou teleomorfou *C. corticale* bradavkatku javorovou, věckovýtrusnou houbu z řádu *Xylariales*, velmi běžnou na všech druzích javorů. Na základě tohoto závěru byl možná výskyt onemocnění ve Francii na začátku druhé poloviny 20. stol. nadhodnocen. Jiní mykologové se domnívali, že teleomorfou může být některý z druhů rodu *Biscogniauxia* ze stejného řádu, a to vzhledem k podobnosti v tvorbě stromat.

Je překvapivé, že ani po nedávné vlně nálezů *C. corticale* v dalších státech Evropy nikoho nenapadlo zjistit taxonomické



zařazení druhu prostřednictvím analýzy DNA. Současný taxonomický systém hub je založen na liniích definovaných kombinací morfologických a molekulárněgenetických znaků, takže stačí získat ze studovaného druhu DNA, „přečíst“ její vybrané úseky (sekvence), a na základě podobnosti se sekvencemi jiných druhů hub studovaný taxon zařadit do systému. V tomto místě jsme i my přispěli k rozšíření znalostí o *C. corticale* v rámci řešení diplomové práce první autorky tohoto článku a projektu Grantové agentury Univerzity Karlovy v Praze. Vzhledem k tomu, že v počátcích našeho výzkumu míry zasažení javorů klenů druhem *C. corticale* v pražských parcích se podařilo získat několik čistých kultur houby, bylo studium DNA už v podstatě jednoduché. Nejsnáze a dnes již rutinně se získá DNA právě z čisté kultury rostoucí na agarovém médiu. Naše výsledky založené na sekvencích čtyř genů ukázaly příslušnost k rodu *Biscogniauxia*, a tedy i správnost jednoho z historických názorů. Jako nejbližší příbuzné byly určeny severoamerické druhy *B. bartholomei* a *Graphostroma platystoma*. Tím pádem by měly být *C. corticale* a *G. platystoma* přeřazeny do rodu *Biscogniauxia* jako *B. corticale* a *B. platystoma*, nicméně tato taxonomická změna vyžaduje důkladnou revizi celého rodu. Uvedený výsledek byl poměrně překvapivý, neboť kromě tvorby stromat není u těchto nejbližších příbuzných hub patrná žádná morfologická podobnost mezi

5 Průřez kmenem javoru kleny napadeného *C. corticale* s typickou barevnou zónou. Foto K. Černý

6 Vzorek odebraný z kmene pomocí Presslerova nebozezu. Šipka ukazuje barevnou zónu způsobenou *C. corticale* v blízkosti středu kmene. Foto O. Koukol

7 Javor klen uhynulý v důsledku sazné nemoci. Foto K. Černý

anamorfami. Naproti tomu v ekologických nárocích existují společné charakteristiky *C. corticale* s patogenními zástupci rodu *Biscogniauxia*, např. hostitelská specifita jednotlivých druhů, příležitostný parazitismus podmíněný oslabením hostitele, schopnost přežívat jako endofyt v zdravých pletivech a saprotrofně se živit na těch odumřelých.

Identifikace a detekce

Korové nekrózy jsou typickým příznakem (symptomem) sazné nemoci. Bohužel se dostávají až v pozdním stadiu onemocnění a obvykle se nejdříve objeví v koruně stromu, takže mohou být dlouho přehlíženy. Saznou nemoc dále provází prosychání koruny a zbarvení napadených pletiv. Prosychání je sice dobře viditelné, ale zato nespecifické – způsobují ho i jiná onemocnění a poruchy či prostý nedostatek vláhy. Zbarvení pletiv také může mít jiné příčiny a navíc ho lze těžko pozorovat. Přítomnost houby v pletivech však skýtá možnost brzké identifikace nákazy, protože

existují metody, jimiž můžeme zjišťovat houbové patogeny z infikovaných pletiv ještě před vypuknutím nemoci. Nejprve musíme získat vzorek z kmene, nejlépe co nejbližší k jeho středu. Následně z tohoto vzorku můžeme na živné půdě izolovat sledovaný druh a dále s ním pracovat v kultuře, nebo využít některou z moderních metod molekulární detekce bez nutnosti izolace živé kultury. Pro tento druhý případ se ze vzorku pletiv extrahuje veškerá DNA a v ní se hledá sekvence odpovídající danému patogenu. Pro hledání je potřeba dopředu znát sekvence alespoň několika genů, na jejichž základě se navrhnu krátké úseky DNA (primery) specifické právě jen pro sekvenci vybrané houby. Pak už stačí tyto primery použít v polymerázové řetězové reakci (PCR) pro mnohonásobné namnožení zvoleného specifického úseku DNA, a pokud je daný druh houby přítomen ve vzorku, zobrazí se prozřek při následné separaci gelovou elektroforézou.

Výše popsané metody brzké detekce *C. corticale* jsme použili (jako první na světě) při studiu rozšíření tohoto patogenu na javorech klenech v Praze v letech 2012–15. Přítomnost houby jsme ověřovali na 7 lokalitách zahrnujících i tři místa se známým výskytem sazné nemoci v nedávné minulosti (2005–12). Na každé lokalitě jsme odebrali vzorky pletiv z 10–15 javorů klenů tak, aby byli zastoupeni jedinci různého stáří z různých typů stanovišť. Potřebu získání jádrového dřeva z kmene, a to bez nutnosti skácení stromu, jsme vyřešili použitím tradiční, nicméně účinné techniky – Presslerovým nebozezem, s jehož pomocí lze odebrat tenké válečky (0,5 cm v průměru vzorku) zasahující v případě přesného vrtání až do středu kmene (obr. 6). Tato pletiva z báze kmene jsme testovali na přítomnost *C. corticale* jak metodou izolace hub na agarové půdě, tak za použití specifických primerů, které jsme navrhli.

Jak se ukázalo, druh je v Praze mnohem rozšířenější, než by se dalo podle počtu nemocných stromů odhadnout. Izolovat se ho podařilo pouze z 11 vzorků, ale na základě DNA byl nalezen v 25 % sledovaných javorů. Z toho vyplývá, že nejméně 25 % pražských javorů klenů může být infikováno *C. corticale*, která zatím zůstává v latentní fázi a čeká na svou příležitost. Číslo je ale pravděpodobně významně vyšší, pokud uvážíme, že mnoho případů infekce nemusí prorůst až k bázi kmene, kde byly prováděny odběry. Nelze tedy vyloučit, že se při souhře nepříznivých vlivů dočkáme náhlých hromadných úhyňů javorů klenů, v nichž skrytě přežívá *C. corticale*. Ohrožení se týká i běžnějšího javoru mléče, který je na patogen rovněž citlivý, do naší studie však nebyl zařazen.

Péče o nemocné stromy

Bereme-li v potaz životní cyklus houby, je zřejmé, že v okamžiku vzniku viditelných symptomů (stromat) dosáhla infekce stromu již značné míry, a nejde ho tedy zachránit. Odstranění odumřelých částí (např. větví) je přesto žádoucí, aby nedocházelo k dalšímu šíření konidií. Velkou úlohu hraje „prevence“ – výsadba stromů na vhodné stanoviště a eliminace možnosti jejich stresu. Uvolňované masy konidií mohou být nebezpečné nejen javorům, ale rovněž

člověku. Obtíže spojené s inhalací velkého množství spor *C. corticale* byly zaznamenány již ve 40. letech 20. stol. v Severní Americe u pracovníků pily a továrny na pražce. Problémy vznikaly po dlouhodobé práci s infikovaným materiálem, konkrétně při odkorňování kmenů, proto se tomuto syndromu začalo v angličtině říkat bark strippers lung, nemoc plic loupačů kůry. Do jisté míry se podobá syndromu farmářské plíce (farmer's lung), vznikajícímu při nadměrné a dlouhodobé inhalaci organického prachu včetně např. konidií hub rodu kropidlák (*Aspergillus*). V obou případech jde o alergickou pneumonitidu, která se projevuje jen u malého procenta méně odolných jedinců. Symptomy jsou podobné jako při nachlazení: obvykle se dostaví kašel, únava, horečka, zimnice nebo bolesti hlavy. Při pobytu mimo zdroj prachu a konidií příznaky odezní během několika hodin až dnů. Při každodenním vystavení množství konidií by mohlo teoreticky vzniknout chronické onemocnění, naštěstí však při dnešním technickém zpracování dřeva již tento problém není aktuální. Přesto je vhodné při manipulaci s nekrotizovaným dřevem používat ochranné pracovní pomůcky, např. roušku. Velmi zodpovědně, dalo by se říci s německou precizností, k problému přistoupili při likvidaci silně napadeného porostu javorů v Kolíně nad Rýnem, kde byli pracovníci vybaveni kompletním ochranným oděvem včetně helmy.

Význam onemocnění

Z výsledků studie rozšíření *C. corticale* v Praze lze říci, že počet stromů odumřelých kvůli sazné nemoci představuje jen pomyslnou špičku ledovce celkového počtu infikovaných jedinců. Hlavní problém spočívá v překvapivě vysokém počtu stro-

mů s výskytem houby v endofytické fázi životního cyklu a znamená riziko v podobě budoucích hromadných úhyňů stromů po vystavení stresu. Za významné stresové faktory pak můžeme považovat hlavně klimatické výkyvy, městský stres, nevhodnou péči apod. Zůstává otázkou, zda se vůbec dá hromadným úhyňům javorů předejít. Samozřejmě je zapotřebí důkladné sledování zdravotního stavu citlivých druhů v Praze a včasné ošetřování nebo odstraňování napadených stromů z porostu. Především však musíme respektovat známý výskyt patogenu a snížit podíl dosazovaných citlivých druhů v těchto lokalitách, řídit se stanovištními nároky javorů, snížit stres a poškozování dřevin na nejnižší možnou míru, a zejména zatírat řezné plochy a všechna další poranění, která se mohou stát vstupní branou infekce.

Závěrem bychom zmínili i nedávno zaznamenaný první nález dalšího druhu vřekovýtusné houby napadající javory kleny na území ČR. Bradavkatka parazitická (*Eutypella parasitica*) byla objevena zatím pouze na jedné lokalitě v Moravskoslezském kraji. Na rozdíl od *C. corticale* jde o striktního patogena, který způsobuje korovou nekrózu doprovázenou nádory na kmenech. Přestože byly napadené stromy z porostu ihned odstraněny, lze očekávat opětovný výskyt bradavkatky parazitické na našem území vzhledem k jejímu rozšíření v okolních státech.

Studie rozšíření infekce C. corticale v Praze vznikla za finanční podpory Grantové agentury Univerzity Karlovy (projekt GA UK 420214).

Použitá literatura je uvedena na webové stránce Živý.

