

**Mendelova univerzita v Brně
Zahradnická fakulta
Ústav ovocnictví**

**Studium fytoplazmy ESFY a jejich projevů u odrůd meruněk
a broskvoní**

Disertační práce

Školitel:
Prof. Dr. Ing. Boris Krška

Vypracovala:
Ing. Vladimíra Kopřivová

Lednice 2014

ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem práci na téma: “Studium fytoplazmy ESFY a jejich projevů u meruněk a broskvoní” vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:

.....
podpis

PODĚKOVÁNÍ

Za metodické vedení, cenné rady a pomoc při řešení problémů děkuji školiteli Prof. Dr. Ing. Borisi Krškovi a Ing. Tomáši Nečasovi Ph.D, kterému navíc děkuji za fotodokumentaci. Dále bych ráda poděkovala Ing. Petře Štochlové Ph.D. za konzultace ohledně zpracování dat ke statistice a školiteli specialistovi Prof. RNDr. Milanu Navrátilovi, CSc.

Výsledky prezentované v této práci byly získány za částečné finanční podpory výzkumného projektu č. 27/2007 *Výběr optimální metody izolace DNA fytoplazmy ESFY ve vztahu k použití specifických nebo nespecifických primerů pro diagnostiku ESFY pomocí „nested PCR“* Interní grantové agentury ZF MENDELU v Brně a projektu NAZV/QG60123: *Výzkum a inovace postupů diagnostiky hospodářsky významných, regulovaných a karanténních fytopatogenních organismů pro systém certifikace ovocných dřevin s důrazem na molekulární metody.*

Na závěr bych velice ráda poděkovala za podporu celé své rodině a mému manželovi, kteří mě po celou dobu psychicky podporovali a starali se o děti v době, kdy jsem zpracovávala tuto práci.

Abstrakt

Studium fytoplazmy ESFY a jejich projevů u odrůd meruněk a broskvoní

Cílem této práce bylo získání podrobnějších poznatků o symptomatickém projevu různých izolátů fytoplazmy ESFY na vybraných podnožích, ověření citlivosti souboru podnoží k fytoplazmě ESFY a prozkoumání míry vlivu fytoplazmy ESFY k biologickým vlastnostem pylu, semen, některých fenofází a pomologických znaků plodů odrůd meruněk.

Po tříletém pozorování pomologických znaků plodů z napadených stromů fytoplazmou ESFY a pomologických znaků plodů ze zdravých stromů 16 odrůd meruněk se ukázaly být nejvíce citlivé k fytoplazmě ESFY infikované stromy odrůd Arzami Aromatnyj, Hatif Colomer, Veselka a Vestar, u nichž se projevil výrazný vliv přítomné fytoplazmy ESFY na snížení celkové velikosti a hmotnosti plodů. Během výzkumu nebyly nalezeny seschlé nebo deformované plody, plody z infikovaných stromů byly jen kulatější než plody ze zdravých stromů. Vliv fytoplazmy ESFY na klíčivost pylu, začátek kvetení, dobu zrání, rozpustnou sušinu plodu a životnost semen nebyl tolik významný.

Symptomatický projev letorostů prorostlých z inokul pocházejících z devíti vybraných infikovaných stromů různých odrůd meruněk a jednoho stromu odrůdy broskvoně a symptomatický projev rostlin pěti odlišných podnoží, na něž byla inokula naočkována, byl během třech let pozorování velice rozmanitý. Ukázalo se, že je závislý na botanickém druhu, odrůdě, podnoži, podmínkách pěstování i na vzájemné interakci patogena a hostitele. Nejvíce citlivou reakci k přítomné fytoplazmě ESFY měly letorosty prorostlé z inokul odebraných z infikovaného stromu odrůdy broskvoně Jantze a ze stromu odrůdy meruňky Murfatlar. V nejvyšším zastoupení se na letorostech prorostlých z inokul těchto odrůd vyskytoval symptom chlorotická svinutka, žloutenka a růstová deprese. Naopak nejméně citlivou reakci k fytoplazmě ESFY prokázaly letorosty prorostlé z inokul pocházejících ze stromu odrůdy meruňky Poyer. Průměrně nejvyšší zastoupení měly letorosty (prorostlé z inokul Poyer) bez symptomů. Nejvíce zastoupeným symptomem u letorostů prorostlých z inokul vybraných stromů (odrůd Jantze, Saldcot, Poljus Južnyj a Hargrand_2) s vyšší četností pozitivních jedinců k přítomné fytoplazmě ESFY byla chlorotická svinutka, půjde tedy o typický symptom tohoto patogena.

Symptomatický projev rostlin podnoží v kombinaci s inokuly (vybraných deseti stromů odrůd) dosáhl nižších četností hodnocených charakteristik oproti letorostům prorostlých z inokul. Na základě výsledné reakce letorostů prorostlých z inokul a reakce rostlin podnoží na přítomnost fytoplazmy ESFY byla nejcitlivější podnož GF 305, citlivou byla podnož GF-8-1, méně citlivou M-LE-1 a nejméně citlivé byly podnože Torinel a St. Julien 655/2.

Citlivost reakce souboru podnoží k přítomné fytoplazmě ESFY byla pozorována po dobu tří let u patnácti vybraných podnoží, na jejichž rostliny byla naočkována dvě inokula různých odrůd. Nejvyšší četnost měly rostliny podnoží bez symptomů (84,37 %) a nejvíce zastoupeným symptomem na rostlinách podnoží byla žloutenka listů (průměrně 10,50 %). Podnože byly rozděleny do čtyř skupin dle jejich citlivosti k fytoplazmě ESFY (.na základě porovnání symptomatického projevu, předčasného úhynu rostlin podnoží i letorostů prorostlých z inokul a výsledku detekce přítomné fytoplazmy ESFY). Nejcitlivější reakci projevily rostliny podnoží GF 305 a GF 677, citlivě reagovaly podnože MRS 2/5, VVA-1, Strážovický myrobalán, Lesiberian, AP-1 a GF 31, méně citlivé se ukázaly být podnože M-LE-1 a Myrobalán 29C a nejméně vnímavé k fytoplazmě ESFY byly podnože Torinel, St. Julien 655/2, GF-8-1 a MY-KL-A.

Klíčová slova: fytoplazma ESFY, *Prunus armeniaca*, podnože, symptom, pomologické vlastnosti

Abstract

Study of European Stone Fruit Yellows phytoplasma and its expression on apricot and peach varieties

The aim of this study was to obtain detailed knowledge of the symptomatic expression of various isolates European Stone Fruit Yellows phytoplasma (ESFY) on selected rootstocks, susceptibility testing of selected rootstocks to phytoplasma ESFY and exploration of the extent and impact of phytoplasma ESFY to the biological properties of pollen, seeds, some phenological and pomological characters of varieties of apricot fruit.

After three years of observation of pomological characteristics of fruits from ESFY infected trees and comparing to pomological characteristics of fruits from healthy trees of 16 apricots varieties the most susceptible varieties to ESFY were infected trees Arzami Aromatnyj, Hatif Colomer, Veselka and Vestar. These varieties were significantly reduced overall size and weight of fruit due to present ESFY phytoplasma. During the research no shrunken or deformed fruits were found, fruits from infected trees were just rounder than fruit from healthy trees. Effect of ESFY phytoplasma on pollen germination, early flowering, ripening time, soluble dry matter of the fruit and seed viability was not so significant.

Symptomatic manifestation of the annual shoots grown through the inocula, originating from nine selected infected trees of different varieties of apricots and one peach tree and symptomatic manifestation of plants from five different rootstocks, which were inoculated, was during the three years of observing very diverse. It was found, that it is dependent on botanical species, variety, rootstock, growing conditions and the interactions of the pathogen and the host. The most susceptible annual shoots to present ESFY phytoplasma were the grown from inocula sampled from infected tree variety Jantze peach and Murfatlar apricot. Chlorotic leafroll, yellows and growth depressions appeared most on annual shoots. The least susceptible response to ESFY phytoplasma was demonstrated on shoots grown through from inoculum originating from apricot tree variety Poyer. In this variety there were the most numerous shoots without symptoms compared with other varieties. In most varieties (Jantze, Saldcot, Poljus Južnyj a Hargrand_2) with a higher frequency of positive shoots the chlorotic

leafroll was the most represent symptom, so it will be a typical symptom for ESFY pytoplasma. Symptomatic manifestation of rootstock plants in combination with inocula from ten selected varieties reached lower frequency of evaluated characteristics compared to annual shoots. Based on the resulting reaction of shoots grown through inocula of tested varieties and reaction of rootstock plants to presence of ESFY phytoplasma, the most susceptible rootstock was GF 305, susceptible rootstock was GF-8-1, less susceptible was M-LE-1 and the least susceptible rootstocks were Torinel and St.Julien 655/2.

Sensitivity reaction of rootstocks file to present ESFY phytoplasma was observed for three years at fifteen selected rootstocks, whose plants were inoculated by two inocula from different varieties. Rootstocks plants without any symptoms had the highest frequency (84.37 %), and the most widespread symptom was the leaf yellows (average 10,5 %). Rootstocks were divided into four groups according to their susceptibility to ESFY phytoplasma. The most susceptible response was manifested on rootstocks GF 305 and GF 677, rootstocks MRS 2/5, VVA-1, Strážovický myrobalán, Lesiberian, AP-1 and GF 31 were susceptible, rootstocks M-LE-1 and Myrobalán 29C were less susceptible and the least susceptible rootstocks to ESFY phytoplasma were Torinel, St. Julien 655/2, GF-8-1 and MY-KL-A.

Key words: ESFY phytoplasma, *Prunus armeniaca*, rootstocks, symptom, pomological characteristic

OBSAH

1 ÚVOD	11
2 LITERÁRNÍ PŘEHLED	12
2.1 HISTORIE A TAXONOMIE FYTOPLAZEM.....	12
2.2 FYTOPLAZMA EVROPSKÉ ŽLOUTENKY PECKOVIN.....	14
2.2.1 Klasifikace.....	15
2.2.2 Epidemiologie.....	15
2.2.3 Symptomatologie.....	18
2.2.4 Ekonomický význam (dopad).....	20
2.2.5 Možnosti ochrany proti šíření fytoplazmy.....	22
2.2.6 Metody detekce fytoplazem.....	25
3 CÍLE PRÁCE	29
4 MATERIÁL A METODIKA	30
4.1 ROSTLINNÝ MATERIÁL.....	30
4.1.1 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY.....	30
4.1.2 Ověření citlivosti souboru vybraných podnoží k fytoplazmě ESFY.....	32
4.1.3 Studium vlivu fytoplazmy ESFY na vybrané vlastnosti meruněk.....	34
4.2 METODIKA.....	34
4.2.1 Odběr vzorků stromů podezřelých z napadení fytoplazmou ESFY.....	34
4.2.2 Izolace DNA (modifikace podle AHRENS, SEEMÜLLER, 1992).....	34
4.2.3 Kontrola izolované DNA.....	38
4.2.4 PCR reakce.....	38
4.2.5 Elektroforéza – kontrola správného provedení izolace DNA, PCR a RFLP.....	40
4.2.6 Restrikční analýza (RFLP).....	42
4.2.7 Inokulace souboru podnoží fytoplazmou ESFY.....	42
4.2.8 Vizuální hodnocení symptomů izolátů fytoplazmy ESFY a rostlin podnoží.....	43
4.2.9 Ověření vlivu fytoplazmy ESFY na biologické vlastnosti pylu, semen a plodů.....	44
4.2.10 Statistické zpracování získaných výsledků.....	47
5 VÝSLEDKY	48
5.1 OVĚŘENÍ Vlivu FYTOPLAZMY ESFY NA BIOLOGICKÉ VLASTNOSTI PYLU, SEMEN A PLODŮ A NA VYBRANÉ FENOFÁZE.....	48
5.1.1 Klíčivost pylu.....	48
5.1.2 Doba kvetení.....	48
5.1.3 Násada plodů.....	49
5.1.4 Doba zrání.....	50
5.1.5 Izolace DNA z květů a plůdků a následné stanovení přítomnosti fytoplazmy ESFY pomocí molekulárních metod.....	51
5.1.6 Pomologické znaky.....	53
5.1.7 Životnost semen.....	64
5.2 STUDIUM SYMPTOMATICÝCH PROJEVŮ FYTOPLAZMY ESFY	65
5.2.1 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY po inokulaci očky z roubů z infikovaného stromu 1 odrůdy Hargrand.....	66
5.2.2 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY po inokulaci očky z roubů z infikovaného stromu 2 odrůdy Hargrand.....	73
5.2.3 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY po inokulaci očky z roubů z infikovaného stromu 1 odrůdy Churmai.....	80

5.2.4 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY po inokulaci očky z rouků z infikovaného stromu 117 odrůdy broskvoně Jantze	86
5.2.5 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY po inokulaci očky z rouků z infikovaného stromu 2 odrůdy Murfatlar	93
5.2.6 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY po inokulaci očky z rouků z infikovaného stromu 2 odrůdy Olimp	99
5.2.7 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY po inokulaci očky z rouků z infikovaného stromu 3 odrůdy Poljus Južnyj	106
5.2.8 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY po inokulaci očky z rouků z infikovaného stromu 2 odrůdy Poyer	112
5.2.9 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY po inokulaci očky z rouků z infikovaného stromu 1 odrůdy Saldcot	118
5.2.10 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY po inokulaci očky z rouků z infikovaného stromu 1 odrůdy Veselka	125
5.2.11 Porovnání výsledků PCR detekce fytoplazmy ESFY	132
5.3 POROVNÁNÍ SYMPTOMATICKÝCH PROJEVŮ VYBRANÝCH IZOLÁTŮ FYTOPLAZMY ESFY	133
5.3.1 Porovnání symptomatických projevů fytoplazmy ESFY na letorostech prorůstajících z inokul	133
5.3.2 Porovnání četností výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul. ..	138
5.3.3 Porovnání symptomatických projevů fytoplazmy ESFY na rostlinách vybraných podnoží s inokuly	151
5.4 OVĚŘENÍ CITLIVOSTI SOUBORU RŮZNÝCH PODNOŽÍ K FYTOPLAZMĚ ESFY	155
5.4.1 Porovnání symptomatických projevů fytoplazmy ESFY na rostlinách vybraných podnoží ...	155
5.4.2 Porovnání symptomatických projevů fytoplazmy ESFY na letorostech prorostlých z inokul odrůd Vestar a Hargrand_4	158
5.4.3 Porovnání četností výskytu jednotlivých symptomů na rostlinách vybraných podnoží	161
5.4.3 PCR detekce fytoplazmy ESFY v rostlinách zkoumaných podnoží	169
6 DISKUZE	172
7 ZÁVĚR	187
8 LITERÁRNÍ ZDROJE.....	191
SEZNAM TABULEK	198
SEZNAM GRAFŮ	201

1 ÚVOD

Náhlé odumírání peckovin bylo již v minulosti spojováno s velkým množstvím biologických, klimatických, technologických i dalších příčin. Až ke konci 20. století se díky objevům v oblasti analýzy DNA podařilo nalézt a popsat jednoho z původců, který se na předčasném odumírání peckovin závažně podílí. Tímto původcem je fytoplazma, nejnověji označována *'Candidatus Phytoplasma prunorum'* a známá jako fytoplazma evropské žloutenky peckovin (European stone fruit yellows phytoplasma - ESFY). Výskyt fytoplazmy ESFY byl potvrzen ve většině evropských zemí, včetně ČR, kde patří mezi „karanténní“ škodlivé organismy. Hospodářsky nejvýznamnější je výskyt patogena na meruňkách, ale vyskytuje se rovněž ve výsadbách broskvoní, sporadicky v sadech višní, třešní a švestek (KŮDELA et al., 2002). Symptomy této fytoplazmy jsou u jednotlivých ovocných druhů různé a v závislosti na virulenci původce (KISON, SEEMÜLLER, 2001). Nejčastěji se u meruněk vyskytuje svinutka listů a barevné diskolorace jako žloutnutí celých listů nebo částí listové čepele, růstové deprese, předčasný opad listů a často i plodů. U broskvoní je svinutka doprovázena různě intenzivním červenáním listů, depresí a předčasným opadem listů směrem od báze výhonů apod. Občas se na peckovinách vyskytují symptomy jako zbytnění listové nervatury, předčasné kvetení, vývoj znetvořených plodů. Postižené rostliny obvykle hynou během jednoho roku nebo během několika málo let (CARRARO, OSLER, 2003) a při silném výskytu fytoplazmy ESFY ve výsadbách peckovin dochází pak k vysokým ekonomickým ztrátám. V současnosti nejsou známá účinná a dobře fungující fyto-sanitární opatření, která by omezovala šíření fytoplazm a proto je důležité soustředit se především na preventivní opatření omezující jejich šíření (NAVRÁTIL et al., 2008) cit. podle (COUSIN, BOUDON-PADIEU, 2002). Tato disertační práce se proto zabývá problematikou hledání méně vnímavých podnoží peckovin k fytoplazmě ESFY, posouzením rozmanitosti projevů v průběhu vegetace, vlivu chování jednotlivých genotypů meruněk a problematikou symptomatických projevů fytoplazmy ESFY pro snadnější rozpoznání a následnou včasnou likvidaci příznakových rostlin.

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Historie a taxonomie fytoplazem

Fytoplazmy jsou prokaryotní organismy bez pevné buněčné stěny, které není možné kultivovat na živných médiích jako je to běžné u bakterií. V elektronovém mikroskopu je možné fytoplazmy pozorovat jako kulovité, oválné či pleiomorfni útvary. V časných stádiích infekce ale mohou být fytoplazmy v rostlinných tkáních přítomné i ve vláknitých či větvených formách. Nejběžněji zaujímají tvar oválných částic o velikosti 500nm (jejich rozměry se ale mohou pohybovat od 80 do 800 nm), pokud jsou částice protáhlé, dosahují délky až 1600nm. Fytoplazmy nejsou ohraničeny buněčnou stěnou, cytosol od okolí odděluje pouze trojvrstevná, 7-10 nm silná lipido-proteinová membrána (DOI et al., 1967; ISHIE et al., 1967). Přestože žloutenky rostlin byly popisovány velmi dávno, byly dlouho díky připomínající biologii považovány za viry. Například v roce 1926 popsal L.O. KUNKEL žloutenku aster, ale za původce považoval viry. Přelom ve výzkumu fytoplazem odstartoval rok 1967, kdy japonští vědci (DOI et al., 1967) pozorovali elektronovým mikroskopem v ultratenkých řezech floémových buněk aster s příznaky žloutenky oválné buňky podobné živočišným mykoplazmatům, zatímco v buňkách zdravé rostliny tyto buňky chyběly. Proto byly označeny jako mykoplazmám podobné organismy (MLOs – mycoplasma like organisms) či mykoplazmy. Další poznávání fytoplazem bylo pomalé a velice komplikované z důvodu již zmíněné nemožnosti je kultivovat in vitro a také z důvodu rozdílných hostitelů (rostlina a hmyzí vektor). Dalším převratným rokem ve výzkumu fytoplazem přinesla až 90 léta minulého století, kdy docházelo k rozvoji metod molekulární genetiky. Díky molekulární hybridizaci, PCR, RFLP a sekvencování bylo možné exaktně přiřazovat fytoplazmy k hostitelům, příznakům a k jejich vektorům. Nejenže byl položen základ moderní diagnostiky fytoplazem, ale hlavně molekulární metody umožnily získávat první informace o genomu fytoplazem a tím i umožnily stanovit genetickou příbuznost a jejich klasifikaci, která do té doby prakticky chyběla. V roce 1992 byl navržen nový název pro MLOs poukazující na jejich vztah k rostlinám – fytoplazmy. Mezinárodní komise pro taxonomii bakterií (International Committee on Systematic Bacteriology, Subcommittee on the Taxonomy of Mollicutes) přijala název fytoplazmy o rok později (NAVRÁTIL et al., 2008).

V roce 2004 bylo navrženo zahrnout všechny fytoplazmy do nového rodu '*Candidatus Phytoplasma*' (IRPCM, 2004).

Moderní taxonomie kultivovatelných bakterií, zahrnující souhrn genotypových, fylogenetických a fenotypových informací, nelze využít u fytoplazem, neboť se je dosud nepodařilo kultivovat. Základem pro klasifikaci fytoplazem se staly sekvenční a restriční analýzy 16 S rRNA genu a genu pro ribozomální proteiny (rp) a *tuf* gen, jejichž výsledkem bylo potvrzení správnosti zařazení fytoplazem do třídy *Mollicutes*. Současná klasifikace fytoplazem rozlišuje na základě molekulární analýzy 16 S rDNA 15 skupin fytoplazem, v rámci kterých byly navrženy provizorní druhy fytoplazem '*Candidatus Phytoplasma*'.

Rod '*Candidatus Phytoplasma*' je charakterizován (dle IRPCM, 2004) následujícími znaky:

- Jedinečná oligonukleotidová sekvence 16 S rRNA genu je
CAAGAYBATKATGKTKTAGCYGGDCT
- buňky jsou obaleny pouze jednotkovou membránou, chybí pevná buněčná stěna a mají pleomorfní tvar (velikost od 200 do 800 nm)
- organismy patřící do výše zmíněného rodu osídlují obligátně sítkovice, výjimečně parenchymatické buňky lýka cévnatých rostlin, střevo, hemolymfu, slinné žlázy a další orgány hmyzu sajícího rostlinné šťávy; v hmyzím hostiteli mohou způsobovat předčasnou mortalitu a u rostlinného hostitele mohou vyvolávat komplex příznaků se specifickými symptomy jako např. virescenci, fylodii, květní sterilitu, proliferaci a řadu dalších
- fytoplazmy jsou citlivé na antibiotika tetracyklinové řady, ne však k penicilinu
- obsah bází C+G dosahuje v DNA fytoplazem 23–29 mol%.
- velikost chromozomu se pohybuje od 630 do 1350 kbp
- u organismů rodu '*Candidatus Phytoplasma*' kodon UGA má funkci stop kodonu a ne kodonu pro tryptofan jako je tomu u některých mykoplazem

- membrány fytoplazem jsou rezistentní k digitoninu a citlivé k hypotonickému prostředí

Druhy rodu '*Candidatus Phytoplasma*' potom splňují následující vlastnosti:

- sekvenční podobnost 16 S rRNA je rovna nebo vyšší než 97,5%
- nicméně přes splnění sekvenční podobnosti mají izoláty v rámci jedné skupiny odlišné biologické (např. mají jiného hmyzího hostitele), fytopatologické (symptomy, specifčnost rostlinného hostitele) nebo molekulární (velikost chromozomů) vlastnosti a proto je nutné taxonomicky je odlišit

Mezinárodní názvosloví fytoplazem bylo zpočátku identické s názvoslovím používaným u fytovirů. Je založeno na obecném anglickém názvu hostitelské rostliny (u níž byla fytoplasma poprvé popsána) spolu s typickým symptomem, jež u rostliny fytoplazma vyvolává a té se podřídila i česká nomenklatura. Např. Apple proliferation phytoplasma, český název - fytoplasma proliferace jabloně (KÚDELA et al., 2002). V současné době se používá výše zmiňované provizorní označení druhu '*Candidatus Phytoplasma*' (př. '*Candidatus Phytoplasma mali*' odpovídá dříve označované Apple proliferation phytoplasma).

2.2 Fytoplasma evropské žloutenky peckovin

Fytoplasma evropské žloutenky peckovin (dále fytoplasma ESFY) - jedna z ekonomicky významných chorob peckovin, poprvé popsána v roce 1924 CHABROLIN cit. v (JARAUSCH B a JARAUSCH W., 2010) ve Francii jako apoplexie meruněk a 1933 GOIDANICH cit. v (SEEMÜLLER a SCHNEIDER, 2004) jako chřadnutí japonských slivoní (*Prunus salicina*) v Itálii. Symptomy chřadnutí a odumírání u meruněk byly pozorovány tedy od počátku 20. století ve Francii a Itálii. Jinak výskyt onemocnění ESFY byl dosud potvrzen u mnoha evropských zemí, v asijské části Turecka a Ázerbájdžánu (JARAUSCH et al., 2000; DANET et al., 2007). MORVAN (1977) pojmenoval chorobu jako „Apricot chlorotic leaf roll“ (ACLR) a v roce 1997 (KISON et al., 1997) bylo navrženo obecné pojmenování pro onemocnění související s fytoplazmou u evropských peckovin jako European stone fruit yellows (ESFY). Od roku 2004 (SEEMÜLLER a SCHNEIDER) je navržen a užíván název pro původce onemocnění '*Candidatus Phytoplasma prunorum*'.

2.2.1 Klasifikace

Fytoplazma evropské žloutenky peckovin (European stone fruit yellows phytoplasma) je taxonomicky řazena stejně jako ostatní fytoplazmy do třídy *Mollicutes* (říše *Bacteria* a oddělení *Tenericutes*). Na základě porovnání sekvencí genů kódující 16S rRNA byla navržena fylogenetická skupina Apple proliferation group - skupina 16SrX (LEE et al., 2000), která zahrnuje kromě fytoplazmy ESFY i úzce příbuznou fytoplazmu proliferace jabloně a chřadnutí hrušně. Fylogenetická analýza odhalila, že výše zmíněné fytoplazmy se liší pouze 16-19 pozicemi nukleotidů jejich 16S rDNA, což odpovídá podobnosti genomu z 98,6 – 99,1 % (SEEMÜLLER a SCHNEIDER, 2004). Přes vysokou podobnost genomu jsou uznány tyto fytoplazmy za různé druhy, protože splňují další kritéria hodnocení. V rámci AP skupiny mají odlišné biologické, fytopatologické a molekulární vlastnosti (např. dle MARCONE et al. 1999b) velikost chromozomu 3 analyzovaných izolátů fytoplazmy ESFY byla stanovena na 630 kbp, zatímco u 2 různých izolátů AP fytoplazmy byla velikost 645 a 690 kbp a izolát PD fytoplazmy měl velikost 660 kbp) a proto jsou popisovány jako samostatné 'Candidatus' druhy (IRPCM, 2004).

2.2.2 Epidemiologie

Evropská žloutenka peckovin je epidemické onemocnění charakteristické svým rychlým rozšiřováním a to obzvlášť nastanou-li příznivé podmínky pro hostitelskou rostlinu a vektora. Hostitelský okruh fytoplazmy ESFY je relativně úzký, fytoplasma napadá především druhy rodu *Prunus*. Mezi nejvíce náchylné a citlivé hostitele patří druhy *Prunus armeniaca* L., a *Prunus salicina* Lindl., význam roste i u hostitele *Prunus persica* L. (CARRARO a OSLER, 2003). V přírodě (okolí ovocných sadů) uvádí CARRARO et al. (2002) jako časté hostitelské rostliny (jak vektora *Cacopsylla pruni* tak i původce onemocnění 'Ca Phytoplasma prunorum') *Prunus cerasifera*, *Prunus domestica* a *Prunus spinosa*, jež jsou nezbytné pro uzavření epidemiologického cyklu bez ohledu na kultivované stromy v sadu. Díky těmto divoce rostoucím druhům může fytoplasma přežívat v přírodě nezávisle na citlivých, kulturních rostlinách. Význam hostitele *Prunus spinosa* pro epidemiologii fytoplazmy se liší v závislosti na regionu, přesto je považován za hlavní hostitelskou rostlinu, protože vektor *Cacopsylla pruni* dosahuje na tomto hostiteli větší populace než na kulturních druhích r. *Prunus* (CARRARO et al., 2002, FIALOVÁ et al., 2004; JARAUSCH et al., 2007).

Zajímavé je, že divoce rostoucí rostliny *P. spinosa* a *P. cerasifera*, uváděné jako rezervoár patogena i vektora, nevykazují typické symptomy napadení fytoplazmou (CARRARO et al., 2002, JARAUSCH et al., 2008). V České republice se epidemiologií zabývala FIALOVÁ et al. (2004) a dospěli ke stejnému závěru. I v podmínkách ČR *Cacopsylla pruni* upřednostňuje pro svůj vývoj hostitele *Prunus spinosa*., kam dokonce odlétá během dubna z meruňkových sadů. Jen část dospělců zůstává v sadu a klade vajíčka. Prokázalo se, že v našich podmínkách je mera schopná vývoje na 3 hostitelích, nejvýznamnějším hostitelem *Prunus spinosa*, dále *Prunus armeniaca* L a *Prunus persica* L. Během léta pak dospělci kolonizují jehličnany, kde přezimují.

Zajímavou, dosud však neobjasněnou roli, hrají i jiné druhy rostlin nepatřící do zmiňovaného rodu *Prunus* jako například *Celtis australis*, *Fraxinus excelsior*, *Rosa canina* (JARAUSCH et al., 2001), *Corylus avellana* (MARCONE et al., 1996a), *Vitis vinifera* (VARGA et al., 2000, cit. v SULLIVAN, M. 2011; DUDUK et al., 2004), u kterých byla přítomnost fytoplazmy ESFY také stanovena. V ČR VÁLOVÁ et al. (2003) detekovali fytoplazmu ESFY v druzích jako *Ribes* sp., *Daphne mezereum*, *Tilia cordata* Mill. a *Tilia tomentosa* Moench. Pravděpodobně jsou tyto druhy konečnými hostiteli fytoplazmy.

Zvláštní význam má pro fytoplazmy hmyzí vektor, který je jediným místem přežívání a množení mimo hostitelské rostliny a který se podílí na jejich přenosu mezi rostlinami. Přenos fytoplazem hmyzími přenašeči je cirkulativní, propagativní a perzistentní. Po příjmu potravy se fytoplazmy dostávají do střeva hmyzu, kde se množí. Odtud se přes stěnu střeva dostávají do hemolymfy, kde cirkulují. Následně vstupují do slinných žláz, zde se dále množí a s novým příjmem potravy se dostávají na další rostliny (KŮDELA et al., 2002). Jediný známý vektor fytoplazmy ESFY je *Cacopsylla pruni* Scopoli (mera trnková), striktní oligofág preferující rostliny rodu *Prunus* (CARRARO et al., 1998a).

Velikost těla mery trnkové je cca 2,3 mm. Barva hlavy a hrudi je červenohnědá, bez výraznější světlé kresby. Zadeček též červenohnědý, u nejmladších jedinců zelenavý. Přední křídla cca 1,8 mm dlouhá, rezavě až temněji hnědá, žilky světlejší než zbarvení políček. U nejmladších jedinců se hnědé zbarvení omezuje na koncová políčka předních křídel.

Zbarvením a neobyčejně hustými ostny předních křídel se výrazně liší od druhů *Cacopsylla melanoneura* Förster a *Cacopsylla picta* Förster. Žilky jsou červenohnědé, pterostigma zakouřená. Nohy červenohnědé a zadeček černé barvy.

V klimatických podmínkách České republiky má *Cacopsylla pruni* Scopoli jednu generaci za rok, přezimují dospělci na jehličnanech ve vrchovinách a horách od 450-500 m a výše. Jarní nálet této mery do sadů (pozn. meruňkové sady jsou upřednostněny před broskvoňovými) začíná koncem března, migrace vrcholí v období druhé dubnové dekády (v době květu trnek) a pokračuje až do první dekády května. Od poloviny dubna do konce května kladou samičky vajíčka. První dospělci nové generace se objevují od poloviny května a jejich četnost kulminuje v druhé polovině června. Asi týden po posledním svlékání migrují nová imága z hostitelských rostlin na zimoviště. (NAVRÁTIL et al., 2008).

CARRARO et al. (1998, 2001, 2004) studovali přenos *Ca* Phytoplasma prunorum a zjistili, že přezimující a stejně tak i noví dospělci *C. pruni* jsou schopni přenosu patogena na zdravé hostitelské rostliny a to perzistentním způsobem po celou dobu jejich života. Minimální doba získávání patogena ESFY je 2-4 dny, minimální latentní perioda je 2-3 týdny a minimální doba pro inokulaci jsou 1-2 dny. Infekčnost *C. pruni* trvá i přes zimní období. Jakmile se přesune v jarním období k peckovinám je již schopná infekce rostlinného hostitele (CARRARO et al., 2001). Tento přirozený přenos fytoplazmy trvá po celou dobu přítomnosti vektora na družících r. *Prunus* (CARRARO et al., 2004). V oblastech se silným infekčním tlakem dosahuje infekčnost *C. pruni* úrovně více než 10% (CARRARO et al., 2002) a roční míra výskytu nově infikovaných rostlin dosahuje 20% (CARRARO et al., 1992). Po přenosu fytoplazmy ESFY z vektora na hostitelskou rostlinu trvá 4-5 měsíců než se na infikované rostlině objeví první typické symptomy fytoplazmy (CARRARO et al., 1998). Na rozdíl od fytoplazmy proliferace jabloně a chřadnutí hrušně, zůstává fytoplazma ESFY přítomná v nadzemní části rostlin i přes zimní období (SEEMÜLLER et al., 1998).

Kromě vektora *C. pruni* se ve Španělsku podařilo detekovat *Ca* Phytoplasma prunorum i u dalšího možného hmyzího vektora *Cacopsylla pulchella* (LAVIÑA et al., 2004) a v Itálii u *Empoasca decedens* (PASTORE et al., 2004).

Poprvé se PASTORE et al. (2004) zabývali možnostmi získávání a přenosu fytoplazmy ESFY pomocí vektora *E. decedens* na rostlině *Prunus armeniaca* L. a jejich pokus byl i úspěšně zopakován na rostlinách *Prunus salicina* Lindl a *Prunus domestica* L., i když s velmi nízkou efektivitou přenosu. Podařilo se jim fytoplazmu ESFY detekovat u jedné ze čtyř rostlin japonské slívy a u jedné ze tří rostlin švestky domácí (PASTORE et al., 2005) cit. v (PASTORE a BERTACCINI, 2008).

2.2.3 Symptomatologie

Po mnoha letech zmatků zapříčiněných přiřazováním různých názvů onemocnění měnících se v závislosti na hostiteli a někdy oblasti, přicházelo porozumění etiologie evropské žloutenky peckovin společně s dostupností molekulárních dat. V roce 1994 LORENZ et al. ustanovili etiologii pro celou skupinu onemocnění r. *Prunus* způsobené fytoplazmou na základě RFLP analýzy 16S rRNA genu a díky tomu objevili, že představují relativně homogenní populaci fytoplazem a to bez ohledu na hostiteli a geografickému původu. Obecný název evropská žloutenka peckovin (European stone fruit yellows) v sobě zahrnuje onemocnění dříve známá pod označením: apricot chlorotic leaf roll, leptonecrosis and decline of japanese plum, peach rosette, peach vein clearing of apricot, European peach yellows, Molières disease of cherry and European plum, nectarine chlorotic leaf roll, yellows and decline diseases of peach, almond and flowering cherry yellows (LORENZ et al., 1994; MARCONE et al., 1996). Onemocnění druhů r. *Prunus* způsobená fytoplazmou se pojmenovávala většinou podle symptomu a hostitele, z čehož vyplývá, že u jednotlivých druhů r. *Prunus* se onemocnění evropské žloutenky peckovin projevovalo jiným převažujícím symptomem a to i v závislosti na oblasti, ve které se daný druh nacházel. Podle NAVRÁTIL et al., (2001) může projev symptomů záviset na vnějších podmínkách, na sezónních změnách v kolonizaci fytoplazmy v infikovaném stromu nebo na interakci fytoplazmy s jinými patogeny.

U stromů meruněk se projevuje infekce fytoplazmou ESFY nejčastěji svinutkou a chlorózou listů. V našich klimatických podmínkách se první příznaky infekce meruněk mohou objevit již v době kvetení, kdy lze pozorovat předčasné či opožděné kvetení, malou násadu květů. Typickým příznakem je pak chlorotická svinutka listů a mírná až silná žloutenka vyskytující se na jednotlivých infikovaných větvích a rychle se šířící po celé koruně. Listy jsou obvykle menší a předčasné opadávají, výhony vyholují a může dojít k předčasnému odumření.

Plody napadených stromů jsou obvykle menší, předčasně dozrávají a opadávají nebo zasychají na stromě. Infikované stromy ve většině případů odumírají během dvou let od objevení se příznaků (NAVRÁTIL et al., 2001; NAVRÁTIL a VÁLOVÁ, 2002). Naproti tomu NAVRÁTIL a VÁLOVÁ, (2002), LAIMER DA CÂMARA MACHADO et al. (2001) uvádí, že v ČR a Rakousku nebyl pozorován případ předčasného rašení listů či předčasného vykvétání v období postdormance, tak jak to popisují PASTORE et al. (1997b) a DESVIGNES (1999) v Itálii a Francii.

V jižnějších částech Evropy stromy meruněk napadené fytoplazmou ESFY ukazují zpočátku na některých větvích zřejmé symptomy nedostatku vody a živin, které se projevují chlorózou, svinutými listy a následným zčervenáním listů. Metabolické poruchy vedou pak k náhlému úhynu již během vegetačního období. Plody takto napadených stromů jsou malé, scvrklé, bez chuti a nedozrálé opadávají. Listy brzy na podzim vybarvují, což vede k jejich předčasnému opadu nebo někdy mohou uschlé vytrvat po dlouhou dobu na rostlině. Na větvích a kmenu příznakových stromů lze pozorovat typickou nekrózu lýka, kterou popsal už v roce 1934 GOIDANICH cit. v (LAIMER a BERTACCINI, 2008). Ve španělské oblasti Catalonia, stejně tak v Itálii a Francii jsou popisovány běžné (typické) symptomy jako mimosezónní růst v zimě, chlorotická svinutka listů v létě, růstová deprese a úhyn infikovaných stromů (JARAUSCH et al., 1998; PASTORE et al., 1999a; TORRES et al., 2004). Kromě toho JARAUSCH et al. (1998) popisují jako netypické vizuální symptomy výskyt pouhé žloutenky bez svinutky listů nebo pouhé svinutky bez žloutenky listů.

Japonské slivoně (*Prunus salicina* L. spp.) jsou společně s meruňkami a broskvoněmi považovány za nejvíce citlivé druhy k fytoplazmě ESFY (JARAUSCH et al., 1998; KISON a SEEMÜLLER, 2001). Symptomy na slivoních byly poprvé popsány v severní Itálii v oblasti Emilia Romagna a onemocnění bylo pojmenováno Plum leptonecrosis (GOIDANICH, 1933) cit. v (CARRARO et al., 1998a). Mezi nejvíce zřejmé symptomy napadení slivoní fytoplazmou ESFY patří černání floému a listové deformace, jako je nadměrná elongace (prodloužení) a svinování listů směrem vzhůru, listy jsou většinou menší, chlorotické a následně červenající.

Nemocné rostliny se obvykle projevují abnormálním prorůstáním (proliferací) podnože, zkrácenou dormancí vedoucí k nebezpečí poškození mrazem, k tvorbě malých a deformovaných plodů, čímž je snížen výnos a kvalita produkce ovoce. (CARRARO a OSLER, 2003; MYRTA et al., 2003; LAIMER a BERTACCINI, 2008).

Kultivary evropských slivoní (*Prunus domestica* L.) jsou citlivé, ale obecně jsou spíše považovány za tolerantní k fytoplazmě ESFY (DESVIGNES a CORNAGGIA, 1982; GUINCHEDI et al., 1982; DOSBA et al., 1991; CARRARO et al., 1998a). Mezi různými genotypy existují odlišné úrovně citlivosti k fytoplazmě ESFY, JARAUSCH et al. (2000) uvádí, že renklódový genotyp je více tolerantní než genotyp francouzských švestek (Prune d'Ente cv.). NAVRÁTIL et al. (2001) publikoval symptomy projevující se u infikovaných stromů *Prunus domestica* L. rostoucích v podmínkách ČR jako proliferace větví, malolistost, mírná chloróza, redukce růstu, prosychání koruny, předčasné zrání a snížený výnos. JARAUSCH et al. (2000) kromě výše uvedených symptomů uvádí ještě u citlivějších kultivarů i mimosezónní růst a chlorotickou svinutku listů v letních měsících.

U broskvoní (*Prunus persica* L.) není onemocnění fytoplazmou ESFY tak ničivé jako u meruněk a japonských slivoní, přesto patří mezi tři nejcitlivější druhy (KISON a SEEMÜLLER, 2001; RICHTER, 2002). Napadení fytoplazmou ESFY u broskvoní se projevuje hlavně příznaky na listech jako deformace, abnormální tloušťnutí a korkovatění centrální žilky listu, podélné svinování čepele, která je tlustší a křehčí, žloutnutí až červenání vedoucí k předčasnému opadu listů. Často se v září objevují krátké výhony rostoucí z latentních pupenů, které mají malé, chlorotické listy a občas i květy. Napadené stromy se projevují silně redukovaným růstem a obvykle postupně hynou ve druhém roce. Růst v období zimní dormance není pro broskvoně tak typický jako pro meruňky či japonské slivoně (GUINCHEDI et al., 1982; POGGI POLLINI et al., 2001; NAVRÁTIL et al., 2001).

2.2.4 Ekonomický význam (dopad)

Fytoplazmy jsou ekonomicky významné fytopatogeny, k jejichž hostitelům patří také ovocné dřeviny mírného pásu. Zejména pak '*Candidatus Phytoplasma prunorum*' (fytoplazma evropské žloutenky peckovin, ESFY) patří v podmínkách České republiky k dlouholetému problému (FRÁNOVÁ et al., 2013).

Zmíněný zástupce je zařazen do seznamu škodlivých organismů, které se vyskytují v zemích EU, jsou závažní pro celé Společenství a jejich zavlečení a rozšiřování na jeho území je zakázáno (NAVRÁTIL et al., 2008).

Při silném výskytu fytoplazmy evropské žloutenky peckovin v ovocných výsadbách dochází k ekonomickým ztrátám. Plody na infikovaných stromech jsou menší, obvykle dříve dozrávají a opadávají. Vedle přímého poškození úrody fytoplazmovou infekcí může dojít k negativnímu vlivu v důsledku výskytu 'karanténních' fytoplazem v množitelských plochách nebo jejich blízkém okolí, což má za následek likvidaci postižené partie a realizaci preventivních opatření omezujících výskyt a šíření fytoplazem. Napadené stromy meruňk odumírají během 12-24 měsíců po objevení prvních vizuálních příznaků. Uvádí se, že s použitím broskvoňového semenáče jako podnože se může tato doba zkrátit až na týdny (POLLINI et al., 2001). V ČR byly první příznaky fytoplazmy ESFY pozorovány na meruňkách v 70. letech. Od té doby pravděpodobně došlo k jejímu masivnímu šíření, především ve starších výsadbách meruňk. A v 90. letech bylo potvrzeno, že na rychlém odumírání meruňk v pěstitelských oblastech jižní Moravy a Litoměřicka se významnou měrou podílí fytoplazma ESFY. V ČR byly zaznamenány případy ekonomicky významného šíření v některých výsadbách na jižní Moravě. Napadené stromy odumíraly do 24 měsíců od objevení se vizuálních příznaků. Výskyt vizuálně napadených stromů dosahoval až 5 % ve výsadbě, odhad latentní infekce byl potom až 20 %. V průběhu pěti až sedmi let v takových výsadbách odumírá 50 až 70 % stromů (NAVRÁTIL a VÁLOVÁ, 2002). V letech 1996 až 2002 probíhal výzkum zaměřený na epidemiologii fytoplazmy ESFY v oblasti Jižní Moravy. FIALOVÁ et al, (2004) uvádí, že všechny hlavní kultivary meruňk pěstovaných v ČR ('Velkopavlovická', 'Bergeron', 'Maďarská', 'Karola', 'Veecot') byly nalezeny napadené fytoplazmou ESFY. Podíl infikovaných meruňkových stromů se na zkoumaném území pohyboval od 0-35 % (zřídka dosáhl 82%). Pokud napadené stromy vykazovaly silné symptomy, obvykle nežily déle než jeden rok. Podíl nemocných stromů broskvoní ('Redhaven', 'Cresthaven', 'Fairhaven') se pohyboval od 0-12 %.

K podobným výsledkům došli i v sousedním Rakousku, kde podle RICHTER, (2002) dochází v sadech k enormnímu šíření, infikováno bylo 35,5 % meruňkových sadů (kontaminováno bylo od 7 do 30% meruňkových stromů) a 41,7 % broskvoňových sadů (kontaminováno bylo od 6 do 15 % broskvoňových stromů). Naproti tomu v Polsku byla fytoplazma ESFY detekována pouze u 3-9 % testovaných vzorků (CIEŚLIŃSKA a MORGAŚ, 2010). JARAUSCH et al., (1998) detekovali přítomnost fytoplazmy ESFY v 82 % zkoumaných vzorků pocházejících z hlavní pěstitelské oblasti peckovin ve Francii. DESVIGNES (1999) cit. v (LAIMER a BERTACCINI, 2008) mimo jiné uvádí, že ve Francii dochází k úhynu okolo 5 % meruňkových stromů ročně a proto autor píše o fytoplazmě ESFY jako o jednom z faktorů omezujících pěstování meruněk a japonských slivoní ve Francii. V některých sadech v Itálii dosahují ztráty peckovin způsobené přítomností fytoplazmy ESFY až k 93 % u meruněk a k 40 % u slivoní (POGGI POLLINI et al., 1995; PASTORE et al., 1999). CARRARO et al., (1992) poukázal na problém na jihovýchodě Itálie, kde 50-70 % stromů slivoní bylo již během 3-4 let odvysazení infikováno. Relativně vysoká četnost fytoplazmy ESFY byla dále zaznamenána u meruněk (okolo 80 % infikovaných rostlin) v některých oblastech Německa (JARAUSCH et al., 2004) a u japonských slivoní (25–80 % infikovaných stromů) rostoucích ve Španělsku (LAVIÑA et al., 2004; TORRES et al., 2004). GENINI a RAMEL (2004) studovali rozšíření fytoplazmy ESFY u nových odrůd meruněk v hlavní pěstitelské oblasti Valais, situované na východě Švýcarska a ukázalo se, že přítomnost fytoplazmy ESFY u hodnocených vzorků meruněk přesáhla 74 %.

2.2.5 Možnosti ochrany proti šíření fytoplazmy

Evropská žloutenka peckovin je v praxi nevléčitelné fytoplazmové onemocnění, tudíž je kontrola nezbytně založena na preventivních opatřeních, které zamezí šíření fytoplazmy. V oblastech s nízkým infekčním tlakem, kde se onemocnění nevyskytuje a přítomnost vektora je velmi nízká (nebo zcela chybí), zde by mělo být použito zdravého rostlinného materiálu dostačujícím ochranným opatřením. Naproti tomu v oblastech se středním nebo vysokým infekčním tlakem, kde je výskyt fytoplazmy endemický a výskyt populací *Cacopsylla pruni* vysoký, pak je kontrola vektoru nevyhnutelná. Tato kontrola je snazší, když je známá doba migrace vektora na rostliny rodu *Prunus* a kdy nové generace opouští primárního hostitele.

Kontrola je mimo jiné usnadněna alespoň faktem, že vektor mívá jednu generaci za rok (CARRARO a OSLER, 2003). Nicméně studie provedená POGGI POLLINI et al. (2007) nepotvrdila účinnost různých chemických přípravků na kontrolu vektora *Cacopsylla pruni* prováděné v oblasti Trentino (Itálie). Základním ochranným opatřením je také systematická kontrola porostů a potenciálních přirozených zdrojů infekce v jejich okolí. Na základě nich pak okamžité odstraňování napadených rostlin i účinné odstranění všech zdrojů infekce v bezprostředním okolí výsadby. Primární zdroje infekce tvoří infikované vytrvalé rostliny a infikovaní hmyzí vektoři. Sekundární zdroj infekce představují nově infikované rostliny, nejčastěji se jedná o jednoleté plevely. Problémem je však migrace přezimujících vektorů ze svých zimovišť z velkých vzdáleností.

Systémy produkce certifikovaného množitelského materiálu potom zamezují šíření choroby vegetativním množením. Výsadbový materiál by měl být množěn ze zdravých (certifikovaných) matečnic a pěstován ve školkách a výsadbách bez výskytu fytoplazmy evropské žloutenky peckovin (NAVRÁTIL a VÁLOVÁ, 2002; SEEMÜLLER a SCHNEIDER, 2004). Používání certifikovaného sadbového materiálu je tedy první a zcela základní podmínkou eliminace negativního působení fytoplazmóz na rostlinnou produkci. Předpokládá dodržování množitelských a certifikačních schémat, které zohledňují rizika reinfekce materiálu. Rostliny vypěstované v EU uváděné na vnitřní trh mohou pocházet pouze z oblastí prostých karanténních fytoplazem, nebo z lokalit, z nichž nebyly od začátku posledního ukončeného vegetačního období pozorovány žádné příznaky onemocnění způsobeného danou fytoplazmou. Splnění těchto podmínek garantují tzv. rostlinolékařské pasy. Při dovozu rostlin např. u rodu *Malus* ze zemí mimo EU ve kterých se vyskytuje *Ca*. Phytoplasma mají jsou pravidla ještě přísnější. Jedním z mnoha požadavků je i podmínka, aby dovážené rostliny byly získány v přímé linii z materiálu udržovaného za odpovídajících podmínek a úředně testovaného s použitím vhodných indikátorových rostlin nebo jiných rovnocenných metod nejméně na tuto fytoplazmu a sledaného prostým této fytoplazmy. Dále musí být doloženo, že na rostlinách v místě produkce nebo náchylných rostlinách v jeho bezprostředním okolí nebyly od začátku tří uplynulých vegetačních období pozorovány žádné příznaky onemocnění způsobeného touto fytoplazmou (RŮŽIČKA, 2008).

Při množení fytoplazem prostých materiálů se neobejdeme bez laboratorních testů, které umožňují detekovat a identifikovat fytoplazmy, ale důležitá je i zkušenost pracovníků schopných rozpoznat potenciální příznaky fytoplazmové infekce. Zdravé výchozí množitelské materiály můžeme získat ozdravením pomocí termoterapie a meristémové kultury. Často jsou rozmnožovací materiály (rouby) máčeny v teplé vodě (cca 40 až 50°C) po dobu až 45 minut (LAIMER, 2003; BOUDON-PADIEU et al., 2004; BERTACCINI et al., 2004). Výchozí zdravé materiály musíme udržovat v technické nebo prostorové izolaci, kterou je účelné kombinovat s prostorovou izolací a s insekticidní clonou (JULLIEN et al., 2003) cit. v (NAVRÁTIL et al., 2008).

Dalším preventivním opatřením je omezit pěstování vnímavých druhů a kultivarů vůči fytoplazmám a naopak se zaměřit na tolerantní, méně vnímavé kultivary (COUSIN a BOUDON -PADIEU, 2002). Přestože byly popsány tolerantní genotypy k infekci fytoplazmy, v současnosti disponujeme jen malým počtem rezistentních nebo tolerantních kultivarů. Příkladem je omezení výskytu fytoplazmy '*Coconut lethal yellows*' spojené s pěstováním rezistentních kultivarů palem od 70. let minulého století (CARDENA et al., 2003) cit. v (NAVRÁTIL et al., 2008). V Německu probíhají pokusy zaměřené na selekci jabloňových podnoží odolných vůči fytoplazmě proliferace jabloně (JARAUSCH et al., 2011). Na rozdíl od fytoplazmy proliferace jabloně je fytoplazma ESFY schopná přezimovat i v nadzemních částech rostlin, proto je nezbytné mít tolerantní (rezistentní) jak podnož, tak kultivar. KISON a SEEMÜLLER (2001) ve své práci zjistili výrazné rozdíly v reakci na přítomnou fytoplazmu ESFY u odrůd peckovin i podnoží, ale uspokojivá rezistence k fytoplazmě objevena nebyla. Pouze zkoumané odrůdy peckovin na podnožích typu *Prunus domestica* (Ackermann's, Brompton a P 2175) byly velmi málo napadeny fytoplazmou ESFY. Zajímavý stupeň rezistence byl pozorován u několika hybridů a rentgenových mutantů odrůd *Prunus domestica* renklódového typu (JARAUSCH et al., 2000b). ZULL (1999) cit. v (LAIMER DA CÂMARA MACHADO et al., 2001) uvádí jako nejcitlivější odrůdu meruněk Hargrand a nejméně citlivé Goldrich, Harlayne. RICHTER (2002) však uvádí, že citlivost kultivaru se zdá být méně významnou pro toleranci k fytoplazmě ESFY než rezistence podnože. Odrůda Goldrich je totiž v Rakousku pěstována hlavně na podnožích Torinel a St. Julien, proto nízký úhyn stromů této odrůdy byl spíše díky vysoké toleranci zmíněných podnoží než nízké citlivosti kultivaru.

Kontrola fytoplazem se tedy v bodech soustřeďuje především na následující opatření:

- množení a používání certifikovaných materiálů
- odstranění zdrojů infekce (především infikovaných vytrvalých a dvouletých rostlin)
- odstranění a zničení všech příznakových rostlin
- omezení pěstování vnímavých druhů a kultivarů vůči fytoplazmám
- monitorování a kontrola výskytu hmyzích vektorů v porostu
- používání tolerantních, méně vnímavých kultivarů

2.2.6 Metody detekce fytoplazem

Fytoplazmy se dosud nepodařilo kultivovat *in vitro*, a proto vyžadují zvláštní přístup. Protože je není možné rozlišit či dokonce klasifikovat podle fenotypových znaků, byly fytoplazmy dlouho popisovány a rozdělovány do skupin na základě jejich biologických vlastností. V minulosti se jednalo hlavně o rozlišování fytoplazem na základě hodnocení příznaků vyvolávajících na hostitelích, na základě jejich specifického vztahu k hostitelským druhům rostlin a hmyzím vektorům, což je časově náročné, velice pracné a v řadě případů nespolehlivé (LEE et al., 1992). Přesto se pro spolehlivou diagnostiku a identifikaci fytoplazem doporučuje používat indexing pomocí dřevitých indikátorů (GF 305, Luizet), fluorescenční mikroskopie (DAPI) a PCR.

2.2.6.1 Biologické testování

Patogenita je nejdůležitější vlastností mikroorganismů vyvolávajících choroby rostlin. Stanovuje se umělou infekcí na živých rostlinách. U fytoplazmóz se využívá i k determinaci původců. U rostliny *Catharanthus roseus* často vyvolávají fytoplazmy specifické odlišitelné příznaky, takže se využívá v laboratorních podmínkách i jako indikátorová rostlina. A protože je většina fytoplazmóz schopna tuto rostlinu infikovat, je v současnosti na Istituto di Patologia Vegetable (Bologna, Itálie) pro vědecké účely udržována celosvětová sbírka fytoplazem kultivovaných na *C. roseus* v *in vitro* podmínkách. Přenos patogenů na indikátorové rostliny se provádí roubováním, hmyzími vektory a haustóriemi parazitické rostliny kokotice (*Cuscuta*). Biologické testování na dřevitých indikátorech se využívá pro certifikaci ovocných dřevin.

Podle doporučení EPPO se pro testování fytoplazmy ESFY používá dřevitých indikátorů GF 305 (broskvoňový semenáč) a Luizet (odruža meruňky). Pro přenos fytoplazmy se nejčastěji používá očkování třemi očky a indikátorové rostliny jsou hodnoceny po dobu 2-3 let, kdy může dojít alespoň k plnému rozvoji onemocnění vedoucímu často k odumírání testovaných rostlin. Nejčastěji využívaný dřevitý indikátor GF 305 reaguje na přítomnou fytoplazmu ESFY chlorózou a odumíráním výhonů a první příznaky lze pozorovat již po prvním roce (FRÁNOVÁ, 2008).

2.2.6.2 Fluorescenční mikroskopie

K detekci, nikoliv však k identifikaci fytoplazem, může dobře posloužit fluorescenční mikroskopie. Z fixovaných vzorků testovaných rostlin (stonky, hlavní žilky listů, kořeny apod.) je nutné zhotovit tenké řezy (10 –15 μm), které se následně barví. DNA se barví barvivem (DAPI) – 4,6-diamino-2-fenylindoldihydrochlorid. Bezprostředně po obarvení se preparáty prohlížejí ve fluorescenčním mikroskopu. Přítomné fytoplazmy se jeví jako výrazné bílo-modře fluoreskující body a shluky v sítkovicích. Podle intenzity a umístění fluoreskujících bodů lze odlišit DNA fytoplazem od DNA pletiv hostitelských rostlin (NAVRÁTIL a VÁLOVA, 2002; SEEMÜLLER, 1976). Metoda však klade vysoké nároky na zkušenosti diagnostika, který musí rozlišit případnou fytoplazmu od fluoreskujících nukleových kyselin přítomných v rostlinných buněčných organelách nebo jiných organismů (bakterií) (FRÁNOVÁ, 2008).

2.2.6.3 Elektronová mikroskopie

K pozorování fytoplazem je možné využít skenovací (SEM) i transmisní (TEM) elektronovou mikroskopii. Obě metody vyžadují vysoké pořizovací náklady na vybavení i na složitou přípravu vzorků. Podobně jako v případě fluorescenční mikroskopie, i při těchto technikách musí být pracovník vyhodnocující vzorky velmi zkušený. Pro skenovací elektronovou mikroskopii je třeba vzorky odebrané z částí rostlin fixovat v roztoku glutaraldehydu a následně postfixovat fosfátovým pufrům s oxidem osmičelým. Po odvodnění vzorku dehydratačními činidly, vysušení a pokovení zlatem, platinou nebo paladiem, je možné na zhotovených snímcích lokalizovat fytoplazmy v rostlinných pletivech a určit jejich tvar a velikost. Pozorování však často ztěžují nitrobuněčné struktury a artefakty, které mohou být od fytoplazem svojí morfologií obtížně odlišitelné.

Přestože je tato metoda některými autory (LEBSKY et al., 2009) při prokazování fytoplazem používána, z výše uvedených důvodů není pro detekci ani identifikaci fytoplazem vhodná. Vzorky pro transmisní elektronovou mikroskopii se připravují ještě složitěji a vyžaduje po jeho vysušení, prosycení a zalití do speciální pryskyřice. Z části vzorku vhodné pro detailní pozorování se připraví ultratenké řezy o tloušťce 70-90 nm. Při kvalitní přípravě vzorku můžeme objekt zvětšit až 500 000-krát. Přestože pozorováním v mikroskopu nelze určit druh sledované fytoplazmy, výhoda této metody spočívá v detekci i jiných rostlinných patogenů –virových částic, rickettsií, bakterií apod. (FRÁNOVÁ, 2008).

2.2.6.4 Polymerázová řetězová reakce (PCR) a real-time PCR

PCR (Polymerase Chain Reaction) je založena na replikaci nukleových kyselin, která je základním molekulárním procesem všech živých organismů. Podstatou PCR je cyklicky se opakující enzymová syntéza nových řetězců vybraných úseků dvouřetězcové DNA ve směru 5'→3' prostřednictvím DNA polymerázy. Studovaný úsek nukleotidové sekvence je vymezen připojením dvou primerů, které se vážou na protilehlé řetězce DNA tak, že jejich 3' konce směřují proti sobě. Po přidání DNA polymerázy a nukleotidů pak probíhá syntéza nových vláken na obou matricových řetězcích protisměrně. Reakce probíhá v tzv. termocykleru, který opakovaně mění teplotu. Univerzální i skupinově specifické primery pro detekci fytoplazem byly odvozeny od sekvence genu pro 16S rRNA, navazující oblasti mezerníku, genu pro 23S rRNA a později od sekvencí pro geny ribozomálních proteinů, *secY* a tuf genů a genů kódujících proteiny asociované s membránami fytoplazem (*imp*) (FRÁNOVÁ, 2008). PCR technika je velmi citlivá, ale vzhledem k nízkému titru fytoplazem je pro přesnou diagnózu nezbytné její citlivost ještě zvýšit, což umožňuje provedení tzv. nested PCR, při které je amplifikační produkt první reakce použit jako templát pro následnou amplifikaci. Nevýhodou nested-PCR je však vyšší pravděpodobnost kontaminace a získání tzv. falešně pozitivních výsledků. V poslední době je proto nested-PCR nahrazována tzv. real-time PCR. Výhodná je pro svoji vysokou citlivost a rychlost, což ji předurčuje k testování velkého počtu vzorků. V průběhu reakce je po každém cyklu pomocí detekce fluorescence sledováno množství nově naamplifikovaných částí DNA, takže není nutné po ukončení reakce provádět elektroforézu pro vizualizaci výsledku.

V této technice se využívají různé značící látky, které se specificky váží na cílovou sekvenci amplifikovaného fragmentu. Intenzita zaznamenané fluorescence je úměrná koncentraci amplifikované DNA. Tato metoda umožňuje velmi přesně kvantifikovat průběh a výsledek reakce. Kromě detekce je možno real-time PCR uplatnit při studiu epidemiologie fytoplazem i pro jejich kvantifikaci, a to v rostlinách i hmyzích vektorech. MARTINI et al. (2011) studovali například závislost vnějších příznaků infekce hostitelských stromů rodu *Prunus* na koncentraci fytoplazmy evropské žloutenky peckovin a zjistili, že určitá míra korelace existuje.

2.2.6.5 Polymorfismus délky restrikčních fragmentů (RFLP)

Pomocí RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) lze rozlišit skupiny a podskupiny fytoplazem. Amplifikované segmenty fytoplazmové DNA se naštěpí za pomoci restrikčních enzymů (např. *AluI*, *HhaI*, *MseI*, *KpnI*, *RsaI*, *SspI*, *TruI*), které DNA štěpí ve specifických místech na fragmenty různé délky. Naštěpené produkty se separují jednosměrnou elektroforézou na agarových gelech, v nichž mají různě dlouhé fragmenty odlišnou pohyblivost. Porovnáním restrikčních profilů s kontrolními vzorky nebo literárními údaji je možné danou fytoplazmu identifikovat (LEE et al., 1998).

3 CÍLE PRÁCE

Cílem této práce bylo studium symptomatických projevů izolátů fytoplazmy ESFY po inokulaci na vybrané podnože.

Dalším cílem bylo ověřit citlivost vybraných podnoží k fytoplazmě ESFY. Porovnat symptomatický projev, úhyn a PCR detekci fytoplazmy ESFY rostlin zkoumaných podnoží a letorostů prorostlých z inokul a na základě toho rozdělit soubor podnoží dle jejich vnímavosti k fytoplazmě ESFY.

Posledním cílem této práce bylo prozkoumat, do jaké míry ovlivňuje fytoplasma ESFY biologické vlastnosti pylu, semen, některé fenofáze a pomologické znaky plodů vybraných odrůd meruněk.

4 MATERIÁL A METODIKA

4.1 ROSTLINNÝ MATERIÁL

4.1.1 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY

Jako výchozí rostlinný materiál pro studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY byl využit sortiment odrůd druhů *Prunus armeniaca* (L.) Batsch. a *Prunus persica* (L.) Batsch. z pokusné výsadby Ústavu ovocnictví vykazující dlouhodobě různé příznaky fytoplazmy ESFY. Pozitivita testovaných stromů k fytoplazmě ESFY byla ověřena v roce 2005 a 2006 pomocí molekulárních metod (nested PCR) a byla potvrzena i laboratoří Katedry buněčné biologie a genetiky PřF UP v Olomouci. Pro inokulaci souboru podnoží byla použita očka z roubov odebraných z devíti vybraných infikovaných stromů meruněk a jednoho stromu broskvoně s různým symptomatickým projevem (Tabulka 1).

Tabulka 1 Seznam vybraných infikovaných stromů meruněk a broskvoně s jejich symptomy

Odrůda	Strom č.	Symptom (2005)
Hargrand	1.	SV
Hargrand	2.	SV
Churmai	1.	ŽL, PO
Jantze (broskvoň)	117.	CHSV
Murfatlar	2.	CHSV
Olimp	2.	BS
Poljus Južnyj	3.	BS
Poyer	2.	BS
Saldcot	1.	PO, SV
Veselka	1.	ŽL

SV – svinutka listů

ŽL – žloutenka listů

PO – předčasný opad listů

CHSV - -chlorotická svinutka listů

BS – bez symptomů

Soubor podnoží pro studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY zahrnoval pět typově různých podnoží z rodu *Prunus*. Byly to ‘GF 305’ (*P. persica*), ‘GF-8-1’ (*P. cerasifera* × *P. munsoniana*), ‘St. Julien 655/2.’ (*P. insititia*), ‘M-LE-1’ (*P. armeniaca*), ‘Torinel[®]-Avifel (*P. domestica* - hexaploid)’. Podnože (kromě ‘M-LE-1’) byly namnoženy v *in vitro* podmínkách a zakoupeny od italské firmy Vivai Battistini dott. Guiseppe. Rostliny podnože ‘M-LE-1’ byly vypěstovány v „insectproof“ podmínkách Ústavem ovocnictví ZF MENDELU v Brně z uznaného osiva.

Rostliny podnoží byly koncem března 2006 nahrnkovány a pěstovány nadále v síťovníku v „insectproof“ podmínkách na pokusném pozemku Ústavu ovocnictví.

GF 305 (*Prunus persica* (L.) Batsch.) - generativní podnož vyselektovaná ve Francii z lokální odrůdy „Montreil“. Podnož má vynikající afinitu s většinou pěstovaných odrůd. Je poměrně tolerantní k žloutence a má vyšší odolnost ke kadeřavosti. Podnož je velmi citlivá k virózám, proto se využívá jako polyvalentní indikátor (VACHŮN, 1999).

Marianna GF-8-1 (*Prunus cerasifera* Ehrh. x *Prunus munsoniana* Wight et Hedr.) - jedná se o triploidní vegetativní podnožovou odrůdu z Francie. Množí se hlavně dřevitými řízkami a mikropropagací. (VACHŮN, 1999). Je vhodná do všech typů půd, od písčitých po jílovité. Má vyšší odolnost k vápenitým půdám a je odolnější k asfyxii více než myrobalán (http://www.battistinivivai.com/doc_ing/centro_portainnes_tti_susino.htm, 2006).

Saint Julien 655/2 (*Prunus insititia* L) – vegetativně množená podnož vyšlechtěna ve Francii, je velmi podobná podnoži St. Julien A. Podnoži se daří nejlépe v těžších a vlhčích půdách (citlivost na sucho). Vhodná pro slivoně, broskvoně a meruňky.

M-LE-1 (*Prunus armeniaca* (L.) Batsch.) - selektovaný meruňkový semenáč vhodný do středních, hlinitopísčitých půd. Je citlivý k asfyxii a při vyšším obsahu CaCO₃ v půdě se může u této podnože vyskytnout kalcioza. Podnož vhodná především pro meruňky.

Torinel (*Prunus domestica* L. ‘Reine Claude P 994’ x ‘Reine Claude de Bavay’) - vegetativně množená podnož byla vyšlechtěna ve Francii. Rozmnožuje se velmi dobře zelenými i dřevitými řízkami a mikrorozmnožováním. Velmi vhodná do asfyxiantních půd, které jsou někdy nazývané jako renklódové, slivoňové (VACHŮN, 1999). Má dobrou afinitu se slivoněmi a meruňkami (<http://www.maes.msu.edu/swmrec/publicationsfolder/Annualreports/04annualrpt/PROJ3P.2004.plum.pdf>, 2004).

4.1.2 Ověření citlivosti souboru vybraných podnoží k fytoplazmě ESFY

Soubor 15 vybraných podnoží zahrnoval odrůdy rozdílného původu a vlastností. Podnože byly namnoženy v *in vitro* podmínkách a zakoupeny od italské firmy Vivai Battistini dott. Guiseppe nebo byly vypěstovány v „insectproof“ podmínkách Ústavem ovocnictví z uznaného osiva. Rostliny byly koncem března 2006 nahrnkovány a pěstovány nadále v síťovniku na pokusném pozemku Ústavu ovocnictví.

Lesiberian (*Prunus persica* (L.) Batsch.) - generativně množená podnož vzniklá výběrem z potomstva Siberian C z volného opylení. Má dobrou afinitu k širokému spektru odrůd. Osivo bylo posbíráno z uznaného množitelského porostu na pozemku Zahradnické fakulty Mendelovy univerzity v Brně. Rostliny byly připraveny z osiva ošetřeného stratifikací (29. 11. 2005).

GF 677 (*Prunus persica* (L.) Batsch. var. amygdaloides) - vegetativně množená podnož z Francie, množí se snadno bylinnými řízky a mikrorozmnožováním. Je vhodná do chudších, nezavlažovaných půd. Je vysoce odolná ke kalcioze. (nesrůstá s odrůdou Hargrand a Bergeron) (VACHŮN, 1999).

AP-1, Krymsk[®]86 cv. (*Prunus persica* (L.) Batsch. x *Prunus cerasifera* Ehrh.) - vegetativně množená podnož z Ruska. Snadno se množí dřevitými a bylinnými řízky. Má dobrou afinitu s většinou odrůd meruněk, broskvoní, nektarinek, mandloní a evropských slivoní. Je tolerantní k vlhkým a těžkým půdám, odolná k chladným podmínkám (www.treeconnect.com/pdfs/krymsk86.pdf).

VVA-1, Krymsk[®]1 cv (*Prunus tomentosa* Thunb. x *Prunus cerasifera* Ehrh.) - vegetativně množená podnož z Ruska. Snadno se množí bylinnými i dřevitými řízky. Má dobrou afinitu s většinou odrůd broskvoní, nektarinek, evropských slivoní a meruněk. Je tolerantní k chladnému klimatu, vlhkým a těžkým půdám. Není tolerantní k suchým půdním podmínkám, zde je lepší mít závlahu (www.treeconnect.com/pdfs/krymsk86.pdf).

Strážovický myrobalán (*Prunus cerasifera* Ehrh.) - generativně množená podnož. Náhodně objevený semenáč v obci Strážovice. Podnož vhodná pro slivoně a meruňky (NEČAS, 1998).

Myrobalán 29C (*Prunus cerasifera* Ehrh.) - vegetativně množená podnož pocházející z Ameriky z klonové selekce. Vhodná pro meruňky, slivoně a nejvíce pro mandloně (<http://www.davewilson.com/roots.html>, 2006). Hodí se do různých typů půd, včetně suchých a vápenitých. Tato podnož je citlivá k *Pseudomonas syringae*. (http://www.battistinivivai.com/doc_ing/centro_portainnesti_susino.htm, 2006)

MY-KL-A (*Prunus cerasifera* Ehrh.) - vegetativně množená podnož, která vznikla křížením *Prunus cerasifera* Ehrh. x *P. cerasifera* Ehrh. 'Atropurpurea' v podhůří Tater. Selekce červenolisté formy v tvrdých podmínkách Klčova dalo podnoži předpoklady vysoké mrazuodolnosti. Množí se snadno bylinnými řízkami (až 95 % výtěžnost) i dřevitými řízkami. Snáší i těžší, dočasně zamokřené půdy. Se slivoněmi srůstá obecně dobře, meruňky na této podnoži rostou slaběji.

GF 31 (*Prunus cerasifera* Ehrh. x *Prunus salicina* Lindl.) - vegetativně množená podnož. Množí se převážně bylinnými řízkami. Podnož je dobrým indikátorem šarky (VACHŮN, 1999). Je tolerantní k vápenitým půdám. Má dobrou afinitu s většinou odrůd (http://www.vitroplant.it/doc/portinnesti_albicocco.htm, 2006).

MRS 2/5 (*Prunus cerasifera* Ehrh. x *Prunus spinosa* L.) - vegetativně množená podnož z Itálie. Má dobrou afinitu s většinou odrůd. Hodí se spíše do úrodných půd. (http://www.vitroplant.it/doc/portinnesti_albicocco.htm, 2006).

Shirofugen (*Prunus serrulata* Lindl.). - používá se jako dřevitý indikátor pro CGRMV (Cherry green ring mottle virus), PNRSV (*Prunus necrotic ringspot virus*), PDV (Prune dwarf virus).

GF 305 (*Prunus persica* (L.) Batsch.)- výše popsán (kapitola 4.1.1)

Marianna GF-8-1 (*Prunus cerasifera* Ehrh. x *Prunus munsoniana*

Wight et Hedr.) - výše popsán (kapitola 4.1.1)

Saint Julien 655/2 (*Prunus insititia* L.)- výše popsán (kapitola 4.1.1)

Torinel (*Prunus domestica* L. 'Reine Claude P 994' x 'Reine Claude de Bavay')-

výše popsán (kapitola 4.1.1)

4.1.3 Studium vlivu fytoplazmy ESFY na vybrané vlastnosti meruněk

V březnu 2006 byly vybrány stromy pozitivní na fytoplazmu ESFY a k nim byly otestovány pomocí PCR bezpříznakové stromy stejných odrůd. Na základě výsledků testování byly vybrány dvojice stromů, z nichž jeden byl pozitivní na fytoplazmu ESFY a k němu byl vybrán strom negativní na fytoplazmu ESFY. Pro studium vlivu fytoplazmy ESFY na klíčivost pylu byly vybrány stromy 16 odrůd (viz Graf 1), pro studium vlivu fytoplazmy ESFY na dobu kvetení byly sledovány stromy 21 odrůd (viz. Graf 2) a pro studium vlivu fytoplazmy ESFY na násadu plodů, na zrání plodů, na pomologické znaky plodů a na životnost semen byly využity stromy 16 odrůd (viz. Graf 3).

4.2 METODIKA

4.2.1 Odběr vzorků stromů podezřelých z napadení fytoplazmou ESFY

Při výběru stromů meruněk (případně broskvoní) v rámci průzkumu výskytu fytoplazmy ESFY, se z podezřelých nebo bezpříznakových stromů odebraly vzorky pro laboratorní analýzu (od října 2005 do července 2006). Z jednoho stromu byly odebírány 4 segmenty větví po obvodu koruny (nejlépe dvouleté dřevo), o délce cca 200 mm, které byly zbaveny listů. Důraz byl kladen na odběr segmentu z příznakové části stromu. Lýko odebraných segmentů nesmělo být nekrotické nebo suché. Odebrané vzorky dvouletých výhonů zbaveny listů byly vloženy do mikrotenového sáčku tak, aby vzorek nevysychal. Takto upravený vzorek byl označen (odrůda/číslo stromu). Vzorky byly, co nejdříve dopraveny do laboratoře a podrobeny PCR detekci pro potvrzení přítomnosti fytoplazmy ESFY.

4.2.2 Izolace DNA (modifikace podle AHRENS, SEEMÜLLER, 1992)

Izolace celkové DNA testovaných vzorků byla provedena z lýka výhonů podle modifikované metody AHRENS, SEEMÜLLER (1992). Izolace byla provedena v molekulárně biologické laboratoři Mendelea a Ústavu ovocnictví ZF MENDELU v Brně.

4.2.2.1 Izolace DNA

Před samým začátkem izolace byly předchlazeny centrifugační kyvety, třecí misky, paličky v chladničce (+4 °C) a byla předchlazená centrifuga (4 °C).

Vodní lázeň byla vyhřátá na 60 °C, zde byl vložen před použitím extrakční pufr a skleněné očíslované kyvety. K 50 ml zásobního roztoku třecího pufru (2x) byl přidán stejný objem demineralizované vody a 0,53 g kyseliny askorbové. Po rozpuštění bylo upraveno pH pomocí 3M NaOH na 7,6. Takto připravený pufr byl chlazen po celou dobu izolace v ledové tříšti a jeho množství postačilo na zpracování 6 vzorků.

- do třecí misky umístěné na ledě byl pipetován Pasteurovou pipetou třecí pufr (cca 7 ml) a do něj byl naškrábán směsný vzorek (0,5–1,0 g) lýka ze čtyř výhonů, pletivo se nechalo inkubovat v pufru cca 5–10 minut
- byl přidán mořský písek a lýko bylo důkladně homogenizováno, homogenát (cca 15 ml) byl přelit do chlazené a označené centrifugační kyvety
- kyvety s homogenátem byly vyváženy třecím pufrům a po vyvážení byly centrifugovány 5 minut, 1100 g (maximálně 1500 g) při 4 °C
- supernatant byl přelit přes sítko (Uhelon) do čisté vychlazené centrifugační kyvety a ty byly po vyvážení třecím pufrům centrifugovány 25 minut, 14 000 g při 4 °C
- supernatant byl ihned po centrifugaci vylit a do kyvet se sedimentem byl přidán Pasteurovou pipetou připravený extrakční pufr (2,0 ml 60 °C extrakčního pufru s přidaným 2-merkaptoetanolem)
- třením pipetou o stěnu kyvety byl sediment rozpuštěn a přenesen do připravené (na 60 °C vyhřáté) skleněné centrifugační kyvety a ty byly 20 minut inkubovány při 60 °C (po 10 minutách byl obsah pipetou promíchán)
- po té byly kyvety vychlazené v ledu, získaný lyzát byl extrahován stejným objemem směsi chloroform/isoamylalkohol (24:1, v/v) a protřepán (obrácením kyvety - 20 x)
- kyvety byly vyváženy demineralizovanou vodou a centrifugovány 5 minut při 5000 g a 4 °C
- po centrifugaci byla pečlivě přepipetována horní čirá fáze obsahující rozpuštěnou DNA do čistých, očíslovaných (1,5 ml) mikrozkušavek Eppendorf (2 x 0,5 ml)

- byl přidán dvojnásobek isopropanolu (tj. 1 ml) předchlazeného na -20 °C (skladován v mrazicím boxu) a mikrozkušavky byly pečlivě promíchány (20x obrátilo)
- izolovaná DNA byla srážena v -20 °C minimálně 1 hodinu, takto vysrážená DNA mohla být v tomto stavu uchovávána i několik dní
- vysrážená DNA byla centrifugována 6 minut při 18000 g (minimálně 16000 g)
- supernatant byl opatrně vylit, mikrozkušavky byly ponechány na filtračním papíru k okapání a k mléčně zabarvenému sedimentu byl napipetován 70% etanol (1 ml)
- sediment byl klepáním odlepen, protřepán a po té centrifugován 6 minut při 18000 g
- supernatant byl slit, mikrozkušavka byla položena dnem vzhůru na filtrační papír a pak vysušena pod vakuem (sediment zbledlá)
- vysušený sediment byl rozpuštěn v 50 μ l TE pufru, protřepán na Vertexu a centrifugován na minicentrifuze
- takto rozpuštěná izolovaná DNA byla uchovávána při -20°C.

4.2.2.2 Roztoky a chemikálie

- 96% etanol (denaturovaný 2% benzínem)
- 70% etanol
- isopropanol
- 2- merkaptoetanol
- zásobní roztok třecího pufru (2x):
 - 16,5 g K_2HPO_4
 - 4,1 g KH_2PO_4
 - 100 g sacharóza
 - 1,5 g BSA
 - 20 g PVP 10 (MW cca 10 000)

Přidala se demineralizovaná voda (vodivost cca 0,1 $\mu\text{S}/\text{cm}$, autoklávovaná) do celkového objemu roztoku 500 ml. Zmrazily se (-20 °C) objemy odpovídající denní spotřebě pro izolaci DNA. Třecí pufr se připravil ze zásobního roztoku, bezprostředně před použitím, přidáním 0,53 g kyseliny askorbové a 50 ml demineralizované vody k 50 ml zásobního roztoku třecího pufru (2x). Pomocí 3M NaOH bylo pH upraveno na 7,6.

- třecí pufr: 125 mM $\text{K}_2\text{HPO}_4 / \text{KH}_2\text{PO}_4$
30 mM kyselina askorbová
10 % sacharóza
0,15 % BSA
2 % PVP 10 (MW cca 10 000)
pH 7,6
- DNA-extrakční pufr: 12,5 g (2,5%) CTAB
40,9 g (1,4 M) NaCl
3,72 g (20 mM) Na_2EDTA
6,06 g (100 mM) Tris-HCl
5 g (1%) PVP 44000

Přidala se demineralizovaná voda (vodivost cca 0,1 $\mu\text{S}/\text{cm}$, autoklávovaná) do celkového objemu roztoku 500 ml a pH upravilo na 8,0 pomocí konc. HCl. Těsně před použitím se přidal 0,2 % 2-merkptoetanol – tj. na 20 ml DNA-extrakčního pufru přidat 40 μl 2-merkptoetanolu.

- chloroform/isoamylalkohol (24:1): 240ml chloroform
10ml isoamylalkohol
- TE-pufr: 0,606 g (10mM) TRIS
0,186 g (1 mM) Na_2EDTA

Přidala se demineralizovaná voda (vodivost cca 0,1 $\mu\text{S}/\text{cm}$, autoklávovaná) do celkového objemu roztoku 500 ml a pH se upravilo na 8,0 pomocí koncentrované HCl.

4.2.3 Kontrola izolované DNA

Vzorky izolované DNA byly dávkovány v poměru 8 μ l izolátu DNA a 2 μ l dávkovacího pufru na 0,75 % agarózový gel. Elektroforéza byla provedena za standardních podmínek 8 V.cm⁻¹, DNA v gelu byla barvena pomocí ethidium bromidu (pracovní koncentrace 1 μ g.ml⁻¹). Přibližné množství DNA v izolátech bylo určeno porovnáním intenzit jejích signálů s koncentrační řadou standardů λ DNA o velikostech 50, 100, a 200 ng.

4.2.4 PCR reakce

Univerzální detekce fytoplazmy Evropské žloutenky peckovin se provádí polymerázovou řetězovou reakcí a její identifikace restrikční analýzou.

4.2.4.1 Složení reakční směsi

- deionizovaná sterilní voda
- pufr dodávaný spolu s použitou polymerázou DyNAzyme II (složení: 10 mM Tris HCl, pH 8,8; 1,5 mM MgCl₂; 150 mM KCl and 0,1 % Triton X-100)
- polymeráza – DyNAzymeTM II DNA Polymerase (zásobní roztok 2 U/ μ l), firma Finnzymes
- nukleotidy: dTTP, dGTP, dATP, dCTP (Biotech)
- syntetizované primery - Generi Biotech, Genetica-Proligo :
 - vnější primery: R16F1 - /5'-AAg ACg Agg ATA ACA gTT gg-3'/
 - R16R0 - /5'-ggA TAC CTT gTT ACg ACT TAA CCC C-3'/
 - P1 - /5'-AAG AGT TTG ATC CTG GCT CAG GAT T-3'/
 - P7 - /5'-CGT CCT TCA TCG GCT CTT-3'/
 - vnitřní primery: fU5 - /5'- Cgg CAA Tgg Agg AAA CT - 3'/
 - rU3 - /5'- TTC AgC TAC TCT TTg TAA CA - 3'/
 - f01 - /5'-CGGAAACTTTTAGTTTCAGT-3'/
 - r01 - / 5'-AAGTGCCCAACTAAATGAT-3'/
- vzorek DNA (10 ng) na reakci (JARAUSSCH et al., 2000)

4.2.4.2 Příprava PCR reakční směsi

Nejdříve byla podle počtu vzorků a zvoleného objemu reakce připravena reakční směs, a to smícháním položek v daném pořadí (Tabulka 2). Do první PCR reakce, tzv. "direkt", přišla kombinace vnějších primerů. Po důkladném promíchání (Vortex) a stočení na minicentrifuze byla reakční směs rozpipetována do předem připravených a popsaných PCR zkumavek (objem 0,2 ml). K rozpipetované směsi byl napipetován vzorek DNA a PCR zkumavky byly vloženy do předem naprogramovaného PCR cyklu (Biometra, typ T Gradient), kde probíhala amplifikace za podmínek uvedených v tabulkách 3-5. Po té následovala tzv. "nested" PCR, u níž bylo postupováno stejně jako u "direkt" PCR, jen byly v reakční směsi použity vnitřní primery. K rozpipetované reakční směsi v mikrozkušnicích byl přidán PCR produkt získaný z první PCR reakce a opět byly zkumavky vloženy do předem naprogramovaného PCR cyklu, kde probíhala amplifikace za podmínek uvedených v tabulkách 4-5.

Tabulka 2 Příprava reakční směsi PCR (NAVRÁTIL et al., 2001)

	Koncentrace pracovního roztoku	Konečná koncentrace	Pipetuje se (μl)
H ₂ O			13,7
10x Buffer	10x	1x	2
směs dNTP	2,5mM	0,1mM	0,8
f-primer	10μM	0,25μM	0,5
r-primer	10μM	0,25μM	0,5
polymeráza	2U/μl	1U/reakce	0,5
vzorek DNA			2
objem reakce			20

Tabulka 3 Podmínky PCR reakce v cyklu pro primery R16F1/R16R0 (LEE et al., 1995)

Počáteční denaturace	94 °C	2 min.	1 cyklus
Denaturace	94 °C	1 min.	35 cyklů
Hybridizace primerů	50 °C	2 min.	
Prodlužování primerů	72 °C	3 min.	
Dokončení syntézy	72 °C	10 min	1 cyklus

Tabulka 4 Podmínky PCR reakce v cykleru pro primery fU5/rU3 (LORENZ et al., 1995)

Počáteční denaturace	94 °C	2 min.	1 cyklus
Denaturace	94 °C	1 min.	35 cyklů
Hybridizace primerů	55 °C	1 min.	
Prodlužování primerů	72 °C	1 min.	
Dokončení syntézy	72 °C	10 min	1 cyklus

Tabulka 5 Podmínky PCR reakce v cykleru pro primery P1/P7; fO1/rO1 (KISON et al., 1997)

Počáteční denaturace	95 °C	2 min.	1 cyklus
Denaturace	95 °C	30 s	35 cyklů
Hybridizace primerů	55 °C	60 s	
Prodlužování primerů	72 °C	90 s	
Dokončení syntézy	72 °C	10 min	1 cyklus

4.2.5 Elektroforéza – kontrola správného provedení izolace DNA, PCR a RFLP

4.2.5.1 Příprava agarózového gelu a provedení elektroforézy PCR produktu

- do baňky bylo odváženo 1,5 g agarózy a přidáno 150 ml 1x TAE pufru. Obsah byl přiveden k varu (mikrovlnná trouba)
- do 150 ml zchladlého agarózového gelu (cca 50 - 60 °C) bylo nepipetováno 10 µl pracovního roztoku ethidium bromid (2,5 mg/ml H₂O, ethidium bromid vytváří s DNA komplex, který v ultrafialové oblasti světelného spektra fluoreskuje). Roztok byl záhy nalit do formy s vloženým hřebenem. Po ztuhnutí gelu byl opatrně vyjmut hřebínek a vanička se vložila do elektroforetické komůrky (jamky u katody). Komůrka byla naplněna TAE pufrem tak, aby byl gel převrstven 2 až 5 mm vrstvou pufru
- vzorky pro analýzu výsledků PCR byly připraveny smícháním s dávkovacím pufrem a to bylo napipetováno do hřebenem vytvořených jamek v gelu. Kromě vyizolovaných vzorků DNA byl nadávkován zhruba do prostřed řady jamek velikostní standard (100bp DNA Ladder) v množství 10µl

- na zdroji bylo nastaveno 100 V a elektroforetická separace probíhala tak dlouho, až modrá zóna odpovídající bromfenolové modři urazila dráhu cca 3 cm
- po rozdělení vzorků byl zdroj vypnut. Gel byl vyjmut a opláchnut destilovanou vodou a umístěn na UV transparentní podložku, kde byl prosvícen UV transiluminátorem. Pozitivním výsledkem byl fluoreskující proužek („band“) odpovídající velikosti amplifikovanému segmentu DNA
- následovalo fotografování gelu – digitálním fotoaparátem Kodak DC120 ZOOM.

4.2.5.2 Rostoky a chemikálie:

- prášková agaróza (Serva) pro elektroforézu DNA, PCR, RFLP
 - 0,7% agarosa/TAE pro kontrolu izolované DNA
 - 1,0% agarosa/TAE pro kontrolu PCR produktu
 - 2,0% agarosa/TBE pro kontrolu RFLP znaků
- TAE pufr^{DNA, PCR} 50 x zásobní roztok:
 - 242 g TRIS base
 - 57,1 ml ledová kyselina octová
 - 37,2 g Na₂EDTA · 2H₂O

- doplnilo se H₂O do 1000ml a upravilo se pH na 8,5

- TBE pufr^{RFLP} 10 × zásobní roztok:
 - 108 g TRIS base
 - 55 g kyselina boritá
 - 40 ml 0,5 M EDTA

- doplnilo se H₂O do 1000ml a upravilo se pH na 8,0

Jedná se o elektroforetické pufrы zajišťující vhodné pH pro migraci DNA a zamezující vzniku gradientu pH v okolí elektrod. Jsou součástí i přípravy agarózových gelů. Zásobní roztok byl ředěn deionizovanou vodou ($G < 0,06 \mu\text{S}$) na koncentraci 1×.

- dávkovací pufr (6x):
 - 2,5% SDS
 - 0,1 M EDTA
 - 0,05% Bromphenol blue
 - 0,1% orange G
 - 12,5% Ficoll (400)

- ethidium bromid (1000x) – 0,1%
- velikostní standard (100bpDNA Ladder)

4.2.6 Restrikční analýza (RFLP)

Pomocí nested-PCR byl namnožen segment DNA, který je specifický pro fytoplazmy. Jednotlivé druhy fytoplazem jsou rozlišeny RFLP analýzou. Fytoplazma evropské žloutenky peckovin (ESFY) byla identifikována restrikční analýzou fU5/rU3 produktů PCR pomocí restrikčních endonukleáz *RsaI* a *SfeI* (Fermentas) nebo fO1/rO1 produktů PCR pomocí restrikční endonukleázy *RsaI*. Při přípravě reakční směsi bylo postupováno vždy podle návodu dodaného výrobcem restrikční endonukleázy. Reakční směs byla inkubována při 37 °C po dobu 2 hodin nebo přes noc po dobu 16 hodin. Produkt restrikční analýzy (7,5 µl + 2 µl vzorkovací roztoku) byl separován na 2% agarózovém gelu v TBE pufru. Výsledky dělení byly porovnávány s restrikčními spektry (POGGI POLLINI et al., 2001).

4.2.7 Inokulace souboru podnoží fytoplazmou ESFY

Jakmile byla ověřena pozitivita testovaných stromů k fytoplazmě ESFY pomocí „nested“ PCR, byly odebrány v polovině srpna 2006 z vybraných stromů rouby pro inokulaci. Pro studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY byla pro inokulaci souboru podnoží použita očka z roubů odebraných z devíti vybraných infikovaných stromů meruněk a jednoho stromu broskvoně. V polovině srpna 2006 byla provedena inokulace patnácti kusů každé z pěti vybraných podnoží očky z pozitivních stromů meruněk a broskvoně s vybraným symptomatickým projevem fytoplazmy ESFY (Tabulka 1) (tzn. 15 ks rostlin podnože x 5 podnoží x 10 izolátů fytoplazmy ESFY). Inokulace byla provedena očkováním Forkertovým způsobem. Na každou rostlinu podnože bylo naočkováno jedno inokulum. Kontrola zahrnovala patnáct neočkovaných kusů rostlin podnoží z každé podnože. Experiment byl uskutečněn v podmínkách technické izolace (sít'ovník) formou nádobového pokusu s doplňkovou závlahou. Dva týdny po inokulaci následovalo povolení úvazků. Na konci roku 2006 byly rostliny zazimovány listím. Na jaře 2007 byl proveden řez na čípek a od počátku vegetace 2007 započalo sledování symptomatických projevů fytoplazmy ESFY u rostlin podnoží i prorůstajících inokul.

Protože v prvním roce (2006) experimentu nedošlo v některých případech ke srůstu dostatečného počtu inokul s rostlinami podnoží, byl počet uměle infikovaných rostlin podnoží v dalším roce (2007) doplněn stejným způsobem jako v prvním roce pokusu. V roce 2008 začal screening souboru jedinců molekulární metodou PCR, který měl ověřit přítomnost fytoplazmy ESFY v rostlinách podnoží a letorostech prorostlých z inokul vybraných odrůd.

Pro ověření citlivosti souboru vybraných podnoží k fytoplazmě ESFY byly vybrány dva stromy merunek s příznaky fytoplazmy ESFY a přítomnost patogena byla potvrzena PCR detekcí. Byl vybrán druhý strom odrůdy Vestar vykazující symptomy žloutenky a předčasného opadu listů a čtvrtý strom odrůdy Hargrand nevykazující do doby odběru inokulačního materiálu žádné příznaky. V srpnu 2006 byly ze stromů odebrány rouby a byla provedena inokulace patnácti kusů každé z patnácti vybraných odrůd podnoží.

Inokulace byla provedena očkováním Forkertovým způsobem. Na každou rostlinu podnože byla naočkována tedy dvě očka z infikovaných stromů merunek (odrůdy Vestar a Hargrand_4). Kontrola zahrnovala patnáct kusů neočkových rostlin z každé podnože. Experiment byl uskutečněn v podmínkách technické izolace (sít'ovník) formou nádobového pokusu stejně jako u výše popsaného cíle. Během inokulace v prvním roce (2006) experimentu nedošlo v některých případech ke srůstu dostatečného počtu inokul s rostlinami podnoží, proto v dalším roce (2007) byl počet uměle infikovaných rostlin podnoží doplněn stejným způsobem jako v prvním roce pokusu. Další úkony experimentu probíhaly shodně s výše popsaným pokusem - studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY.

4.2.8 Vizualní hodnocení symptomů izolátů fytoplazmy ESFY a rostlin podnoží

Vizuální hodnocení symptomů infekce fytoplazmy ESFY bylo provedeno v průběhu let 2007 až 2009 minimálně šestkrát za vegetační sezónu u sledovaných genotypů a kontrolních rostlin. Symptomy byly hodnoceny jednou za měsíc v období od května do října. Sledovány byly příznaky fytoplazmy ESFY na listech rostlin podnoží a na letorostech prorůstajících z infikovaných oček. Bylo sledováno jedenáct symptomů (Tabulka 6).

Dále byl zaznamenáván úhyn (používaná zkratka Ú) prorůstajících inokul (letorostů) a rostlin podnoží. Ověřování přítomnosti fytoplazmy ESFY bylo provedeno jednou pomocí „nested“ PCR u letorostů prorostlých z inokul i u rostlin podnoží. PCR detekce přítomnosti fytoplazmy ESFY započala začátkem vegetace roku 2008 a ukončena byla v roce 2009.

Tabulka 6 Sledované symptomy fytoplazmy ESFY na rostlinách

symptom	používaná zkratka
svinutka listů	SV
žloutenka listů	ŽL
chloróza listů	CH
chlorotická svinutka listů	CHSV
červená žilnatina listů	ČEŽ
červenání listů	ČE
předčasný opad listů	PO
totální opad listů	TO
vyholování letorostů	VH
růstová deprese rostlin	RD
zavadání listů	Z

4.2.9 Ověření vlivu fytoplazmy ESFY na biologické vlastnosti pylu, semen a plodů

4.2.9.1 Klíčivost pylu

V březnu 2006 byly vybrány stromy pozitivní na fytoplazmu ESFY a k nim byly otestovány PCR stromy (bezpříznakové) stejné odrůdy, u nichž byla potvrzena nepřítomnost fytoplazmy ESFY. Z těchto stromů byly získány počátkem vegetace v letech 2006-2008 větve s květní násadou a ty byly dány do nádob s vodou a umístěny do technického izolátu na Mendeleu ZF MENDELU v Brně. Zde byly až do vykvetení.

Jakmile se květy otevřely a prašníky popraskaly, otíraly se celé květy jednotlivě o sítko. Do Petriho misky, která byla pod sítkem, padal pyl. Ten byl pak pinsetou zbaven nežádoucích příměsí (nitky a prašníky) a štětečkem setřen do malých, umělohmotných nádobek. Nádobky se po označení názvem odrůdy, čísla stromu a datem odběru umístily do exsikátoru. Ten byl umístěn do chladného a temného prostředí – do mrazáku. VACHŮN, ŘEZNÍČEK (1985) citují, že pyl uchovaný při 15-20°C při stabilně nízké relativní vlhkosti je možné uchovat alespoň částečně klíčivý i po několik let. Stanovení klíčivosti pylu probíhalo podle metodiky (VACHŮN, ŘEZNÍČEK, 1985).

Pyl meruňek klíčí dobře v roztoku 0,5 % agar-agar a 10-12 % roztoku sacharózy. Takto připraveným teplým roztokem byla 2x vypláchnuta čistá Petriho miska, na dně zůstala po ztuhnutí tenká vrstva substrátu pro klíčení. Dno misky bylo odspodu rozděleno křížkem lihovou fixou na čtyři stejná pole (opakování) a na tyto výseče byl shora zaset pyl. Optimální teplota pro klíčení pylu meruňek je 10-22°C. V optimálním prostředí klíčí pyl v průběhu několika hodin. Klíčivost byla hodnocena po třech hodinách. Bylo hodnoceno sto pylových zrn. Počítána byla naklíčená zrna.

4.2.9.2 Izolace DNA z květů, plůdků, semen a stanovení přítomnosti fytoplazmy ESFY pomocí molekulárních metod

V období plného květu vybraných pozitivních stromů meruňek (Tabulka 7) byl v letech 2006-08 proveden sběr květů. Z odebraných květů byly vyjmuty pestíky a květní stopky. Izolace DNA byla provedena zvlášť z pestíků a zvlášť z květních stopek.

V období těsně před fyziologickou lignifikací pecky (druhá polovina až konec května) v letech 2006-08 byly odebrány z vybraných stromů meruňek (Tabulka 8) plůdky. DNA byla izolována zvlášť z jader a zvlášť z dužniny.

Izolace DNA ve všech případech probíhala podle modifikované metody AHRENS, SEEMÜLLER (1992). Po té následovala „nested“ PCR, při níž byla použita kombinace primerů R16F1/R16R0; fU5/rU3.

4.2.9.3 Pomologické hodnocení plodů odrůd meruňek

Plody ze stromů vybraných odrůd meruňek byly sklizeny průběžně v době jejich sklizňové zralosti (Graf 4) v letech 2006-08. V době sklizňové zralosti byly u těchto plodů sledovány vybrané vlastnosti. Vlastnosti byly hodnoceny u 15 ks plodů ze stromů pozitivních a u 15 ks plodů ze stromů negativních na fytoplazmu ESFY vybraných odrůd. Hodnocení vlastností vycházelo z modifikace Klasifikátoru, genus *Armeniaca* V. MILL. (2002). Mezi objektivně hodnocené vlastnosti patřily: výška, šířka, tloušťka a hmotnost plodu, výška, šířka, tloušťka a hmotnost pecky, hmotnost jádra, dvoujadernost, podíl dužniny, rozpustná sušina. Z dalších hodnocených vlastností byly sledovány: tvar plodu, souměrnost plodu, termín sklizňové zralosti.

4.2.9.4 Životnost semen

Zkouška životnosti semen byla provedena metodou Lakonova – TTC. Princip tohoto testu spočívá v tom, že se živé buňky jádra působením roztoku 2, 3, 5-trifenyltetrazoliumchlorid (TTC) zbarví červeně (vznikne formazan) a neživé buňky zůstanou nezbarvené. Zkouška životnosti semen byla provedena z odebraných 15 kusů semen z pozitivních a z 15 kusů semen z negativních stromů vybraných odrůd meruněk v letech 2006-08 (Graf 16) tak, že se nejdříve ze semen odstranil endokarp (jádro semene zůstalo nepoškozené). Vyloupaná semenná jádra byla 18-20 hodin máčena v destilované vodě při pokojové teplotě. Po té z nabobtnalých jader bylo odstraněno osemení, klíček přitom však nesměl být poškozený. Takto připravená jádra byla vložena do nádob s 1% roztokem TTC (1g TTC na 100 ml destilované vody). Nádoby s roztokem a jádry byly umístěny do termostatu (Premeo KBC G – 100/250), ve kterém byla nastavena teplota 30 °C. Po 18-20 hodinách byla jádra z nádob vyjmuta a byla vyhodnocena životnost (v %).

Za živá jádra byla považována taková, kde:

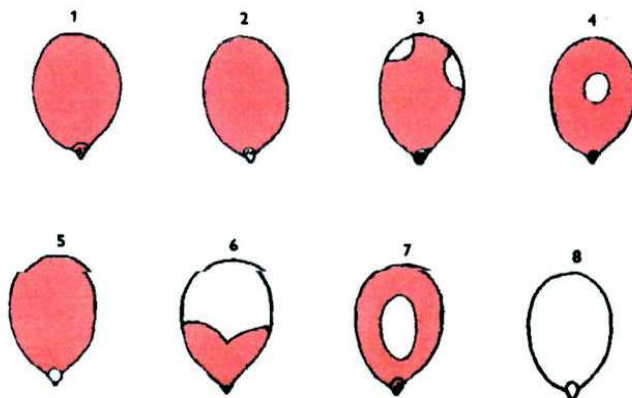
- klíček i celý povrch jádra byly zbarveny intenzivní červenou barvou
- celý povrch jádra a polovina klíčku k němu přiléhající jsou zbarveny červeně, špička klíčku může být bílá
- klíček je zbarvený, na povrchu jádra jsou nezbarvené skvrny menší než třetina celého jádra
- klíček je zbarvený a ve středu děloh je nezbarvená skvrna menší než desetina povrchu celého jádra

Za neživá jádra byla považována ta, kde:

- klíček je bílý a povrch jádra je zbarvený červeně
- klíček je zbarvený i s třetinou povrchu jádra, přičemž dvě třetiny jsou nezbarvené

- klíček je zbarvený a ve středu děloh je nezbarvená skvrna větší než desetina povrchu celého jádra
- celé jádro i klíček jsou nezbarvené (VACHŮN, ŘEZNÍČEK, 1985)

Přehled živých a neživých semenných jader rodu *Prunus* při hodnocení testem TTC



Legenda: 1, 2, 3, 4 – životná semena; 5, 6, 7, 8 – neživotná semena

4.2.10 Statistické zpracování získaných výsledků

Pro všechny sledované charakteristiky byla vypočítána popisná charakteristika aritmetický průměr a pro pomologické znaky plodů, klíčivost pylu, dobu kvetení, násadu plodů, dobu zrání a životnost semen byl navíc vypočítán variační koeficient.

Pro nalezení statistických rozdílů ve sledovaných charakteristikách (výskyt jedenácti hodnocených symptomů, různost symptomů, symptomatický projev letorostů prorostlých z inokul a rostlin podnoží, předčasný úhyn jedinců, pomologické znaky plodů, klíčivost pylu, doba kvetení, násada plodů, doba zrání a životnost semen) mezi jednotlivými variantami byla použita ANOVA. Podmínky normality a homogenity rozptylu byly splněny. Při nalezení rozdílu bylo provedeno následné testování pomocí Tukeyova testu, Scheffeho testu, Duncanova a nebo LSD testu pro určení homogenních podskupin. Všechny uvedené statistické analýzy byly vypočteny pomocí statistického programu Statistica 10.

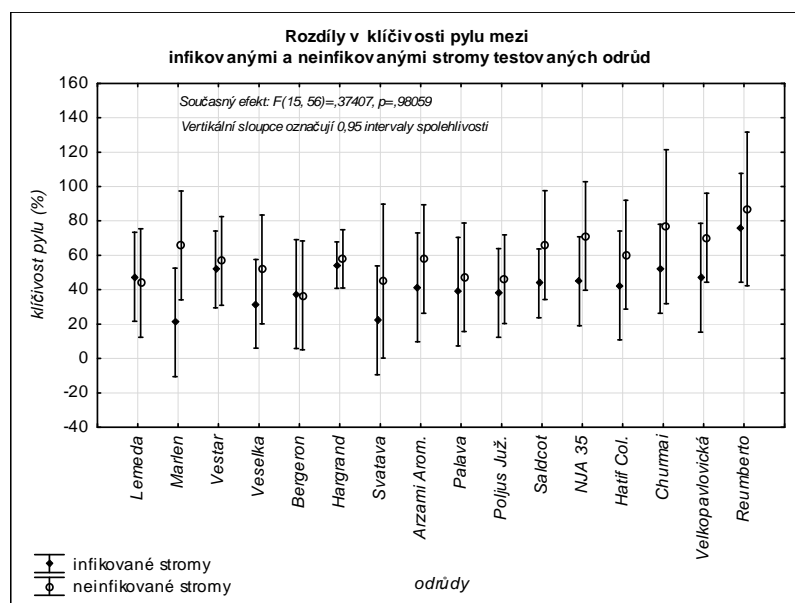
5 VÝSLEDKY

5.1 Ověření vlivu fytoplazmy ESFY na biologické vlastnosti pylu, semen a plodů a na vybrané fenofáze

5.1.1 Klíčivost pylu

Statistická analýza prokázala vysoce průkazné rozdíly v hodnotách klíčivosti pylu mezi infikovanými a zdravými stromy. Průměrná hodnota klíčivosti pylu byla u infikovaných stromů 46,4 % a u zdravých pak 57,2 %. Z daného vyplývá, že s největší pravděpodobností přítomnost fytoplazmy ESFY negativně ovlivnila klíčivost pylu. Vliv jednotlivých roků sledování nebyl statisticky průkazný. Nejnižších rozdílů hodnot klíčivosti pylu infikovaných a zdravých stromů bylo zaznamenáno u odrůdy Bergeron (0,75 %), naopak nejvyšší rozdíl 44,75 % byl u pylu odrůdy Marlen

Graf 1 Grafické znázornění rozdílů v klíčivosti pylu (průměrné hodnoty z let 2006-08)



variační koeficient neinfikovaných stromů $v_1 = 36,26\%$

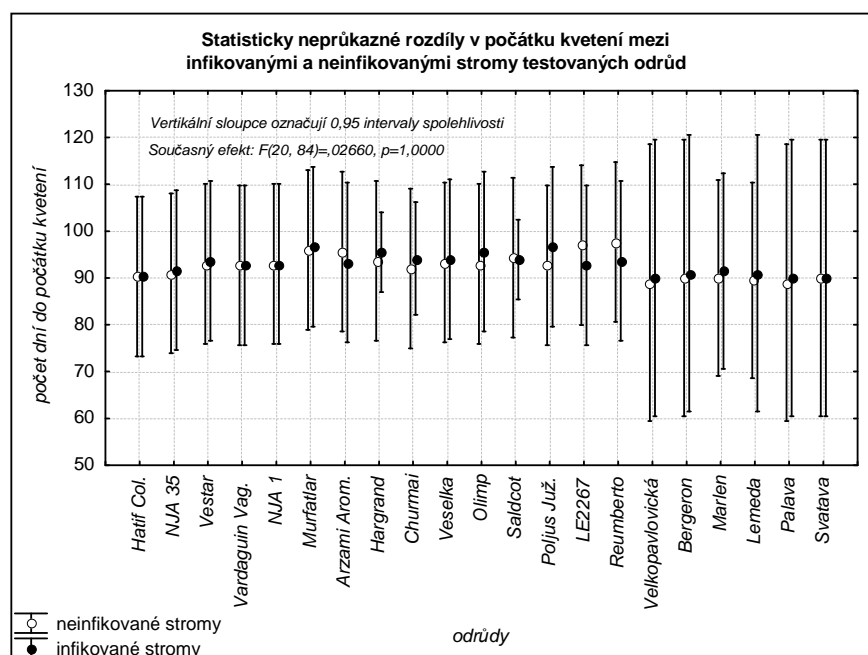
variační koeficient infikovaných stromů $v_1 = 38,46\%$

5.1.2 Doba kvetení

Fenofáze kvetení byla sledována u infikovaných a zdravých stromů dvaceti jedna odrůd meruněk (Graf 2) v letech 2006-08. Výrazné rozdíly v termínu kvetení infikovaných a zdravých stromů meruněk nebyly zaznamenány. Průměrný rozdíl dosahoval 1-2 dny. Výjimkou byly odrůdy Hagrand a Saldcot, kde průměrný rozdíl v začátku kvetení mezi infikovanými a zdravými stromy dosahoval 4-6 dní.

Největší rozdíl v termínu kvetení byl pozorován v roce 2007 mezi stromy odrůdy Saldcot, infikovaný strom začal kvést o 26 dní později než strom neinfikovaný. Statisticky nebyl u testovaného souboru potvrzen průkazný rozdíl v době začátku kvetení mezi infikovanými a zdravými stromy, čímž nebyl statisticky prokázán vliv přítomnosti fytoplazmy ESFY na fenofázi kvetení. Individuální rozdíl u některých odrůd může být dán specifickou interakcí hostitel patogen, případně může souviset s kvantitativním stupněm kolonizace hostitelského stromu a celou řadou jiných faktorů.

Graf 2 Grafické znázornění rozdílností v začátku kvetení (průměry hodnot z roků 2006-08)



variační koeficient neinfikovaných stromů $v_x= 11,58 \%$

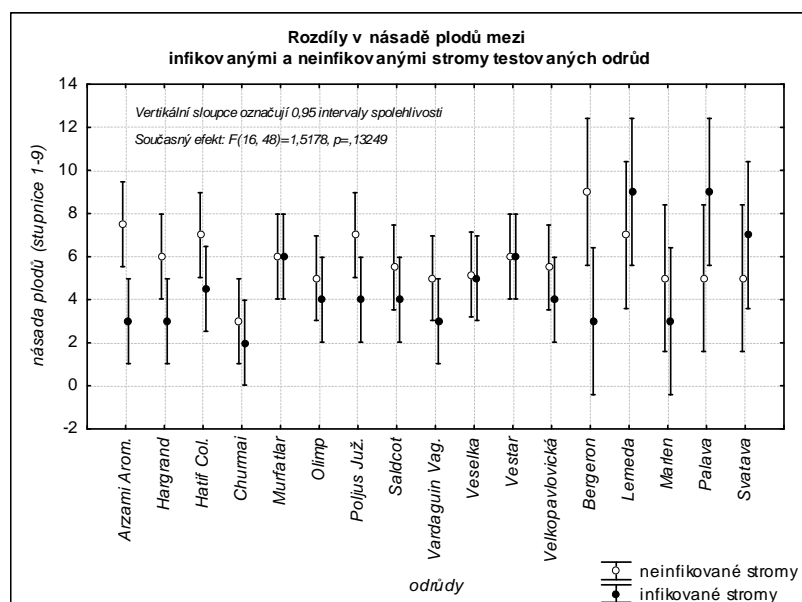
variační koeficient infikovaných stromů $v_x= 11,01 \%$

5.1.3 Násada plodů

Hlavním cílem tohoto hodnocení bylo stanovit násadu plodů a tím získat objektivní pohled pro následné sledování pomologických znaků plodů (především velikost a hmotnost plodů) u infikovaných a neinfikovaných stromů. Kromě toho je násada plodů (a s tím související výnos) i důležitým ekonomickým ukazatelem celkového stavu výsadby (tedy i zdravotního stavu) a efektivity pěstitelského systému. V experimentu byla násada plodů hodnocena v letech 2006-08 před červnovým propadem plůdků a byla hodnocena bodovou stupnicí 1-9 (1 = bez plodů, 9 = maximální násada). U jednotlivých kombinací infikovaný/neinfikovaný strom byly zaznamenány odrůdové rozdíly. V rámci odrůd byly nalezeny významné rozdíly pouze u odrůdy Arzami Aromatnyj.

U stromů této odrůdy se vliv fytoplazmy ESFY projevil snížením násady plodů (u nemocného stromu byla násada průměrně 3 body a u zdravého stromu byla 7,5 bodů). Naproti tomu u stromů odrůd Lameda, Palava a Svatava byla násada plodů vyšší u infikovaných stromů, důvodem bylo nejspíš různé stáří hodnocených stromů. U odrůd Murfatlar a Vestar nebyl v násadě plodů mezi infikovaným a neinfikovaným stromem žádný rozdíl. Statistickou analýzou získaných dat byly prokázány průkazné rozdíly ($p=0,041$) mezi násadou plodů infikovaných a neinfikovaných stromů (Graf 3). Průměrně se násada plodů u infikovaných stromů fytoplazmou ESFY pohybovala na úrovni 3,84 (do 12 kg/strom) a u neinfikovaných na úrovni 5,44 bodu (18 kg/strom), u většiny sledovaných odrůd se tedy přítomnost fytoplazmy ESFY projevila snížením násady plodů infikovaných stromů.

Graf 3 Grafické znázornění rozdílů v násadě plodů (průměrné hodnoty z let 2006-08)



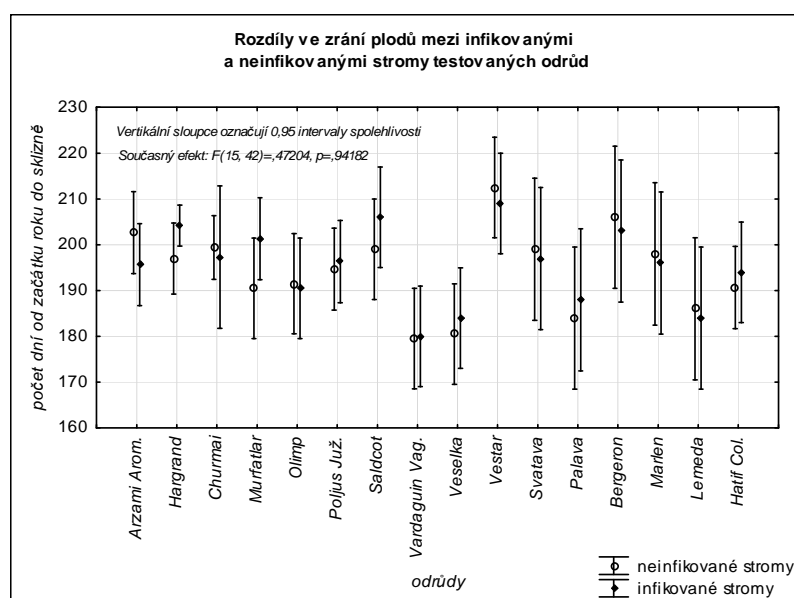
variace koeficient neinfikovaných stromů $v_x= 21,42 \%$
 variace koeficient infikovaných stromů $v_x= 42,75 \%$

5.1.4 Doba zrání

Během pozorování v letech 2006-08 byly zaznamenány výrazné i méně výrazné rozdíly v době zrání plodů z infikovaných a zdravých stromů merunek (Graf 4). Nejvíce odlišná doba zrání plodů byla zaznamenána u stromů odrůdy Murfatlar, plody ze stromu napadeného fytoplazmou ESFY dozrávaly průměrně o jedenáct dní později. U nemocných stromů odrůd Hargrand a Saldcot začala doba zrání plodů o sedm dní později a u nemocného stromu odrůdy Arzami Aromatnyj začala doba zrání plodů o sedm dní dříve oproti zdravým stromům těchto odrůd.

U infikovaných stromů odrůd Hatif Colomer, Veselka a Palava došlo ke zpoždění doby zrání plodů průměrně o 3,33 až 4 dny. Naopak u infikovaných stromů odrůd Vestar a Bergeron došlo k urychlení doby zrání průměrně o 3 dny. U ostatních stromů sledovaných odrůd byly rozdíly v době zrání plodů do třech dnů, ty nejsou však podstatné, mohou být způsobeny i jinými vlivy než přítomností fytoplazmy ESFY. Přestože na základě pozorování byly zaznamenány rozdíly mezi dobou zrání plodů infikovaných a zdravých stromů meruněk, statisticky nebyl u testovaného souboru potvrzen průkazný rozdíl.

Graf 4 Grafické znázornění rozdílů ve zrání plodů (průměrné hodnoty z let 2006-08)



variační koeficient neinfikovaných stromů $v_x = 1,96 \%$
 variační koeficient infikovaných stromů $v_i = 2,34 \%$

5.1.5 Izolace DNA z květů a plůdků a následné stanovení přítomnosti fytoplazmy ESFY pomocí molekulárních metod

V období plného květu v letech 2006-08 byl proveden odběr květů z vybraných infikovaných stromů (Tabulka 7). DNA byla vyizolována zvlášť z pestíků a zvlášť z květních stopek. Pomocí PCR byla stanovena přítomnost fytoplazmy ESFY v květní stopce u 87,5 % z osmi testovaných stromů v roce 2006, u 50 % z dvanácti testovaných stromů v roce 2007 a u 100 % ze třinácti testovaných stromů v roce 2008. V pestíku byla fytoplasma ESFY potvrzena pouze v roce 2008 a to u 15,4 % ze třinácti testovaných stromů.

Rozdílná detekce přítomnosti fytoplazmy ESFY u květní stopky a pestíku některých stromů v jednotlivých letech bude nejspíš souviset s kvantitativním stupněm kolonizace hostitelského stromu, koncentrací fytoplazmy, povětrnostními podmínkami a s tím souvisejícím termínem plného květu, který se v uvedených letech velmi lišil. Závěrem lze konstatovat, že ve většině případů byla pomocí PCR detekována přítomnost fytoplazmy ESFY v květní stopce. Naproti tomu nelze s jistotou tvrdit, že by se fytoplazma ESFY vyskytovala v pestíku, vzhledem k nízkému a neopakovatelnému výsledku detekce.

Tabulka 7 Stanovení přítomnosti fytoplazmy ESFY v květech v letech 2006-08

odrůda (číslo stromu)	20.4.2006		21.3.2007		31.3.2008	
	PCR detekce - pestík	PCR detekce - květní stopka	PCR detekce - pestík	PCR detekce - květní stopka	PCR detekce - pestík	PCR detekce - květní stopka
Arzami Aromatnýj (3. st.)	-	-	-	+	-	+
Arzami Aromatnýj (4. st.)	0	0	-	-	+	+
Arzami Aromatnýj (5. st.)	-	+	0	0	0	0
Hargrand (1. st.)	-	+	-	+	-	+
Hatif Colomer (1. st.)	0	0	-	-	-	+
Hatif Colomer (4. st.)	-	+	-	+	-	+
Churmai (1. st.)	-	+	-	+	+	+
Churmai (5. st.)	0	0	-	+	-	+
Saldcot (2. st.)	0	0	-	-	-	+
Saldcot (4. st.)	-	+	-	-	-	+
Veselka (1. st.)	-	+	0	0	-	+
Veselka (2. st.)	0	0	-	-	-	+
Vestar (2. st.)	-	+	-	+	-	+
Vestar (4. st.)	0	0	-	-	-	+

0 nehodnoceno
 - negativní
 + pozitivní

V období těsně před fyziologickou lignifikací pecky (druhá polovina až konec května) v letech 2006-08 byly z vybraných stromů (Tabulka 8) pozitivních na fytoplazmu ESFY odebrány plůdky. DNA byla vyizolována zvlášť z dužniny a zvlášť z jader a použita pro stanovení přítomnosti ESFY. Přítomnost fytoplazmy ESFY byla pomocí nested PCR stanovena v dužnině plůdků u 50 % z šesti testovaných stromů v roce 2007 a u 43 % ze čtrnácti testovaných stromů v roce 2008.

V jádru semene byla přítomnost fytoplazmy ESFY potvrzena u 29 % ze sedmi stromů v roce 2006, u 50 % z šesti stromů v roce 2007 a u 21 % ze čtrnácti stromů v roce 2008. Vzhledem k předchozím výsledkům týkající se přítomnosti fytoplazmy ESFY v květních částech se dalo předpokládat, že bude detekce v plůdcích problematická. V pestíku se nepodařilo přítomnost fytoplazmy (až na dvě výjimky) prokázat.

U plůdků se povedlo zopakovat pozitivní detekci pouze u dvou případů a to u dužniny ze stromů Arzami Aromatnyj (3. strom) a Poljus Južnyj (3. strom.) Variabilita získaných výsledků bude nejspíš z velké části ovlivněna opět kvantitativním stupněm kolonizace hostitelského stromu, koncentrací fytoplazmy v testovaných částech plůdků a do jisté míry přesností molekulárních metod.

Tabulka 8 Stanovení přítomnosti fytoplazmy ESFY v plůdcích v letech 2006-08

odrůda (číslo stromu)	25.5.2006		15.5.2007		15.5.2008	
	PCR detekce - dužnina	PCR detekce - semenné jádro	PCR detekce - dužnina	PCR detekce - semenné jádro	PCR detekce - dužnina	PCR detekce - semenné jádro
Arzami Aromatnyj (3. st.)	0	0	+	-	+	-
Arzami Aromatnyj (4. st.)	0	0	0	0	+	+
Hargrand (1.st.)	-	+	0	0	-	-
Hargrand (4.st.)	0	0	0	0	-	-
Hargrand (5.st.)	-	+	0	0	-	-
Churmai (1.st.)	-	-	-	-	-	-
LE3204 (1.st.)	0	0	+	-	-	+
Murfatlar (2.st.)	-	-	0	0	-	-
Murfatlar (4.st.)	0	0	-	+	0	0
Poljus Južnyj (3.st.)	0	0	+	+	+	-
Saldcot (1.st.)	-	-	0	0	+	+
Vardaguin Vagdaas (2.st.)	0	0	-	+	-	-
Veselka (1.st.)	-	-	0	0	+	-
Veselka (2.st.)	0	0	0	0	+	-
Vestar (2.st.)	-	-	0	0	-	-

0 nehodnoceno
- negativní
+ pozitivní

5.1.6 Pomologické znaky

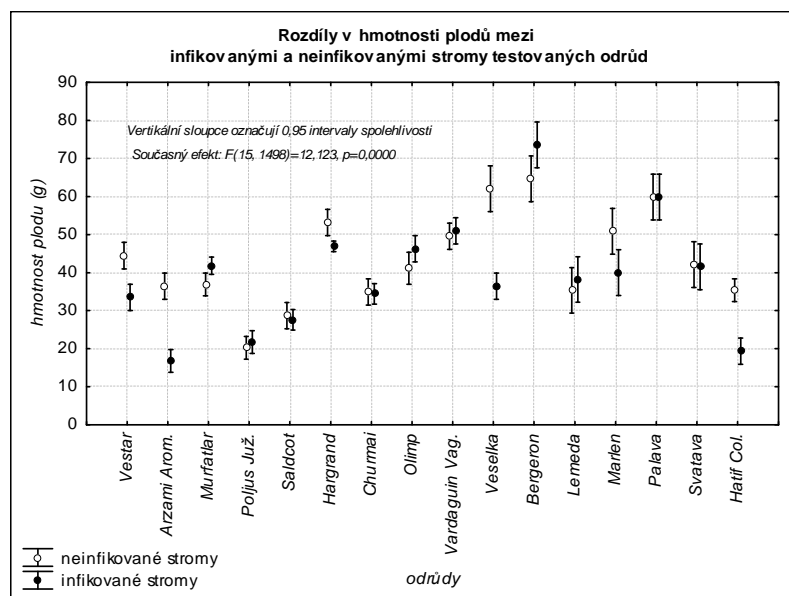
V průběhu experimentu byly hodnoceny kvalitativní i kvantitativní znaky u zdravých a infikovaných stromů. Cílem experimentu bylo prokázat vliv fytoplazmy ESFY na kvalitu konzumního ovoce. Obecně byl vliv fytoplazmy ESFY na kvalitu plodů prokázán a potvrzen ve všech sledovaných parametrech. Zjištěné rozdíly mezi infikovanými a zdravými stromy byly statisticky průkazné. Kromě toho byly nalezeny v rámci sledovaných jednotlivých parametrů u některých odrůd i statisticky neprůkazné hodnoty.

5.1.6.1 Hmotnost plodu, pecky a jádra

Statisticky významné rozdíly hodnot hmotnosti plodů byly potvrzeny v rámci některých odrůd infikovaných a zdravých stromů (Graf 5). Průkazné rozdíly byly nalezeny u odrůd Vestar, Arzami Aromatnyj, Hargrand, Veselka a Hatif Colomer, u kterých byla hmotnost plodů nižší u infikovaných stromů na rozdíl od plodů ze zdravých stromů.

Násada plodů infikovaných stromů u výše uvedených odrůd byla u většiny nižší nebo téměř stejná, proto lze konstatovat, že snížení hmotnosti plodů infikovaných stromů zapříčinila přítomnost fytoplazmy ESFY a násada plodů neměla na hmotnost plodů vliv. Naopak u některých odrůd (Murfatlar, Poljus Južnyj, Olimp, Vardaguin Vagdaas, Bergeron) dosahovala průměrná hmotnost plodu u infikovaných stromů vyšších hodnot než u plodů zdravých stromů. Násada plodů zdravých stromů zmíněných odrůd byla vyšší, a proto můžeme tvrdit, že na vyšší hmotnost plodů infikovaných stromů neměla vliv přítomnost fytoplazmy, nýbrž jejich nižší násada. Průměrná hmotnost plodu se u zdravých stromů pohybovala na úrovni 39,71 g a u infikovaných okolo 38,40 g. Rozdíl dosáhl tedy pouze 3,3 %. Například u odrůdy Veselka dosahovala průměrná hmotnost plodů ze zdravého stromu 60,02 g a z infikovaného pak 36,40 g, což je rozdíl 39,4 %, u odrůdy Arzami Aromatnyj dosahoval rozdíl 35,0 %.

Graf 5 Grafické znázornění rozdílností v hmotnosti plodů (průměrné hodnoty z let 2006-08)

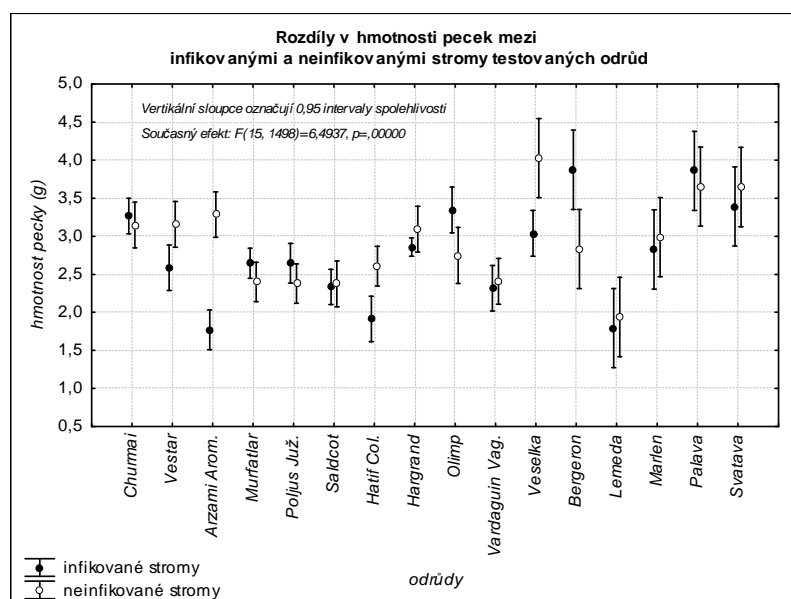


variační koeficient neinfikovaných stromů $v_x = 22,87\%$
 variační koeficient infikovaných stromů $v_x = 26,13\%$

U hmotnosti pecky podobně jako u hmotnosti plodu nebyly potvrzeny statisticky průkazné rozdíly mezi průměrnou hodnotou hmotnosti pecky plodů z infikovaných a neinfikovaných stromů. Průkazné rozdíly byly nalezeny u stromů odrůd Arzami Aromatnyj, Hatif Colomer a Veselka, u kterých byly také potvrzeny statisticky průkazné rozdíly v hmotnosti plodů (Graf 6). I v tomto případě dosahovala hmotnost pecky zdravých stromů vyšších hodnot v porovnání s hmotností pecky stromů nemocných a to i přes fakt, že násada plodů stromů zdravých byla vyšší.

Tudíž se lze domnívat, že menší hmotnost pecky u těchto stromů ovlivnila přítomnost fytoplazmy ESFY. Na druhou stranu u některých odrůd (např. Olimp, Bergeron) byla hmotnost pecky zdravých stromů nižší oproti infikovaným, v těchto případech šlo o typický vliv vyšší násady plodů zdravých stromů. Průměrná hmotnost pecky u infikovaných stromů dosáhla 2,72 g a zdravých 2,80 g. Na základě podobných výsledků u hmotnosti plodu a pecky lze usuzovat, že infekce fytoplazmou ESFY u některých odrůd ovlivnila celkovou hmotnost plodů.

Graf 6 Grafické znázornění rozdílů v hmotnosti pecek (průměrné hodnoty z let 2006-08)

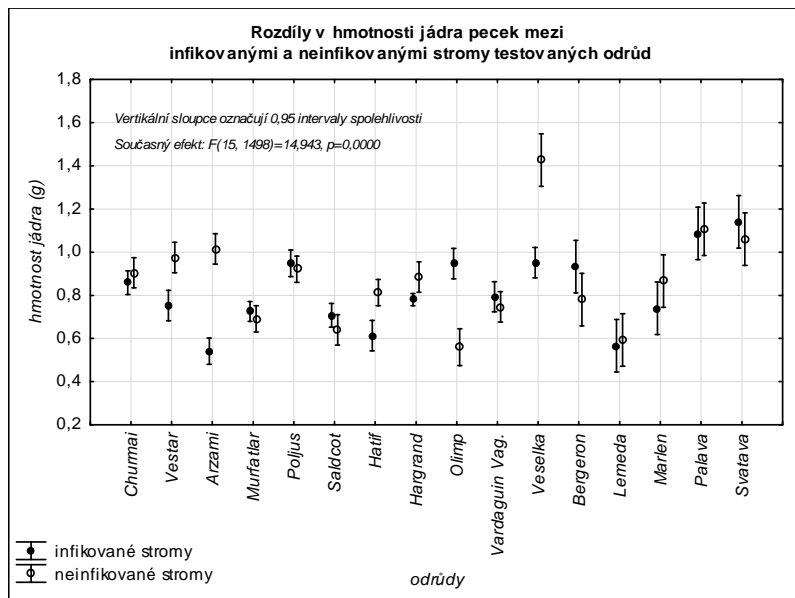


variační koeficient neinfikovaných stromů $v_s= 18,64\%$
 variační koeficient infikovaných stromů $v_s= 21,93\%$

U hmotnosti jader pecek byly nalezeny statisticky průkazné rozdíly u pěti pozorovaných odrůd (Vestar, Arzami Aromatnyj, Hatif Colomer, Olimp a Veselka), stejně jako u hmotnosti plodu, jen se lišily v jedné odrůdě (Graf 7). Stejně jako u hmotnosti plodu, i u hmotnosti jader pecek dosáhly hodnoty odrůd Veselka a Arzami Aromatnyj největších rozdílů, jen větší rozdíl byl u odrůdy Arzami Aromatnyj než Veselky. Průměrná hodnota hmotnosti jader pecek plodů z infikovaného stromu odrůdy Arzami Aromatnyj byla 0,54 g a ze zdravého 1,02 g (rozdílnost byla 47,06%) a u odrůdy Veselka byla 0,95 g u infikovaného stromu a z neinfikovaného stromu byla 1,43 g (rozdíl dosáhl 33,57%). V obou případech dosáhly průměrné hodnoty hmotnosti jader nižších hodnot u jader z infikovaných stromů, přestože byla násada plodů nižší, proto se lze domnívat, že na snížení hmotnosti měla vliv přítomnost fytoplazmy ESFY.

Průměrná hmotnost jader plodů z infikovaných stromů byla nižší (0,79 g) než z neinfikovaných stromů (0,85 g).

Graf 7 Grafické znázornění rozdílů v hmotnosti jader pecek (průměrné hodnoty z let 2006-08)



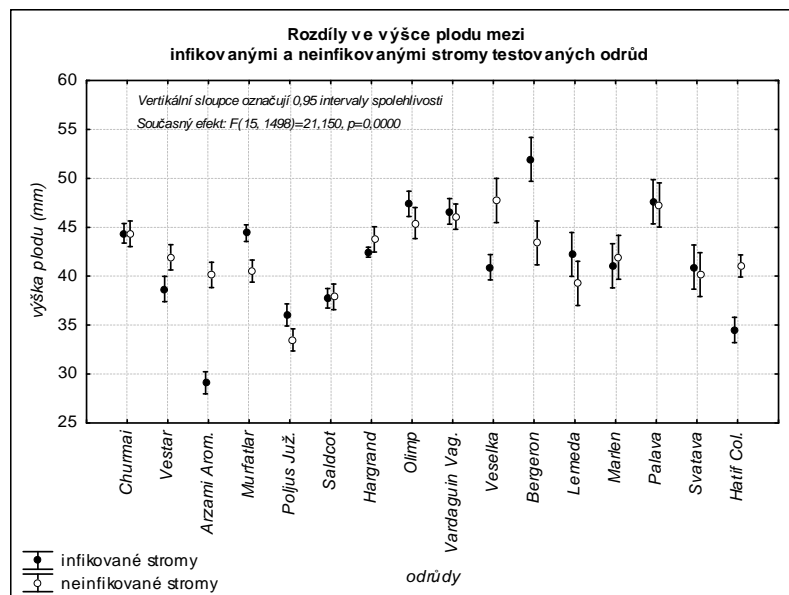
variální koeficient neinfikovaných stromů $v_x = 25,89\%$
 variální koeficient infikovaných stromů $v_x = 25,82\%$

5.1.6.2 Výška plodu a pecky

Ve výšce plodu byly nalezeny statisticky průkazné rozdíly u sedmi odrůd (Graf 8) z šestnácti sledovaných. Nejvýznamnější rozdíly ve výšce plodu byly u odrůdy Arzami Aromatnyj, kde průměrná výška plodu u infikovaných stromů dosáhla 29,11 mm a u neinfikovaných 40,13 mm (rozdílnost 27,46 %). Velké rozdíly byly naměřeny i u plodů ze stromů odrůd Veselka a Hatif Colomer, kde dosahovala průměrná výška plodů vyšších hodnot ze zdravých stromů. Vzhledem k již zmiňované násadě plodů výše uvedených odrůd, můžeme opět konstatovat, že na výsledné rozdíly měla nejspíš vliv přítomnost fytoplazmy ESFY. Naopak u odrůd Murfatlar, Poljus Južnyj a Bergeron byly hodnoty vyšší u plodů ze stromů infikovaných než ze zdravých. Zde šlo o vliv násady plodů, zmíněné odrůdy nebudou nejspíš tak k přítomnosti fytoplazmy ESFY citlivé jako ty předchozí.

Průměrný rozdíl mezi infikovanými a neinfikovanými stromy dosahoval 0,48 %, respektive průměrná výška plodu infikovaných stromů dosáhla 41,20 mm a neinfikovaných 41,40 mm.

Graf 8 Grafické znázornění rozdílů ve výšce plodu (průměrné hodnoty z let 2006-08)

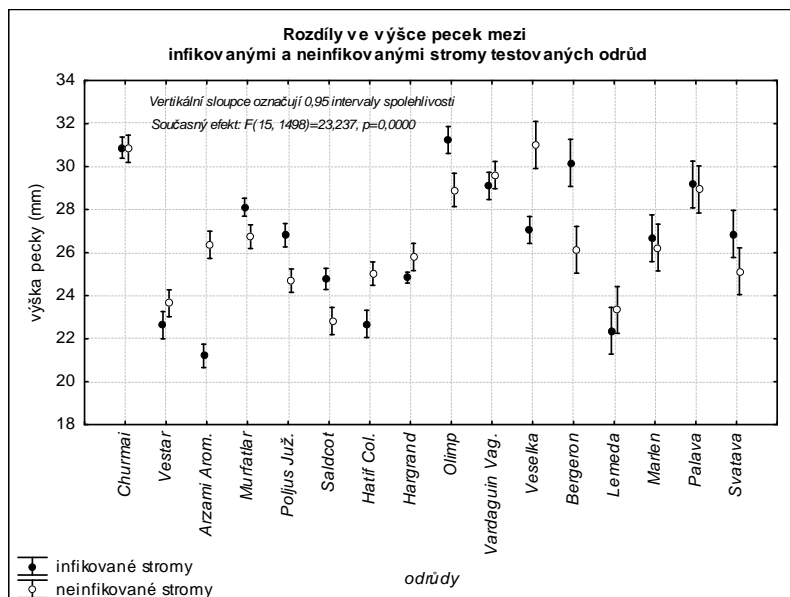


variační koeficient neinfikovaných stromů $v_x = 8,88 \%$
 variační koeficient infikovaných stromů $v_x = 9,12 \%$

Ve výšce pecky byly potvrzeny statisticky významné rozdíly mezi infikovanými a zdravými stromy u osmi odrůd z šestnácti pozorovaných (Graf 9). U třech odrůd (Arzami Aromatnyj, Hatif Colomer a Veselka) dosahovala průměrná výška pecky vyšších hodnot u stromů neinfikovaných a u pěti odrůd (Murfatlar, Poljus Južnyj, Saldcot, Olimp a Bergeron) tomu bylo naopak, tedy vyšších hodnot výšky pecky dosáhly stromy infikované fytoplazmou ESFY než stromy zdravé. Největších rozdílů průměrných hodnot výšky pecky mezi plody z infikovaného a neinfikovaného stromu bylo naměřeno u odrůdy Arzami Aromatnyj, kde průměrná výška pecky plodů z infikovaného stromu byla stanovena na 21,2 mm a ze zdravého stromu na 26,36 mm (rozdíl 19,6%). Z výše uvedeného opět vyplývá, že u některých odrůd (Arzami Aromatnyj, Hatif Colomer a Veselka) měla větší vliv na výsledné hodnoty výšky pecky přítomnost fytoplazmy ESFY a na některé (Poljus Južnyj, Saldcot, Bergeron aj.) měla významnější účinek násada plodů.

Průměrná hodnota výšky pecky u sledovaných infikovaných stromů byla celkově nižší (26,13 mm) než u stromů zdravých (26,36 mm), rozdílnost byla však pouze 0,87%.

Graf 9 Grafické znázornění rozdílů ve výšce pecky (průměrné hodnoty z let 2006-08)



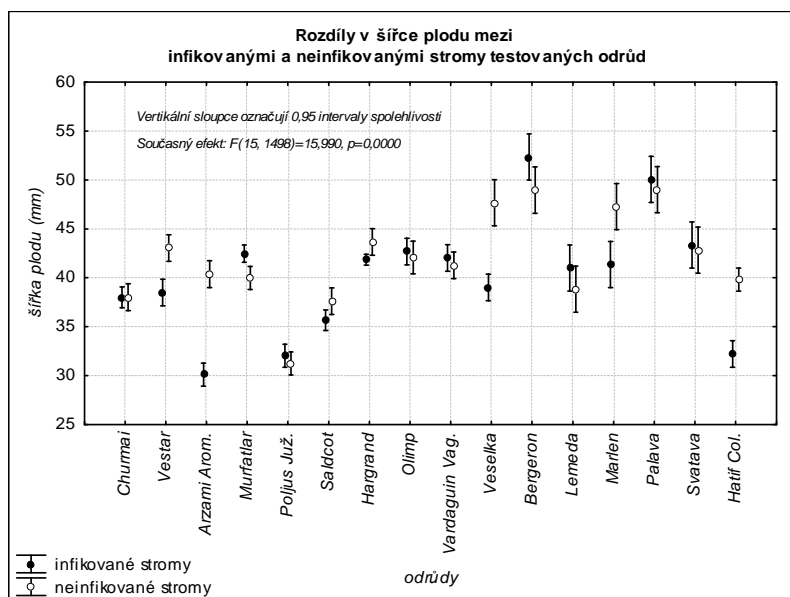
variální koeficient neinfikovaných stromů $v_x = 6,60\%$
 variální koeficient infikovaných stromů $v_x = 7,70\%$

5.1.6.3 Šířka plodu a pecky

Rozdíly v průměrné hodnotě šířky plodu mezi infikovanými a neinfikovanými stromy nebyly statisticky průkazné. Průměrná šířka plodu se u neinfikovaných stromů pohybovala na úrovni 40,32 mm a u infikovaných okolo 39,39 mm. Rozdíl dosáhl tedy pouze 2,3 %. Statisticky významné rozdíly byly však nalezeny v rámci některých odrůd mezi jejich infikovanými a zdravými stromy (Graf 10). Průkazné rozdíly byly zjištěny u šesti odrůd (Vestar, Arzami Aromatnyj, Murfatlar, Veselka, Marlen a Hatif Colomer), kde v pěti případech přítomnost fytoplazmy ESFY způsobila zúžení plodů na rozdíl od plodů ze zdravých stromů. Stejně jako v případě výšky plodu, i u šířky plodu bylo dosaženo nejvýznamnějších rozdílů hodnot mezi plody z infikovaného a neinfikovaného stromu odrůdy Arzami Aromatnyj, u které průměrná hodnota šířky plodu z infikovaného stromu byla vypočtena na 30,1 mm a ze zdravého stromu na 40,38 mm (rozdíl 25,46%). Vzhledem k tomu, že násada plodů byla v průměru nižší u stromu infikovaného než u zdravého, lze tento vliv vyloučit a naopak můžeme tvrdit, že na zúžení plodů z infikovaného stromu měla vliv přítomnost fytoplazmy ESFY.

Stejně tomu bylo u infikovaných stromů odrůd Veselka, Hatif Colomer, Vestar a Marlen.

Graf 10 Grafické znázornění rozdílů v šířce plodu (průměry hodnot z let 2006-08)

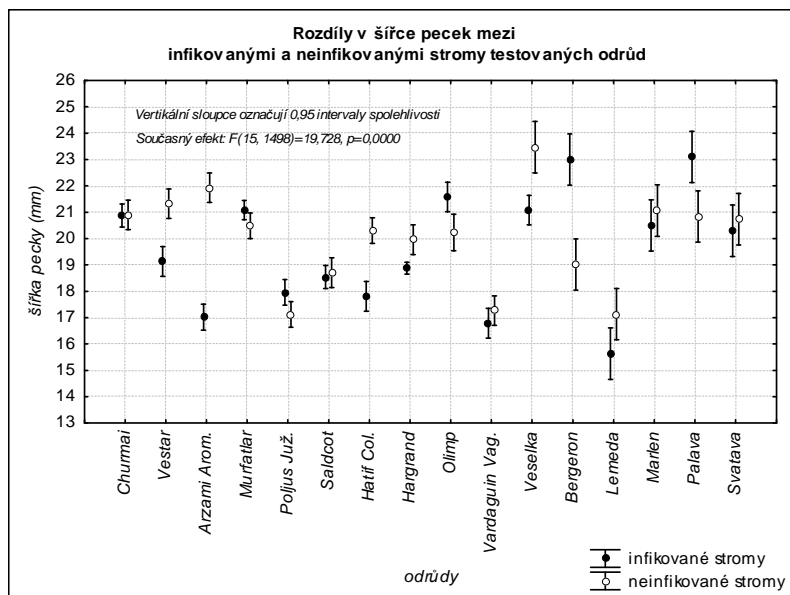


variační koeficient neinfikovaných stromů $v_s= 9,35 \%$
 variační koeficient infikovaných stromů $v_i= 9,75 \%$

Statistické vyhodnocení šířky pecky prokázalo statisticky vysoce průkazné rozdíly (Graf 11) u sedmi odrůd z šestnácti hodnocených (Vestar, Arzami Aromatnyj, Hatif Colomer, Hargrand, Veselka, Bergeron, Palava). Největší rozdíly byly nalezeny stejně jako u výšky pecky u odrůdy Arzami Aromatnyj, kde rozdíl mezi šířkou pecky z neinfikovaného a infikovaného stromu dosáhl 22,44%. Průměrná hodnota šířky pecky z neinfikovaného stromu byla vypočtena na 21,93 mm a z infikovaného stromu na 17,02 mm. Statisticky průkazné nižší hodnoty šířky pecky měly i infikované stromy odrůd Vestar, Hatif Colomer, Hargrand a Veselka, u nichž snížení hodnot ovlivnila také přítomnost fytoplazmy ESFY, poněvadž násada plodů infikovaných stromů byla průměrně nižší než u zdravých stromů. Na druhé straně byla objevena i opačná varianta, kdy bylo dosaženo vyšších hodnot šířky pecky z infikovaného stromu než ze stromu zdravého, tento jev nastal celkem u pěti odrůd a z toho u dvou odrůd šlo o vysoce průkazné rozdíly (Bergeron a Palava). V těchto případech šlo o účinek násady plodů, která byla u těchto odrůd nižší u stromů infikovaných než zdravých.

Na závěr lze konstatovat, že průměrný rozdíl v šířce pecek mezi nenapadenými a infikovanými stromy dosáhl 2,87 %. Tedy šířka pecek z infikovaných stromů byla průměrně nižší (19,29 mm) o 2,87 % než ze stromů zdravých (19,86 mm).

Graf 11 Grafické znázornění rozdílů v šířce pecky (průměrné hodnoty z roků 2006-08)



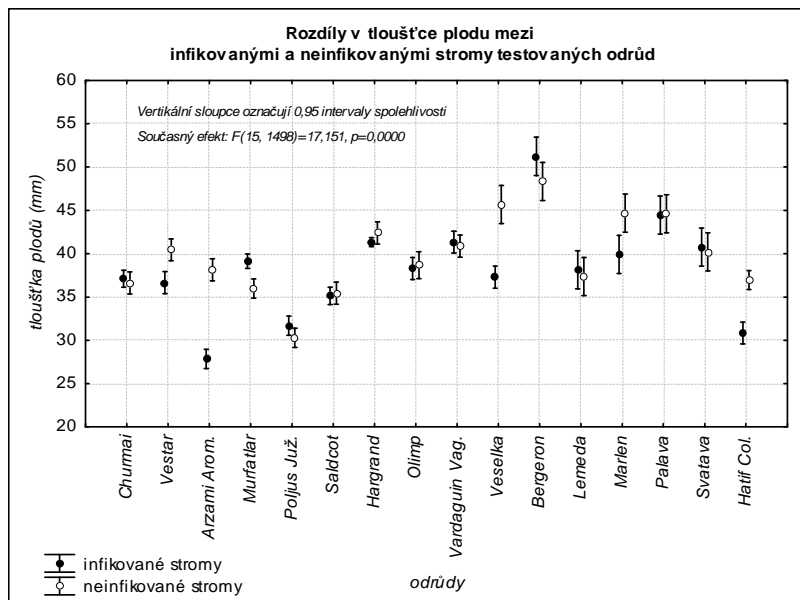
variační koeficient neinfikovaných stromů $v_x = 8,31$ %
 variační koeficient infikovaných stromů $v_x = 8,23$ %

5.1.6.4 Tloušťka plodu a pecky

Statistická analýza hodnot zjištěných u tloušťky plodu prokázala statisticky průkazné rozdíly v šesti variantách (Vestar, Arzami Aromatnyj, Murfatlar, Veselka, Marlen a Hatif Colomer) z šestnácti pozorovaných (Graf 12). Největší rozdíl v průměrných hodnotách tloušťky plodu mezi neinfikovaným a infikovaným stromem byl zjištěn opět u odrůdy Arzami Aromatnyj, kde rozdíl dosáhl 27,02 %. Průměrná hodnota tloušťky plodu z infikovaného stromu byla vypočtena na 27,85 mm a ze zdravého stromu na 38,16 mm. Z šesti případů, kde byly prokázány statisticky průkazné rozdíly, způsobila infekce fytoplazmou ESFY ztenčení tloušťky plodu u pěti odrůd (Arzami Aromatnyj, Vestar, Veselka, Hatif Colomer a Marlen) oproti plodům ze stromů zdravých. Stejně jako u předešlých pomologických znaků, neměla násada plodů na výsledné hodnoty vliv. Půjde nejspíš o citlivější odrůdy k přítomné fytoplazmě ESFY, která pravděpodobně ztenčení tloušťky plodů zapříčinila. V případě odrůd, u nichž byly získány opačné výsledky, tedy větší hodnoty tloušťky plodu ze stromů infikovaných (např. Murfatlar, Poljus Južnyj, Bergeron aj.), můžeme říci, že získané hodnoty byly ovlivněny násadou plodů. Tyto odrůdy nebudou nejspíš k přítomné fytoplazmě ESFY tak citlivé jako odrůdy výše popsané.

Závěrem lze konstatovat, že rozdíl mezi průměrnými hodnotami tloušťky plodu ze všech testovaných zdravých a infikovaných stromů dosáhl 24,56 %. Přičemž průměrná hodnota tloušťky plodu ze stromů infikovaných byla vypočítána na 37,91 mm a z neinfikovaných stromů na 50,25 mm.

Graf 12 Grafické znázornění rozdílů hodnot v tloušťce plodu (průměrné hodnoty z let 2006-08)

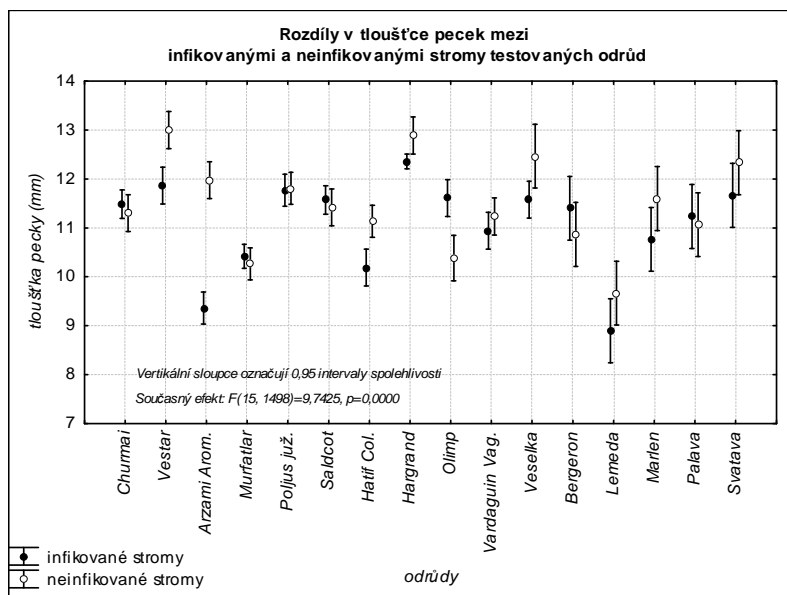


variační koeficient neinfikovaných stromů $v_s= 9,22\%$
 variační koeficient infikovaných stromů $v_s= 9,09\%$

Při analýze získaných hodnot tloušťky pecky byly prokázány statisticky průkazné rozdíly pouze u čtyř odrůd (Vestar, Arzami Aromatnyj, Hatif Colomer a Olimp) z šestnácti hodnocených (Graf 13). Stejně jako u předešlých pomologických vlastností bylo dosaženo největších rozdílů hodnot tloušťky pecky mezi infikovaným a zdravým stromem odrůdy Arzami Aromatnyj. I v tomto případě byly v průměru pecky z infikovaného stromu odrůdy Arzami Aromatnyj tenčí (9,36 mm) o 21,87 % než pecky ze stromu nenapadeného (11,98 mm). Vzhledem k již zmiňované hodnotě násady plodů lze říci, že ztenčení pecek bylo zapříčiněno pravděpodobně vlivem přítomné fytoplazmy ESFY u infikovaného stromu. Stejně tomu bylo i u stromů odrůd Vestar a Hatif Colomer. Také se objevily opačné případy, kdy průměrná hodnota tloušťky pecky zdravých stromů dosáhla nižších hodnot než ze stromů infikovaných, u těchto odrůd (Olimp, Bergeron, Saldcot aj.) šlo o větší účinek násady plodů.

Průměrná hodnota tloušťky pecky z celého sledovaného souboru odrůd byla jen o 0,7 % vyšší u stromů zdravých (11,5 mm) oproti stromům infikovaným (11,42 mm).

Graf 13 Grafické znázornění rozdílností hodnot v tloušťce pecek (průměry z let 2006-08)



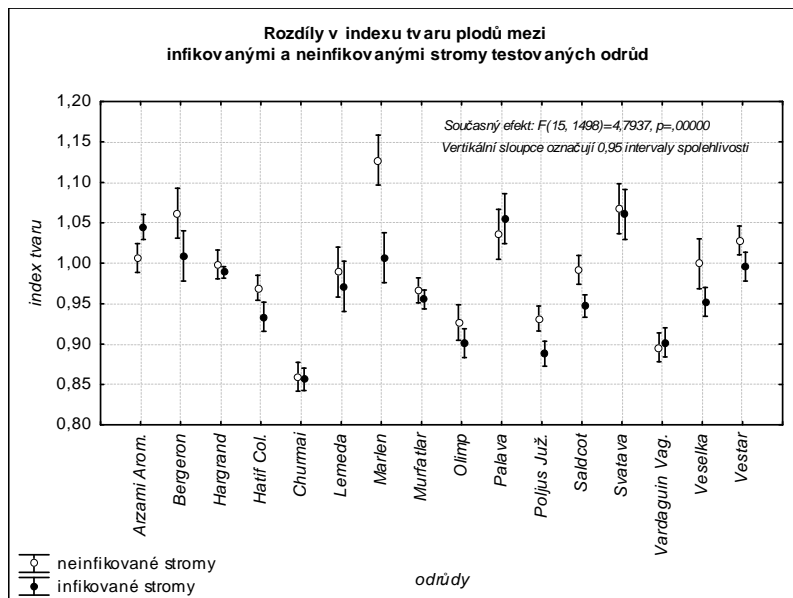
variální koeficient neinfikovaných stromů $v_1 = 8,30\%$
 variální koeficient infikovaných stromů $v_2 = 11,69\%$

5.1.6.5 Index tvaru plodu

Tak jak je tomu u mnohých onemocnění, byl i u Evropské žloutenky peckovin hodnocen její vliv na deformaci plodů. U sklizených plodů byly měřeny tři základní rozměry a to výška, šířka a tloušťka. Ze získaných dat byl vypočten index tvaru plodu metodou popsanou podle TANAKA et al., (1995). Z výsledků je patrné, že existují vysoce průkazné rozdíly ve tvaru plodů z infikovaných a zdravých stromů (Graf 14). Průměrný index tvaru plodů z infikovaných stromů dosahuje hodnot 0,95 a u neinfikovaných stromů je průměrný index 0,98. Lze tedy konstatovat, že plody ze zdravých stromů byly více oválné ve srovnání s plody ze stromů infikovaných. Nejvýznamnější rozdíly v indexu tvaru plodu dosáhly hodnoty infikovaného a zdravého stromu odrůdy Arzami Aromatnyj, Poljus Južnyj, Saldcot a Marlen. U odrůdy Marlen byl zaznamenán extrémní rozdíl na úrovni 11,3 %, plody infikovaného stromu byly kulatější než plody ze stromu zdravého. U odrůdy Arzami Aromatnyj (i odrůdy Palava a Vardaguin Vagdaas) nastal opačný jev, plody stromu infikovaného byly oválnější než plody stromu zdravého.

Na závěr lze říci, že přítomnost fytoplazmy ESFY ovlivnila tvar plodu, u většiny odrůd byly plody z infikovaných stromů kulatější než plody stromů zdravých.

Graf 14 Grafické znázornění rozdílností v indexu tvaru plodu (průměrné hodnoty 2006-08)



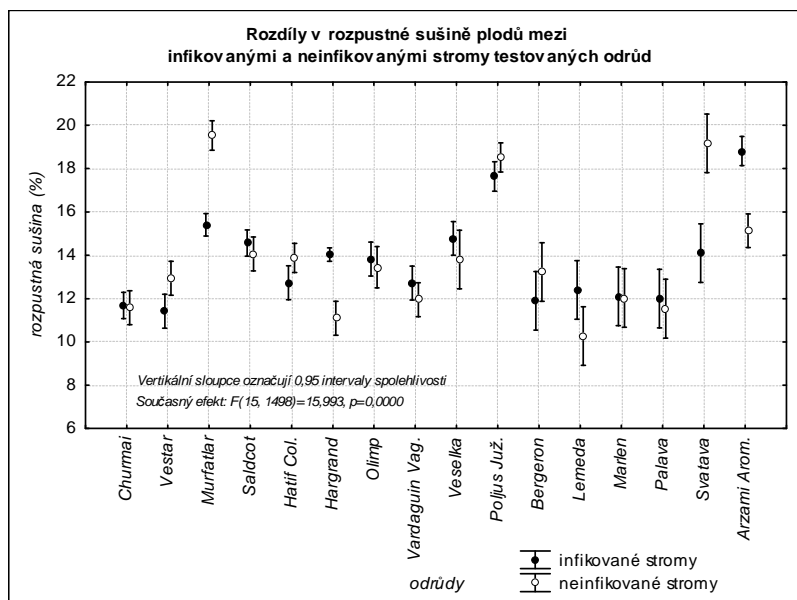
variační koeficient neinfikovaných stromů $v_x = 5,34 \%$
 variační koeficient infikovaných stromů $v_x = 5,51 \%$

5.1.6.6 Rozpustná sušina plodu

Statistické vyhodnocení rozpustné sušiny plodu prokázalo statisticky vysoce průkazné rozdíly (Graf 15) u čtyř odrůd z šestnácti hodnocených (Murfatlar, Hargrand, Svatava a Arzami Aromatnyj). U odrůdy Murfatlar a Svatava byly hodnoty rozpustné sušiny plodů výrazně nižší u plodů ze stromu infikovaného fytoplazmou ESFY. Násada plodů, která mohla hodnoty rozpustné sušiny ovlivnit, byla v průměru téměř na stejné úrovni mezi infikovaným a zdravým stromem odrůdy Murfatlar a výrazně vyšší u stromu infikovaného než u zdravého odrůdy Svatava. Vzhledem k násadě plodů by se dalo říci, že nižší hodnota rozpustné sušiny plodu z infikovaného stromu byla spíše zapříčiněna vyšší násadou plodů odrůdy Svatava než přítomnou fytoplazmou ESFY. Naproti tomu u odrůd Arzami Aromatnyj a Hargrand byly zjištěny nižší hodnoty rozpustné sušiny plodů ze stromu zdravého a jejich násada plodů byla průměrně vyšší. Vzhledem k násadě plodů by se dalo říci, že vyšší hodnoty rozpustné sušiny plodů infikovaných stromů byly spíše ovlivněny jejich nižší násadou než přítomnou fytoplazmou ESFY.

Průměrná hodnota rozpustné sušiny plodů z infikovaných stromů (14,22 %) byla o 0,84 % nižší než ze stromů neinfikovaných (14,34 %).

Graf 15 Grafické znázornění rozdílů v rozpustné sušině plodu (průměrné hodnoty z let 2006-08)



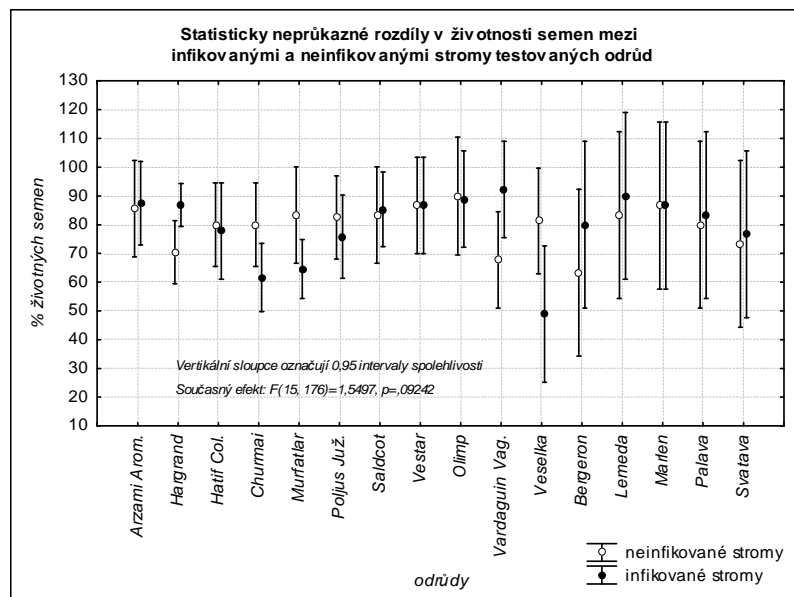
variační koeficient neinfikovaných stromů $v_x = 16,11\%$
 variační koeficient infikovaných stromů $v_x = 15,59\%$

5.1.7 Životnost semen

Životnost semen byla u testovaného souboru hodnocena ve dvou termínech v období 2006-08. V prvním termínu (bezprostředně po sklizni plodů) se životnost semen z infikovaných stromů pohybovala na průměrné hodnotě 76,0 % a ve druhém termínu (po tříměsíčním skladování) na průměrné hodnotě 82,8 %. U zdravých stromů byly dosaženy v prvním termínu hodnoty 74,8 % a ve druhém 84,0 %. Z výsledků je patrné, že úroveň životnosti semen byla bezprostředně po sklizni vyšší u infikovaných stromů, přičemž ve druhém termínu po tříměsíčním skladování byla již nepatrně nižší. U infikovaných stromů se vyskytovalo více deformovaných semen cca 5 %, u neinfikovaných cca 2 %. Největší rozdíl v životnosti semen byl nalezen u semen odrůdy Veselka, průměrná hodnota životnosti semen z infikovaných stromů byla 48,9 % a ze stromu neinfikovaného byla životnost semen 81,32 %.

Přestože byly zaznamenány rozdíly v životnosti semen z infikovaných a zdravých stromů meruněk, statisticky nebyl u testovaného souboru potvrzen průkazný rozdíl (Graf 16).

Graf 16 Grafické znázornění rozdílů v životnosti semen (průměrné hodnoty z roků 2006-08)



variační koeficient neinfikovaných stromů $v_s = 11,09\%$
 variační koeficient infikovaných stromů $v_s = 14,24\%$

5.2 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY

Symptomatický projev fytoplazmy ESFY byl sledován u letorostů prorostlých z inokul pocházejících z devíti vybraných infikovaných stromů různých odrůd meruněk a jednoho stromu odrůdy broskvoně a u rostlin pěti odlišných podnoží, na něž byla inokula naočkována. Pomocí statistické analýzy byl vyhodnocen zvlášť výskyt symptomatických letorostů prorostlých z inokul a zvlášť výskyt symptomatických rostlin podnoží, přičemž jako symptomatický jedinec byl považován letorost nebo rostlina podnože s jakýmkoliv symptomem. Dále byla porovnávána různost symptomů na letorostech a rostlinách podnoží, jejímž cílem bylo zjistit rozdíly v počtu projevujících se symptomů. Čím více se na rostlině objevilo různých symptomů, tím větší byla různost. Statisticky byla zpracována četnost jednotlivých symptomů vyskytujících se na letorostech prorostlých z inokul a na rostlinách podnoží, čímž bylo vyjádřeno jaký symptom se průměrně vyskytoval nejčastěji. Poslední pozorovanou charakteristikou byl předčasný úhyn letorostů prorostlých z inokul a rostlin podnoží.

Kontrolní rostliny neinokulovaných podnoží byly po celou dobu bez symptomů, pouze v posledním roce výzkumu (2009) došlo během vegetace (květen) k úhynu všech rostlin podnože GF 305 jak inokulovaných fytoplazmou ESFY tak i kontrolních (neinokulovaných). Pravděpodobnou příčinou úhynu mohl být vliv stresu z nespecifikovaných vnějších faktorů (vliv nádobového pokusu, stres z přemokření, sucha, silné mrazy v první polovině měsíce leden 2009 - nejnižší přízemní teplota dosáhla až -21,00°C).

5.2.1 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY po inokulaci očky z roubů z infikovaného stromu 1 odrůdy Hargrand

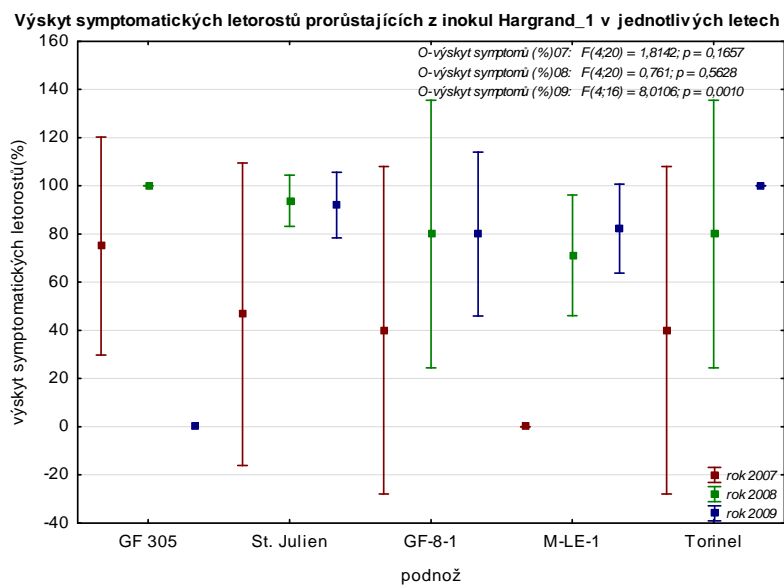
Pro studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY byla statisticky hodnocena četnost výskytu jednotlivých symptomů, různost symptomů, četnost symptomatických rostlin podnoží a letorostů prorůstajících z inokul z infikovaného prvního stromu odrůdy Hargrand (dále jen inokulum Hargrand_1). Na prvním stromu odrůdy Hargrand se v roce odběru (2006) inokulačního materiálu objevila výrazná svinutka listů. Hodnocen byl i celkový úhyn letorostů prorůstajících z inokul Hargrand_1 a rostlin podnoží.

5.2.1.1 Symptomatický projev fytoplazmy ESFY na letorostech prorůstajících z inokul Hargrand_1

Statistická analýza výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Hargrand_1 s testovanými podnožemi našla vysoce průkazné rozdíly v četnosti pouze v roce 2009 (Graf 17). Přičemž nejvyšší hodnoty výskytu symptomatických letorostů dosáhla kombinace inokul Hargrand_1 s podnoží Torinel (100 %) a s podnoží St. Julien 655/2 (průměrně 92 %). Nejnižší výskyt symptomatických letorostů měla kombinace Hargrand_1 s podnoží GF 305, protože v roce 2009 všechny letorosty prorůstající z inokula Hargrand_1 i rostliny podnože uhynuly. Kombinace inokul Hargrand_1 s podnoží GF 305 dosáhla nejvyšší hodnoty četnosti výskytu symptomatických letorostů již v roce 2008 (druhým rokem po inokulaci) a to 100 %. Přítomnost fytoplazmy ESFY byla pomocí PCR stanovena u 100 % letorostů prorůstajících z inokul Hargrand_1 na podnoží GF 305, Torinel a GF-8-1, u 78 % letorostů Hargrand_1 na podnoží M-LE-1 a u 44 % letorostů Hargrand_1 na podnoží St. Julien 655/2.

Z daného vyplývá, že kombinace inokul Hargrand_1 s podnoží GF 305 reagovala na přítomnost fytoplazmy ESFY nejrychleji a nejcitlivěji, když maximálních hodnot výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Hargrand_1 dosáhla již v druhém roce po inokulaci.

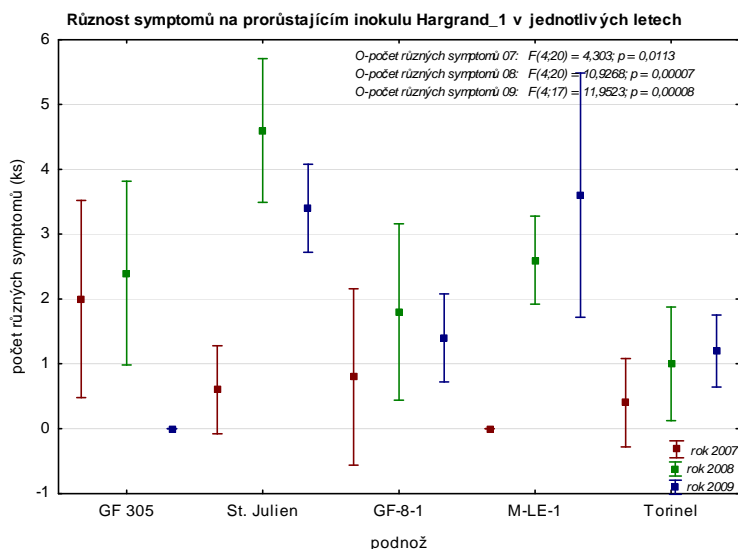
Graf 17 Grafické znázornění rozdílnosti v četnosti výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Hargrand_1 v jednotlivých letech 2007-09



Cílem statistické analýzy různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Hargrand_1 bylo zjistit rozdíly v počtu projevujících se symptomů na letorostech v kombinaci s různými podnožemi. Čím více se na rostlině objevilo různých symptomů, tím větší byla různost. Mezi testovanými kombinacemi inokul Hargrand_1 s různými podnožemi byly nalezeny vysoce průkazné rozdíly v různosti symptomů na letorostu prorůstajícího z testovaného inokula v letech 2008 a 2009 a průkazné rozdíly v roce 2007 (Graf 18). V roce 2008 dosáhly nejvyšších hodnot kombinace inokul Hargrand_1 s podnoží St. Julien 655/2 (4,6 ks), s podnoží M-LE-1 (2,6 ks) a s GF 305 (2,4 ks). V roce 2009 nejvyšší hodnoty různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Hargrand_1 měly s podnožemi M-LE-1 (3,6 ks) a St. Julien 655/2 (3,4 ks). Kombinace inokul Hargrand_1 s GF 305 v roce 2009 měly nulovou různost symptomů, z důvodu již zmíněného předčasného úhynu všech rostlin počátkem vegetace roku 2009.

Nejnižší hodnoty ve všech letech měla kombinace Hargrand_1 / Torinel, ale vzhledem k tomu, že prorostl pouze jeden letorost z inokula, nelze z daného výsledku dělat věrohodný úsudek.

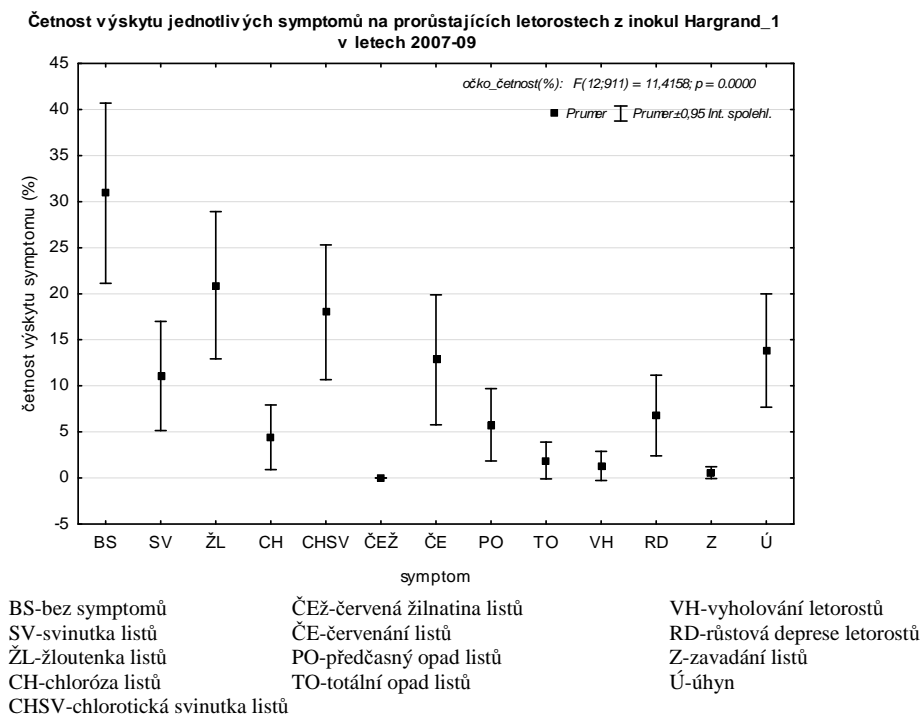
Graf 18 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Hargrand_1 v jednotlivých letech 2007-09



Statistická analýza výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Hargrand_1 s různými podnožemi prokázala vysoce průkazné rozdíly v jejich četnosti. Na sledovaných letorostech se nejčastěji vyskytovaly symptomy žloutenka (20,9 %), chlorotická svinutka (17,9 %), červenání (12,8 %) a svinutka (11,1 %), jenž se nejčastěji vyskytují v plném rozvoji onemocnění. Ve srovnání se symptomy z prvního stromu odrůdy Hargrand, ze kterého pocházel inokulační materiál, byl však symptomatický projev výrazně odlišný. Na prvním stromu odrůdy Hargrand se v největší míře objevovala svinutka listů, která se u letorostů prorůstajících z inokul Hargrand_1 vyskytovala až na čtvrtém místě (Graf 19). Největší podíl měly letorosty bez symptomů (30,9 %). Vzhledem k tomu, že přítomnost fytoplazmy ESFY byla pomocí PCR prokázána průměrně u 81 % letorostů prorůstajících z inokul Hargrand_1, můžeme konstatovat, že u některých letorostů bez symptomatického projevu šlo o latentní infekci.

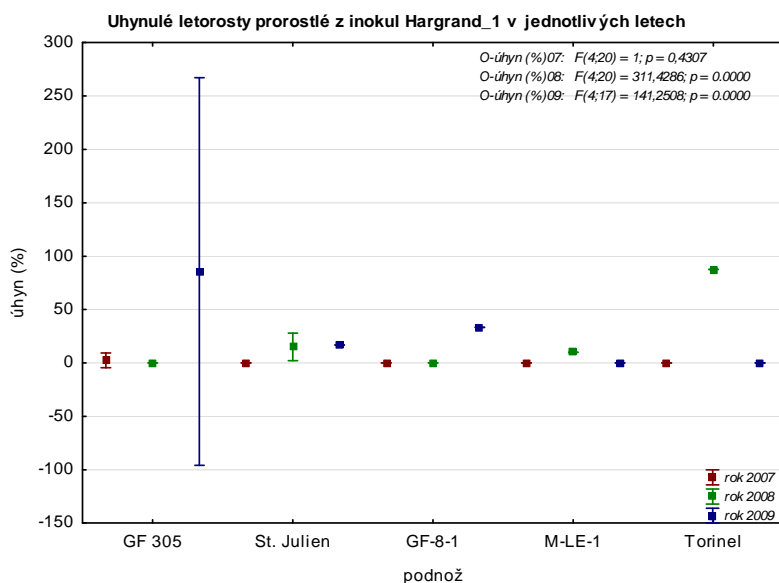
Vysoké zastoupení letorostů bez symptomů je také ovlivněno skutečností, že se symptomy začaly u většiny letorostů projevovat spíše druhým rokem po inokulaci.

Graf 19 Grafické znázornění rozdílů v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Hargrand_1 v letech 2007-09



Při porovnávání předčasného úhynu letorostů prorůstajících z inokul Hargrand_1 na různých podnožích byly nalezeny vysoce průkazné rozdíly v letech 2008 a 2009 (Graf 20). V roce 2008 nejvyšší hodnoty předčasného úhynu dosáhly letorosty prorůstající z inokul Hargrand_1 na podnoži Torinel (87,5 %) a St. Julien 655/2 (15 %). V roce 2009 měly nejvyšší hodnoty předčasného úhynu letorosty na podnoži GF 305 (86 %) a GF-8-1 (33,3 %). Vzhledem k úhynu všech kontrolních rostlin podnože GF 305, nemůžeme tvrdit, že letorosty s rostlinami podnože GF 305 uhynuly z důvodu napadení fytoplazmou ESFY.

Graf 20 Grafické znázornění rozdílů v úhynu letorostů prorostlých z inokul Hargrand_1 v jednotlivých letech 2007-09



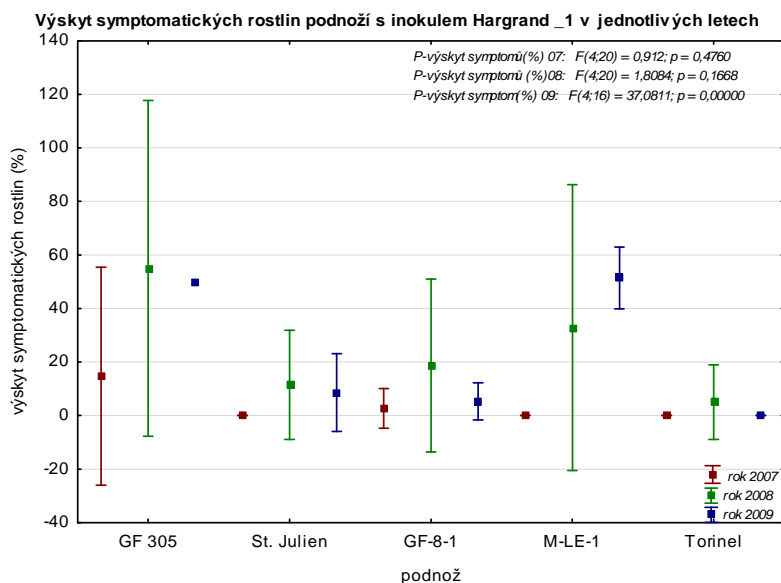
Ze statistické analýzy výskytu symptomatických rostlin, různosti symptomů a úhynu lze říci, že inokula Hargrand_1 dosáhla, vzhledem k počtu pozitivních letorostů na fytoplazmu ESFY, nejvyšších hodnot zkoumaných charakteristik s podnoží GF 305 a to již v prvním roce po inokulaci. U kombinace inokula Hargrand_1 s podnoží GF 305 došlo tedy k nejrychlejšímu rozvoji onemocnění fytoplazmou ESFY.

5.2.1.2 Symptomatický projev fytoplazmy ESFY na testovaných podnožích s inokuly Hargrand_1

Statistická analýza četnosti výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Hargrand_1 neprokázala výrazné rozdíly (Graf 21). V roce 2007 (první rok po umělé inokulaci) a 2008 nebyly v testovaném souboru podnoží zaznamenány žádné statisticky průkazné rozdíly. V roce 2009 byly zjištěny vysoce průkazné rozdíly ve výskytu symptomatických rostlin zkoumaných podnoží. Nejvyšší procento vyskytujících se symptomatických rostlin dosáhla podnož M-LE-1 (průměrně 51,4 %) a GF 305 (50 %). U podnože M-LE-1, jako u jediné z testovaných podnoží, měl výskyt symptomatických rostlin stoupající charakter v jednotlivých letech, což bylo předpokládáno u všech podnoží, vzhledem k průběhu infekčního tlaku a zmnožení fytoplazmy ESFY. Přítomnost fytoplazmy ESFY byla potvrzena pomocí PCR u 57 % rostlin podnože M-LE-1 a u 86 % podnože GF 305, ostatní podnože nedosahovaly 40 % pozitivních rostlin.

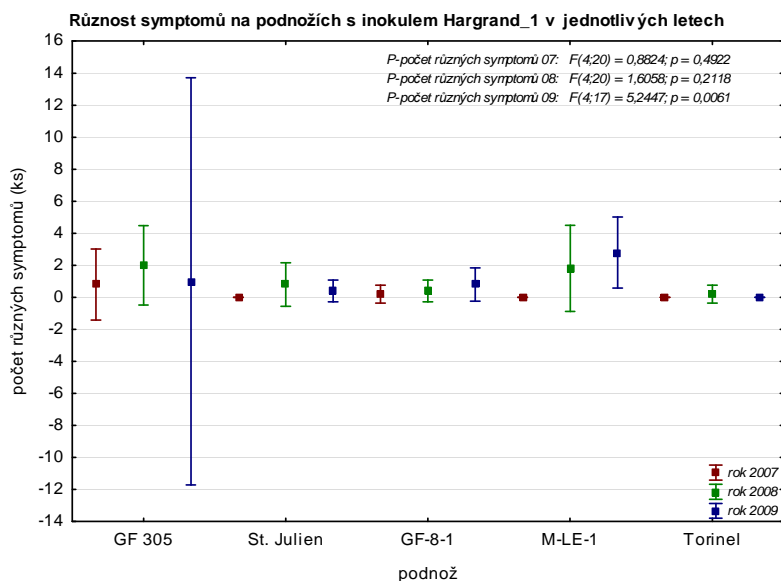
Pokles výskytu symptomatických rostlin podnože GF 305 v posledním zkoumaném roce byl důsledek vysokého úhynu rostlin.

Graf 21 Grafické znázornění rozdílností ve výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Hargrand_1 v jednotlivých letech 2007-09



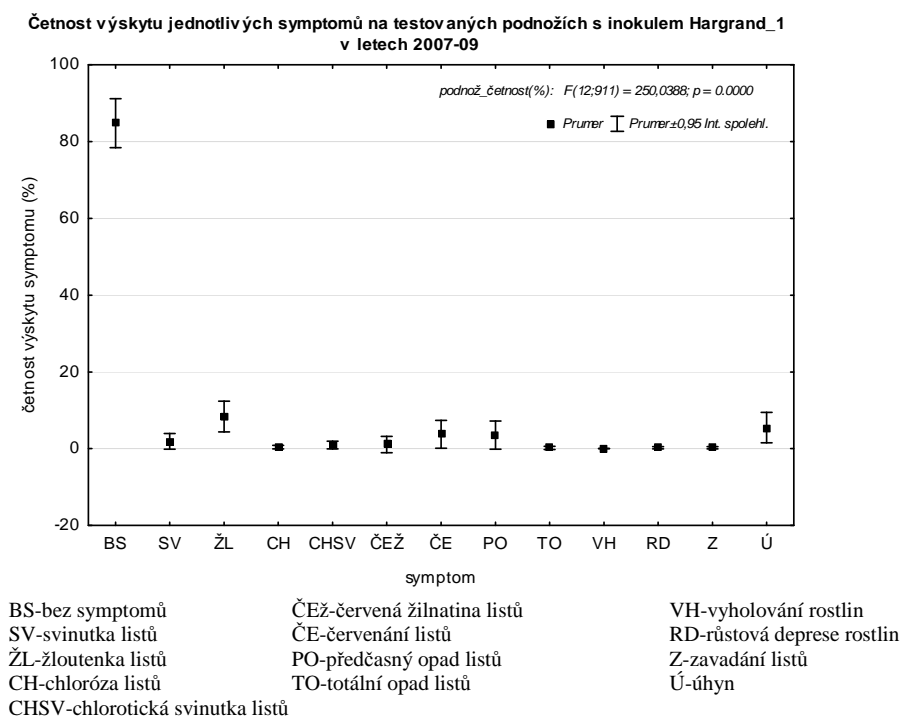
Mezi testovanými podnožemi s inokulem Hargrand_1 byly nalezeny vysoce průkazné rozdíly v různosti symptomů pouze v roce 2009 (Graf 22), kdy nejvyšší různosti v symptomech dosáhla podnož M-LE-1 a GF 305, naopak žádné symptomy se neobjevily u podnože Torinel. V letech 2007 a 2008 nebyly rozdíly mezi podnožemi průkazné.

Graf 22 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na rostlinách podnoží s inokulem Hargrand_1 v jednotlivých letech 2007-09



Statistická analýza četnosti výskytu jednotlivých symptomů fytoplazmy ESFY na testovaných podnožích s inokulem Hargrand_1 prokázala vysoce průkazné rozdíly (Graf 23). Na testovaných podnožích se nejčastěji vyskytovaly symptomy žloutenka (8,4 %), červenání (3,7 %) a předčasný opad listů (3,5 %). Největší podíl měly však rostliny bez symptomů (85 %). Vzhledem k tomu, že přítomnost fytoplazmy ESFY byla pomocí PCR prokázána průměrně u 50 % rostlin testovaných podnoží, můžeme konstatovat, že u některých podnoží bez symptomatického projevu šlo o latentní infekci. Na závěr lze říci, že u testovaných podnoží s inokuly Hargrand_1 byla četnost výskytu jednotlivých symptomů v letech 2007-09 nízká.

Graf 23 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na testovaných podnožích s inokulem Hargrand_1 v letech 2007-09



Statistická analýza předčasného úhynu rostlin podnoží s inokulem Hargrand_1 stanovila vysoce průkazné rozdíly hodnot v letech 2008 a 2009 (Příloha 1). Nejvyšších hodnot dosáhla podnož GF 305 a to v roce 2008 (průměrně 14,7 %) i v roce 2009 (průměrně 86,7 %). V posledním roce došlo k úhynu všech rostlin podnože GF 305 včetně kontrolních rostlin.

Z porovnání výskytu symptomatických rostlin, různosti symptomů a předčasného úhynu podnoží a letorostů prorostlých z inokula Hargrand_1 je patrná nejcitlivější a nejrychlejší reakce na přítomnou fytoplazmu ESFY u kombinace inokula Hargrand_1 s podnoží GF 305, jež dosáhla ve všech zmíněných charakteristikách nejvyšších hodnot a to již prvním roce po inokulaci.

5.2.2 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY po inokulaci očky z roubů z infikovaného stromu 2 odrůdy Hargrand

Pro studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY byla statisticky hodnocena četnost výskytu jednotlivých symptomů, různost symptomů, četnost symptomatických rostlin podnoží a letorostů prorůstajících z inokul z infikovaného stromu dvě odrůdy Hargrand (dále jen inokulum Hargrand_2). Na druhém stromě odrůdy Hargrand se v roce odběru (2006) inokulačního materiálu objevila výrazná svinutka listů. Hodnocen byl i celkový úhyn letorostů prorůstajících z inokul Hargrand_2 a rostlin podnoží.

5.2.2.1 Symptomatický projev fytoplazmy ESFY na letorostech prorůstajících z inokul Hargrand_2

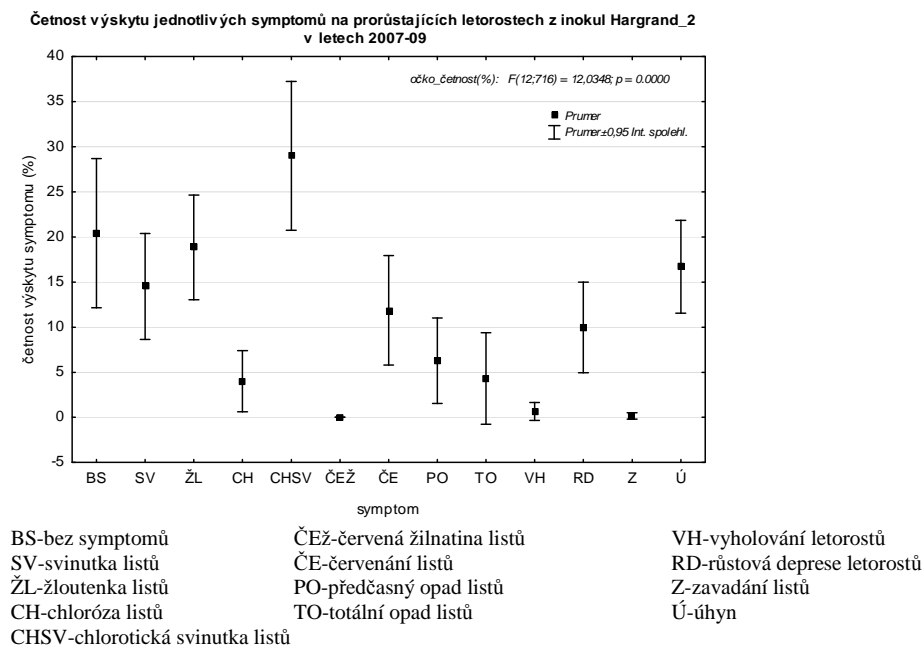
Statistická analýza výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Hargrand_2 s testovanými podnožemi nenalezla průkazné rozdíly v četnosti v žádném roce (Příloha 2). Přičemž nejvyšších hodnot výskytu symptomatických letorostů dosáhla kombinace inokul Hargrand_2 s podnoží GF 305 již v prvním roce po inokulaci 94,5 %, stejně tak i v roce 2008, kdy dosáhla hodnoty 100 %. Bohužel nejsou známy výsledky PCR detekce přítomnosti fytoplazmy ESFY v letorostech prorostlých z inokul Hargrand_2, z důvodu předčasného úhynu všech rostlin kombinace inokul Hargrand_2 s podnoží GF 305. Ale s největší pravděpodobností letorosty prorůstající z inokul Hargrand_2 na podnoží GF 305 měly nejcitlivější reakci na přítomnost fytoplazmy ESFY. Přenos a šíření patogena v rostlinách podnože byl natolik rychlý, že vedl k úhynu rostlin podnoží již druhý rok po inokulaci (Přílohy 57-58). Naopak průměrně nejméně letorostů se symptomy měla kombinace inokula Hargrand_2 s podnoží M LE 1, přestože bylo detekováno průměrně vysoké zastoupení letorostů (66,7 %) s pozitivní PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY.

Cílem statistické analýzy různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Hargrand_2 bylo zjistit rozdíly v počtu projevujících se symptomů na letorostech v kombinaci s různými podnožemi. Mezi testovanými kombinacemi inokul Hargrand_2 s různými podnožemi nebyly ve sledovaném období 2007-09 nalezeny průkazné rozdíly v různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Hargrand_2 (Příloha 3). Nejvyšších hodnot různosti symptomu na letorostech dosahovaly kombinace inokul Hargrand_2 s podnoží Torinel a GF-8-1 v druhém roce po inokulaci (2008). Ve třetím roce po inokulaci (2009) došlo u těchto kombinací ke snížení hodnot růzností, ale stále patřily mezi nejvyšší. Naopak nejnižších výsledků různosti symptomů na letorostech ve všech letech bylo dosaženo u kombinace inokul Hargrand_2 s podnoží M-LE-1, přestože přítomnost fytoplazmy ESFY byla detekována pomocí PCR u 66,7 % testovaných letorostů.

Statistická analýza výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Hargrand_2 s různými podnožemi prokázala vysoce průkazné rozdíly v jejich četnosti a vzhledem k výsledným hodnotám lze tvrdit, že byla četnost výskytu jednotlivých symptomů v letech 2007-09 vysoká. Na sledovaných letorostech se průměrně nejčastěji vyskytovaly symptomy chlorotická svinutka (29 %), žloutenka (18,8 %), svinutka (14,5 %), červenání (11,9 %) a růstová deprese (9,9 %), jenž se nejčastěji vyskytují v plném rozvoji onemocnění. Ovšem ve srovnání se symptomy z druhého stromu odrůdy Hargrand, ze kterého pocházel inokulační materiál, byl symptomatický projev výrazně odlišný. Na druhém stromu odrůdy Hargrand se v největší míře objevovala svinutka listů, která se u letorostů prorůstajících z inokul Hargrand_2 vyskytovala až na třetím místě (Graf 24). Předčasný úhyn průměrně dosáhl hodnoty 16,7 %. Vysoké zastoupení měly letorosty bez symptomů (20,4 %), což je důsledek skutečnosti, že u většiny letorostů prorůstajících z inokul Hargrand_2 se v největší míře projevovaly příznaky fytoplazmy ESFY až druhým rokem po inokulaci.

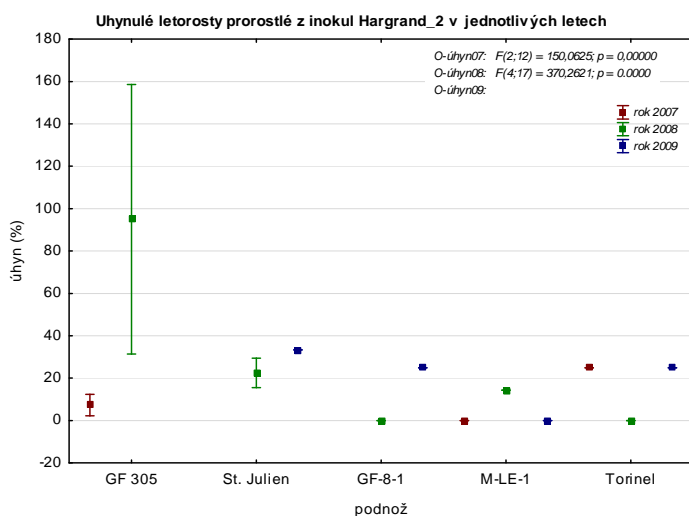
Vzhledem k tomu, že přítomnost fytoplazmy ESFY byla pomocí PCR prokázána průměrně u 56,3 % letorostů prorůstajících z inokul Hargrand_2, můžeme konstatovat, že u některých letorostů bez symptomatického projevu mohlo jít o latentní infekci.

Graf 24 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Hargrand_2 v letech 2007-09



Při porovnávání předčasného úhynu letorostů prorůstajících z inokul Hargrand_2 na různých podnožích byly nalezeny vysoce průkazné rozdíly ve všech letech pozorování (Graf 25). Nejvyšší průměrná hodnota předčasného úhynu letorostů prorůstajících z inokul Hargrand_2 byla zaznamenána u podnože GF 305 v roce 2008 (95 %). V posledním roce pozorování (2009) dosáhly nejvyššího průměrného úhynu letorosty prorůstající z inokul Hargrand_2 v kombinaci s podnoží St. Julien 655/2 (33,3 %). Naopak nejnižší průměrný úhyn byl sledován u kombinace inokul Hargrand_2 s podnoží M-LE-1 a to ve všech letech pozorování.

Graf 25 Grafické znázornění rozdílů v úhynu letorostů prorostlých z inokul Hargrand_2 v jednotlivých letech 2007-09



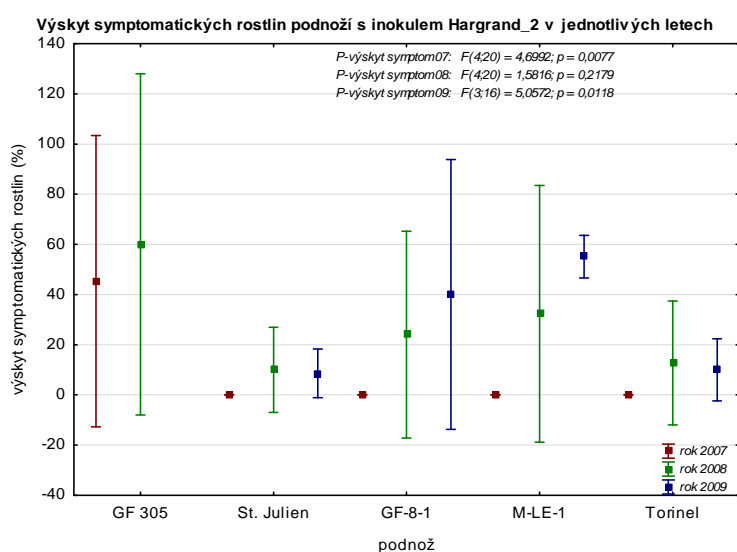
Z průměrných výsledných hodnot výše zmíněných charakteristik můžeme konstatovat, že nejcitlivější reakci na přítomnou fytoplasmu ESFY měly letorosty prorůstající z inokula Hargrand_2 v kombinaci s podnoží GF 305, jež dosáhly nejvyšších průměrných hodnot výskytu symptomatických letorostů a nejvyššího úhynu již ve druhém roce po inokulaci, bohužel kvůli příliš rychlému úhynu se nestihla u rostlin detekovat přítomnost fytoplasmy ESFY. Vzhledem k nejvyššímu průměrnému počtu pozitivních letorostů na fytoplasmu ESFY a nejvyšších průměrných hodnot zkoumaných charakteristik dosáhly letorosty prorůstající z inokul Hargrand_2 s podnoží GF-8-1 v druhém i třetím roce po inokulaci. Naopak nejméně citlivou reakci k přítomné fytoplasmě ESFY měly letorosty z prorůstajících inokul Hargrand_2 s podnoží M-LE-1, přestože detekce přítomnosti fytoplasmy ESFY stanovila průměrně 66,7 % pozitivních letorostů. Nejnižších průměrů bylo dosaženo u této kombinace ve všech výše popsaných charakteristikách.

5.2.2.2. Symptomatický projev fytoplasmy ESFY na testovaných podnožích s inokuly Hargrand_2

Statistická analýza četnosti výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Hargrand_2 prokázala vysoce průkazné rozdíly ve výskytu rostlin se symptomy v roce 2007 a průkazné rozdíly v roce 2009 (Graf 26). Nejvyšší procento rostlin se symptomy bylo dosaženo u podnože GF 305 první i druhý rok po inokulaci. Pokles výskytu symptomatických rostlin podnože GF 305 na hodnotu rovnou nule v posledním zkoumaném roce (2009) byl důsledek úhynu všech rostlin.

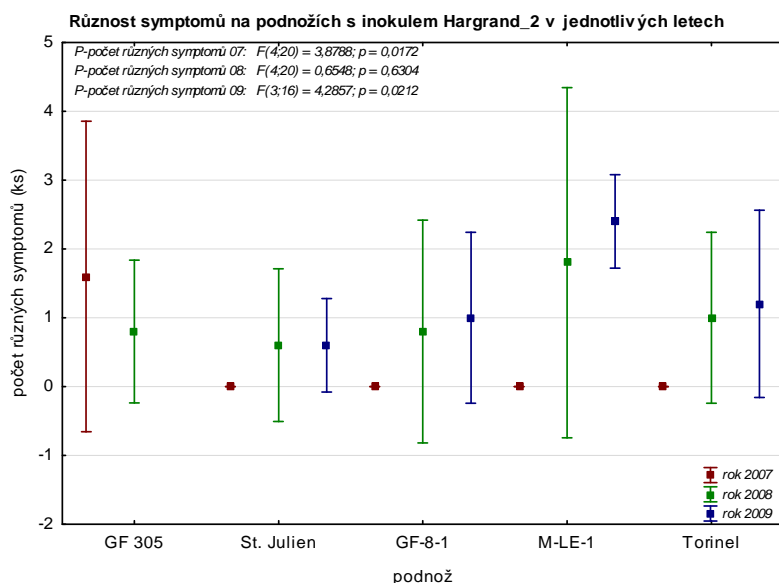
V roce 2009 nejvyšší procento vyskytujících se symptomatických rostlin dosáhla podnož M-LE-1 (průměrně 55,2 %) a GF-8-1 (průměrně 40 %). U obou podnoží měly hodnoty výskytu symptomatických rostlin podnoží ve sledovaném období stoupající charakter. U rostlin podnože M-LE-1 bylo však detekováno průměrně méně rostlin s přítomnou fytoplazmou ESFY (30,7 %) než u rostlin podnože GF-8-1 (v průměru 46,7 %). Nejnižší průměrné hodnoty vyskytujících se symptomatických rostlin vykazovaly podnože St. Julien 655/2 a Torinel, čemuž odpovídalo i nízké zastoupení rostlin s pozitivní PCR reakcí k fytoplazmě ESFY.

Graf 26 Grafické znázornění rozdílností ve výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Hargrand_2 v jednotlivých letech 2007-09



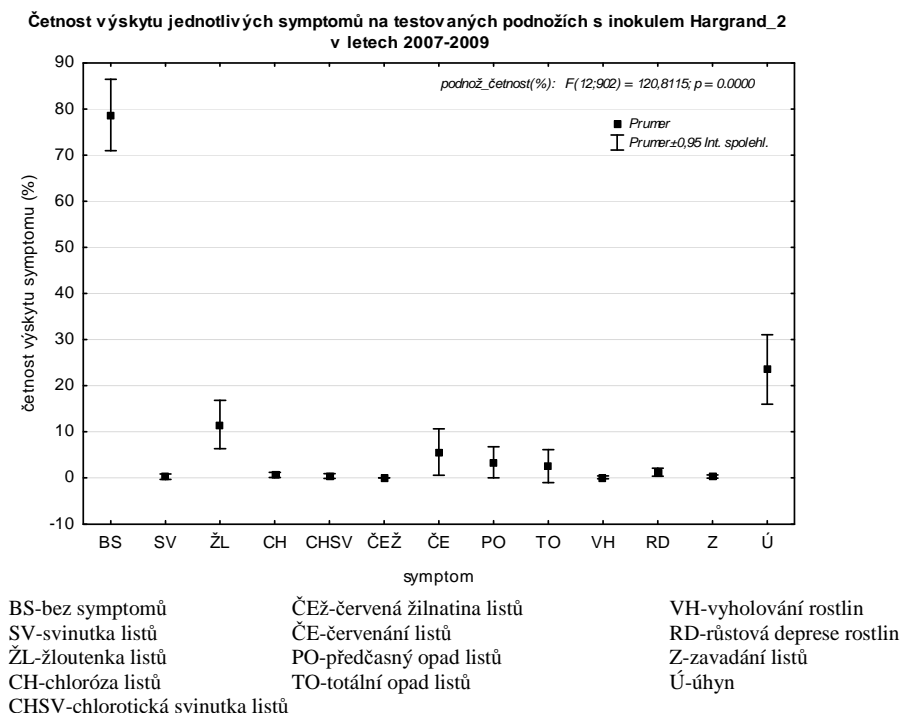
Mezi testovanými podnožemi s inokulem Hargrand_2 byly nalezeny průkazné rozdíly v různosti symptomů rostlin podnoží v letech 2007 a 2009 (Graf 27). Nejvyšší různosti v symptomech prvním rokem po inokulaci (2007) dosáhla podnož GF 305, jež jediná z celého souboru ukázala symptomy. V následujících letech se nejvyšší zastoupení symptomů projevilo u podnože M-LE-1. U většiny sledovaných podnoží měly hodnoty různosti symptomů v jednotlivých letech stoupající charakter, což pravděpodobně odpovídá i stoupající koncentraci přítomné fytoplazmy ESFY v rostlinách podnoží.

Graf 27 Grafické znázornění rozdílnosti v různosti symptomů na rostlinách podnoží s inokulem Hargrand_2 v jednotlivých letech 2007-09



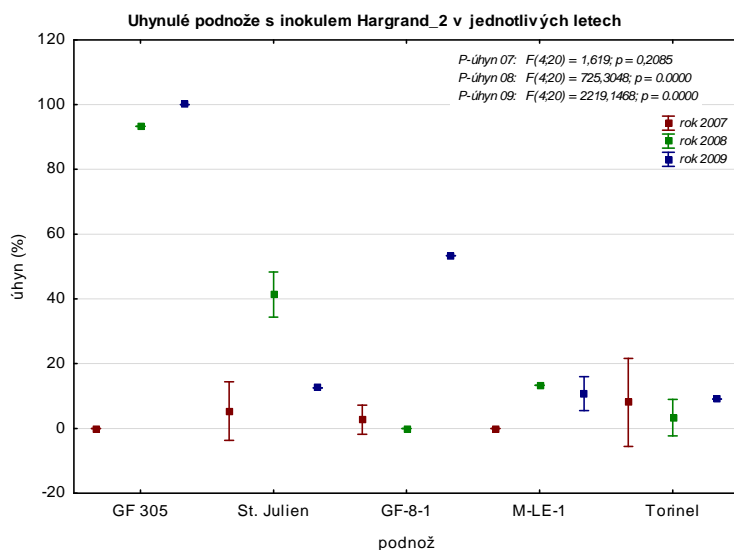
Statistická analýza četnosti výskytu jednotlivých symptomů fytoplazmy ESFY na rostlinách testovaných podnožích s inokulem Hargrand_2 prokázala vysoce průkazné rozdíly (Graf 28). Na testovaných podnožích se nejčastěji vyskytovaly symptomy žloutenka (11,6 %), červenání (5,6 %) a předčasný opad listů (3,4 %). Největší podíl měly však rostliny bez symptomů (78,7 %). Vzhledem k tomu, že přítomnost fytoplazmy ESFY byla pomocí PCR prokázána průměrně u 30,4 % rostlin testovaných podnožích, můžeme se domnívat, že k množení fytoplazmy ESFY v rostlinách podnoží docházelo pomaleji a proto byla četnost výskytu jednotlivých symptomů ve sledovaném období 2007-09 nízká.

Graf 28 Grafické znázornění rozdílnosti v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na testovaných podnožích s inokulem Hargrand_2 v letech 2007-09



Statistická analýza předčasného úhynu podnoží s inokulem Hargrand_2 stanovila vysoce průkazné rozdíly průměrných hodnot úhynu v letech 2008 a 2009, v obou letech nejvyšší úhyn měly rostliny podnože GF 305 (Graf 29). Můžeme tedy konstatovat, že podnož GF 305 reagovala na přítomnou fytoplazmu ESFY nejcitlivěji. Z patnácti rostoucích rostlin v roce 2007, nerostla v roce 2009 žádná rostlina podnože GF 305. Vzhledem k tomu, že většina rostlin podnože GF 305 s inokuly Hargrand_2 uhynulo již v roce 2008, kdy kontrolní rostliny byly bez symptomů, s největší pravděpodobností úhyn rostlin byl reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY. Naopak nejméně v průměru hynuly rostliny podnože Torinel, což by odpovídalo nejnižšímu zastoupení rostlin s pozitivní PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY.

Graf 29 Grafické znázornění rozdílností v předčasném úhynu rostlin podnoží s inokulem Hargrand_2 v letech 2007-09



Z porovnání charakteristik výskytu symptomatických rostlin, různosti symptomů a předčasného úhynu je patrný nejvíce intenzivní symptomatický projev, jak letorostů prorůstajících z inokul Hargrand_2 s podnoží GF 305, tak i rostlin podnože GF 305, jak bylo předpokládáno, když se jedná o dřevitý indikátor. Zajímavého symptomatického projevu bylo dosaženo u kombinace inokula Hargrand_2 s podnoží M-LE-1, na níž měly letorosty prorůstající z inokula Hargrand_2 průměrně nejnižší symptomatický projev a naproti tomu symptomatický projev rostlin podnože byl průměrně nejvyšší v letech 2008 i 2009, přestože vyšší zastoupení pozitivních PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY měly letorosty prorůstající z inokul Hargrand_2 než rostliny podnože.

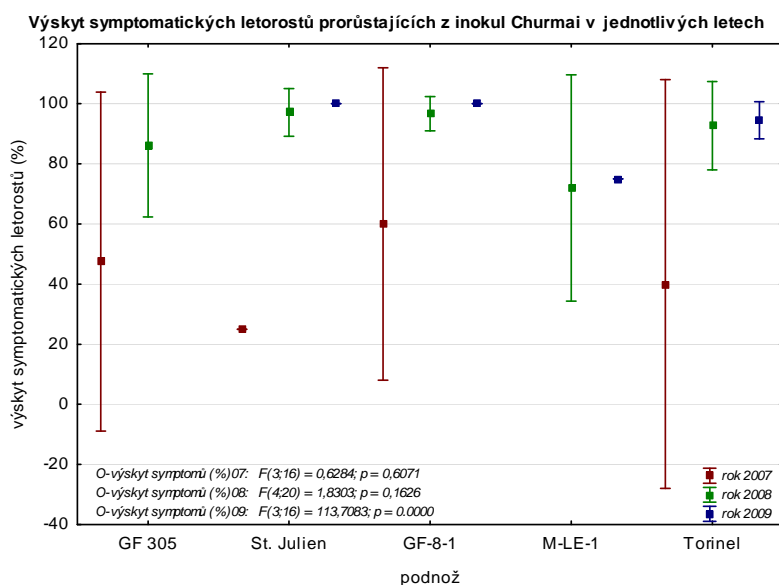
5.2.3 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY po inokulaci očky z roubů z infikovaného stromu 1 odrůdy Churmai

Pro studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY byla statisticky hodnocena četnost výskytu jednotlivých symptomů, různost symptomů, četnost symptomatických rostlin podnoží a letorostů prorůstajících z inokul z infikovaného stromu 1 odrůdy Churmai (dále jen inokulum Churmai). Strom 1 odrůdy Churmai, ze kterého byl odebrán inokulační materiál, se v roce odběru (2006) vyznačoval výraznými příznaky žloutenky a předčasného opadu listů. Dále byl hodnocen celkový úhyn letorostů prorůstajících z inokul Churmai a rostlin testovaných podnoží.

5.2.3.1 Symptomatický projev fytoplazmy ESFY na letorostech prorůstajících z inokul Churmai

Statistická analýza výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Churmai s testovanými podnožemi nalezla vysoce průkazné rozdíly v jeho četnosti pouze v posledním roce výzkumu (Graf 30). Přičemž průměrně nejvyšších hodnot výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Churmai za celé sledované období dosáhly letorosty na podnoži GF -8-1. Nejčtenější zastoupení symptomatických letorostů na podnoži GF-8-1 bylo adekvátní k nejvyšší detekci (průměrně 58,3 %) přítomné fytoplazmy ESFY v testovaných letorostech. Podobně vysoké zastoupení symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Churmai, jako u podnože GF-8-1, se objevilo v kombinaci s podnoží St. Julien 655/2, ale v tomto případě neodpovídal výsledek PCR reakce, který byl mnohem nižší (39,5 %). Naopak průměrně nejméně letorostů se symptomy měla kombinace inokula Churmai s podnoží M-LE-1, přestože bylo zjištěno vysoké zastoupení letorostů (60 %) s pozitivní PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY.

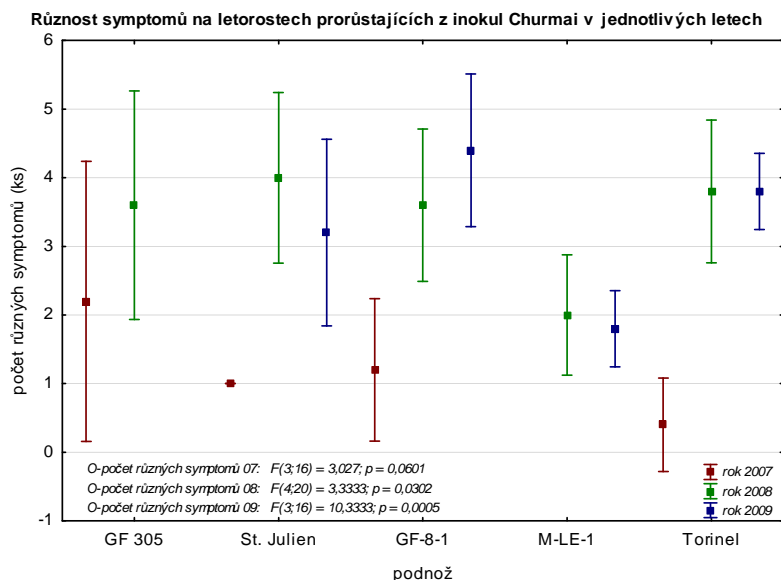
Graf 30 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Churmai v jednotlivých letech 2007-09



Mezi testovanými kombinacemi inokul Churmai s různými podnožemi byly ve sledovaném období 2007-09 zjištěny průkazné rozdíly v různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Churmai v roce 2008 a vysoce průkazné rozdíly v roce 2009 (Graf 31). Nejvyšších hodnot různosti symptomů na letorostech dosáhla kombinace inokul Churmai s podnoží GF-8-1 průměrně v celém období pozorování a měla stoupající charakter.

Naproti tomu průměrně nejnižších výsledků různosti symptomů na letorostech ve všech letech zkoumání bylo zjištěno u kombinace inokul Churmai s podnoží M-LE-1, přestože přítomnost fytoplazmy ESFY byla odhalena pomocí PCR u 60 % testovaných letorostů.

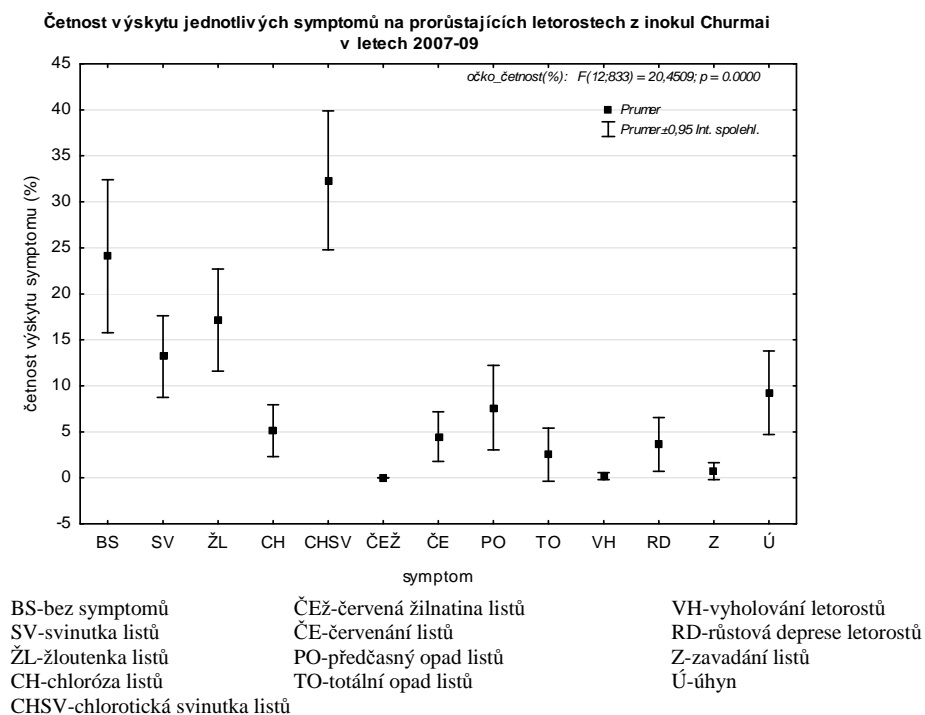
Graf 31 Grafické znázornění rozdílnosti v různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Churmai v jednotlivých letech 2007-09



Statistická analýza výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Churmai s různými podnožemi prokázala vysoce průkazné rozdíly v jejich četnosti a vzhledem k výsledným hodnotám lze tvrdit, že byla četnost výskytu jednotlivých symptomů v letech 2007-09 vysoká. Na zkoumaných letorostech se průměrně nejčastěji vyskytovaly symptomy chlorotická svinutka (32,4 %), žloutenka (17,1 %), svinutka (13,2 %) a předčasný opad listů (7,6 %). Ve srovnání se symptomy z prvního stromu odrůdy Churmai, ze kterého pocházel inokulační materiál, byl symptomatický projev výrazně odlišný. Na prvním stromu odrůdy Churmai se v největší míře projevovaly symptomy žloutnutí listů a předčasný opad listů, jež se u letorostů prorůstajících z inokul Churmai vyskytovaly až na druhém a čtvrtém místě (Graf 32). Předčasný úhyn průměrně dosáhl hodnoty 9,3 %. Vysoké zastoupení měly letorosty bez symptomů (24,1 %).

Přítomnost fytoplazmy ESFY byla pomocí PCR prokázána průměrně u 39,1 % letorostů prorůstajících z inokul Churmai, což byla relativně nízká hodnota, proto můžeme tento výsledek brát jako jeden z možných faktorů, proč byl vysoký podíl letorostů nevykazujících žádné symptomy.

Graf 32 Grafické znázornění rozdílnosti v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Churmai v letech 2007-09



Při porovnávání předčasného úhynu letorostů prorůstajících z inokul Churmai na různých podnožích byly nalezeny vysoce průkazné rozdíly v druhém roce po inokulaci (Příloha 4), v němž nejvyšší průměrné hodnoty dosáhly letorosty prorůstající z inokul Churmai na podnoži St. Julien 655/2 (24 %). V roce 2009 uhynulo 100 % letorostů vyrůstajících z inokul Churmai na podnoži GF 305, z důvodu úhynu všech rostlin této podnože. V roce 2007 uhynulo průměrně 50 % letorostů prorůstajících z inokul Churmai na podnoži Torinel, přestože na ostatních podnožích neuhynuly žádné letorosty z inokul Churmai.

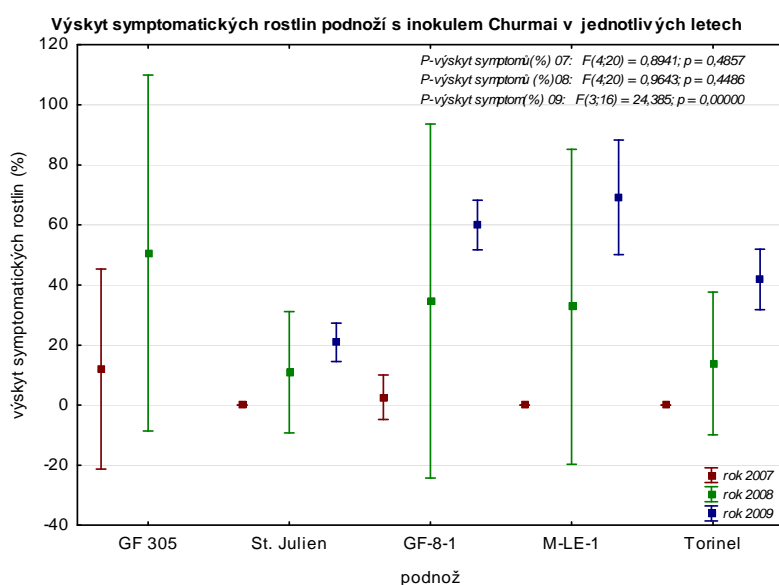
Ze statistické analýzy výskytu symptomatických rostlin a různosti symptomů lze říci, že inokula Churmai dosáhla, i vzhledem k počtu pozitivních letorostů na fytoplazmu ESFY, nejvyšších hodnot zkoumaných charakteristik s podnoží GF-8-1 průměrně v celém sledovaném období.

Naopak nejnižších hodnot s podnoží M-LE-1, přestože přítomnost fytoplazmy ESFY bylo pomocí PCR detekováno u 60 % testovaných letorostů.

5.2.3.2 Symptomatický projev fytoplazmy ESFY na testovaných podnožích s inokuly Churmai

Statistická analýza četnosti výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Churmai neprokázala v celku výrazné rozdíly (Graf 33.). Statisticky vysoce průkazné rozdíly v četnosti výskytu symptomatických rostlin podnoží byly dosaženy pouze v roce 2009, v němž se objevilo nejvíce symptomatických rostlin podnože M-LE-1 (průměrně 69,2 %) a GF-8-1 (průměrně 60 %). S přihlédnutím k hodnotám PCR reakce přítomné fytoplazmy ESFY v rostlinách podnoží se jako pravděpodobnější jeví výsledné zastoupení symptomatických rostlin podnože GF-8-1, u které se detekovalo průměrně 46,7 % pozitivních rostlin a naproti tomu jen 14,1 % rostlin podnože M-LE-1. Dřevitý indikátor GF 305 dosáhl nejvyšších hodnot četnosti symptomatických rostlin v roce 2007 a 2008 oproti ostatním podnožím, takže jeho reakce na přítomnou fytoplazmu ESFY byla ze všech nejrychlejší. Nejnižší zastoupení symptomatických rostlin v celém zkoumaném období měla podnož St. Julien 655/2, čemuž odpovídalo i nízké procento (25,9 %) rostlin s přítomnou fytoplazmou ESFY. Četnost výskytu symptomatických rostlin zkoumaných podnoží měla v celém období výzkumu stoupající charakter, jak se předpokládalo.

Graf 33 Grafické znázornění rozdílností ve výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Churmai v jednotlivých letech 2007-09



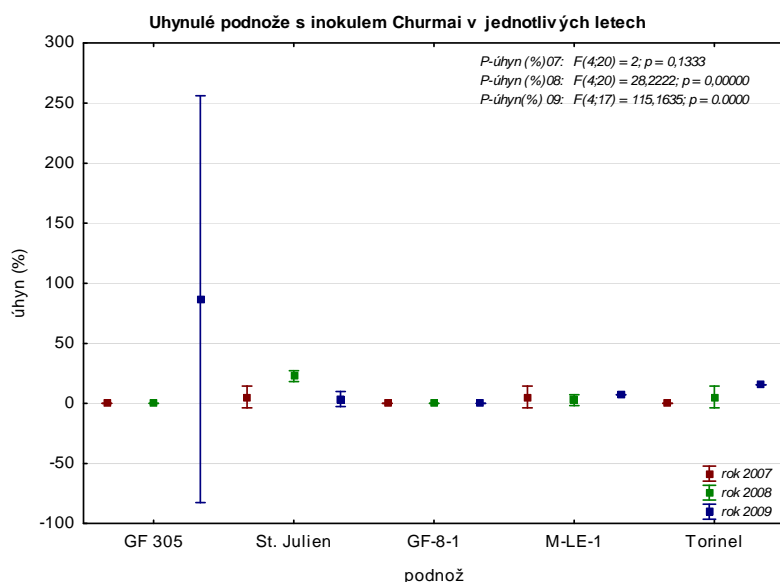
Cílem statistické analýzy různosti symptomů na rostlinách podnoží s inokulem Churmai bylo zjistit rozdíly v počtu jednotlivých symptomů na podnožích. Čím více se na rostlině objevilo různých symptomů, tím větší byla různost. Mezi rostlinami testovaných podnoží s inokulem Churmai nebyly nalezeny průkazné rozdíly v různosti symptomů v žádném roce výzkumu (Příloha 5). Nejvyššího počtu různých symptomů v celém sledovaném období dosáhla podnož M-LE-1 a nejnižšího počtu podnož St. Julien 655/2. Dřevitý indikátor GF 305 podle očekávání dosáhl nejvyšších hodnot již v prvním i druhém roce po inokulaci a v posledním roce sledování uhynulo 100 % rostlin, tudíž hodnota různosti symptomů byla rovna nule.

Statistická analýza četnosti výskytu jednotlivých symptomů fytoplazmy ESFY na testovaných podnožích s inokulem Churmai prokázala vysoce průkazné rozdíly (Příloha 6). Na testovaných podnožích se nejčastěji vyskytovaly symptomy žloutenka (16,7 %), červenání (4,8 %) a předčasný opad listů (2,8 %). Největší podíl měly však rostliny bez symptomů (75 %). Přítomnost fytoplazmy ESFY byla pomocí PCR prokázána průměrně u 30 % rostlin testovaných podnoží, což je relativně nízká hodnota, proto můžeme tento výsledek brát jako jeden z možných faktorů, proč byl vysoký podíl letorostů nevykazujících žádné symptomy. Dalším možným faktorem je skutečnost, že se v největší míře objevily příznaky fytoplazmy ESFY až druhým a třetím rokem po inokulaci. U sledovaných podnoží s inokuly Churmai v letech 2007-09 byla celkově nízká četnost vyskytujících se symptomů.

Statistická analýza předčasného úhynu rostlin podnoží s inokulem Churmai stanovila vysoce průkazné rozdíly hodnot úhynu v letech 2008 a 2009 (Graf 34). Nejvyšších hodnot úhynu dosáhla podnož GF 305 a to v roce 2009 (průměrně 86,7 %), úhyn však nebyl způsoben přítomnou fytoplazmou ESFY. V roce 2008 uhynulo nejvíce rostlin podnože St. Julien 655/2 (průměrně 22,7 %). Za celé sledované období neuhynula žádná z rostlin podnože GF-8-1, přestože u ní bylo detekováno nejvyšší zastoupení pozitivních rostlin na fytoplazmu ESFY.

Rostliny podnože GF-8-1 s inokuly Churmai se ukázaly být nejvíce odolné vůči přítomné fytoplazmě ESFY.

Graf 34 Grafické znázornění rozdílů v předčasném úhynu rostlin podnoží s inokulem Churmai v letech 2007-09



Z porovnání charakteristik výskytu symptomatických rostlin, různosti symptomů a předčasného úhynu je patrný nejvíce intenzivní symptomatický projev, jak letorostů prorůstajících z inokul Churmai s podnoží GF 305, tak i rostlin podnože GF 305. Nejsilnějšího symptomatického projevu dosáhly rostliny této kombinace již v prvním i druhém roce po inokulaci. Zajímavý symptomatický projev měla kombinace inokul Churmai s podnoží GF-8-1, jež dosáhla průměrně nejvyšších hodnot všech zkoumaných charakteristik jak u letorostů prorůstajících z inokul Churmai, tak u rostlin podnože GF-8-1. Přesto neuhynula žádná rostlina podnože, ani žádný letorost inokula Churmai v celém období výzkumu. Kombinace inokul Churmai s podnoží GF-8-1 měla nejintenzivnější projev symptomů a přesto se ukázala být k přítomné fytoplazmě ESFY nejodolnější.

5.2.4 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY po inokulaci očky z roubov z infikovaného stromu 117 odrůdy broskvoně Jantze

Pro studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY byla statisticky hodnocena četnost výskytu jednotlivých symptomů, různost symptomů, četnost symptomatických rostlin podnoží a letorostů prorůstajících z inokul z infikovaného stromu 117 odrůdy broskvoně Jantze (dále jen inokulum Jantze).

Strom 117 odrůdy Jantze, ze kterého byl odebrán inokulační materiál, se v roce odběru (2006) vyznačoval výraznými příznaky chlorotické svinutky. Jantze je odrůdou broskvoně. Dále byl hodnocen celkový úhyn letorostů prorůstajících z inokul Jantze a rostlin testovaných podnoží.

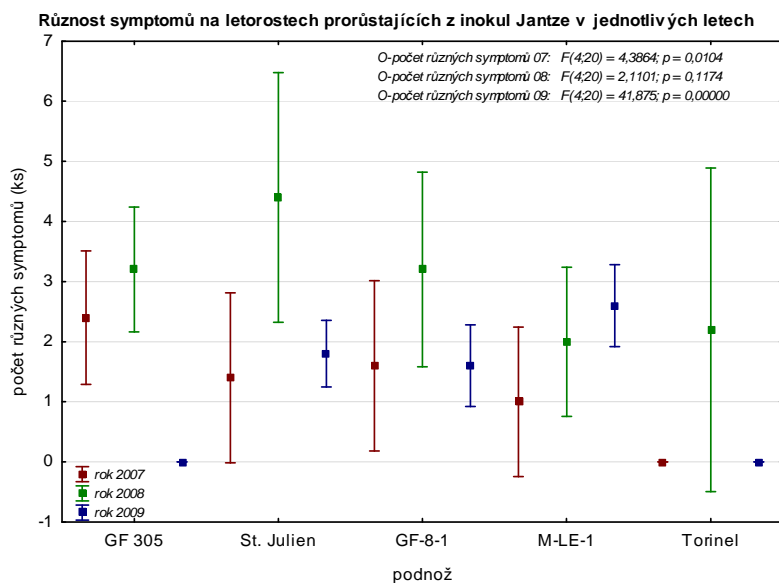
5.2.4.1 Symptomatický projev fytoplazmy ESFY na letorostech prorůstajících z inokul Jantze

Statistická analýza výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Jantze s testovanými podnožemi nenalezla průkazné rozdíly v četnosti v žádném roku výzkumu (Příloha 7). Přičemž průměrně nejvyšších hodnot výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Jantze za celé sledované období dosáhly na podnoží GF 8-1. Nejčtenější zastoupení symptomatických letorostů na podnoží GF-8-1 bylo adekvátní i k vysoké detekci (průměrně 81,4 %) přítomné fytoplazmy ESFY v testovaných letorostech. Naopak průměrně nejméně letorostů se symptomy měla kombinace inokula Jantze s podnoží GF 305, přestože bylo zjištěno vysoké zastoupení letorostů (92,3 %) s pozitivní PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY. Inokula Jantze na podnoží Torinel po inokulaci nepřiřostla a musela být znovu přeočkována v roce 2007, prorostlo devět inokul, ale ke konci vegetačního období roku 2008 zůstalo rostoucí pouze jedno inokulum a v posledním roce nerostlo žádné. S největší pravděpodobností šlo o špatnou afinitu podnože Torinel s broskvoňovým typem inokul. Četnost výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z broskvoňových inokul Jantze byla ve sledovaném období vysoká a měla stoupající charakter.

Statistickou analýzou byly zjištěny vysoce průkazné rozdíly v různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Jantze pouze v roce 2009 (Graf 35). V daném roce nejvyšší hodnoty různosti symptomů dosáhly letorosty na podnoží M-LE-1 (průměrně 2,6 ks), ale nejvíce různých symptomů na letorostech inokul Jantze se objevilo již druhým rokem po inokulaci (2008) a to u všech vybraných podnoží. Nejvíce různých symptomů se projevilo na letorostech prorůstajících z inokul Jantze na podnoží St. Julien 655/2 v roce 2008 (průměrně 4,4 ks).

Kombinace inokul Jantze s podnožemi GF 305 a Torinel měly v roce 2009 nulovou různost symptomů, z důvodu předčasného úhynu všech rostlin.

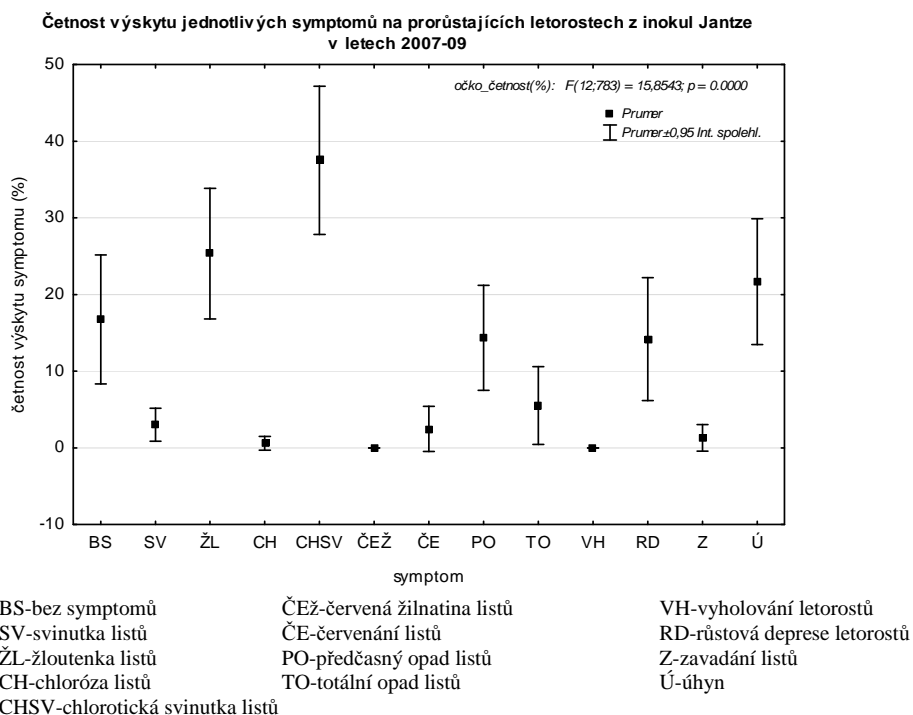
Graf 35 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Jantze v jednotlivých letech 2007-09



Statistická analýza výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Jantze s různými podnožemi prokázala vysoce průkazné rozdíly v jejich četnosti a vzhledem k výsledným hodnotám lze tvrdit, že byla četnost výskytu jednotlivých symptomů v letech 2007-09 vysoká. Na zkoumaných letorostech se průměrně nejčastěji vyskytovaly symptomy chlorotická svinutka (37,5 %), žloutenka (25,3 %), předčasný opad listů (14,3 %) a růstová deprese (14,2 %). Symptomy na broskvoňovém stromu číslo 117 odrůdy Jantze, ze kterého pocházel inokulační materiál, byly podobné, také se nejsilněji projevil symptom chlorotická svinutka, jež byl u letorostů prorůstajících z inokul Jantze též v nejvyšším zastoupení (Graf 36). Předčasný úhyn průměrně dosáhl hodnoty 21,7 %. Letorosty bez symptomů (16,7 %) tentokrát nedosahovaly vysokých hodnot.

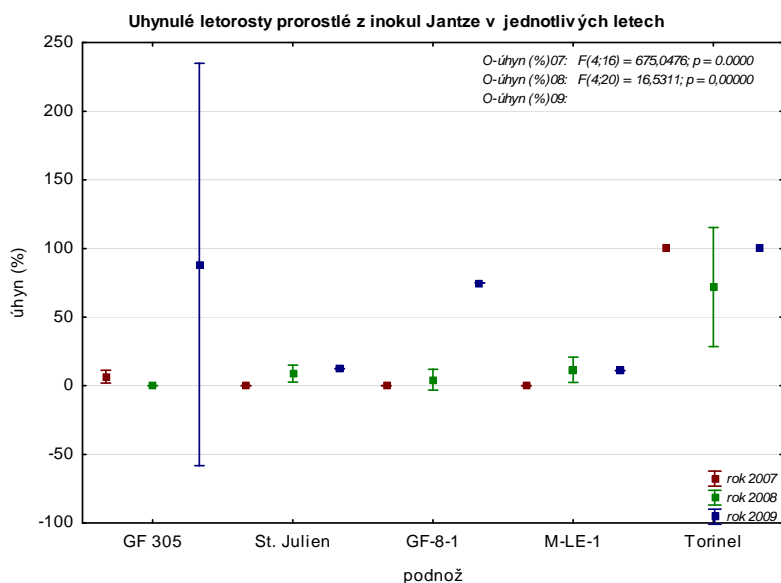
Přítomnost fytoplazmy ESFY byla pomocí PCR prokázána průměrně u 71,8 % letorostů prorůstajících z inokul Jantze, což byla relativně vysoká hodnota a proto i celková četnost jednotlivých symptomů vyšla ve sledovaném období vysoká.

Graf 36 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Jantze v letech 2007-09



Při porovnávání předčasného úhynu letorostů prorůstajících z inokul Jantze na různých podnožích byly odhaleny vysoce průkazné rozdíly ve všech letech pozorování. Nejvyšších průměrných hodnot předčasného úhynu letorostů prorůstajících z inokul Jantze v celém sledovaném období bylo dosaženo u podnože Torinel (Graf 37). Úhyn všech letorostů (100%) na podnoži Torinel v letech 2007 i 2009 byl s největší pravděpodobností způsoben špatnou afinitou. Naopak nejnižší průměrný úhyn byl sledován u kombinace inokul Jantze s podnoží St. Julien 655/2 a podnoží M-LE-1.

Graf 37 Grafické znázornění rozdílností v úhynu letorostů prorostlých z inokul Jantze v jednotlivých letech 2007-09



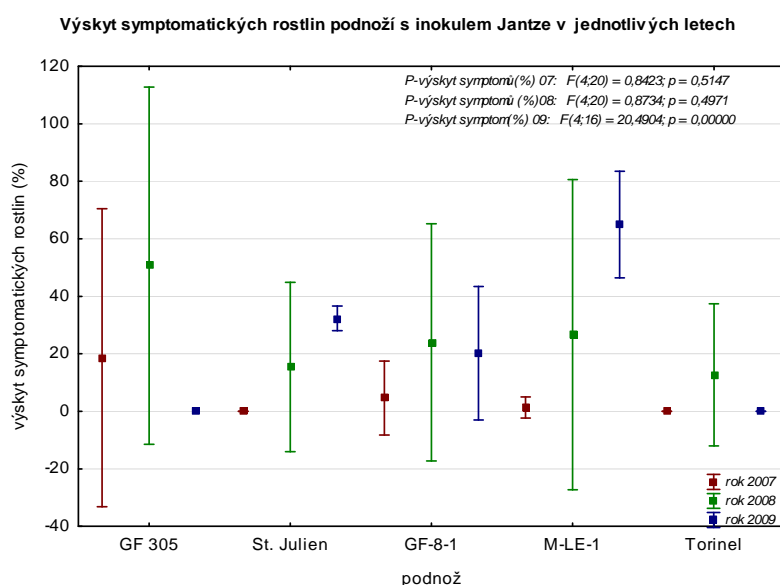
Ze statistické analýzy výskytu symptomatických letorostů, různosti symptomů na letorostech i četnosti jednotlivých symptomů lze říci, že inokula Jantze dosáhla výrazného symptomatického projevu v celém sledovaném období 2007-09. Výsledným vysokým hodnotám výše zmíněných charakteristik odpovídá i vysoké zastoupení letorostů s pozitivní PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY (71,8 %). Nejčtenější zastoupení symptomatických letorostů i projev různých symptomů na podnoži GF-8-1 byl též adekvátní k vysoké detekci (průměrně 81,4 %) přítomné fytoplazmy ESFY v testovaných letorostech. Nejvyšších průměrných hodnot předčasného úhynu letorostů prorůstajících z inokul Jantze v celém sledovaném období bylo dosaženo u podnože Torinel, u které se projevila s největší pravděpodobností špatná afinita s broskvoňovými inokuly. Naopak nejnižší průměrný úhyn byl sledován u kombinace inokul Jantze s podnoží St. Julien 655/2 a podnoží M-LE-1.

5.2.4.2 Symptomatický projev fytoplazmy ESFY na testovaných podnožích s inokuly Jantze

Statistická analýza výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Jantze zjistila statisticky vysoce průkazné rozdíly v četnosti výskytu symptomatických rostlin v roce 2009 (Graf 38), v němž se objevilo nejvíce symptomatických rostlin podnože M-LE-1 (průměrně 65 %). Dřevitý indikátor GF 305 dosáhl nejvyšších hodnot četnosti symptomatických rostlin již v roce 2007 i v následujícím roce 2008 oproti ostatním podnožím, takže jeho reakce na přítomnou fytoplazmu ESFY byla rychlejší.

Nejnižší zastoupení symptomatických rostlin v celém zkoumaném období měla podnož Torinel, čemuž odpovídá i nízké procento (8,7 %) rostlin s přítomnou fytoplazmou ESFY. Výsledným hodnotám četností symptomatických rostlin podnoží odpovídaly i průměrné hodnoty počtu rostlin s pozitivní PCR reakcí na přítomnost fytoplazmy ESFY. Nejvíce pozitivních rostlin bylo detekováno u podnoží M-LE-1 (93,3 %) a GF 305 (86,7 %), u nichž se vyskytovalo i nejvíce symptomatických rostlin.

Graf 38 Grafické znázornění rozdílností ve výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Jantze v jednotlivých letech 2007-09

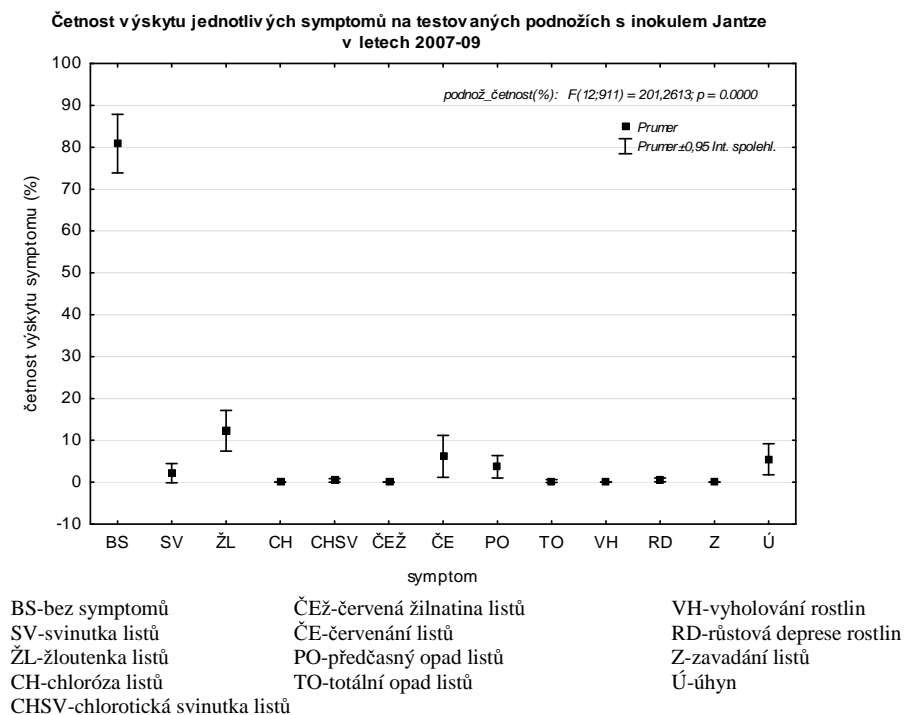


Mezi rostlinami testovaných podnoží s inokulem Jantze byly nalezeny vysoce průkazné rozdíly v četnosti různých symptomů v roce 2009, v ostatních letech byly rozdíly neprůkazné (Příloha 8). Nejvyššího počtu různých symptomů v roce 2009 dosáhla podnož M-LE-1 (2,8 ks) a nulové (nejnižší) hodnoty v různosti symptomů měly podnože GF 305 a Torinel. Dřevitý indikátor GF 305 podle očekávání dosáhnul nejvyšších hodnot již v prvním (i druhém) roce po inokulaci. Různost symptomů rostlin podnoží s inokulem Jantze měla podobný výsledný charakter hodnot jako výše popsaná charakteristika výskytu symptomatických rostlin podnoží (viz Graf 38).

Statistická analýza četnosti výskytu jednotlivých symptomů fytoplazmy ESFY na rostlinách testovaných podnoží s inokulem Jantze prokázala vysoce průkazné rozdíly (Graf 39). Na testovaných podnožích se nejčastěji vyskytovaly symptomy žloutenka (12,3 %), červenání (6,2 %) a předčasný opad listů (3,7 %), z čehož vyplývá relativně nízká četnost vyskytujících se symptomů. Největší podíl měly rostliny bez symptomů (80,9 %), nejspíš z důvodu nízkého projevu symptomů v prvním roce po inokulaci.

Přítomnost fytoplazmy ESFY byla pomocí PCR prokázána průměrně u 54,6 % rostlin testovaných podnoží, takže u některých podnoží bez symptomatického projevu mohlo jít i o latentní infekci.

Graf 39 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na testovaných podnožích s inokulem Jantze v letech 2007-09



Statistická analýza předčasného úhynu podnoží s inokulem Jantze stanovila vysoce průkazné rozdíly hodnot úhynu v letech 2008 a 2009 (Příloha 9). Nejvyšších hodnot úhynu dosáhla podnož GF 305 a to v roce 2009 (průměrně 90 %). V roce 2008 uhynulo nejvíce rostlin podnože Torinel (průměrně 12,3 %). Přestože nejvíce pozitivních rostlin bylo detekováno u podnože M-LE-1 (93,3 %), uhynulo průměrně pouze 20 % rostlin. Podnož M-LE-1 se ukázala být více odolnou k přítomné fytoplazmě ESFY. Za celé sledované období byl jinak úhyn rostlin podnoží nízký.

Z porovnání charakteristik výskytu symptomatických rostlin, různosti symptomů a předčasného úhynu je patrné, že inokula Jantze v kombinaci s různými podnožemi dosáhla výrazného symptomatického projevu v celém sledovaném období 2007-09. Průměrně vysokým hodnotám výše zmíněných charakteristik odpovídá i vysoké zastoupení letorostů prorůstajících z inokula Jantze (71,8 %) a rostlin podnoží (54,6 %) s pozitivní PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY.

Nejčetnější zastoupení symptomatických letorostů i projev různých symptomů na letorostech bylo v kombinaci inokul Jantze s podnoží GF-8-1, čemuž odpovídala i vysoká detekce (průměrně 81,4 %) přítomné fytoplazmy ESFY v testovaných letorostech. Naproti tomu se však nejvyšší hodnoty testovaných charakteristik neobjevily u rostlin podnože GF-8-1, jak by se dalo očekávat, ale u podnože M-LE-1 a GF 305. U těchto podnoží bylo i nejvyšší zastoupení pozitivních rostlin na přítomnou fytoplazmu ESFY. U podnože M-LE-1 bylo detekováno více pozitivních rostlin (93,3 %) než tomu bylo u letorostů (66 %) prorůstajících z inokul Jantze. Z daného vyplývá, že došlo k přenosu fytoplazmy ESFY na rostliny podnože M-LE-1 i z inokul Jantze, které dále neprorostly. Nejvyšších hodnot úhynu dosáhly rostliny podnože GF 305 i s letorosty z inokul Jantze. V roce 2009 nerostla žádná rostlina, ani kontrolní, tudíž nešlo o vliv fytoplazmy ESFY. Podnož M LE-1 se projevila jako méně citlivá k přítomné fytoplazmě ESFY, přes vysoké zastoupení pozitivních rostlin, měla nízký úhyn.

5.2.5 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY po inokulaci očky z rouků z infikovaného stromu 2 odrůdy Murfatlar

Pro studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY byla statisticky hodnocena četnost výskytu jednotlivých symptomů, různost symptomů, četnost symptomatických rostlin podnoží a letorostů prorůstajících z inokul z infikovaného stromu dvě odrůdy Murfatlar (dále jen inokulum Murfatlar). Na druhém stromě odrůdy Murfatlar se v roce odběru (2006) inokulačního materiálu objevila výrazná chlorotická svinutka listů. Hodnocen byl i celkový úhyn letorostů prorůstajících z inokul Murfatlar a rostlin podnoží.

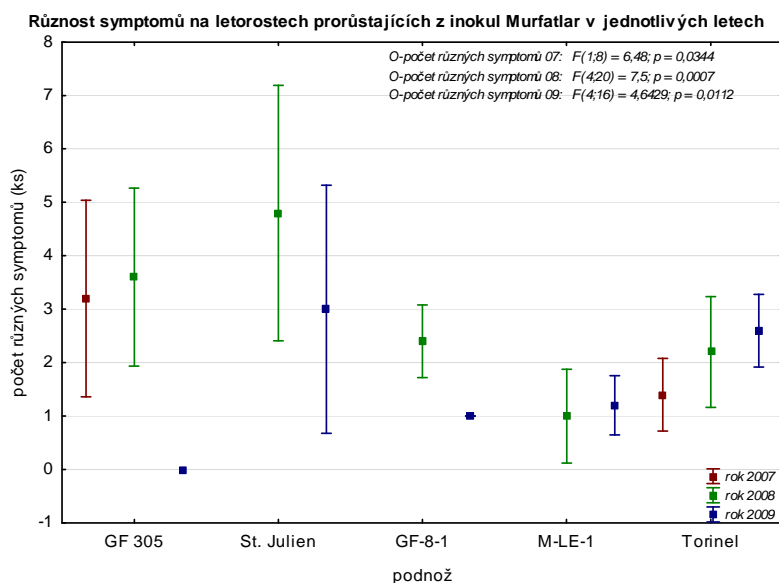
5.2.5.1 Symptomatický projev fytoplazmy ESFY na letorostech prorůstajících z inokul Murfatlar

Statistická analýza výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Murfatlar s testovanými podnožemi nenalezla průkazné rozdíly v četnosti v žádném roce výzkumu (Příloha 10). Přičemž v roce 2009 bylo 100 % symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Murfatlar v kombinaci se všemi sledovanými podnožemi. V roce 2007 byly hodnoceny letorosty pouze u podnože GF 305, protože u ostatních podnoží neprorostl žádný letorost z inokul Murfatlar a musela se inokulace rostlin podnoží opakovat.

V roce 2008 byl průměrný výskyt symptomatických letorostů také vysoký. Zastoupení symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Murfatlar dosáhlo v celém sledovaném období vysokých hodnot bez výrazných rozdílů mezi podnožemi.

Cílem statistické analýzy různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Murfatlar bylo zjistit rozdíly v počtu projevujících se symptomů na letorostech v kombinaci s různými podnožemi. Čím více se na rostlině objevilo různých symptomů, tím větší byla různost. Mezi testovanými kombinacemi inokul Murfatlar s různými podnožemi byly ve sledovaném období nalezeny průkazné rozdíly v různosti symptomů na letorostu v letech 2007 a 2009 a vysoce průkazné rozdíly v roce 2008 (Graf 40). Průměrně nejvyšších hodnot různosti symptomů na letorostech dosahovaly kombinace inokul Murfatlar s podnoží GF 305 a St. Julien 655/2. Nejnižší zastoupení jednotlivých symptomů na letorostech bylo s podnoží M-LE-1, protože na dané podnoži prorostlo pouze jediné inokulum.

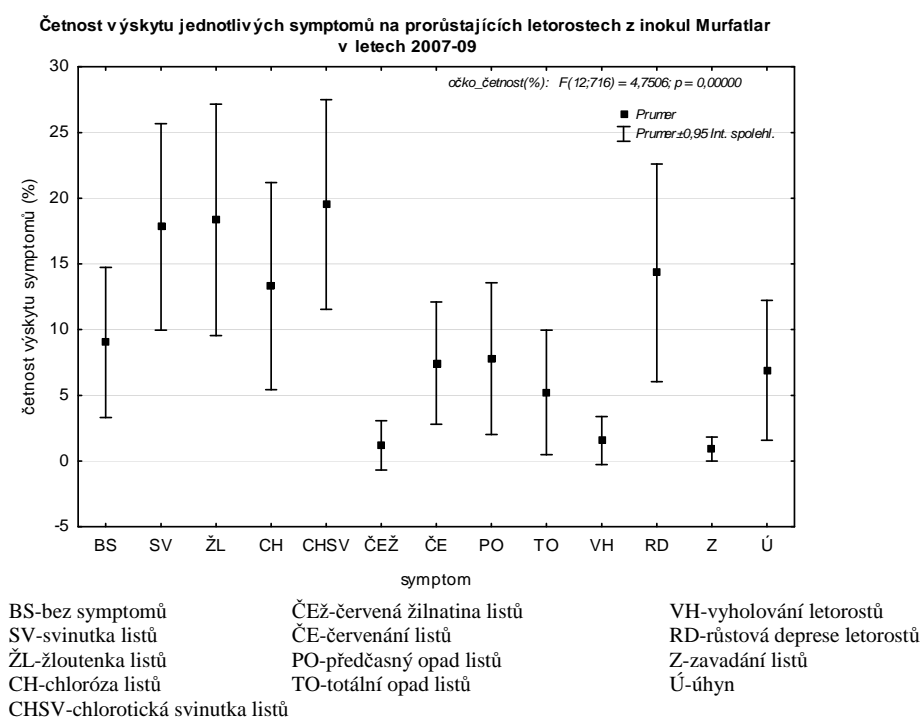
Graf 40 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Murfatlar v jednotlivých letech 2007-09



Statistická analýza výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Murfatlar s různými podnožemi prokázala vysoce průkazné rozdíly v jejich četnosti a vzhledem k výsledným hodnotám lze tvrdit, že byla četnost výskytu jednotlivých symptomů v letech 2007-09 vysoká. Na zkoumaných letorostech se průměrně nejčetněji vyskytovaly symptomy chlorotická svinutka (19,5 %), žloutenka (18,4 %), svinutka (17,8 %), růstová deprese letorostů (14,3 %) a chloróza listů (13,3 %).

Symptomy na druhém stromu odrůdy Murfatlar, ze kterého pocházel inokulační materiál, byly podobné, také se nejsilněji projevil symptom chlorotická svinutka listů, jež byl u letorostů prorůstajících z inokul Murfatlar také v nejvyšším zastoupení (Graf 41). Předčasný úhyn průměrně dosáhl hodnoty 6,9 %. Letorosty bez symptomů (9,03 %) tentokrát nedosahovaly vysokých hodnot. Přítomnost fytoplazmy ESFY byla pomocí PCR prokázána průměrně u 41,7 % letorostů prorůstajících z inokul Murfatlar, což nebyla tak vysoká hodnota jak by se předpokládalo, když celková četnost jednotlivých symptomů vyšla ve sledovaném období vysoká.

Graf 41 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Murfatlar v letech 2007-09



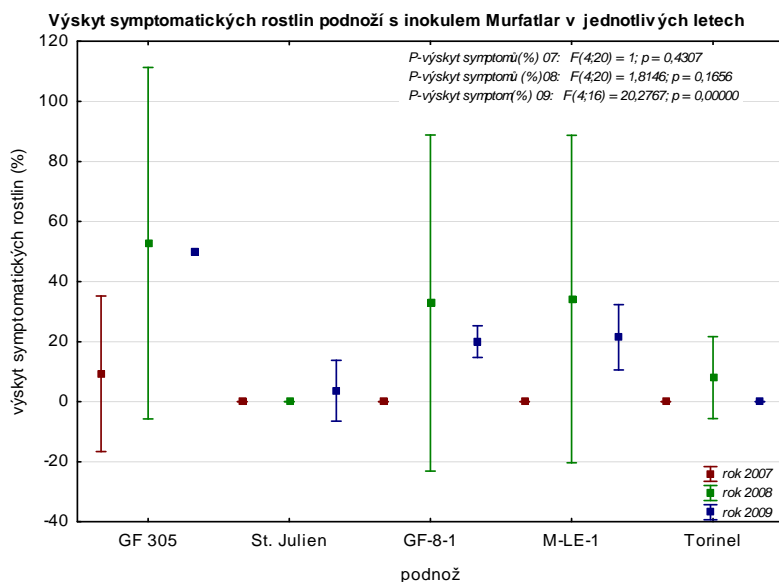
Při porovnávání předčasného úhynu letorostů prorůstajících z inokul Murfatlar na různých podnožích byly nalezeny vysoce průkazné rozdíly v posledním roce pozorování (2009). Nejvyšší průměrná hodnota předčasného úhynu letorostů prorůstajících z inokul Murfatlar byla u kombinace s podnoží GF 305 (Příloha 11). Naopak nejnižší průměrný úhyn byl sledován u kombinace inokul Murfatlar s podnoží M-LE-1 a podnoží Torinel, na kterých bylo i nejméně prorostlých letorostů.

Ze statistické analýzy výskytu symptomatických letorostů, různosti symptomů na letorostech i četnosti jednotlivých symptomů lze říci, že letorosty prorůstající z inokul Murfatlar dosáhly výrazného symptomatického projevu v celém sledovaném období 2007-09 bez výrazných rozdílností mezi podnožemi

5.2.5.2 *Symptomatický projev fytoplazmy ESFY na testovaných podnožích s inokuly Murfatlar*

Statistická analýza výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Murfatlar zjistila statisticky vysoce průkazné rozdíly v četnosti výskytu symptomatických rostlin v roce 2009 (Graf 42), v němž se objevilo nejvíce symptomatických rostlin podnože GF 305 (průměrně 50 %). Dřevitý indikátor GF 305 dosáhl nejvyšších hodnot četnosti symptomatických rostlin již v roce 2007 i v následujícím roce 2008 oproti ostatním podnožím, takže jeho reakce na přítomnou fytoplazmu ESFY byla nejrychlejší a nejcitlivější. Nejvíce pozitivních rostlin na fytoplazmu ESFY bylo však detekováno u podnože GF-8-1 (85,7 %), přesto nedosahovala nejvyššího zastoupení symptomatických rostlin. U podnože GF 305 bylo detekováno 76,4 % rostlin s pozitivní PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY. Nejnižší zastoupení symptomatických rostlin v celém zkoumaném období měla podnož St. Julien 655/2, čemuž odpovídá i nízké procento (8,2 %) rostlin s přítomnou fytoplazmou ESFY. Nízké zastoupení rostlin s přítomnou fytoplazmou ESFY měla i podnož M-LE-1, přesto vykazovala vysoké hodnoty četnosti symptomatických rostlin.

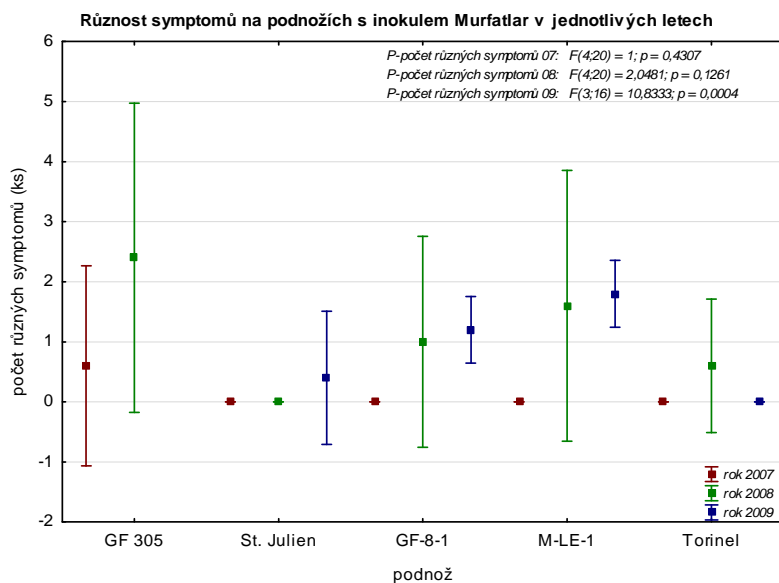
Graf 42 Grafické znázornění rozdílností ve výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Murfatlar v jednotlivých letech 2007-09



Mezi rostlinami testovaných podnoží s inokulem Murfatlar byly nalezeny vysoce průkazné rozdíly v četnosti různých symptomů v roce 2009, v ostatních letech byly rozdíly neprůkazné (Graf 43). Nejvyššího počtu různých symptomů v roce 2009 dosáhla podnož GF 305 (3 ks) a v letech 2007-08 také.

Nulové (nejnižší) hodnoty v různosti symptomů v posledním roce pozorování měla podnož Torinel. Dřevitý indikátor GF 305 podle očekávání dosáhl nejvyšších hodnot v celém období výzkumu. Různost symptomů rostlin podnoží s inokulem Murfatlar měla podobný výsledný charakter hodnot jako výše popsaná charakteristika výskyt symptomatických rostlin podnoží (viz Graf 42).

Graf 43 Grafické znázornění rozdílů v různosti symptomů na rostlinách podnoží s inokulem Murfatlar v jednotlivých letech 2007-09

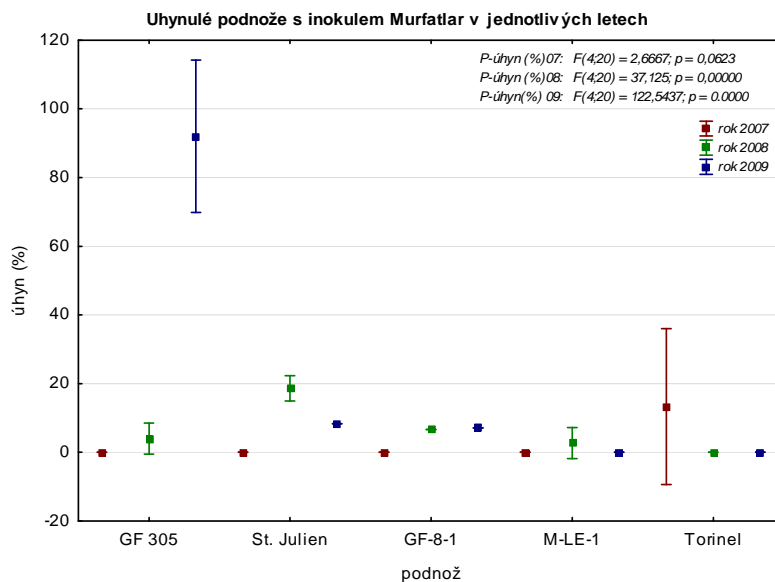


Statistická analýza četnosti výskytu jednotlivých symptomů fytoplazmy ESFY na testovaných podnožích s inokulem Murfatlar prokázala vysoce průkazné rozdíly (Přílohy 12). Na testovaných podnožích se nejčastěji vyskytovaly symptomy žloutenka (6,7 %), červenání (4,4 %) a předčasný opad listů (3,1 %), z čehož vyplývá nízká četnost vyskytujících se symptomů. Největší podíl měly rostliny bez symptomů (86,9 %), z důvodu nízkého projevu symptomů v prvním roce po inokulaci. Přítomnost fytoplazmy ESFY byla pomocí PCR prokázána průměrně u 44,5 % rostlin testovaných podnožích, což je relativně vysoká hodnota v porovnání s nízkou ujímatelností inokul Murfatlar.

Statistická analýza předčasného úhynu podnoží s inokulem Murfatlar stanovila vysoce průkazné rozdíly hodnot úhynu v letech 2008 a 2009 (Graf 44). Nejvyšších hodnot úhynu dosáhla podnož GF 305 a to v roce 2009 (průměrně 92 %). V roce 2008 uhynulo nejvíce rostlin podnože St. Julien 655/2 (průměrně 18,7 %). Přestože nejvíce pozitivních rostlin bylo detekováno u podnože GF-8-1 (85,7 %), uhynulo průměrně nízké množství rostlin (Graf 44).

Podnož GF-8-1 se ukázala být více odolnou k přítomné fytoplazmě ESFY. Za celé sledované období byl jinak úhyn rostlin podnoží nízký.

Graf 44 Grafické znázornění rozdílností v předčasném úhynu rostlin podnoží s inokulem Murfatlar v letech 2007-09



Z porovnání charakteristik výskytu symptomatických rostlin, různosti symptomů a předčasného úhynu je patrné, že inokula Murfatlar v kombinaci s různými podnožemi dosáhla výrazného symptomatického projevu v celém sledovaném období 2007-09. Nejvyšších hodnot různosti symptomu na letorostech dosahovaly kombinace inokul Murfatlar s podnoží GF 305. Nejnižší zastoupení jednotlivých symptomů na letorostech bylo s podnoží M-LE-1, protože na dané podnoži prorostlo pouze jediné inokulum. Proto měly rostliny podnože M-LE-1 nízké zastoupení rostlin s přítomnou fytoplazmou ESFY, ale i tak vykazovala vysoké hodnoty četnosti symptomatických rostlin i různosti symptomů. U podnože GF-8-1 a GF 305 bylo detekováno více pozitivních rostlin na přítomnou fytoplazmu ESFY než byla četnost rostoucích inokul Murfatlar. Z daného vyplývá, že došlo z inokul Murfatlar k přenosu fytoplazmy ESFY na rostliny podnoží, přestože neprorostly. Proto se u rostlin podnože GF-8-1 objevil výraznější symptomatický projev než tomu bylo u letorostů Murfatlar. Nejvyšších hodnot úhynu dosáhly rostliny podnože GF 305 i s letorosty z inokul Murfatlar, v roce 2009 nerostla žádná rostlina, ale úhyn nebyl způsoben fytoplazmou ESFY, protože uhynuly i kontrolní rostliny podnože. Podnož GF-8-1 se projevila jako méně citlivá k přítomné fytoplazmě ESFY, přes vysoké zastoupení pozitivních rostlin na fytoplazmu ESFY, měla nízký úhyn.

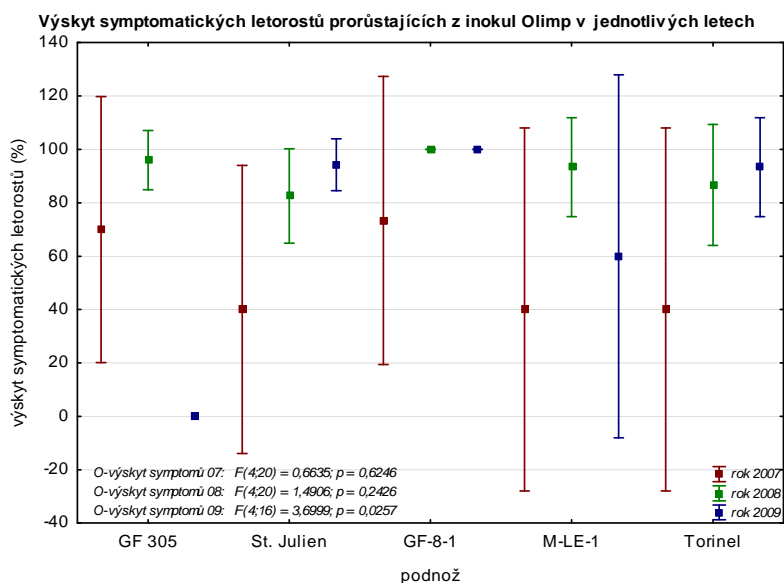
5.2.6 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY po inokulaci očky z rouků z infikovaného stromu 2 odrůdy Olimp

Pro studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY byla statisticky hodnocena četnost výskytu jednotlivých symptomů, různost symptomů, četnost symptomatických rostlin podnoží a letorostů prorůstajících z inokul z infikovaného stromu dvě odrůdy Olimp (dále jen inokulum Olimp). Na druhém stromě odrůdy Olimp se v roce odběru (2006) inokulačního materiálu neobjevil žádný symptom typický pro projev onemocnění fytoplazmou ESFY. Hodnocen byl i celkový úhyn letorostů prorůstajících z inokul Olimp a rostlin podnoží.

5.2.6.1 Symptomatický projev fytoplazmy ESFY na letorostech prorůstajících z inokul Olimp

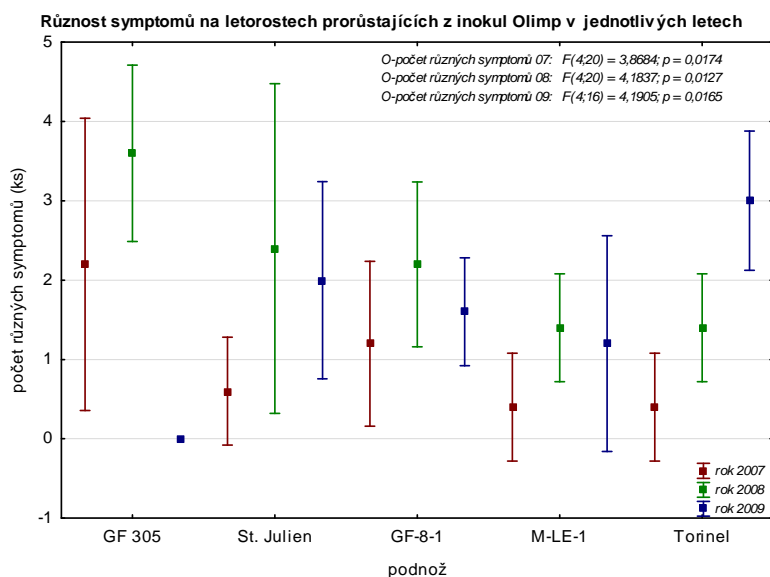
Statistická analýza výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Olimp s testovanými podnožemi našla průkazné rozdíly v četnosti v posledním roce (2009) pozorování (Graf 45). Přičemž nejvyšších hodnot výskytu symptomatických letorostů dosáhla kombinace inokul Olimp s podnoží GF-8-1 již v prvním roce po inokulaci (2007) 73,3 %, stejně tak i v následujících dvou letech, kdy dosáhla hodnoty 100 %. Výsledky PCR detekce přítomnosti fytoplazmy ESFY v letorostech prorostlých z inokul Olimp (75 %) na této podnoží se také pohybují na nejvyšší úrovni hodnot ve srovnání s ostatními letorosty inokul Olimp na zkoumaných podnožích. Naopak průměrně nejméně letorostů se symptomy (60 %) v roce 2009 měla kombinace inokula Olimp s podnoží M-LE-1, přestože bylo detekováno průměrně vysoké zastoupení letorostů (66,7 %) s pozitivní PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY. Na podnoží GF 305 bylo v posledním roce výzkumu nulové zastoupení symptomatických letorostů z důvodu úhynu všech rostlin.

Graf 45 Grafické znázornění rozdílnosti v četnosti výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Olimp v jednotlivých letech 2007-09



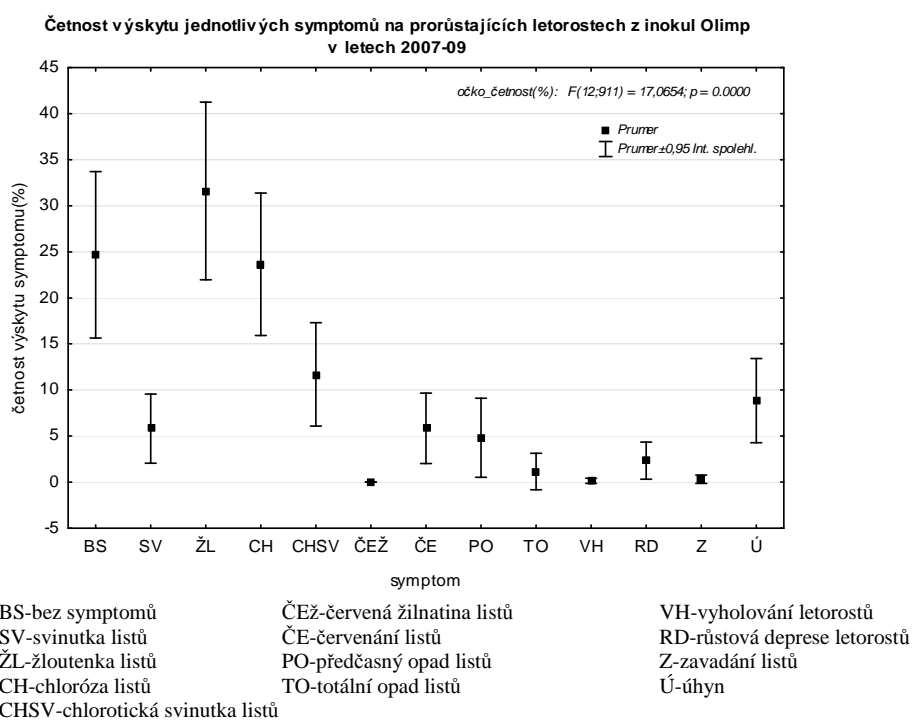
V různosti symptomů na letorostech prorostlých z inokul Olimp s různými podnožemi byly nalezeny průkazné rozdíly v celém období pozorování (Graf 46). Nejvyšších hodnot různosti symptomu na letorostech dosahovaly kombinace inokul Olimp s podnoží GF 305 v letech 2007 a 2008 a s podnoží Torinel v roce 2009. V roce 2009 neukázaly letorosty na podnoží GF 305 žádný symptom z důvodu kompletního úhynu. Nejnižší četnosti jednotlivých symptomů na letorostech bylo dosaženo s podnoží M-LE-1, přestože bylo detekováno metodou PCR 66,7 % letorostů s přítomnou fytoplazmou ESFY.

Graf 46 Grafické znázornění rozdílnosti v různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Olimp v jednotlivých letech 2007-09



Statistická analýza výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Olimp s různými podnožemi prokázala vysoce průkazné rozdíly v jejich četnosti a vzhledem k výsledným hodnotám lze tvrdit, že byla četnost výskytu jednotlivých symptomů v letech 2007-09 vysoká (Graf 47). Na zkoumaných letorostech se průměrně nejčastěji vyskytovaly symptomy žloutenka listů (31,6 %), chloróza listů (23,6 %), chlorotická svinutka (11,7 %), svinutka a červenání listů (5,8 %). Na druhém stromu odrůdy Olimp, ze kterého pocházel inokulační materiál, nebyly v době odběru inokul pozorovatelné žádné symptomy. Předčasný úhyn průměrně dosáhl hodnoty 8,8 %. Letorosty bez symptomů (24,7 %) nepřevyšovaly hodnoty četností jednotlivých symptomů. Přítomnost fytoplazmy ESFY byla pomocí PCR prokázána průměrně u 49,3 % letorostů prorůstajících z inokul Olimp, což byla relativně nízká hodnota vzhledem k výraznému symptomatickému projevu letorostů.

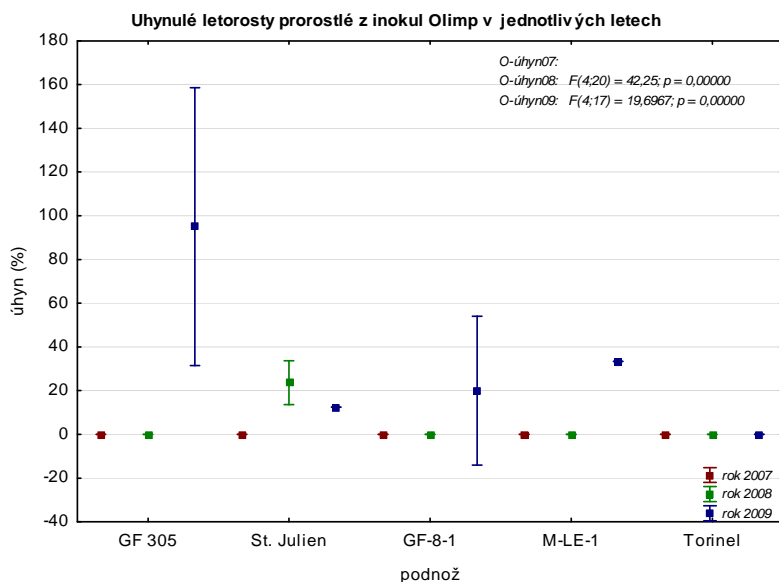
Graf 47 Grafické znázornění rozdílnosti v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Olimp v letech 2007-09



Při porovnávání předčasného úhynu letorostů prorůstajících z inokul Olimp na různých podnožích byly nalezeny vysoce průkazné rozdíly v druhém i třetím roce po inokulaci (Graf 48). V roce 2008 nejvyšší průměrné hodnoty dosáhly letorosty prorůstající z inokul Olimp na podnoži St. Julien 655/2 (23,6 %). V roce 2009 uhynulo průměrně 95 % letorostů vyrůstajících z inokul Olimp na podnoži GF 305. V roce 2007 nebyl zaznamenán žádný úhyn.

Nejnižší úhyn letorostů v celém období výzkumu měla kombinace inokul Olimp s podnoží Torinel (0 %). Důvodem bylo nejspíš zjištěné nulové zastoupení pozitivních letorostů na přítomného patogena v kombinaci s touto podnoží.

Graf 48 Grafické znázornění rozdílností v úhynu letorostů prorostlých z inokul Olimp v jednotlivých letech 2007-09



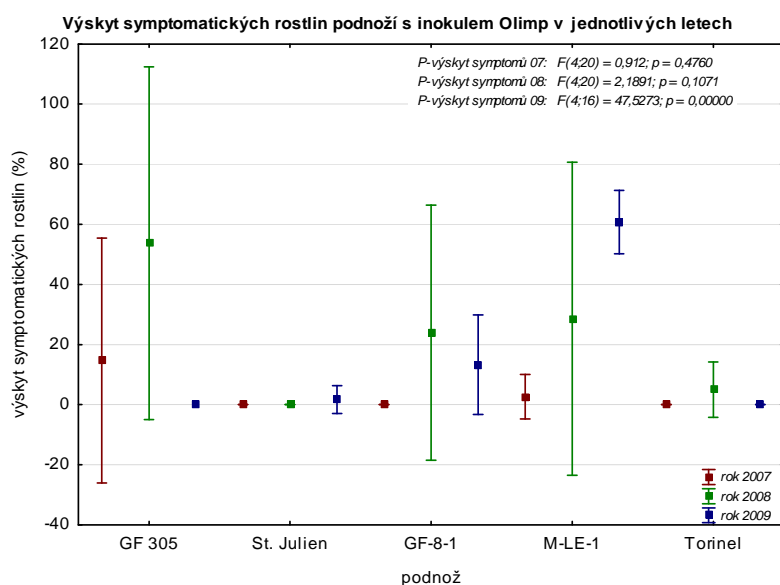
Ze statistické analýzy výskytu symptomatických rostlin a různosti symptomů je patrné, že inokula Olimp dosáhla výrazného symptomatického projevu v celém sledovaném období 2007-09. Nejčetnější zastoupení symptomatických letorostů bylo na podnoží GF-8-1 a výsledným hodnotám odpovídala i vysoká detekce (průměrně 75 %) přítomné fytoplazmy ESFY v testovaných letorostech. V různosti symptomů dosáhly nejvyšších hodnot četnosti v letech 2007 a 2008 letorosty inokul Olimp na podnoží GF 305, u nichž bylo zjištěno 70 % pozitivních letorostů na přítomnou fytoplazmu ESFY. V posledním roce výzkumu všechny letorosty uhynuly společně s rostlinami podnože GF 305. Jinak byl předčasný úhyn letorostů inokul Olimp s ostatními podnožemi nízký.

5.2.6.2 Symptomatický projev fytoplazmy ESFY na testovaných podnožích s inokuly Olimp

Statistická analýza zjistila vysoce průkazné rozdíly v četnosti výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Olimp v roce 2009 (Graf 49), v němž se objevilo nejvíce symptomatických rostlin podnože M-LE-1 (průměrně 60,7 %).

Dřevitý indikátor GF 305 dosáhl opět nejvyšších hodnot četnosti symptomatických rostlin již v letech 2007-08 a výsledku odpovídalo i nejvíce pozitivních rostlin na fytoplazmu ESFY (67,2 %). Nejnižší zastoupení symptomatických rostlin v celém zkoumaném období měla podnož St. Julien 655/2, adekvátní bylo i nízké procento (7,7 %) rostlin s přítomnou fytoplazmou ESFY. V celém období sledování byl výskyt symptomatických rostlin podnoží relativně nízký.

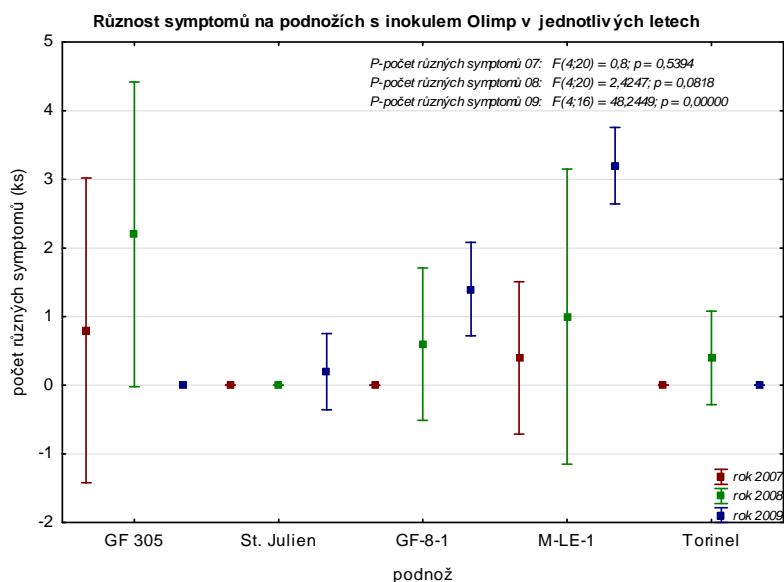
Graf 49 Grafické znázornění rozdílností ve výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Olimp v jednotlivých letech 2007-09



Cílem statistické analýzy různosti symptomů na rostlinách podnoží s inokulem Olimp bylo zjistit rozdíly v počtu jednotlivých symptomů na podnožích. Čím více se na rostlině objevilo různých symptomů, tím větší byla různost. Mezi rostlinami testovaných podnoží s inokulem Olimp byly odhaleny vysoce průkazné rozdíly v četnosti různých symptomů v roce 2009, v ostatních letech byly rozdíly neprůkazné (Graf 50). Nejvyššího počtu různých symptomů v roce 2009 dosáhla podnož M-LE-1 (3,2 ks). V letech 2007-08 se objevilo nejvíce různých symptomů na rostlinách podnože GF 305. U obou výše zmíněných podnoží bylo detekováno i nejvíce pozitivních rostlin na fytoplazmu ESFY, 67,2 % rostlin podnože GF 305 a 48,6 % rostlin podnože M-LE-1. Nejméně různých symptomů se projevilo u rostlin podnoží St. Julien 655/2 a Torinel.

Různost symptomů rostlin podnoží s inokulem Olimp měla podobný výsledný charakter hodnot jako výše popsaná charakteristika výskyt symptomatických rostlin podnoží (viz. Graf 49).

Graf 50 Grafické znázornění rozdílů v různosti symptomů na rostlinách podnoží s inokulem Olimp jednotlivých letech 2007-09

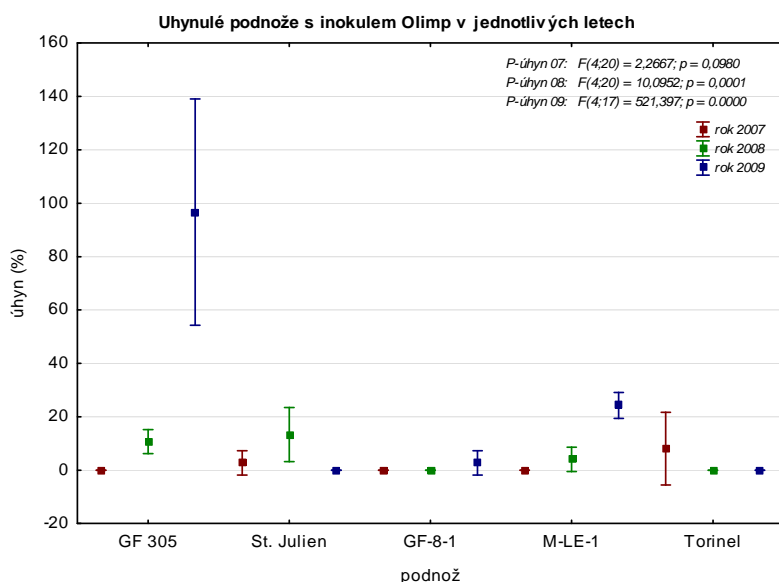


Statistická analýza četnosti výskytu jednotlivých symptomů fytoplazmy ESFY na testovaných podnožích s inokulem Olimp prokázala vysoce průkazné rozdíly (Přílohy 13). Na testovaných podnožích se nejčastěji vyskytovaly symptomy žloutenka (8,7 %), červenání (4,4 %) a předčasný opad listů (3,4 %), z čehož vyplývá nízká četnost vyskytujících se symptomů. Největší podíl měly rostliny bez symptomů (85,4 %). Celkový úhyn rostlin podnoží s inokuly Olimp dosáhl průměrně 7,2 %. Přítomnost fytoplazmy ESFY byla pomocí PCR prokázána průměrně u 36,9 % rostlin testovaných podnožích, což je nízká hodnota a odpovídá i nízkému zastoupení symptomů.

Statistická analýza předčasného úhynu podnoží s inokulem Olimp stanovila vysoce průkazné rozdíly hodnot úhynu v letech 2008 a 2009 (Graf 51). Nejvyšších hodnot úhynu dosáhla podnož GF 305 a to v roce 2009. V roce 2008 uhynulo nejvíce rostlin podnože St. Julien 655/2 (průměrně 13,3 %).

Nejnižší úhyn rostlin byl u podnože GF-8-1. Jinak byl úhyn rostlin podnoží v celém období pozorování nízký.

Graf 51 Grafické znázornění rozdílů v předčasném úhynu rostlin podnoží s inokulem Olimp v letech 2007-09



Z porovnání charakteristik výskytu symptomatických rostlin, různosti symptomů a předčasného úhynu je patrné, že inokula Olimp v kombinaci s různými podnožemi dosáhla výrazného symptomatického projevu v celém sledovaném období 2007-09. Nejvyšších hodnot četnosti symptomatických letorostů dosáhla kombinace inokul Olimp s podnoží GF-8-1 v celém období pozorování a měla i největší zastoupení pozitivních letorostů k přítomné fytoplazmě ESFY. Četnost výskytu symptomatických rostlin podnoží měla však nejvyšší podnož GF 305 v letech 2007-08 a v posledním roce rostliny podnože M-LE-1. Z čehož plyne, že rostliny podnože GF-8-1 nebyly k přítomné fytoplazmě ESFY tak citlivé jako rostliny podnože GF 305 a M-LE-1. V různosti symptomů dosáhly letorosty prorůstající z inokul Olimp nejvyšších hodnot s podnoží GF 305 v letech 2007-08 a v posledním roce s podnoží Torinel. Ve stejném období pak měla podnož GF 305 také nejvyšší zastoupení různých symptomů na rostlinách, ale v posledním roce dosáhla nejvyšší různosti symptomů na rostlinách podnož M-LE-1. Přitom letorosty prorůstající z inokul Olimp s podnoží M-LE-1 měly různost symptomů v celém období nejnižší. Z daného vyplývá, že symptomatická reakce rostlin podnože M-LE-1 byla citlivější k přítomné fytoplazmě ESFY než u letorostů inokul Olimp.

U podnože GF-8-1 a M-LE-1 bylo detekováno více pozitivních rostlin na přítomnou fytoplazmu ESFY než byla četnost rostoucích inokul Olimp. Takže došlo k přenosu fytoplazmy ESFY z inokul Olimp na rostliny podnoží, přestože inokula dále neprorostla. Rostliny podnože GF-8-1 se projeví jako méně citlivé k přítomné fytoplazmě ESFY, přes vyšší zastoupení pozitivních rostlin na fytoplazmu ESFY (46,7 %) ve srovnání s ostatními, měly úhyn nejnižší.

5.2.7 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY po inokulaci očky z roubů z infikovaného stromu 3 odrůdy Poljus Južnyj

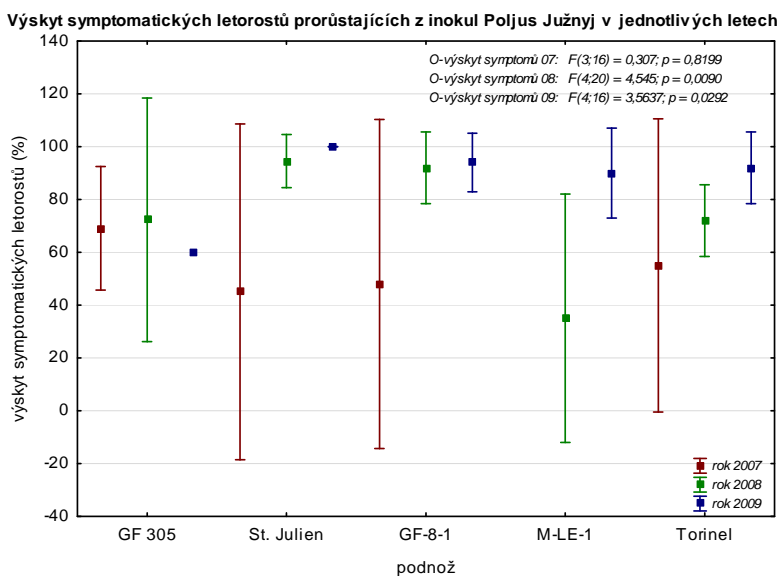
Pro studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY byla statisticky hodnocena četnost výskytu jednotlivých symptomů, různost symptomů, četnost symptomatických rostlin podnoží a letorostů prorůstajících z inokul z infikovaného třetího stromu odrůdy Poljus Južnyj (dále jen inokulum Poljus Južnyj). Na třetím stromě odrůdy Poljus Južnyj se v roce odběru (2006) inokulačního materiálu neobjevil žádný symptom typický pro projev onemocnění fytoplazmou ESFY. Hodnocen byl i celkový úhyn letorostů prorůstajících z inokul Poljus Južnyj a rostlin podnoží.

5.2.7.1 Symptomatický projev fytoplazmy ESFY na letorostech prorůstajících z inokul Poljus Južnyj

Statistická analýza výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Poljus Južnyj s testovanými podnožemi našla vysoce průkazné rozdíly v jeho četnosti v roce 2008 a průkazné rozdíly v posledním roce pozorování (Graf 52). Přičemž nejvyšších hodnot výskytu symptomatických letorostů v těchto letech dosáhla kombinace inokul Poljus Južnyj s podnoží St. Julien 655/2. Výsledky PCR detekce přítomnosti fytoplazmy ESFY v letorostech prorostlých z inokul Poljus Južnyj se na této podnoži přitom nepohybovaly na nejvyšší úrovni (45,5 %) ve srovnání s ostatními letorosty inokul Poljus Južnyj s různými podnožemi.

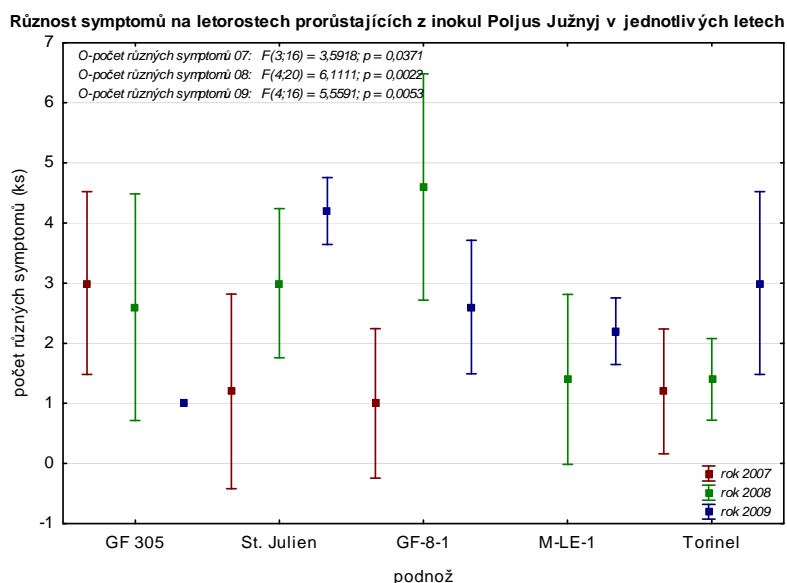
Naopak průměrně nejméně letorostů se symptomy (35 %) v roce 2008 měla kombinace inokul Poljus Južnyj s podnoží M-LE-1 (pozitivních letorostů 100 %) a v roce 2009 bylo nejnižší množství letorostů se symptomy (60 %) s podnoží GF 305 (pozitivních letorostů 46,2 %), z důvodu úhynu rostlin této podnože.

Graf 52 Grafické znázornění rozdílnosti v četnosti výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Poljus Južnyj v jednotlivých letech 2007-09



Mezi testovanými kombinacemi inokul Poljus Južnyj s různými podnožemi byly ve sledovaném období odhaleny průkazné rozdíly v různosti symptomů na letorostu a v letech 2008 a 2009 byly tyto rozdíly dokonce vysoce průkazné (Graf 53). Nejvyšších hodnot různosti symptomů na letorostech v roce 2008 dosahovaly kombinace inokul Poljus Južnyj s podnoží GF-8-1 (pozitivních letorostů 80 %) a v roce 2009 s podnoží St. Julien 655/2 (pozitivních letorostů 45,5 %). Nejnižší četnosti jednotlivých symptomů na letorostech ve všech letech výzkumu bylo s podnoží M-LE-1, přestože bylo detekováno metodou PCR 100 % letorostů s přítomnou fytoplazmou ESFY.

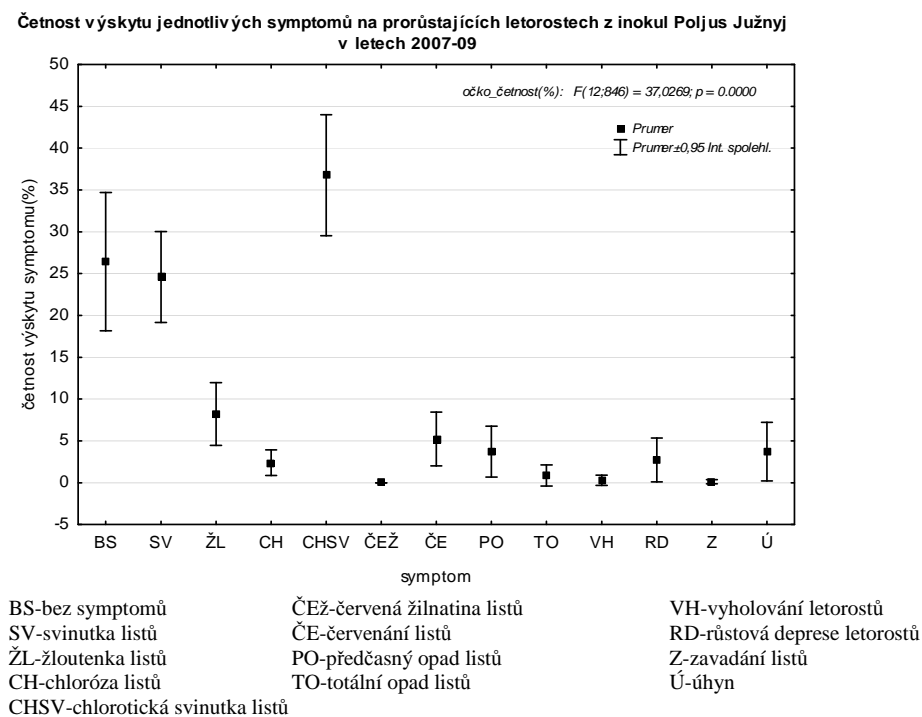
Graf 53 Grafické znázornění rozdílů v různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Poljus Južnyj v jednotlivých letech 2007-09



Statistická analýza výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Poljus Južnyj s různými podnožemi prokázala vysoce průkazné rozdíly v jejich četnosti (Graf 54). Na zkoumaných letorostech se průměrně nejčteněji vyskytovaly symptomy chlorotická svinutka (36,8 %), svinutka (24,6 %), žloutenka (8,2 %) a červenání listů (5,2 %). Ve srovnání se třetím stromem odrůdy Poljus Južnyj, ze kterého pocházel inokulační materiál, byl symptomatický projev výrazně odlišný. Na stromu odrůdy Poljus Južnyj se žádné symptomy neprojevovaly. Předčasný úhyn průměrně dosáhl hodnoty 3,7 %. Vysoké zastoupení měly opět letorosty bez symptomů (26,4 %), což je dáno skutečností, že u většiny letorostů prorůstajících z inokul Poljus Južnyj se v největší míře objevily příznaky fytoplazmy ESFY až druhým a třetím rokem po inokulaci.

Přítomnost fytoplazmy ESFY byla pomocí PCR prokázána průměrně u 60,5 % letorostů prorůstajících z inokul Poljus Južnyj, takže by se dalo tvrdit, že výskyt symptomů byl odpovídající.

Graf 54 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Poljus Južnyj v letech 2007-09



Při porovnávání předčasného úhynu letorostů prorůstajících z inokul Poljus Južnyj na různých podnožích byly nalezeny vysoce průkazné rozdíly v posledním roce pozorování (2009). Nejvyšší průměrná hodnota předčasného úhynu letorostů prorůstajících z inokul Poljus Južnyj byla s podnoží GF 305 (Příloha 14), protože došlo počátkem vegetačního období roku 2009 k úhynu všech rostlin této podnože. Jinak byl úhyn letorostů prorůstajících z inokul Poljus Južnyj v kombinaci s ostatními podnožemi ve většině případů po celé sledované období nulový.

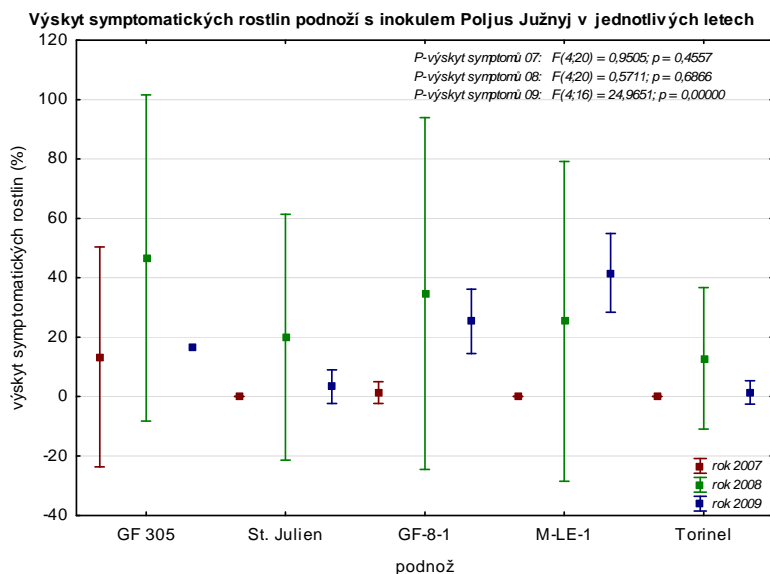
Ze statistické analýzy výskytu symptomatických rostlin a různosti symptomů je patrné, že inokula Poljus Južnyj dosáhla výrazného symptomatického projevu v celém sledovaném období 2007-09. Nejčetnější zastoupení symptomatických letorostů z inokul Poljus Južnyj bylo v období 2008-09 na podnoži St. Julien 655/2, přestože výsledné hodnoty detekce nedosahovaly nejvyšších výsledků (průměrně 45,5 %) přítomné fytoplazmy ESFY v letorostech.

V různosti symptomů dosáhly nejvyšších hodnot četnosti v roce 2009. V roce 2008 se nejvíce různých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Poljus Južnyj projevilo v kombinaci s podnoží GF-8-1, na níž měly letorosty i vysokou hodnotu pozitivní PCR reakce na přítomnou fytoplazmu ESFY (80,00 %). Naopak průměrně nejnižší symptomatický projev měly letorosty na podnoži M-LE-1, přestože ve všech prorostlých letorostech byla fytoplazma ESFY přítomna. Předčasný úhyn letorostů inokul Poljus Južnyj byl nízký.

5.2.7.2 Symptomatický projev fytoplazmy ESFY na testovaných podnožích s inokuly Poljus Južnyj

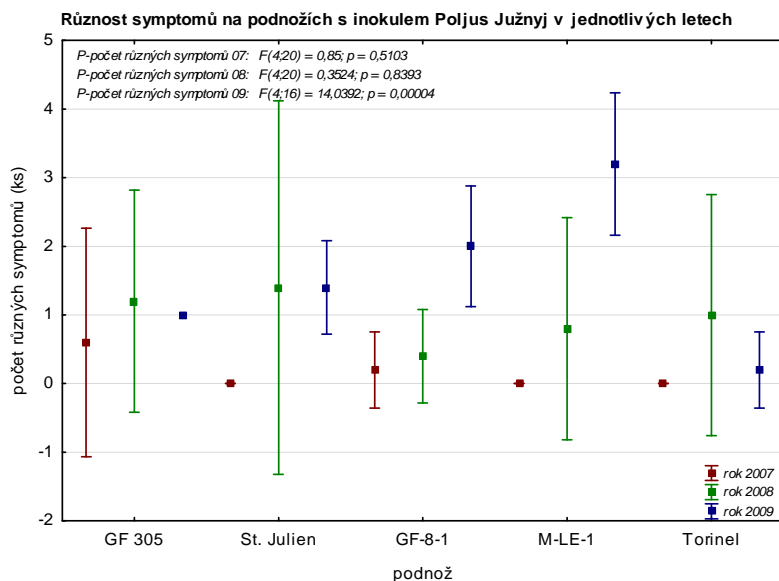
Statistická analýza výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Poljus Južnyj zjistila statisticky vysoce průkazné rozdíly v četnosti výskytu symptomatických rostlin v roce 2009 (Graf 55), v němž se objevilo nejvíce symptomatických rostlin podnože M-LE-1 (průměrně 41,7 %). Dřevitý indikátor GF 305 dosáhl nejvyšších hodnot četnosti symptomatických rostlin již v roce 2007 i v následujícím roce 2008 oproti ostatním podnožím, takže jejich reakce na přítomnou fytoplazmu ESFY byla nejrychlejší a nejcitlivější. U podnože GF 305 bylo detekováno 46,7 % rostlin s pozitivní PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY. Nejvíce pozitivních rostlin na fytoplazmu ESFY bylo však detekováno u podnože GF-8-1 (53,3 %), přesto nedosahovala nejvyššího zastoupení symptomatických rostlin. Oproti rostlinám podnože GF 305 se zdají být rostliny podnože GF-8-1 odolnější vůči přítomnému patogenu. Nejnižší zastoupení symptomatických rostlin v celém zkoumaném období měla podnož Torinel, čemuž odpovídá i nízké procento rostlin s přítomnou fytoplazmou ESFY (21,4 %). Nízké zastoupení rostlin s přítomnou fytoplazmou ESFY měla i podnož M-LE-1 (26,7 %), přesto vykazovala vysoké hodnoty četnosti symptomatických rostlin.

Graf 55 Grafické znázornění rozdílností ve výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Poljus Južnyj v jednotlivých letech 2007-09



V četnosti různých symptomů na rostlinách testovaných podnoží s inokulem Poljus Južnyj byly nalezeny vysoce průkazné rozdíly v roce 2009, v ostatních letech byly rozdíly neprůkazné (Graf 56). Nejvyššího počtu různých symptomů v roce 2009 dosáhla podnož M-LE-1 (průměrně 3,2 ks) a nejnižší četnost v různosti symptomů měly rostliny podnože Torinel (průměrně 0,2 ks). Dřevitý indikátor GF 305 podle očekávání dosáhl nejvyšších hodnot již v prvním roce po inokulaci. V roce 2008 se objevilo nejvíce různých symptomů u rostlin podnože St. Julien 655/2, nejméně u rostlin podnože GF-8-1.

Graf 56 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na rostlinách podnoží s inokulem Poljus Južnyj v jednotlivých letech 2007-09



Statistická analýza četnosti výskytu jednotlivých symptomů fytoplazmy ESFY na testovaných podnožích s inokulem Poljus Južnyj odhalila průkazné rozdíly (Přílohy 15). Na testovaných podnožích se nejčastěji vyskytovaly symptomy žloutenka (8,4 %), červenání (5,6 %) a předčasný opad listů (3,6 %). Největší podíl měly však rostliny bez symptomů (83,8 %). Přítomnost fytoplazmy ESFY byla pomocí PCR prokázána průměrně pouze u 34,7 % rostlin testovaných podnoží. Na závěr lze říci, že u rostlin testovaných podnoží s inokuly Poljus Južnyj byla četnost výskytu jednotlivých symptomů v letech 2007-09 nízká.

Statistická analýza předčasného úhynu rostlin podnoží s inokulem Poljus Južnyj stanovila vysoce průkazné rozdíly hodnot v roce 2009 (Příloha 16). Nejvyšších hodnot úhynu dosáhly rostliny podnože GF 305 a to v roce 2009, průměrně 80 % (z již uvedeného důvodu). Celkově byl úhyn rostlin ostatních podnoží s inokuly Poljus Južnyj nízký.

Ze statistické analýzy výskytu symptomatických rostlin a různosti symptomů je patrné, že inokula Poljus Južnyj dosáhla výrazného symptomatického projevu v celém sledovaném období 2007-09. Nejčastější zastoupení symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Poljus Južnyj bylo v období 2008-09 na podnoži St. Julien 655/2. V různosti symptomů dosáhly nejvyšších hodnot četnosti v posledním roce výzkumu. Naproti tomu rostliny podnože St. Julien 655/2 projeví spíše slabý symptomatický projev. Zajímavého symptomatického projevu dosáhla podnož M-LE-1, s níž měly letorosty prorůstající z inokul Poljus Južnyj průměrně nejnižší symptomatický projev, přestože ve všech prorostlých letorostech fytoplazma ESFY přítomna byla. A naproti tomu rostliny podnože M-LE-1 s výrazným symptomatickým projevem, u nichž bylo nižší zastoupení pozitivních rostlin na přítomnou fytoplazmu ESFY (26,7 %). Předčasný úhyn letorostů prorůstajících z inokul Poljus Južnyj i rostlin podnoží byl nízký.

5.2.8 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY po inokulaci očky z rouků z infikovaného stromu 2 odrůdy Poyer

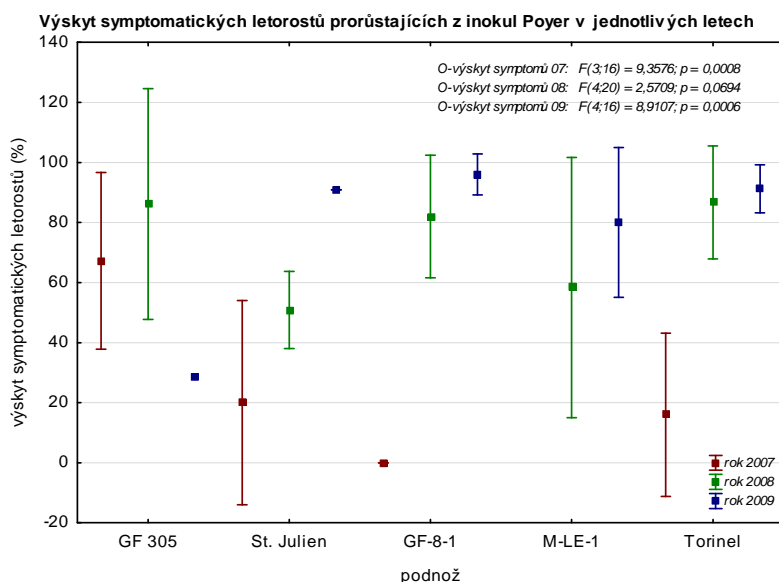
Pro studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY byla statisticky hodnocena četnost výskytu jednotlivých symptomů, různost symptomů, četnost symptomatických rostlin podnoží a letorostů prorůstajících z inokul z infikovaného stromu dvě odrůdy Poyer (dále jen inokulum Poyer).

Na druhém stromě odrůdy Poyer se v roce odběru (2006) inokulačního materiálu neobjevil žádný symptom typický pro projev onemocnění fytoplazmou ESFY. Hodnocen byl i celkový úhyn letorostů prorůstajících z inokul Poyer a rostlin podnoží.

5.2.8.1 Symptomatický projev fytoplazmy ESFY na letorostech prorůstajících z inokul Poyer

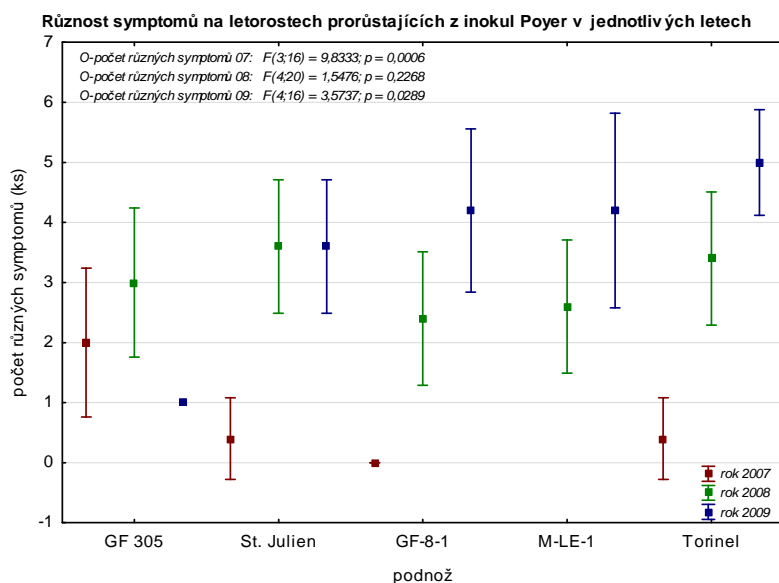
Statistická analýza výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Poyer s testovanými podnožemi našla vysoce průkazné rozdíly v četnosti v prvním a ve třetím roce pozorování (Graf 57). Přičemž nejvyšších hodnot výskytu symptomatických letorostů v prvních dvou letech po inokulaci dosáhla kombinace inokul Poyer s podnoží GF 305. Výsledky PCR detekce přítomnosti fytoplazmy ESFY v letorostech prorostlých z inokul Poyer (81,9 %) na této podnoži se také pohybují na nejvyšší úrovni hodnot ve srovnání s letorosty inokul Poyer ostatních zkoumaných podnoží. V letech 2008-09 nejvyšší zastoupení symptomatických letorostů bylo u kombinací inokul Poyer s podnožemi GF-8-1 a Torinel, u kterých byly detekovány i podobné výsledky pozitivních PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY (40 % letorostů na podnoži GF-8-1 a 41,7 % na podnoži Torinel). Výskyt symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Poyer byl průměrně v celém období sledování vysoký.

Graf 57 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Poyer v jednotlivých letech 2007-09



Mezi testovanými kombinacemi inokul Poyer s různými podnožemi byly ve sledovaném období zjištěny vysoce průkazné rozdíly v různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Poyer v roce 2007 a průkazné rozdíly v roce 2009 (Graf 58). Nejvyšších hodnot různosti symptomů na letorostech v prvním roce po inokulaci (2007) dosahovaly kombinace inokul Poyer s podnoží GF 305 a v roce 2009 s podnoží Torinel. Různost symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Poyer byla průměrně vysoká v celém období výzkumu, přestože u některých kombinací inokul Poyer s vybranými podnožemi byla detekována nízká zastoupení letorostů s přítomnou fytoplazmou ESFY. Letorosty prorostlé z inokul Poyer na podnoží M-LE-1 vykazovaly průměrně vysoké hodnoty různosti symptomů, ale nebyl detekován žádný pozitivní letorost ke zkoumanému patogenu. Pokles hodnot různosti symptomů u letorostů na podnoží GF 305 v posledním roce sledování byl z důvodu předčasného úhynu rostlin podnože.

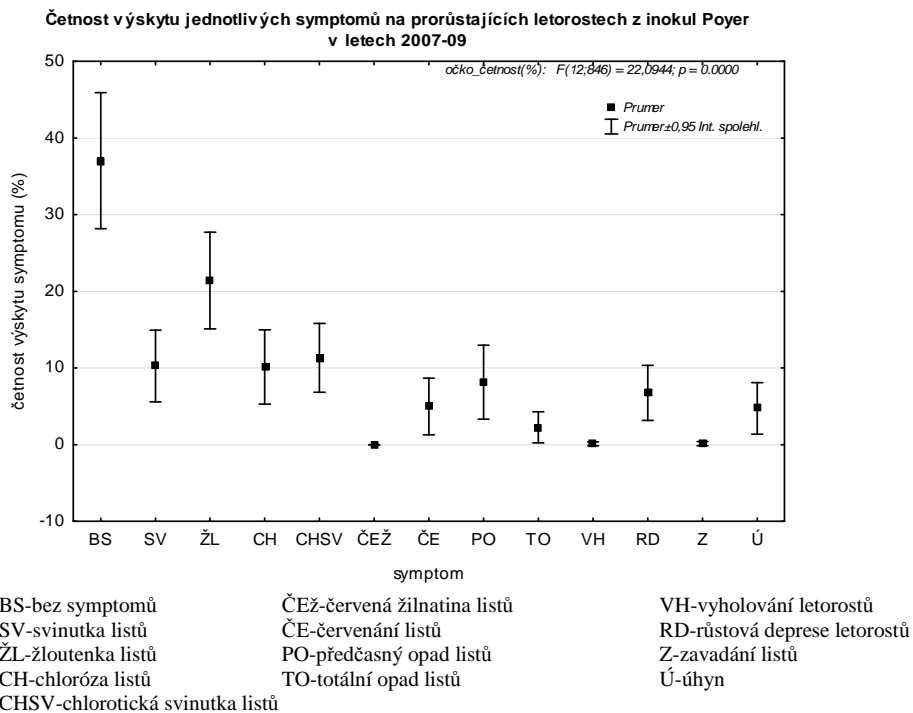
Graf 58 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Poyer v jednotlivých letech 2007-09



Statistická analýza výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Poyer s různými podnožemi prokázala vysoce průkazné rozdíly v jejich četnosti a vzhledem k výsledným hodnotám lze tvrdit, že nebyla četnost výskytu jednotlivých symptomů v letech 2007-09 oproti ostatním sledovaným odrůdám inokul příliš vysoká (Graf 59). Na zkoumaných letorostech se průměrně nejčastěji vyskytovaly symptomy žloutenka listů (21,4 %), chlorotická svinutka (11,3 %), svinutka (10,3 %) a chloróza listů (10,1 %).

Na druhém stromu odrůdy Poyer, ze kterého pocházel inokulační materiál, nebyly v době odběru inokul pozorovatelné žádné symptomy, takže letorosty z inokul Poyer měly zcela odlišný symptomatický projev. Předčasný úhyn průměrně dosáhl hodnoty 4,7 %. Letorosty bez symptomů (37,03 %) převyšovaly hodnoty četností jednotlivých symptomů. Přítomnost fytoplazmy ESFY byla pomocí PCR prokázána průměrně u 36,7 % letorostů prorůstajících z inokul Poyer.

Graf 59 Grafické znázornění rozdílnosti v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Poyer v letech 2007-09



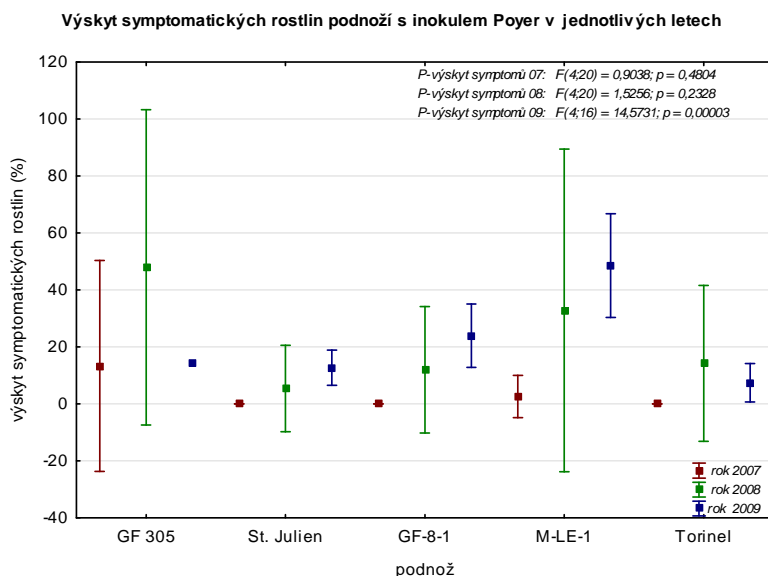
Při porovnávání předčasného úhynu letorostů prorůstajících z inokul Poyer na různých podnožích byly nalezeny vysoce průkazné rozdíly v druhém i třetím roce po inokulaci (Příloha 17). V roce 2008 nejvyšší průměrný úhyn byl zaznamenán u letorostů prorůstajících z inokul Poyer na podnoži St. Julien 655/2 (15,4 %). V roce 2009 uhynulo průměrně 73,1 % letorostů vyrůstajících z inokul Poyer na podnoži GF 305, ale úhyn nebyl zapříčiněn fytoplazmou ESFY. U ostatních kombinací inokul Poyer s vybranými podnožemi byl zaznamenán ve většině případů nulový nebo velmi nízký úhyn.

Ze statistické analýzy výskytu symptomatických letorostů a různosti symptomů je patrné, že inokula Poyer nedosáhla tolik výrazného symptomatického projevu v porovnání s ostatními zkoumanými inokuly. Nejčetnější zastoupení symptomatických letorostů prorostlých z inokul Poyer bylo v roce 2009 na podnoži GF-8-1 s adekvátní výslednou hodnotou PCR detekce přítomné fytoplazmy ESFY v testovaných letorostech. V různosti symptomů dosáhly nejvyšších hodnot četnosti v posledním roce výzkumu letorosty prorostlé z inokul Poyer na podnoži Torinel též s odpovídající PCR detekcí na přítomného patogena. Naopak průměrně nejnižší symptomatický projev měly letorosty na podnoži St. Julien 655/2 a jejich četnost pozitivních reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY byla také nízká (18,2 %). Předčasný úhyn letorostů inokul Poyer byl nízký, s výjimkou letorostů na podnoži GF 305.

5.2.8.2 Symptomatický projev fytoplazmy ESFY na testovaných podnožích s inokuly Poyer

Statistická analýza zjistila vysoce průkazné rozdíly v četnosti výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Poyer v roce 2009 (Graf 60), v němž se objevilo nejvíce symptomatických rostlin podnože M-LE-1 (průměrně 48,6 %). Dřevitý indikátor GF 305 dosáhl opět nejvyšších hodnot četnosti symptomatických rostlin již v letech 2007-08, výsledku odpovídá i nejvíce pozitivních rostlin na fytoplazmu ESFY (66,7 %). Průměrně nejnižší zastoupení symptomatických rostlin v celém zkoumaném období měla podnož St. Julien 655/2, adekvátní bylo i nulové zastoupení rostlin s přítomnou fytoplazmou ESFY. Žádné rostliny s pozitivní PCR reakcí na fytoplazmu ESFY měla i podnož M-LE-1, která však dosáhla nejvyšší četnosti symptomatických rostlin. Zastoupení symptomatických rostlin podnoží bylo ve zkoumaném období 2007-09 nízké.

Graf 60 Grafické znázornění rozdílností ve výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Poyer v jednotlivých letech 2007-09



V četnosti různých symptomů na rostlinách testovaných podnoží s inokulem Poyer nebyly nalezeny průkazné rozdíly (Příloha 18). Nejvyššího počtu různých symptomů na rostlinách dosáhla průměrně v celém sledovaném období podnož M-LE-1. Nejméně různých symptomů se projevilo u rostlin podnoží GF-8-1 a St. Julien 655/2. Různost symptomů rostlin podnoží s inokulem Poyer byla průměrně nízká.

Statistická analýza četnosti výskytu jednotlivých symptomů fytoplazmy ESFY na testovaných podnožích s inokulem Poyer prokázala vysoce průkazné rozdíly (Příloha 19). Na testovaných podnožích se nejčastěji vyskytovaly symptomy žloutenka (9,5 %), červenání (5,4 %) a předčasný opad listů (3,4 %), z čehož vyplývá nízká četnost vyskytujících se symptomů. Největší podíl měly rostliny bez symptomů (84,2 %). Celkový úhyn rostlin podnoží s inokuly Poyer dosáhl průměrně 4,7 %. Přítomnost fytoplazmy ESFY byla pomocí PCR prokázána průměrně u 21,2 % rostlin testovaných podnoží, což je nízká hodnota. Pravděpodobně byla koncentrace patogena v inokulech Poyer nízká.

Statistická analýza předčasného úhynu podnoží s inokulem Poyer stanovila vysoce průkazné rozdíly hodnot úhynu v letech 2008 a 2009 (Příloha 20). Nejvyšších hodnot úhynu dosáhla podnož GF 305 a to v roce 2009 (průměrně 76,7 %), důvodem však nebyla přítomnost fytoplazmy ESFY. V roce 2008 uhynulo nejvíce rostlin podnože St. Julien 655/2 (průměrně 21,3 %).

Nejnižší úhyn rostlin byl u podnože GF-8-1, neuhynula žádná rostlina. Jinak byl úhyn rostlin podnoží v celém období pozorování nízký.

Ze statistické analýzy výskytu symptomatických rostlin, četnosti jednotlivých symptomů a různosti symptomů je patrné, že inokula Poyer nedosáhla výrazného symptomatického projevu, čemuž odpovídají i nízké četnosti rostlin podnoží a letorostů prorostlých z inokul Poyer s pozitivní PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY. Pravděpodobně byla nízká koncentrace fytoplazmy ESFY v inokulech Poyer a proto nedošlo k tak rychlému množení v letorostech prorůstajících z inokul a ani k přenosu do rostlin podnoží. Předčasný úhyn letorostů prorůstajících z inokul Poyer i rostlin podnoží byl nízký.

5.2.9 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY po inokulaci očky z roubů z infikovaného stromu 1 odrůdy Saldcot

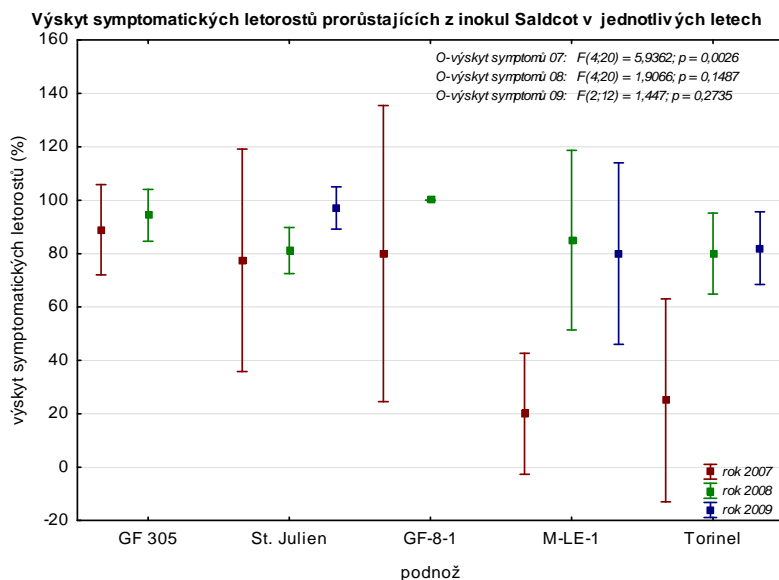
Pro studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY byla statisticky hodnocena četnost výskytu jednotlivých symptomů, různost symptomů, četnost symptomatických rostlin podnoží a letorostů prorůstajících z inokul z infikovaného prvního stromu odrůdy Saldcot (dále jen inokulum Saldcot). První strom odrůdy Saldcot, ze kterého byl odebrán inokulační materiál, se v roce odběru (2006) vyznačoval výraznými příznaky svinutky listů a předčasného opadu listů. Dále byl hodnocen celkový úhyn letorostů prorůstajících z inokul Saldcot a rostlin testovaných podnoží.

5.2.9.1 Symptomatický projev fytoplazmy ESFY na letorostech prorůstajících z inokul Saldcot

Statistická analýza výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Saldcot s testovanými podnožemi našla vysoce průkazné rozdíly v jeho četnosti pouze v prvním roce po inokulaci (2007) (Graf 61), v dalších letech byly rozdíly hodnot neprůkazné. Průměrně nejvyšší hodnota četnosti výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Saldcot v roce 2007 byla dosažena s podnoží GF 305 (88,9 %). V následujících letech byla četnost výskytu symptomatických letorostů vysoká se všemi vybranými podnožemi a bylo zjištěno i odpovídající vysoké zastoupení pozitivních PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY v testovaných letorostech. Nejčtenější zastoupení symptomatických letorostů v roce 2008 bylo v kombinaci inokul Saldcot na podnoží GF-8-1 a v roce 2009 na podnoží St. Julien 655/2.

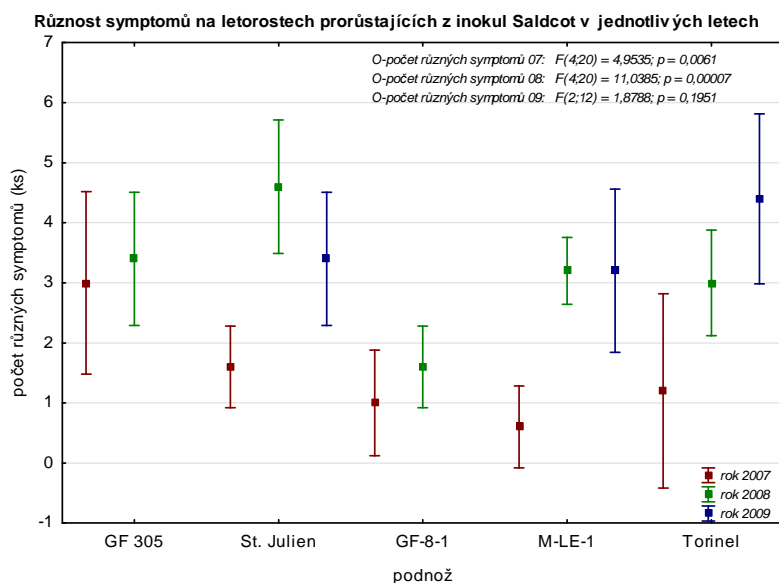
V posledním roce výzkumu nebyly symptomatické letorosty na rostlinách podnoží GF 305 a GF-8-1 hodnoceny z důvodu předčasného úhynu všech letorostů.

Graf 61 Grafické znázornění rozdílů v četnosti výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Saldcot v jednotlivých letech 2007-09



Mezi testovanými kombinacemi inokul Saldcot s podnožemi byly ve sledovaném období 2007-09 nalezeny vysoce průkazné rozdíly v různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Saldcot v letech 2007 a 2008. (Graf 62). Nejvyšších hodnot různosti symptomů na letorostech v roce 2007 dosáhla kombinace inokul Saldcot s podnoží GF 305 (průměrně 3 ks) a v roce 2008 s podnoží St. Julien 655/2 (průměrně 4,6 ks). Naproti tomu průměrně nejnižší výsledky různosti symptomů na letorostech ve všech letech zkoumání byly zjištěny u kombinace inokul Saldcot s podnoží GF-8-1, z důvodu hodnoceného jediného prorstlého letorostu. Celkově bylo dosaženo vysoké různosti symptomů na letorostech prorstlých z inokul Saldcot v celém období pozorování.

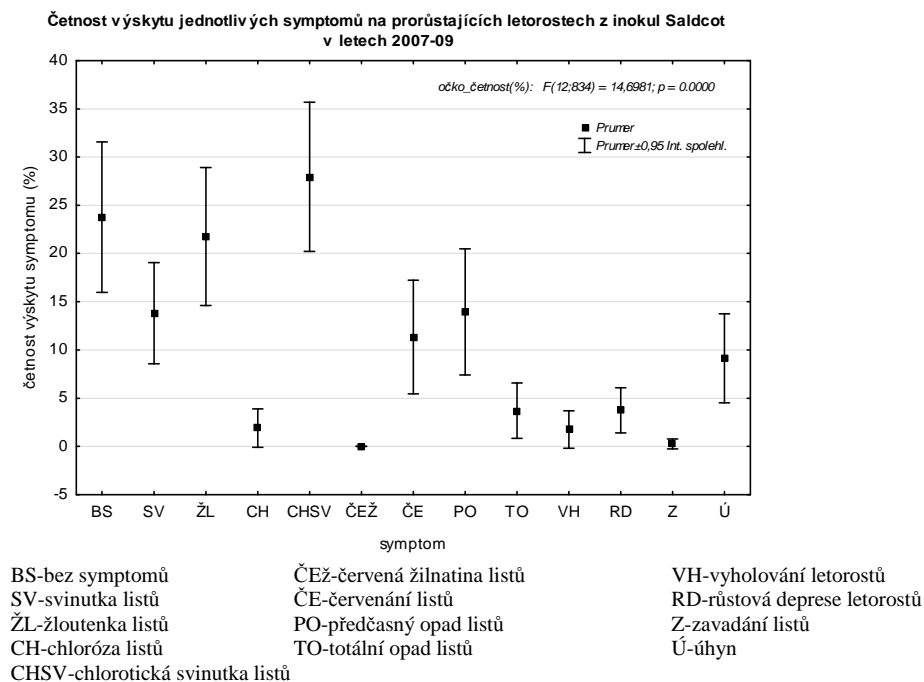
Graf 62 Grafické znázornění rozdílnosti v různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Saldcot v jednotlivých letech 2007-09



Statistická analýza výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Saldcot s různými podnožemi prokázala vysoce průkazné rozdíly v jejich četnosti a vzhledem k výsledným hodnotám lze tvrdit, že byla četnost výskytu jednotlivých symptomů v letech 2007-09 vysoká (Graf 63). Na zkoumaných letorostech se průměrně nejčastěji vyskytovaly symptomy chlorotická svinutka (27,9 %), žloutenka (21,8 %), předčasný opad listů (13,9 %) a svinutka (13,8 %). Symptomy na prvním stromě odrůdy Saldcot, ze kterého pocházel inokulační materiál, byly odlišné. Na stromě se nejsilněji projevil symptom svinutka listů a předčasný opad listů. Ty byly u letorostů prorůstajících z inokul Saldcot v nižším zastoupení, ale patřily do skupiny častěji se vyskytujících symptomů. Předčasný úhyn průměrně dosáhl hodnoty 9,1 %. Letorosty bez symptomů tentokrát nedosahovaly vysokých hodnot (23,8 %).

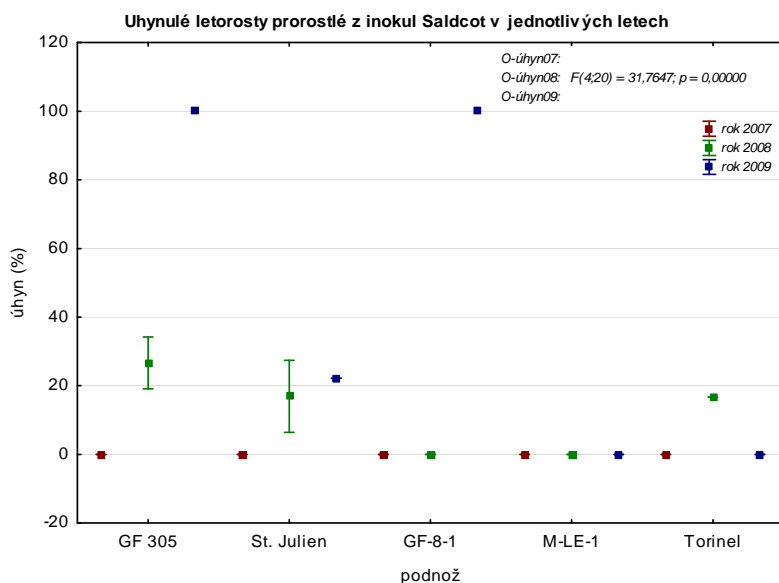
Přítomnost fytoplazmy ESFY byla pomocí PCR prokázána průměrně u 68,7 % letorostů prorůstajících z inokul Saldcot, což byl relativně odpovídající výsledek k výraznému symptomatickému projevu.

Graf 63 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Saldcot v letech 2007-09



Při porovnávání předčasného úhynu letorostů prorůstajících z inokul Saldcot na různých podnožích byly stanoveny vysoce průkazné rozdíly v letech 2008 a 2009. V prvním roce po inokulaci (2007) neuhynul žádný letorost. Nejvyšší průměrná hodnota předčasného úhynu letorostů prorůstajících z inokul Saldcot byla v roce 2008 i 2009 u kombinace inokul s podnoží GF 305 (Graf 64). Naopak nejnižší úhyn (nulový) měly letorosty prorostlé z inokul Saldcot s podnoží M-LE-1, přestože u všech letorostů byla potvrzena přítomnost fytoplazmy ESFY.

Graf 64 Grafické znázornění rozdílností v úhynu letorostů prorostlých z inokul Saldcot v jednotlivých letech 2007-09



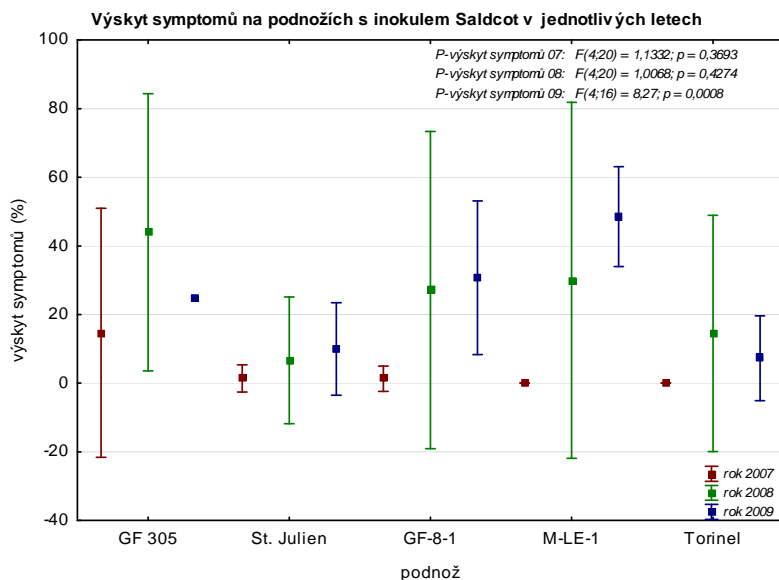
Ze statistické analýzy výskytu symptomatických letorostů, různosti symptomů na letorostech i četnosti jednotlivých symptomů lze říci, že letorosty prorůstající z inokul Saldcot dosáhly výrazného symptomatického projevu v celém sledovaném období 2007-09 bez výrazných rozdílností mezi podnožemi. Pravděpodobně byla vysoká koncentrace fytoplazmy ESFY v inokulech, tudíž došlo k rychlému namnožení v letorostech a rychlému objevení symptomů. Předčasný úhyn letorostů dosáhl spíše nízkých hodnot, výjimkou byla kombinace inokul Saldcot s podnoží GF 305 a GF-8-1, u kterých uhynuly v posledním roce všechny letorosty, ale u podnože GF 305 úhyn rostlin i letorostů nezapříčinila fytoplazma ESFY.

5.2.9.2 Symptomatický projev fytoplazmy ESFY na testovaných podnožích s inokuly Saldcot

Statistická analýza zjistila vysoce průkazné rozdíly v četnosti výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Saldcot pouze v roce 2009 (Graf 65), v němž se objevilo nejvíce symptomatických rostlin podnože M-LE-1 (průměrně 48,6 %). Dřevitý indikátor GF 305 dosáhl opět nejvyšších hodnot četnosti symptomatických rostlin již v letech 2007-08, výši výsledku odpovídá i nejvíce pozitivních rostlin na fytoplazmu ESFY (86,7 %). Průměrně nejnižší zastoupení symptomatických rostlin v celém zkoumaném období měla podnož St. Julien 655/2, přestože rostlin s přítomnou fytoplazmou ESFY bylo 39,1 %.

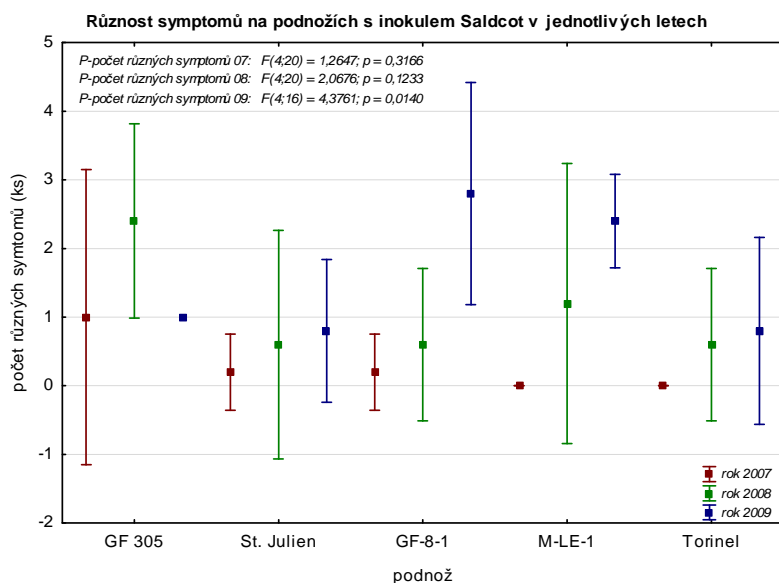
Z průměrných četností výskytu symptomatických rostlin podnoží vyplývá celkově nízký symptomatický projev rostlin.

Graf 65 Grafické znázornění rozdílností ve výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Saldcot v jednotlivých letech 2007-09



Mezi rostlinami testovaných podnoží s inokulem Saldcot byly nalezeny vysoce průkazné rozdíly v četnosti různých symptomů v roce 2009, v ostatních letech byly rozdíly neprůkazné (Graf 66). Nejvyššího počtu různých symptomů v roce 2009 dosáhla podnož GF-8-1 (průměrně 2,8 ks). V letech 2007-08 se objevilo nejvíce různých symptomů na rostlinách podnože GF 305. U obou výše zmíněných podnoží bylo detekováno i nejvíce pozitivních rostlin na fytoplazmu ESFY, 86,7 % rostlin podnože GF 305 a 68,5 % rostlin podnože GF-8-1. Nejméně různých symptomů se projevilo u rostlin podnoží Torinel a St. Julien 655/2, čemuž odpovídaly i nízké výsledné hodnoty PCR reakce na přítomnost fytoplazmy ESFY. Různost symptomů rostlin podnoží s inokulem Saldcot měla podobný výsledný charakter hodnot jako výše popsaná charakteristika výskyt symptomatických rostlin podnoží (Graf 65), byla nízká.

Graf 66 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na rostlinách podnoží s inokulem Saldcot v jednotlivých letech 2007-09



Statistická analýza četnosti výskytu jednotlivých symptomů fytoplazmy ESFY na testovaných podnožích s inokulem Saldcot prokázala vysoce průkazné rozdíly (Příloha 21). Na testovaných podnožích se nejčastěji vyskytovaly symptomy žloutenka (9,3 %), červenání (4,5 %) a předčasný opad listů (4,2 %), z hodnot vyplývá nízká četnost vyskytujících se symptomů. Největší podíl měly rostliny bez symptomů (83 %). Přítomnost fytoplazmy ESFY byla pomocí PCR prokázána průměrně u 56,4 % rostlin testovaných podnoží, což je relativně vysoká hodnota.

Statistická analýza předčasného úhynu podnoží s inokulem Saldcot stanovila vysoce průkazné rozdíly hodnot úhynu v letech 2008 a 2009 (Příloha 22). Nejvyšších četností úhynu dosáhla podnož GF 305 a to v roce 2009 (průměrně 86,7 %), důvodem však nebylo napadení fytoplazmou ESFY. V roce 2008 uhynulo nejvíce rostlin podnože Torinel (průměrně 15,4 %). Za celé sledované období byl jinak úhyn rostlin podnoží nízký.

Z porovnání charakteristik výskytu symptomatických rostlin, různosti symptomů a předčasného úhynu je patrné, že inokula Saldcot v kombinaci s různými podnožemi dosáhla výrazného symptomatického projevu v celém sledovaném období 2007-09, čemuž odpovídaly i vysoké výsledné hodnoty pozitivních PCR reakcí na přítomnost fytoplazmy ESFY v testovaných letorostech inokul Saldcot (průměrně 68,7 %) a testovaných rostlinách podnoží (průměrně 56,4 %).

Průměrně nejvyšší hodnoty četnosti výskytu symptomatických letorostů a různosti symptomů letorostů prorůstajících z inokul Saldcot v roce 2007 byly dosaženy s podnoží GF 305, jejíž rostliny dosáhly také nejvyšších hodnot četností symptomatických rostlin a různosti symptomů v roce 2007, navíc i v roce 2008. V roce 2009 se objevilo nejvíce symptomatických rostlin podnože M-LE-1 (průměrně 48,6 %) a průměrně nejnižší zastoupení symptomatických rostlin v celém zkoumaném období měla podnož St. Julien 655/2. V roce 2008 nejvyšší počet různých symptomů měly letorosty prorostlé z inokul Saldcot s podnoží St. Julien 655/2, jejíž rostliny měly naopak nejméně různých symptomů. U podnože GF-8-1 a GF 305 bylo detekováno více pozitivních rostlin na přítomnou fytoplazmu ESFY než byla četnost rostoucích inokul Saldcot. Z daného vyplývá, že došlo k přenosu fytoplazmy ESFY z inokul Saldcot na rostliny podnoží, přestože inokula dále neprorostla. Předčasný úhyn rostlin podnoží a prorostlých letorostů z inokul Saldcot byl nízký. Dále se nejvýraznější symptomatický projev objevil na letorostech prorostlých z inokul Saldcot v kombinaci s podnoží St. Julien 655/2, ale u této kombinace rostliny podnože St. Julien 655/2 měly nejméně citlivou reakci k přítomné fytoplazmě.

5.2.10 Studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY po inokulaci očků z roubů z infikovaného stromu 1 odrůdy Veselka

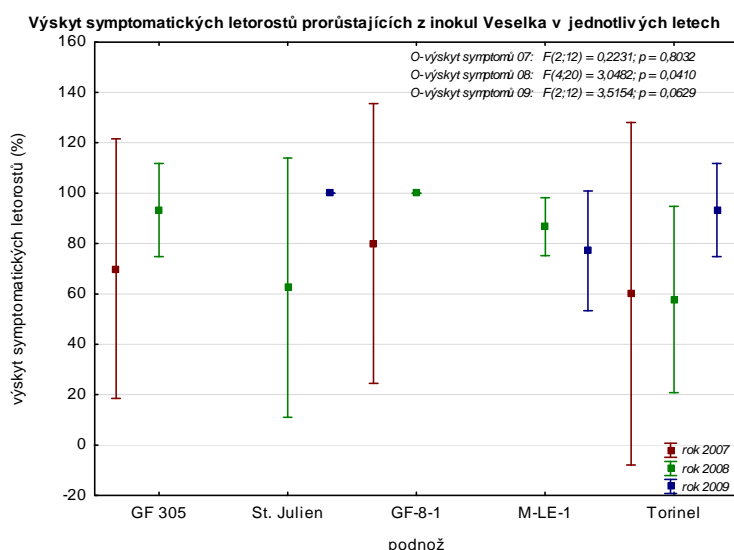
Pro studium symptomatických projevů fytoplazmy ESFY byla statisticky hodnocena četnost výskytu jednotlivých symptomů, různost symptomů, četnost symptomatických rostlin podnoží a letorostů prorůstajících z inokul z infikovaného stromu jedna odrůdy Veselka (dále jen inokulum Veselka). Na prvním stromě odrůdy Veselka se v roce odběru (2006) inokulačního materiálu objevila silná žloutenka listů. Hodnocen byl i celkový úhyn letorostů prorůstajících z inokul Veselka a rostlin podnoží.

5.2.10.1 Symptomatický projev fytoplazmy ESFY na letorostech prorůstajících z inokul Veselka

Statistická analýza výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Veselka s testovanými podnožemi nalezla průkazné rozdíly v jeho četnosti pouze v druhém roce po inokulaci (2008) a v letech 2007 a 2009 byly rozdíly neprůkazné (Graf 67). Přičemž průměrně nejvyšších hodnot výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Veselka dosáhly letorosty v roce 2008 na podnoží GF-8-1 a GF 305.

Ale hlavním důvodem vysokého průměru výskytu letorostů se symptomy těchto variant, byl průměrně nízký počet prorostlých letorostů (průměrně 1,2 ks letorostů na podnoži GF-8-1 a 1,8 ks letorostů na podnoži GF 305) ve srovnání s ostatními variantami inokul s podnožemi. Inokula Veselka musela být znovu v roce 2007 přeočkována, protože u většiny podnoží nepřirostla, ale i tak na podnoži GF-8-1 a GF 305 rostlo nízké množství letorostů, které začátkem vegetačního období roku 2009 opětovně uhynuly. Kombinace inokul Veselka s podnožemi Torinel a St. Julien 655/2 vykazovaly průměrně vysoké četnosti symptomatických letorostů, i když nedosahovaly odpovídajících výsledných PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY. Celkový symptomatický projev letorostů prorůstajících z inokul Veselka vykazoval vysoké hodnoty.

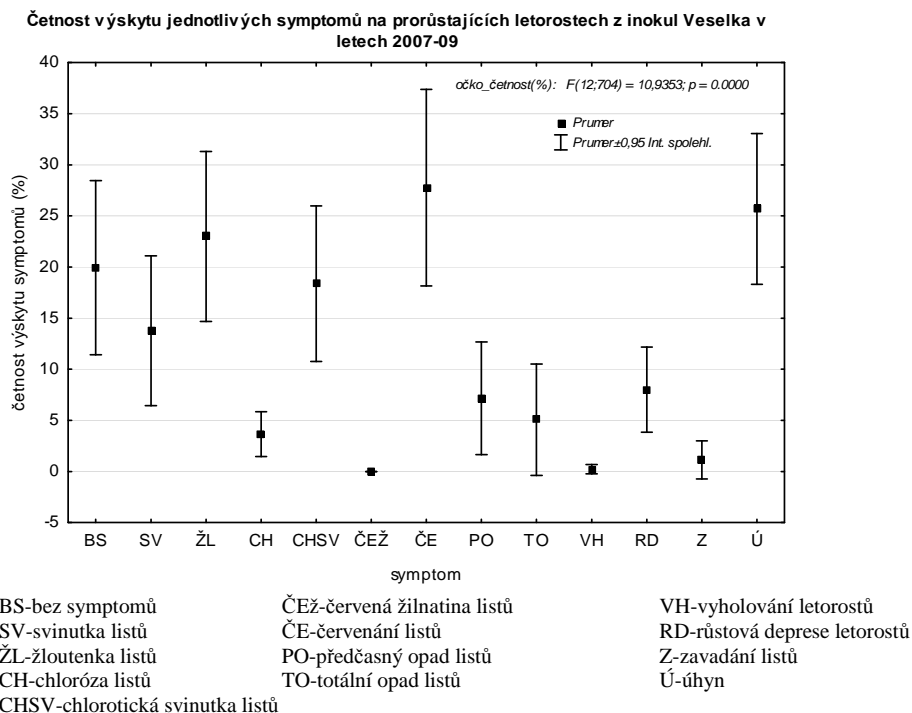
Graf 67 Grafické znázornění rozdílů v četnosti výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Veselka v jednotlivých letech 2007-09



V různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Veselka s různými podnožemi nebyly nalezeny průkazné rozdíly v četnosti jednotlivých symptomů ve sledovaném období 2007-09 (Příloha 23). Nejvyšší průměrná hodnota různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Veselka byla dosažena v roce 2009 s podnoží St. Julien 655/2 (4,8 ks), detekce přítomnosti fytoplazmy ESFY v letorostech byla však nulová. Nejméně různých symptomů v celém období výzkumu se objevilo na letorostech prorostlých z inokul Veselka na podnoži GF-8-1, z důvodu hodnoceného jediného prorostlého inokula.

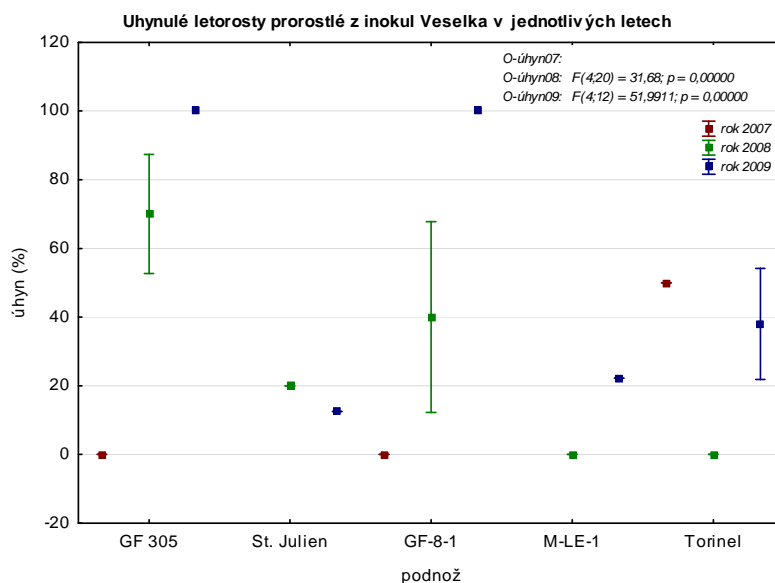
Statistická analýza výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Veselka s různými podnožemi prokázala vysoce průkazné rozdíly v jejich četnosti a vzhledem k výsledným hodnotám lze tvrdit, že byla četnost výskytu jednotlivých symptomů v letech 2007-09 vysoká. Na zkoumaných letorostech se průměrně nejčastěji vyskytovaly symptomy červenání listů (27,7 %), žloutenka (22,9 %), chlorotická svinutka (18,4 %) a svinutka (13,7 %). Ve srovnání se symptomy z prvního stromu odrůdy Veselka, ze kterého pocházel inokulační materiál, byl symptomatický projev výrazně odlišný. Na prvním stromu odrůdy Veselka se v největší míře projevoval symptom žloutnutí listů, jež se u letorostů prorůstajících z inokul Veselka vyskytoval na druhém místě (Graf 68). Ale zajímavým symptomem, který se v největší míře objevil na letorostech prorostlých z inokul Veselka, bylo červenání listů. Tento symptom se nejvýrazněji objevil pouze u kombinací podnoží s inokulem Veselka, u jiných zkoumaných inokul různých odrůd se v takovém zastoupení neprojevil. Předčasný úhyn letorostů průměrně dosáhl vyšší hodnoty 25,7 %. Letorosty bez symptomů měly nízké zastoupení (19,9 %), bereme-li v úvahu, že byla prokázána přítomnost fytoplazmy ESFY průměrně pouze u 34,5 % letorostů prorostlých z inokul Veselka.

Graf 68 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Veselka v letech 2007-09



Při porovnávání předčasného úhynu letorostů prorůstajících z inokul Veselka na různých podnožích byly nalezeny vysoce průkazné rozdíly v letech 2008 a 2009 (Graf 69). Nejvyšší průměrná hodnota předčasného úhynu (70 %) letorostů prorůstajících z inokul Veselka v druhém roce po inokulaci (2008) byla s podnoží GF 305 a nejnižší byla s podnožemi M-LE-1 a Torinel (0 %). V roce 2009 dosáhly 100 % úhynu letorosty prorostlé z inokul Veselka v kombinaci s podnožemi GF 305 a GF-8-1 a nejnižšího úhynu dosáhly letorosty s podnoží St. Julien 655/2 (12,5 %). U kombinace letorostů prorostlých z inokul Veselka s podnoží GF 305 nedošlo k úhynu všech jedinců příčinou napadení fytoplazmou ESFY. Vzhledem k nízké hodnotě zastoupení letorostů s pozitivní PCR reakcí (průměrně 34,5 %) na přítomnou fytoplazmu ESFY byl celkový předčasný úhyn letorostů inokul Veselka relativně vysoký.

Graf 69 Grafické znázornění rozdílů v úhynu letorostů prorostlých z inokul Veselka v jednotlivých letech 2007-09

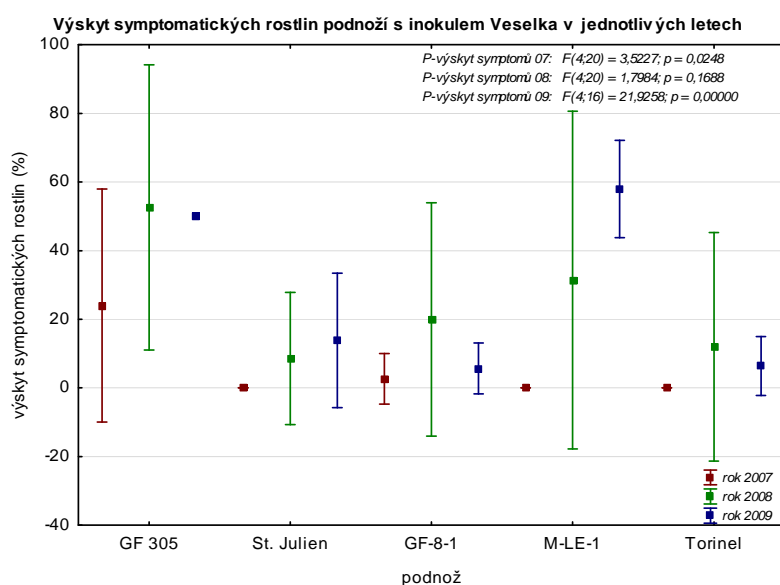


Z porovnání charakteristik výskytu symptomatických letorostů, různosti symptomů a předčasného úhynu je patrné, že inokula Veselka v kombinaci s různými podnožemi dosáhla výrazného symptomatického projevu v celém sledovaném období 2007-09 bez výrazných rozdílů mezi podnožemi, přestože bylo nízké zastoupení letorostů s pozitivní PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY (průměrně 34,5 %).

5.2.10.2 Symptomatický projev fytoplazmy ESFY na testovaných podnožích s inokuly Veselka

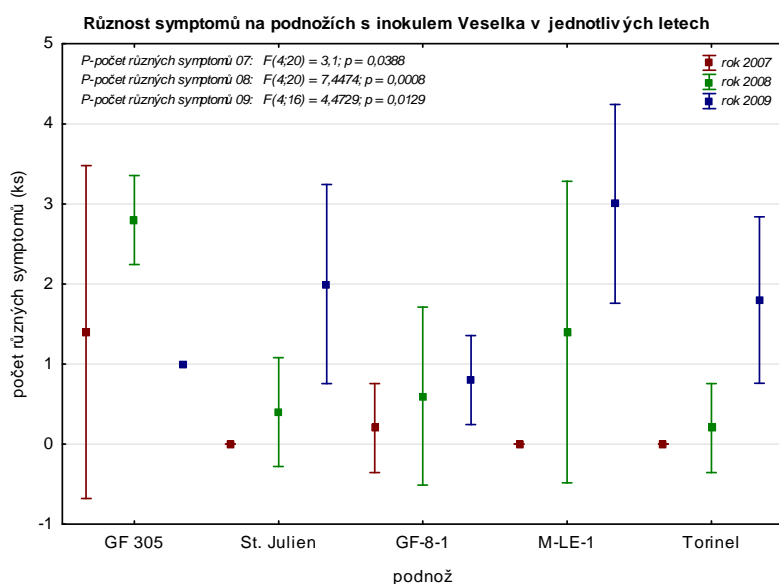
Statistická analýza zjistila vysoce průkazné rozdíly v četnosti výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Veselka v roce 2009 a průkazné rozdíly v roce 2007 (Graf 70), v němž se objevilo nejvíce symptomatických rostlin podnože GF 305 (průměrně 24 %). V roce 2008 bylo také největší zastoupení symptomatických rostlin podnože GF 305 (průměrně 52 %). A v posledním roce sledování (2009) nejvyšší četnosti symptomatických rostlin dosáhla podnož M-LE-1 (průměrně 58 %). Dřevitý indikátor GF 305 dosáhl průměrně největšího zastoupení symptomatických rostlin v celém období pozorování (2007-09) i s odpovídajícím vysokých zastoupením pozitivních PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY (53 %). Průměrně nejnižší četnosti symptomatických rostlin v celém zkoumaném období dosáhla podnož St. Julien 655/2 i s adekvátně nízkou (nulovou) detekcí přítomné fytoplazmy ESFY v rostlinách podnože. Nejvíce zjištěných rostlin s přítomnou fytoplazmou ESFY (68,5 %) měla podnož GF-8-1 a přitom měla nízké zastoupení symptomatických rostlin, pravděpodobně bude více odolná ke stresu vyvolaném patogenem. Mezi více citlivé budou potom patřit rostliny podnoží GF 305 a M-LE-1, jejichž četnější projev symptomů odpovídal i vyšším zastoupením rostlin s fytoplazmou ESFY.

Graf 70 Grafické znázornění rozdílností ve výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Veselka v jednotlivých letech 2007-09



Mezi rostlinami testovaných podnoží s inokulem Veselka byly odhaleny průkazné rozdíly v četnosti různých symptomů v celém období výzkumu a v roce 2008 byly rozdíly dokonce vysoce průkazné (Graf 71). Nejvyššího počtu různých symptomů v roce 2007 i 2008 dosáhly rostliny podnože GF 305. V posledním roce se nejvíce různých symptomů objevilo na rostlinách podnože M-LE-1. Obě podnože měly i vysoké zastoupení rostlin s pozitivní PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY (GF 305 průměrně 53 % a M-LE-1 průměrně 57,1 %), takže symptomatický projev byl odpovídající. Nejméně různých symptomů se projevilo u rostlin podnože GF-8-1, přestože měly nejvyšší četnost rostlin s detekovanou fytoplazmou ESFY (průměrně 68,5 %).

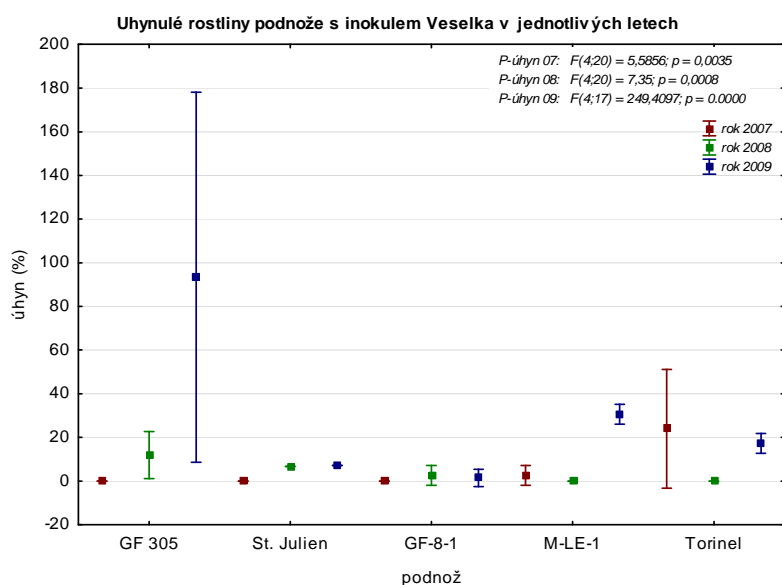
Graf 71 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na rostlinách podnoží s inokulem Veselka v jednotlivých letech 2007-09



Statistická analýza četnosti výskytu jednotlivých symptomů fytoplazmy ESFY na testovaných podnožích s inokulem Veselka prokázala vysoce průkazné rozdíly (Příloha 24). Na testovaných podnožích se nejčastěji vyskytovaly symptomy žloutenka (8,5 %), červenání (5,8 %) a předčasný opad listů (3,2 %), z čehož vyplývá nízká četnost vyskytujících se symptomů. Největší podíl měly rostliny bez symptomů (82,7 %). Přítomnost fytoplazmy ESFY byla pomocí PCR prokázána průměrně u 36,7 % rostlin testovaných podnoží, nízká hodnota je odpovídající nízké četnosti symptomů na rostlinách podnoží s inokuly Veselka.

Statistická analýza předčasného úhynu podnoží s inokulem Veselka stanovila vysoce průkazné rozdíly hodnot úhynu rostlin v celém období zkoumání (Graf 72). Nejvyšších hodnot úhynu dosáhly rostliny podnože GF 305 a to v letech 2008 i 2009 (průměrně 12 % a 93,3 %), ale v roce 2009 nezpůsobila úhyn přítomná fytoplazma ESFY. V roce 2007 uhynulo nejvíce rostlin podnože Torinel (průměrně 24 %). Nejnižší zastoupení uhynulých rostlin bylo u podnože GF-8-1, přestože byla detekce fytoplazmy ESFY v rostlinách nejvyšší. Rostliny podnože GF-8-1 byly ze všech podnoží nejodolnější k přítomnému patogenu.

Graf 72 Grafické znázornění rozdílností v předčasném úhynu rostlin podnoží s inokulem Veselka v letech 2007-09



Z porovnání charakteristik výskytu symptomatických rostlin, různosti symptomů a předčasného úhynu je patrné, že inokula Veselka v kombinaci s různými podnožemi dosáhla výrazného symptomatického projevu v celém sledovaném období 2007-09 bez výrazných rozdílů mezi kombinacemi inokul Veselka s různými podnožemi, přestože bylo nízké zastoupení letorostů s pozitivní PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY (průměrně 34,5 %). Naproti tomu celkový symptomatický projev rostlin podnoží měl odpovídající charakter k výšce četnosti rostlin s pozitivní PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY, jedinou výjimkou byly rostliny podnože GF-8-1. U této podnože byl symptomatický projev nejméně výrazný a přitom měla nejvíce rostlin s detekovanou přítomnou fytoplazmou ESFY, rostliny se ukázaly být k patogenu nejvíce odolné.

Nejrychlejší reakci na přítomnou fytoplazmu ESFY měla inokula Veselka s podnoží GF 305, u této kombinace se symptomy projeví již první rok po inokulaci a dosahovaly nejvyšších četností .

5.2.11 Porovnání výsledků PCR detekce fytoplazmy ESFY

Testováním interakcí mezi podnožemi a inokuly byly potvrzeny statisticky vysoce průkazné rozdíly ve výsledku detekce fytoplazmy ESFY na hladině významnosti $\alpha=0,05$ (Příloha 25). Soubor podnoží obsahoval v období testu 561 testovatelných jedinců, přičemž výsledné procento pozitivních rostlin po inokulaci prokázaných testem PCR bylo 46,9 %. U letorostů (prorostlých z inokul) dosáhl rozsah testovatelného souboru (s ohledem na afinitní výpadky) 281 jedinců s pozitivitou 68,7 %.

U jednotlivých podnoží byly zjištěny statisticky vysoce průkazné rozdíly v počtu pozitivních rostlin testovaných metodou PCR (Příloha 26). Tak jak se předpokládalo, vykazovala nejvyšší citlivost podnož GF 305 (používaná jako dřevitý indikátor), u které bylo detekováno 69,6 % jedinců s pozitivní PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY (Tabulka 9). Jako druhá nejcitlivější testovaná podnož vykazující hodnotu pozitivních jedinců na úrovni 62,7 % se ukázala podnož GF-8-1. Třetí citlivou podnoží byl vyhodnocen meruňkový semenáč M-LE-1 s 44,2 % pozitivních detekcí. Jako nejméně citlivá byla stanovena podnož Torinel s pouhými 18,6 % rostlin s pozitivní detekcí.

Tabulka 9 Znárodnění rozdílů v pozitivní PCR detekci fytoplazmy ESFY u testovaných rostlin podnoží

četnost pozitivní PCR detekce	
podnož	průměr (%)
GF 305	69,60
GF-8-1	62,70
M-LE-1	44,20
St. Julien 655/2	26,30
Torinel	18,60

Při testování positivity letorostů prorůstajících z inokul vybraných infikovaných stromů (různých odrůd) molekulární metodou PCR byly taktéž potvrzeny statisticky vysoce průkazné rozdíly (Příloha 27). Nejvyšší procento pozitivních PCR detekcí vykázaly letorosty prorostlé z inokul odrůdy broskvoně Jantze s 93,9 %, z meruněk pak odrůdy Saldcot s 92,6 % a Hargrand_1 s 91,3 % (Tabulka 10).

Naopak nejnižší procento bylo u letorostů prorostlých z inokul odrůdy Poyer (43,75 %).

Tabulka 10 Znárodnění rozdílů v pozitivní PCR detekci fytoplazmy ESFY u letorostů prorostlých z inokul testovaných odrůd

četnost pozitivní PCR detekce	
letorosty z inokul odrůdy	průměr (%)
Hargrand_1	91,30
Hargrand_2	69,57
Churmai	55,88
Jantze	93,94
Murfatlar	55,56
Olimp	63,64
Poljus Južnyj	63,42
Poyer	43,75
Saldcot	92,59
Veselka	50,00

5.3 Porovnání symptomatických projevů vybraných izolátů fytoplazmy ESFY

5.3.1 Porovnání symptomatických projevů fytoplazmy ESFY na letorostech prorůstajících z inokul

Pro porovnání symptomatických projevů fytoplazmy ESFY na letorostech prorůstajících z inokul bylo statisticky vzájemně testováno deset různých izolátů fytoplazmy ESFY a pět odlišných podnoží, na které byla inokula naočkována. Statisticky byly srovnávány četnosti výskytu symptomatických letorostů prorostlých z inokul, četnosti různých symptomů na letorostech a četnosti předčasného úhynu letorostů prorůstajících z inokul pocházejících z infikovaných stromů vybraných odrůd (dále jen inokul vybraných odrůd) v kombinaci s různými podnožemi.

V celém období výzkumu (2007-09) bylo dosaženo průměrně vysokých hodnot četností výskytu symptomatických letorostů prorostlých z inokul testovaných odrůd, které měly mírně stoupající charakter. Ve všech letech pozorování byly objeveny průkazné rozdíly v četnosti výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul v závislosti na podnoži (Tabulka 11), na použité odrůdě inokul (Tabulka 12) a v interakci inokul použitých odrůd s různými podnožemi (Příloha 32).

Nejvyššího výskytu symptomatických letorostů prorostlých z inokul vybraných odrůd dosáhly letorosty v kombinaci s podnoží GF-8-1 a to průměrně v celém období, čemuž odpovídá i nejvyšší průměrná hodnota pozitivních letorostů na přítomnou fytoplazmu ESFY (69,31 %). S dřevitým indikátorem GF 305 bylo nejvíce letorostů se symptomy již v prvním roce po inokulaci a v roce 2008 patřily letorosty také do skupiny s vyšší četností symptomatických letorostů, adekvátní byl i výsledek PCR detekce pozitivních letorostů 63,25 %. Nejnižšího výskytu symptomatických letorostů prorostlých z inokul s podnoží GF 305 v posledním roce byl důsledek úhynu všech jedinců. Naopak méně letorostů se symptomy prorostlých ze zkoumaných odrůd bylo s podnoží M-LE-1. Vzhledem k tomu, že letorosty z inokul různých odrůd v kombinaci s podnoží M-LE-1 měly spíše vyšší průměr pozitivních PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY (59,77 %), dalo by se tvrdit, že letorosty s podnoží M-LE-1 reagovaly na přítomnost patogena méně citlivě. Zajímavého výsledku dosáhla inokula odrůdy Olimp, z nichž prorostlé letorosty se symptomy dosáhly v roce 2008 nejvyšších četností a v roce 2009 nejnižších. Přitom na stromě, ze kterého byl inokulační materiál odebrán, se v době odběru roubů odrůdy Olimp žádné symptomy neukazovaly. Do skupiny s vyšším výskytem symptomatických letorostů v období 2007-09 se zařadila inokula odrůdy Jantze, jež dosáhla i odpovídající vyšší zastoupení pozitivních letorostů na přítomnou fytoplazmu ESFY (71,8 %). Dále do skupiny s více symptomatickými letorosty patřila odrůda inokul Murfatlar v letech 2007 a 2009 a odrůda inokul Churmai v letech 2008 a 2009, jejichž detekce pozitivních letorostů byly spíše nižší. Z kombinací inokulum×podnož se objevily všechny (100 %) symptomatické letorosty prorostlé z kombinace inokul odrůdy Olimp s podnoží GF-8-1 v letech 2008 i 2009 a kombinace inokul odrůdy Murfatlar s podnoží Torinel v letech 2007 i 2009.

Tabulka 11 Porovnání rozdílností četností výskytu symptomatických letorostů prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoží v letech 2007-09

výskyt symptomatických letorostů prorůstajících z inokul						
	2007		2008		2009	
podnož	průměr (%)	¹	průměr (%)	¹	průměr (%)	¹
GF 305	72,91	b	88,65	b	31,43	a
GF-8-1	57,67	ab	92,43	b	96,25	c
M-LE-1	32,00	a	73,05	a	82,10	b
St. Julien 655/2	45,83	a	81,12	ab	94,93	c
Torinel	49,19	a	82,67	ab	92,94	c

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

Tabulka 12 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomatických letorostů prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09

výskyt symptomatických letorostů prorůstajících z inokul						
	2007		2008		2009	
inokula odrůdy	průměr (%)	¹	průměr (%)	²	průměr (%)	³
Hargrand_1	40,33	ab	84,98	ab	84,34	a
Hargrand_2	67,07	abc	82,94	ab	85,42	a
Churmai	43,13	abc	88,94	b	92,39	ab
Jantze	67,54	bc	89,11	b	93,75	ab
Murfatlar	91,67	c	83,11	ab	100,00	b
Olimp	52,67	abc	91,70	b	82,77	a
Poljus Južnyj	54,27	abc	73,17	a	92,38	ab
Poyer	25,82	a	72,81	a	86,63	a
Saldcot	58,28	abc	88,09	b	86,38	a
Veselka	70,00	bc	80,06	ab	90,16	ab

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

³ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Duncanova testu

V letech 2007-09 byly stanoveny statisticky průkazné rozdíly v četnosti výskytu různých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul v závislosti na podnoži (Tabulka 13), na použité odrůdě inokul (Tabulka 14.) a v interakci inokul použitých odrůd s různými podnožemi (Příloha 33). Počet různých symptomů na letorostech prorostlých z inokul vybraných odrůd měl mírně stoupající charakter v celém období pozorování. Průměrně vyšších hodnot různosti symptomů na letorostech dosáhla inokula zkoumaných odrůd s podnoží GF 305 v letech 2007-08 a s podnoží St. Julien 655/2 v letech 2008-09. Nižší průměry v počtech různých symptomů měly v celém období pozorování letorosty inokul odrůdy Olimp, čemuž nasvědčuje i bezsymptomatický projev na stromě odrůdy Olimp, z něhož inokula pocházela. Nejvíce různých symptomů se projevilo na letorostech prorostlých z inokul odrůdy Veselka (4,13 ks) v roce 2009. Ve stejném roce měly nejvyšší četnost různých symptomů letorosty prorostlé z inokul odrůdy Poyer s podnoží Torinel (5 ks).

Tabulka 13 Porovnání rozdílností četnosti výskytu různých symptomů na letorostech prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoži v letech 2007-09

různost symptomů na letorostech prorůstajících z inokul						
	2007		2008		2009	
podnož	průměr (ks)	¹	průměr (ks)	¹	průměr (ks)	¹
GF 305	2,32	b	3,11	bc	0,33	a
GF-8-1	0,98	a	2,66	ab	2,43	b
M-LE-1	0,48	a	2,18	a	2,60	b
St. Julien 655/2	0,97	a	3,72	c	3,20	c
Torinel	0,91	a	2,58	ab	3,40	c

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

Tabulka 14 Porovnání rozdílností četnosti výskytu různých symptomů na letorostech prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09

různost symptomů na letorostech prorůstajících z inokul						
	2007		2008		2009	
inokula odrůdy	průměr (ks)	¹	průměr (ks)	¹	průměr (ks)	³
Hargrand_1	0,76	a	2,48	ab	2,29	ab
Hargrand_2	1,47	ab	3,10	ab	2,80	bc
Churmai	1,20	ab	3,40	b	3,30	cd
Jantze	1,60	ab	3,00	ab	1,88	a
Murfatlar	2,30	b	2,80	ab	1,86	a
Olimp	0,96	a	2,20	a	1,86	a
Poljus Južnyj	1,60	ab	2,60	ab	2,90	bc
Poyer	0,70	a	3,00	ab	4,10	e
Saldcot	1,48	ab	3,16	ab	3,67	de
Veselka	1,00	a	2,76	ab	4,13	e

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

³ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Duncanova testu

Předčasný úhyn letorostů prorostlých z inokul zkoumaných odrůd v kombinacích s různými podnožemi měl v období pozorování 2007-09 stoupající charakter. V letech 2007-09 byly prokázány statisticky průkazné rozdíly v četnosti předčasného úhynu letorostů prorůstajících z inokul v závislosti na podnoži (Tabulka 15), na použité odrůdě inokul (Tabulka 16) a v interakci inokul použitých odrůd s různými podnožemi (Příloha 34). Do skupiny s vyššími četnostmi úhynu letorostů v letech 2007-09 patřila odrůda inokul Veselka a v období 2008-09 odrůda inokul Jantze. Přičemž u letorostů z inokul odrůdy Jantze byla detekována i vyšší četnost letorostů s přítomnou fytoplazmou ESFY (71,8 %), takže by se tím dala vysvětlit příčina vyššího úhynu. Ale u letorostů z inokul odrůdy Veselka bylo potvrzeno PCR detekcí pouze 34,5 % pozitivních letorostů s přítomnou fytoplazmou. Nižších úhynů letorostů v době 2007-09 dosáhly odrůdy inokul Poyer a Poljus Južnyj, v letech 2007-08 odrůda inokul Olimp a v 2008-09 odrůda inokul Churmai (Tabulka 16), z nichž pouze u letorostů z inokul odrůd Churmai (39,1 %) a Poyer (36,7 %) byla i adekvátně nízká četnost pozitivních letorostů na přítomnou fytoplazmu ESFY. Letorosty prorostlé z inokul odrůd Poljus Južnyj a Olimp reagovaly na přítomnost patogenu méně citlivě. Nejvíce odolné k přítomné fytoplazmě ESFY byly v celém období výzkumu letorosty prorostlé z inokul vybraných odrůd v kombinaci s podnoží M-LE-1, se kterou letorosty měly nejnižší úhyn, přestože s ní bylo vyšší zastoupení letorostů s přítomnou fytoplazmou ESFY (59,77 %).

Citlivěji reagovaly letorosty na přítomnou fytoplazmu ESFY v kombinaci inokul na podnoži GF 305, se kterou měly vyšší zastoupení úhynu v roce 2008 i 2009. V posledním roce však úhyn všech jedinců podnože GF 305 nezpůsobila přítomnost fytoplazmy ESFY. V letech 2007-08 uhynulo nejvíce letorostů na podnoži Torinel, ale hodnoty dosáhly nízké úrovně. Nejvyšší četnosti předčasného úhynu byly zjištěny u letorostů prorostlých z inokul Hargrand_2 na podnoži GF 305 (90,00 %) v roce 2008, pravděpodobně byl úhyn způsoben přítomnou fytoplazmou ESFY. PCR detekce patogena nebyla však provedena z důvodu náhlého úhynu.

Tabulka 15 Porovnání rozdílností četnosti předčasného úhynu letorostů prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoži v letech 2007-09

předčasný úhyn letorostů prorostlých z inokul						
	2007		2008		2009	
podnož	průměr (%)	¹	průměr (%)	¹	průměr (%)	¹
GF 305	1,64	b	15,55	b	71,56	d
GF-8-1	0,00	a	8,11	a	27,50	c
M-LE-1	0,00	a	4,36	a	8,67	a
št. Julien 655/2	0,00	a	17,10	b	14,10	b
Torinel	13,89	c	17,62	b	8,48	a

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

Tabulka 16 Porovnání rozdílností četnosti předčasného úhynu letorostů prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09

předčasný úhyn letorostů prorostlých z inokul						
	2007		2008		2009	
inokula odrůdy	průměr (%)	³	průměr (%)	³	průměr (%)	¹
Hargrand_1	0,50	a	22,50	cd	15,31	b
Hargrand_2	10,76	c	13,04	b	20,83	cd
Churmai	12,50	d	4,80	a	7,08	a
Jantze	1,67	b	19,40	c	35,62	e
Murfatlar	0,00	a	15,05	b	25,13	d
Olimp	0,00	a	4,73	a	19,96	bc
Poljus Južnyj	0,00	a	1,67	a	5,09	a
Poyer	0,00	a	5,85	a	3,39	a
Saldcot	0,00	a	12,05	b	7,41	a
Veselka	16,67	e	26,00	d	24,24	cd

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

³ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Duncanova testu

5.3.2 Porovnání četností výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul

Pro porovnání četnosti výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul bylo statisticky vzájemně testováno deset různých symptomů fytoplazmy ESFY, které se vyskytovaly na sledovaných letorostech prorostlých z inokul zkoumaných deseti odrůd naočkovaných na pěti různých podnožích.

V letech 2007-09 byly objeveny statisticky průkazné rozdíly v četnosti výskytu symptomu svinutka listů na letorostech prorostlých z inokul v závislosti na odrůdě inokul (Tabulka 17), v závislosti na použité podnoži (Tabulka 18) a v interakci inokul použitých odrůd s různými podnožemi (dále jen inokulum×podnož) (Příloha 35). Jen v roce 2008 nebyl potvrzen v závislosti na podnoži statisticky průkazný rozdíl v hodnotách výskytu svinutky listů na letorostech. Výskyt symptomu svinutka na letorostech prorostlých z inokul vybraných odrůd měl mírně klesající charakter hodnot v období 2007-09. V letech 2007-09 se symptom nejméně objevil na letorostech prorostlých z inokul odrůdy Jantze. V letech 2007-08 se nejvíce ukázala svinutka listů na letorostech z inokul odrůdy Murfatlar a v posledním roce odrůdy Poljus Južnyj (33,33 %) jehož letorosty po celé zkoumané období patřily do skupiny s vyšší četností výskytu svinutky listů. Na stromě odrůdy Poljus Južnyj se přitom v době odběru inokulačního materiálu žádné symptomy neobjevily. Na stromě odrůdy Murfatlar, ze kterého pocházela inokula, se v době odběru nejsilněji projevil symptom chlorotická svinutka, kterému může symptom svinutka předcházet. V závislosti na podnoži bylo průměrně nejméně letorostů (prorostlých z inokul) se svinutkou listů s podnoží GF-8-1 v celém období pozorování a nejvíce letorostů s podnoží GF 305 v prvních dvou letech a s podnoží Torinel (9,97 %) v posledním roce sledování. Vůbec se svinutka listů neobjevila na letorostech prorostlých z inokul odrůdy Olimp na podnoži Torinel v celé době výzkumu a nejvyšší četnosti výskytu symptomu svinutka listů dosáhly letorosty prorostlé z inokul odrůdy Murfatlar na podnoži M-LE-1 (60,00 %) v roce 2008.

Tabulka 17 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu svinutka listů na letorostech prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09

četnost symptomu svinutka listů (SV)						
	2007		2008		2009	
inokula odrůdy	průměr (%)	¹	průměr (%)	²	průměr (%)	²
Hargrand_1	7,83	abc	23,60	bc	0,00	a
Hargrand_2	22,46	c	15,14	abc	7,92	c
Churmai	16,25	bcd	17,05	abc	5,34	abc
Jantze	1,36	a	6,30	a	0,00	a
Murfatlar	26,67	c	26,57	c	3,17	abc
Olimp	5,50	ab	7,00	a	4,76	abc
Poljus Južnyj	25,30	c	16,74	abc	33,33	d
Poyer	12,27	abcd	14,10	ab	3,81	abc
Saldcot	21,22	cd	10,42	a	7,07	bc
Veselka	23,33	c	11,83	ab	7,43	bc

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

Tabulka 18 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu svinutka listů na letorostech prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoži v letech 2007-09

četnost symptomu svinutka listů (SV)						
	2007		2008		2009	
podnož	průměr (%)	¹	průměr (%)		průměr (%)	¹
GF 305	35,96	b	20,05		4,76	ab
GF-8-1	6,00	a	12,38		0,95	a
M-LE-1	2,67	a	13,18		9,08	b
St. Julien 655/2	10,24	a	13,86		9,20	b
Torinel	10,19	a	15,29		9,97	b

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

V letech 2007-09 byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly v četnosti výskytu symptomu žloutenka listů na letorostech prorostlých z inokul v závislosti na odrůdě inokul (Tabulka 19), v závislosti na použité podnoži (Tabulka 20) a v interakci inokul použitých odrůd s různými podnožemi (dále jen inokulum×podnož) (Příloha 36). Nejvíce se symptom žloutenka listů objevil na letorostech z inokul odrůdy Olimp v letech 2007-08 a odrůdy Saldcot (34,83 %) v roce 2009. Dále do skupiny letorostů s vyšší četností symptomu patřily letorosty prorostlé z inokul odrůd Jantze a Veselka v letech 2007 a 2009. Ze zmíněných odrůd inokul se symptom žloutenka projevil pouze na stromě odrůdy Veselka, ze kterého inokulační materiál pocházel. Nejvyšší zastoupení symptomu žloutenka listů na letorostech prorostlých z inokul vybraných odrůd bylo dosaženo v kombinaci s podnožemi GF-8-1 a Torinel v letech 2007-08 a v roce 2009 s podnoží M-LE-1 (30,55 %).

Naopak nejméně žloutenky na listech letorostů bylo vidět v kombinaci s podnoží GF 305 a v závislosti na odrůdě inokul se nejméně symptom projevil na letorostech z inokul odrůdy Poljus Južnyj v celém období pozorování. Vůbec se žloutenka listů neprojevila na letorostech prorostlých z odrůdy Hargrand_1 na podnoží GF 305 a naopak 100 % letorostů se žloutenkou listů bylo u kombinace inokul odrůdy Hargrand_2 s podnoží GF 305 v roce 2008.

Tabulka 19 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu žloutenka listů na letorostech prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09

četnost symptomu žloutenka listů (ŽL)						
	2007		2008		2009	
inokula odrůdy	průměr (%)	²	průměr (%)	²	průměr (%)	¹
Hargrand_1	20,00	abc	18,66	ab	24,71	ab
Hargrand_2	2,22	a	26,05	ab	23,75	ab
Churmai	13,75	abc	15,89	ab	22,10	ab
Jantze	24,17	bc	21,61	ab	32,59	b
Murfatlar	23,33	abc	26,45	ab	6,35	a
Olimp	28,00	c	49,47	c	14,68	ab
Poljus Južnyj	7,41	ab	10,94	a	5,71	a
Poyer	6,50	ab	31,53	b	23,54	ab
Saldcot	12,44	abc	23,22	ab	34,83	b
Veselka	26,67	bc	14,56	a	33,40	b

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

Tabulka 20 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu žloutenka listů na letorostech prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoží v letech 2007-09

četnost symptomu žloutenka listů (ŽL)						
	2007		2008		2009	
podnož	průměr (%)	¹	průměr (%)	¹	průměr (%)	²
GF 305	4,75	a	11,90	a	0,00	a
GF-8-1	35,75	b	30,94	b	17,72	ab
M-LE-1	12,00	a	27,04	ab	30,55	c
St. Julien 655/2	15,24	a	19,98	ab	19,98	b
Torinel	15,85	a	28,20	b	17,81	b

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

V období hodnocení 2007-09 byly nalezeny statisticky průkazné rozdíly v četnosti výskytu symptomu chloróza listů na letorostech prorostlých z inokul různých odrůd v závislosti na použité odrůdě inokul (Tabulka 21) a v interakci inokul použitých odrůd s různými podnožemi (Příloha 37). V závislosti na podnoží (Tabulka 22) byly průkazné rozdíly ve výskytu symptomu na letorostech pouze v roce 2009.

Četnost výskytu symptomu chloróza listů na letorostech prorostlých z inokul vybraných odrůd v celém období řešení (2007-09) měla stoupající charakter a nejvyšších hodnot bylo dosaženo v celém období s odrůdou inokul Olimp. Přitom na stromě, ze kterého byl inokulační materiál odebrán, se žádné symptomy neprojevíly. Do skupiny letorostů s vyšším výskytem symptomů v letech 2007-09 patřila odrůda inokul Poyer, i tato inokula pocházela ze stromu, na kterém se v době odběru roubů žádné symptomy neukázaly. U obou odrůd byla nízká zastoupení letorostů s přítomnou fytoplazmou ESFY. Nejméně se chloróza listů vyskytovala na letorostech prorostlých z inokul odrůdy Jantze, Saldcot v celém období a odrůdy Hargrand_1 v prvních dvou letech. U těchto odrůd byly pomocí PCR detekce odhaleny vyšší četnosti letorostů s přítomnou fytoplazmou ESFY. Dalo by se usoudit, že s vyšší koncentrací patogena se ve větší míře objevily jiné symptomy než chloróza. V závislosti na podnoži, byl symptom chloróza listů nejvíce na letorostech z inokul vybraných odrůd s podnoží St. Julien 655/2 v letech 2007-09 a v posledním roce s podnoží GF-8-1 (23,34 %). Naproti tomu s podnožemi GF 305 v letech 2008-09 a M-LE-1 v prvním roce po inokulaci byl symptom chloróza listů na letorostech vidět nejméně. Nejvyššího výskytu chlorózy na listech dosáhly letorosty prorostlé z inokul odrůdy Olimp s podnoží St. Julien 655/2 v roce 2007 (20,00 %) a v roce 2009 (77,14 %).

Tabulka 21 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu chloróza listů na letorostech prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09

četnost symptomu chloróza listů (CH)						
inokula odrůdy	2007		2008		2009	
	průměr (%)	¹	průměr (%)	¹	průměr (%)	¹
Hargrand_1	0,00	a	1,14	a	13,60	abc
Hargrand_2	0,00	a	3,57	a	7,50	ab
Churmai	1,88	a	5,57	ab	7,84	ab
Jantze	0,00	a	1,44	a	0,00	a
Murfatlar	0,00	a	4,88	ab	29,71	c
Olimp	9,17	b	16,27	b	49,72	d
Poljus Južnyj	0,45	a	2,73	a	3,81	ab
Poyer	2,50	a	6,26	ab	22,01	bc
Saldcot	2,00	a	1,50	a	2,45	ab
Veselka	0,00	a	2,39	a	9,40	abc

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

Tabulka 22 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu chloróza listů na letorostech prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoži v letech 2007-09

četnost symptomu chloróza listů (CH)					
	2007		2008		2009
podnož	průměr (%)		průměr (%)		průměr (%) ²
GF 305	2,18		2,74		0,00 a
GF-8-1	1,67		6,10		23,34 c
M-LE-1	0,00		3,84		6,29 a
St. Julien 655/2	4,29		6,89		21,85 bc
Torinel	1,11		3,24		14,22 ab

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

V letech 2007-09 byly prokázány statisticky průkazné rozdíly v četnosti výskytu symptomu chlorotická svinutka listů na letorostech prorostlých z inokul různých odrůd v závislosti na použité odrůdě inokul (Tabulka 23), na podnoži (Tabulka 24) i v interakci inokul použitých odrůd s různými podnožemi (Příloha 38). Hodnoty výskytu symptomu chlorotická svinutka listů na letorostech z inokul zkoumaných odrůd byly v letech 2007-08 stoupající a v posledním roce byl zaznamenán mírný pokles. Do skupiny s vyššími četnostmi projevu symptomu na letorostech prorostlých z inokul patřila odrůda inokul Poljus Južnyj v období 2007-09, odrůda inokul Jantze (Příloha 50) v období 2007-08 a odrůda inokul Churmai v letech 2008-09. Kromě odrůdy Churmai byl u zmíněných odrůd detekován vyšší počet letorostů s fytoplazmou ESFY. Chlorotickou svinutku měl i strom odrůdy Jantze, ze kterého byl použit inokulační materiál. U stromu odrůdy Churmai se vyskytovala žloutenka a předčasný opad listů, u stromu odrůdy Poljus Južnyj žádný symptom nebyl. Naproti tomu nejméně se symptom chlorotická svinutka objevil na letorostech prorostlých z inokul odrůd Poyer v celém období výzkumu a odrůdy Olimp v letech 2008 a 2009, jejichž stromy neměly žádné symptomy v době odběru inokul a detekce přítomné fytoplazmy ESFY v letorostech byly také nízké. V závislosti na podnoži se nejvíce chlorotická svinutka ukázala na letorostech s podnoží GF 305 v roce 2007 a s podnoží GF-8-1 v době 2008-09. Naopak nejméně letorostů se symptomem chlorotická svinutka listů měla podnož M-LE-1 v celém období a podnož Torinel v 2007-08. Nejvyšší průměrný výskyt chlorotické svinutky na listech (80,00 %) dosáhly letorosty prorostlé z inokul odrůdy Saldcot s podnoží GF-8-1 v roce 2008 a z inokul odrůdy Murfatlar s podnoží M-LE-1 v roce 2009 (Příloha 38).

Tabulka 23 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu chlorotická svinutka listů na letorostech prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09

četnost symptomu chlorotická svinutka listů (CHSV)						
	2007		2008		2009	
inokula odrůdy	průměr (%)	¹	průměr (%)	²	průměr (%)	²
Hargrand_1	7,00	a	19,24	ab	29,58	b
Hargrand_2	16,00	ab	33,39	bcd	34,17	bc
Churmai	6,25	a	41,10	d	47,50	c
Jantze	36,55	b	46,00	d	25,45	ab
Murfatlar	10,00	ab	13,62	a	31,07	b
Olimp	9,50	a	14,87	a	10,54	a
Poljus Južnyj	20,66	ab	42,12	d	45,71	c
Poyer	3,64	a	16,82	a	12,13	a
Saldcot	19,39	ab	39,06	cd	23,74	ab
Veselka	0,00	a	26,06	abc	23,87	ab

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

Tabulka 24 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu chlorotická svinutka listů na letorostech prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoži v letech 2007-09

četnost symptomu chlorotická svinutka listů (CHSV)						
	2007		2008		2009	
podnož	průměr (%)	²	průměr (%)	²	průměr (%)	²
GF 305	18,27	b	34,42	bc	10,00	a
GF-8-1	14,25	ab	37,69	c	35,24	b
M-LE-1	13,33	ab	22,60	a	25,00	a
St. Julien 655/2	15,36	ab	27,04	ab	28,49	ab
Torinel	5,00	a	24,47	ab	29,34	ab

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

Statistická analýza prokázala ve všech letech pozorování průkazné rozdíly v četnosti výskytu symptomu červení listů na letorostech prorostlých z inokul různých odrůd v závislosti na použité odrůdě inokul (Tabulka 25), na podnoži (Tabulka 26) i v interakci inokul použitých odrůd s různými podnožemi (Příloha 39). Četnost symptomu červení listů na letorostech prorostlých z inokul vybraných odrůd měla stoupající charakter v období 2007-08 a v posledním roce došlo k poklesu hodnot. Nejvyšších četností v celém období pozorování dosáhlo červení listů na letorostech prorostlých z inokul odrůdy Veselka (Přílohy 52-53) a nejméně z inokul odrůdy Jantze. Červení listů se u letorostů prorostlých z inokul odrůdy Veselka začalo objevovat již od počátku vegetace (květen), takže bylo červení listů považováno za symptom vyvolaný přítomnou fytoplazmou ESFY. Na stromě odrůdy Veselka, ze kterého inokula pocházela, se projevila v době odběru roubů pro inokulaci žloutenka listů, takže zcela jiný symptom.

Do skupiny letorostů s nižším výskytem symptomu červenaní listů v letech 2007-09 patřily ještě letorosty prorostlé z inokul odrůdy Poyer. V závislosti na podnoži bylo nejméně letorostů se symptomem s podnoží GF 305 a M-LE-1 a do skupiny s průměrně vyššími četnostmi s podnoží Torinel v celém období výzkumu. Nejvyšší výskyt červenaní listů na letorostech byl vyzorován u kombinace inokulum×podnož odrůdy Veselka s podnoží Torinel (60,00%) v roce 2007.

Tabulka 25 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu červenaní listů na letorostech prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09

četnost symptomu červenaní listů (ČE)						
inokula odrůdy	2007		2008		2009	
	průměr (%)	¹	průměr (%)	³	průměr (%)	¹
Hargrand_1	12,00	ab	23,17	bcd	1,48	a
Hargrand_2	2,22	a	28,85	de	1,25	a
Churmaí	0,00	a	9,51	ab	2,73	ab
Jantze	0,00	a	6,06	a	0,00	a
Murfatlar	3,33	a	15,37	abcd	0,00	a
Olimp	0,00	a	13,93	abcd	3,17	ab
Poljus Južnyj	0,00	a	11,00	abc	3,33	ab
Poyer	0,00	a	12,15	abc	1,19	a
Saldcot	2,00	a	26,66	cde	1,33	a
Veselka	26,67	b	39,94	e	8,57	b

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

³ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Duncanova testu

Tabulka 26 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu červenaní listů na letorostech prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoži v letech 2007-09

četnost symptomu červenaní listů (ČE)						
podnož	2007		2008		2009	
	průměr (%)	¹	průměr (%)	²	průměr (%)	²
GF 305	0,67	a	11,51	a	0,00	a
GF-8-1	7,50	ab	28,85	b	1,36	ab
M-LE-1	0,00	a	15,33	a	0,67	a
St. Julien 655/2	0,00	a	16,77	a	3,90	b
Torinel	10,74	b	19,48	ab	3,06	ab

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

V letech 2007 a 2008 byly nalezeny statisticky průkazné rozdíly v četnosti výskytu symptomu předčasný opad listů na letorostech prorůstajících z inokul zkoumaných odrůd v závislosti na použité odrůdě inokul (Tabulka 27), na podnoži (Tabulka 28) i v interakci inokul použitých odrůd s různými podnožemi (Příloha 40). V posledním roce sledování nebyly prokázány žádné statistické rozdíly ve výskytu symptomu.

Hodnoty četnosti výskytu předčasného opadu listů na letorostech měly mírně stoupající charakter v celém období a nejvyššího průměru bylo dosaženo na letorostech prorostlých z inokul odrůdy Jantze na podnoži M-LE-1 v roce 2008 (33,33 %). Přičemž předčasný opad listů letorostů započal u této kombinace už v srpnu, tudíž můžeme tvrdit, že šlo o symptomatický projev. Kontrolní rostliny podnože M-LE-1 počaly s opadem listů v říjnu. Do skupiny podnoží s vyšším předčasným opadem listů na letorostech prorostlých z inokul vybraných odrůd patřila podnož GF 305 v letech 2007-08 a M-LE-1 v roce 2009 (15,22 %). Naopak nejméně letorostů s předčasným opadem listů bylo vyzorováno s podnožemi Torinel a St. Julien 655/2. V závislosti na odrůdě inokul měly nižší výskyt předčasného opadu listů letorosty prorostlé z inokul odrůd Poljus Južnyj, Hargrand_1 a Olimp a vyšší průměry odrůdy inokul Jantze a Saldcot v celém období výzkumu. Předčasný opad listů se projevil v době odběru inokul na stromě odrůd Saldcot a Churmai, takže u inokul odrůdy Saldcot byl symptomatický projev podobný.

Tabulka 27 Porovnání rozdílností četnosti výskytu předčasného opadu listů na letorostech prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09

četnost symptomu předčasný opad listů (PO)						
inokula odrůdy	2007		2008		2009	
	průměr (%)	²	průměr (%)	²	průměr (%)	
Hargrand_1	2,21	a	5,49	a	10,37	
Hargrand_2	2,67	ab	2,58	a	12,92	
Churmai	2,50	ab	8,00	ab	12,33	
Jantze	7,35	ab	18,20	b	17,08	
Murfatlar	3,33	ab	5,05	a	13,15	
Olimp	1,50	a	2,13	a	12,02	
Poljus Južnyj	0,45	a	2,62	a	8,10	
Poyer	4,09	ab	10,00	ab	9,78	
Saldcot	9,78	b	18,85	b	12,64	
Veselka	1,11	a	7,56	ab	12,57	

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

Tabulka 28 Porovnání rozdílností četnosti výskytu předčasného opadu listů letorostů prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoži v letech 2007-09

četnost symptomu předčasný opad listů (PO)					
	2007		2008		2009
podnož	průměr (%)	¹	průměr (%)	²	průměr (%)
GF 305	10,64	b	15,16	b	0,00
GF-8-1	3,75	ab	6,78	a	13,32
M-LE-1	0,00	a	11,44	ab	15,22
St. Julien 655/2	0,95	a	3,85	a	9,31
Torinel	0,00	a	4,01	a	11,52

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

Statistická analýza odhalila v období 2007-09 průkazné rozdíly v četnosti výskytu symptomu totální opad listů na letorostech prorůstajících z inokul zkoumaných odrůd v závislosti na použité odrůdě inokul (Tabulka 29), na podnoži (Tabulka 30) i v interakci inokul použitých odrůd s různými podnožemi (Příloha 41). V roce 2008 nebyly prokázány žádné statistické rozdíly ve výskytu symptomu v závislosti na odrůdě inokul a v posledním roce pozorování nebyly průkazné rozdíly v kombinaci inokulum×podnož. Totální opad listů na letorostech vybraných odrůd začínal nejčastěji v srpnu a v září, přitom u kontrolních rostlin byl termín pozdější (přelom října a listopadu), proto byl symptom spojován s onemocněním způsobeným fytoplazmou ESFY. Četnost výskytu totálního opadu listů letorostů měla mírně stoupající charakter v letech 2007-09, průměrně dosáhla nízkých hodnot. Nejvyšší hodnota výskytu totálního opadu listů byla vyzorována u letorostů prorostlých z inokul odrůdy Hargrand_2 na podnoži GF 305 (40,00 %) v srpnu 2007 (Přílohy 57-58). Dále bylo dosaženo vyšších výskytů totálního opadu listů u letorostů prorostlých z inokul odrůdy Veselka v letech 2007-08 a z inokul odrůdy Jantze v době 2008-09. Průměrně méně totálního opadu listů v období 2007-09 bylo zaznamenáno u letorostů prorostlých z inokul odrůdy Poljus Južnyj. V závislosti na podnoži se objevilo průměrně nejméně opadaných listů z letorostů prorostlých z inokul vybraných odrůd s podnožemi M-LE-1 v celém období pozorování a v prvních dvou letech s podnoží GF-8-1 nebyl zaznamenán žádný jedinec s totálním opadem listů. Naproti tomu s podnoží GF 305 bylo dosaženo nejvyšších hodnot výskytu symptomu u letorostů v prvních dvou letech výzkumu a s podnoží GF-8-1 v roce 2009 (8,42 %).

Při porovnání hodnot výskytu symptomu totálního opadu listů s hodnotami předčasného úhynu letorostů se ukázala podobnost mezi těmito hodnocenými projevy letorostů, totální opad listů předcházela úhynu letorostů.

Tabulka 29 Porovnání rozdílností četnosti výskytu totálního opadu listů na letorostech prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09

četnost symptomu totální opad listů (TO)						
	2007		2008		2009	
inokula odrůdy	průměr (%)	¹	průměr (%)		průměr (%)	²
Hargrand_1	0,00	a	1,71		4,39	abc
Hargrand_2	13,33	b	0,00		2,08	ab
Churmai	3,75	ab	3,08		0,63	a
Jantze	0,00	a	5,94		11,72	c
Murfatlar	1,67	ab	1,33		11,56	c
Olimp	0,50	ab	2,80		0,00	a
Poljus Južnyj	0,45	ab	0,31		1,90	ab
Poyer	0,00	a	0,67		6,33	abc
Saldcot	2,78	ab	1,78		8,50	abc
Veselka	6,67	ab	6,00		1,90	ab

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

Tabulka 30 Porovnání rozdílností četnosti výskytu totálního opadu listů letorostů prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoži v letech 2007-09

četnost symptomu totální opad listů (TO)						
	2007		2008		2009	
podnož	průměr (%)	¹	průměr (%)	¹	průměr (%)	²
GF 305	9,15	b	8,64	b	0,00	a
GF-8-1	0,00	a	0,00	a	8,42	b
M-LE-1	0,00	a	0,22	a	4,68	ab
St. Julien 655/2	0,71	a	1,64	a	5,17	ab
Torinel	0,00	a	2,00	ab	1,70	a

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

Byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly v četnosti výskytu vyholování letorostů prorostlých z inokul různých odrůd pouze v roce 2008 v závislosti na odrůdě inokul (Tabulka 31), na použité podnoži (Tabulka 32) i v interakci inokul použitých odrůd s různými podnožemi (Příloha 44). V letech 2007 a 2009 se žádné vyholování letorostů neobjevilo. Hodnoty výskytu symptomu se pohybovaly od 0,00 do 17,42 % (odrůda inokul Saldcot s podnoží St. Julien 655/2), dosáhl tedy nízké četnosti. Vyholování letorostů prorostlých z inokul vybraných odrůd se projevilo v nejvyšším zastoupení s podnoží St. Julien 655/2 (4,49 %) a nejméně s podnoží M-LE-1 (0,25 %).

V závislosti na odrůdě inokul se nejvíce vyholování letorostů projevilo s odrůdou inokul Saldcot (4,56 %) a nejméně s odrůdou Jantze (0,00 %). Symptom nebude patřit mezi hlavní symptomatické projevy fytoplazmy ESFY.

Tabulka 31 Porovnání rozdílností četnosti výskytu vyholování letorostů prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09

četnost symptomu vyholování letorostů (VH)					
	2007		2008		2009
inokula odrůdy	průměr (%)		průměr (%)	²	průměr (%)
Hargrand_1	0,00		3,71	bc	0,00
Hargrand_2	0,00		1,79	abc	0,00
Churmai	0,00		0,50	ab	0,00
Jantze	0,00		0,00	a	0,00
Murfatlar	0,00		3,49	abc	0,00
Olimp	0,00		0,40	ab	0,00
Poljus Južnyj	0,00		0,80	ab	0,00
Poyer	0,00		0,33	ab	0,00
Saldcot	0,00		4,56	c	0,00
Veselka	0,00		0,50	ab	0,00

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

Tabulka 32 Porovnání rozdílností četnosti výskytu vyholování letorostů prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoži v letech 2007-09

četnost symptomu vyholování letorostů (VH)					
	2007		2008		2009
podnož	průměr (%)		průměr (%)	¹	průměr (%)
GF 305	0,00		2,00	ab	0,00
GF-8-1	0,00		0,65	a	0,00
M-LE-1	0,00		0,25	a	0,00
St. Julien 655/2	0,00		4,49	b	0,00
Torinel	0,00		0,67	a	0,00

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

V letech 2007-09 byly prokázány statisticky průkazné rozdíly v četnosti výskytu růstové deprese letorostů prorostlých z inokul různých odrůd v závislosti na použité odrůdě inokul (Tabulka 33), na podnoži (Tabulka 34) i v interakci inokul použitých odrůd s různými podnožemi (Přílohy 42). Růstová deprese letorostů prorostlých z inokul vybraných odrůd měla v tomto období stoupající charakter a dosáhla vysokých hodnot. V celém období pozorování se vyšší zastoupení symptomu objevilo u letorostů prorostlých z inokul odrůdy Jantze, u nichž byl prokázán i vyšší úhyn a vyšší četnost pozitivních letorostů na přítomnou fytoplazmu ESFY (71,8 %). Nejvyšších hodnot bylo dosaženo s letorosty z inokul odrůdy Murfatlar v roce 2007 (50,00 %) a odrůdy Veselka v roce 2009 (24,74 %).

Nejvyšší výskyt růstové deprese (100,00 %) byl pozorována u letorostů prorostlých z inokul odrůdy Murfatlar s podnoží Torinel v roce 2007 a s odrůdou inokul Hargrand_2 s podnoží GF 305 v roce 2008. Naopak méně se růstová deprese projevila u letorostů z inokul odrůd Olimp a Poljus Južnyj průměrně v celém období výzkumu. Vůbec se nevyskytla u letorostů prorostlých z inokul na podnoží GF-8-1 a St. Julien 655/2 v prvním roce po inokulaci a v letech 2008-09 se růstová deprese letorostů ukázala nejméně s podnoží M-LE-1. V letech 2007 a 2009 zaznamenala růstová deprese letorostů nejvyšších hodnot s podnoží Torinel a v roce 2008 s podnoží St. Julien 655/2 (7,05%).

Tabulka 33 Porovnání rozdílností četnosti výskytu růstové deprese letorostů prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09

četnost symptomu růstová deprese (RD)						
	2007		2008		2009	
inokula odrůdy	průměr (%)	¹	průměr (%)	²	průměr (%)	²
Hargrand_1	1,50	a	6,12	bcd	13,86	abc
Hargrand_2	9,49	ab	9,52	cd	10,83	ab
Churmai	0,00	a	0,36	a	11,36	ab
Jantze	15,00	b	9,62	d	20,31	bc
Murfatlar	50,00	c	4,46	abc	9,07	ab
Olimp	0,00	a	0,90	a	6,80	a
Poljus Južnyj	0,00	a	1,20	ab	7,14	a
Poyer	0,00	a	1,76	ab	19,14	bc
Saldcot	0,44	a	2,79	ab	10,86	ab
Veselka	0,00	a	2,78	ab	24,74	c

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

Tabulka 34 Porovnání rozdílností četnosti výskytu růstové deprese letorostů prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoží v letech 2007-09

četnost symptomu růstová deprese (RD)						
	2007		2008		2009	
podnož	průměr (%)	¹	průměr (%)	¹	průměr (%)	¹
GF 305	1,15	a	4,27	ab	0,00	a
GF-8-1	0,00	a	3,77	ab	11,32	ab
M-LE-1	12,00	b	0,74	a	2,51	a
St. Julien 655/2	0,00	a	7,05	b	13,97	b
Torinel	14,07	b	3,52	ab	26,73	c

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

V období 2007-09 byly nalezeny statisticky průkazné rozdíly v četnosti výskytu zavádání listů na letorostech prorostlých z inokul různých odrůd v závislosti na odrůdě inokul (Tabulka 35), na použité podnoží (Tabulka 36) i v interakci inokul použitých odrůd s různými podnožemi (Příloha 43).

V letech 2007 a 2009 nebyly žádné průkazné rozdíly v četnostech výskytu symptomu na letorostech v závislosti na podnožích. Nejvyšší výskyt byl zaznamenán celkově v roce 2008 a nejvíce se zavádání listů projevilo u letorostů prorostlých z inokul Jantze na podnoži Torinel (12,22 %). Zavádání listů dosáhlo nízkých četností výskytu, takže bude patřit k méně častým symptomům, který bude spíše souviset s úhynem. Nejvíce se zavádání listů letorostů ukázalo s podnoží GF 305 v letech 2007-08 a v roce 2009 s podnoží Torinel. V závislosti na odrůdě inokul bylo dosaženo nejvyššího výskytu symptomu na letorostech prorostlých z inokul odrůdy Jantze v roce 2008.

Tabulka 35 Porovnání rozdílností četností výskytu zavádání listů letorostů prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09

četnost symptomu zavádání (Z)						
	2007		2008		2009	
inokula odrůdy	průměr (%)	²	průměr (%)	²	průměr (%)	²
Hargrand_1	0,00	a	1,64	ab	0,00	a
Hargrand_2	0,67	b	0,00	a	0,00	a
Churmai	0,00	a	1,92	ab	0,00	a
Jantze	0,00	a	3,20	b	0,00	a
Murfatlar	0,00	a	2,06	ab	0,00	a
Olimp	0,00	a	0,90	ab	0,00	a
Poljus Južnyj	0,00	a	0,31	ab	0,00	a
Poyer	0,00	a	0,00	a	0,43	ab
Saldcot	0,00	a	0,67	ab	0,00	a
Veselka	0,00	a	2,00	ab	0,83	b

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

Tabulka 36 Porovnání rozdílností četností výskytu zavádání listů letorostů prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoži v letech 2007-09

četnost symptomu zavádání (Z)						
	2007		2008		2009	
podnož	průměr (%)		průměr (%)	²	průměr (%)	
GF 305	0,20		2,92	b	0,00	
GF-8-1	0,00		0,00	a	0,00	
M-LE-1	0,00		0,00	a	0,00	
St. Julien 655/2	0,00		2,44	b	0,00	
Torinel	0,00		1,22	ab	0,48	

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

5.3.3 Porovnání symptomatických projevů fytoplazmy ESFY na rostlinách vybraných podnoží s inokuly

Pro porovnání symptomatických projevů fytoplazmy ESFY na rostlinách vybraných podnoží s inokuly bylo statisticky vzájemně testováno deset různých izolátů fytoplazmy ESFY a pět odlišných podnoží, na které byla inokula naočkována. Statisticky byly srovnávány četnosti výskytu symptomatických rostlin podnoží, četnosti různých symptomů na rostlinách podnoží a četnosti předčasného úhynu rostlin podnoží v kombinaci s inokuly odrůd. Jak už bylo výše zmíněno, kontrolní rostliny neinokulovaných podnoží byly po celou dobu bez symptomů, pouze v posledním roce výzkumu (2009) došlo během (květen) vegetace k úhynu všech rostlin podnože GF 305 jak inokulovaných fytoplazmou ESFY tak i kontrolních.

V letech 2007-09 byly nalezeny statistickou analýzou průkazné rozdíly v četnosti výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokuly vybraných odrůd v závislosti na podnoží (Tabulka 37) a v interakci inokul použitých odrůd s různými podnožemi (Příloha 45), v závislosti na použité odrůdě inokul (Tabulka 38) byly průkazné rozdíly pouze v roce 2009. V celém období pozorování bylo dosaženo průměrně nízkých hodnot četností výskytu symptomatických rostlin podnoží, v prvních dvou letech měly hodnoty stoupající charakter a v posledním roce byl mírný pokles. Do skupiny podnoží s více zastoupenými symptomatickými rostlinami patřily podnože GF 305, M-LE-1 a GF-8-1 a naproti tomu podnože s nižšími četnostmi symptomatických rostlin Torinel a St. Julien 655/2 v celém období pozorování. Výsledným četnostem odpovídalo i průměrné zastoupení pozitivních rostlin podnoží na přítomnou fytoplazmu ESFY. V závislosti na odrůdě inokul byl vyšší výskyt symptomatických rostlin podnoží s inokuly odrůd Churmai, Hargrand_2 a Jantze. Nižší četnosti symptomatických rostlin podnoží byly s inokuly odrůd Hargrand_1 a Olimp v 2007-09 a s inokuly odrůd Murfatlar a Poljus Južnyj v prvním a posledním roce výzkumu. Přičemž výše PCR detekcí přítomné fytoplazmy ESFY v rostlinách podnoží byly adekvátní k vyšším výskytu symptomatických rostlin podnoží pouze v kombinaci s inokuly odrůd Jantze, Olimp a Poljus Južnyj.

Nejvyššího zastoupení symptomatických rostlin podnoží bylo dosaženo s kombinací inokul odrůdy Churmai s podnoží M-LE-1 (69,23 %) v roce 2009 a v prvních dvou letech s kombinací inokul Hargrand_2 na podnoží GF 305.

Tabulka 37 Porovnání rozdílnosti četnosti výskytu symptomatických rostlin podnoží s testovanými inokuly v závislosti na podnoží v letech 2007-09

výskyt symptomatických rostlin podnoží						
podnož	2007		2008		2009	
	průměr (%)	¹	průměr (%)	¹	průměr (%)	¹
GF 305	18,00	b	51,41	c	25,74	b
GF-8-1	1,53	a	25,20	ab	24,47	b
M-LE-1	0,67	a	30,70	ab	51,98	c
St. Julien 655/2	0,14	a	8,84	a	11,56	a
Torinel	0,00	a	11,10	a	7,44	a

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

Tabulka 38 Porovnání rozdílnosti četnosti výskytu symptomatických rostlin podnoží s testovanými inokuly v závislosti na odrůdě inokul v letech 2007-09

výskyt symptomů na rostlinách podnoží						
inokula odrůdy	2007		2008		2009	
	průměr (%)		průměr (%)		průměr (%)	¹
Hargrand_1	3,47		24,59		17,94	ab
Hargrand_2	9,07		27,81		28,43	b
Churmai	2,93		28,57		47,99	c
Jantze	4,92		25,89		27,98	b
Murfatlar	1,87		25,56		13,11	a
Olimp	3,47		22,26		18,03	ab
Poljus Južnyj	2,93		27,90		17,88	ab
Poyer	3,20		22,52		22,77	ab
Saldcot	3,49		24,47		24,19	ab
Veselka	5,33		24,92		22,37	ab

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

V období 2007-09 byly prokázány statistickou analýzou průkazné rozdíly v četnosti výskytu různých symptomů na rostlinách podnoží s inokuly vybraných odrůd v závislosti na podnoží (Tabulka 39) a v interakci inokul použitých odrůd s různými podnožemi (Příloha 46), v závislosti na použité odrůdě inokul (Tabulka 40) byly průkazné rozdíly pouze v roce 2009. V celém sledovaném období měla různost symptomů na rostlinách podnoží stoupající charakter, ale dosáhla nízkých hodnot. Mezi podnože s vyšší růzností symptomů na rostlinách řadíme podnož GF 305, M-LE-1 a GF-8-1 a mezi podnože s nižším výskytem různých symptomů patří podnož Torinel a St. Julien 655/2, stejně jako u výskytu symptomatických rostlin podnoží.

S odrůdami inokul Veselka a Saldcot měly rostliny podnoží více různých symptomů v období 2007-09 než s odrůdami inokul Poljus Južnyj a Poyer v letech 2007-08 a s odrůdou inokul Murfatlar v letech 2007 a 2009. Nejvyšší četnosti výskytu různých symptomů dosáhly rostliny podnože M-LE-1 s inokuly Veselka (3,60 ks) v roce 2009.

Tabulka 39 Porovnání rozdílností četnosti výskytu různých symptomů na rostlinách podnoží s testovanými inokuly v závislosti na podnoží v letech 2007-09

různost symptomů na rostlinách podnoží						
	2007		2008		2009	
podnož	průměr (ks)	¹	průměr (ks)	¹	průměr (ks)	¹
GF 305	0,82	b	1,88	c	1,13	ab
GF-8-1	0,12	a	0,64	ab	1,38	b
M-LE-1	0,10	a	1,34	bc	2,64	c
St. Julien 655/2	0,02	a	0,58	a	0,92	a
Torinel	0,00	a	0,60	a	0,76	a

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

Tabulka 40 Porovnání rozdílností četnosti výskytu různých symptomů na rostlinách podnoží s testovanými inokuly v závislosti na odrůdě inokul v roce 2007-09

různost symptomů na rostlinách podnoží						
	2007		2008		2009	
inokula odrůdy	průměr (ks)		průměr (ks)		průměr (ks)	¹
Hargrand_1	0,20		1,04		1,05	a
Hargrand_2	0,32		1,00		1,30	abc
Churmai	0,12		1,00		1,90	bc
Jantze	0,20		1,20		1,19	ab
Murfatlar	0,12		1,12		0,95	a
Olimp	0,24		0,84		1,14	a
Poljus Južnyj	0,16		0,96		1,67	abc
Poyer	0,16		0,76		1,29	abc
Saldcot	0,28		1,08		1,67	abc
Veselka	0,32		1,08		2,00	c

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

V celé době pozorování (2007-09) měla četnost předčasného úhynu rostlin podnoží stoupající charakter. V tomto období byly stanoveny statisticky průkazné rozdíly v četnosti předčasného úhynu rostlin podnoží s inokuly v závislosti na podnoží (Tabulka 41), na použité odrůdě inokul (Tabulka 42) a v interakci inokul použitých odrůd s různými podnožemi (Příloha 47). Do skupiny s vyšší četností uhynulých rostlin v letech 2008-09 patřila podnož GF 305. V roce 2007 uhynulo nejvíce rostlin podnože Torinel (8,27 %) a v roce 2008 podnože St. Julien 655/2 (15,77 %), byly to však nízké hodnoty. Po celou dobu výzkumu patřily rostliny podnože GF-8-1 do skupiny s nižšími úhyny, přestože bylo detekováno vyšší zastoupení rostlin s fytoplazmou ESFY.

Nejvíce rostlin podnoží uhynulo s inokuly odrůdy Hargrand_2 v letech 2008-09 a s inokuly odrůdy Veselka v letech 2007 a 2009. Méně úhynů rostlin podnoží bylo dosaženo s inokuly odrůdy Hargrand_1 v 2008-09, Poyer v 2007 a 2009. Přitom výše detekcí přítomné fytoplazmy ESFY v rostlinách podnoží v kombinaci s těmito inokuly odrůd neodpovídaly (30,4 % pozitivních rostlin podnoží s inokuly odrůdy Hargrand_2 a 50 % pozitivních rostlin podnoží s inokuly odrůdy Hargrand_1, 36,7 % pozitivních rostlin podnoží s inokuly odrůdy Veselka). Nejvíce uhynulých rostlin bylo zaznamenáno u podnože GF 305 s odrůdou inokul Hargrand_2 v roce 2008 (průměrně 93,33 %), u této kombinace byl úhyn s největší pravděpodobností způsoben fytoplazmou ESFY.

Tabulka 41 Porovnání rozdílností četnosti výskytu předčasného úhynu rostlin podnoží s testovanými inokuly v závislosti na podnoží v letech 2007-09

předčasný úhyn rostlin podnoží						
	2007		2008		2009	
podnož	průměr (%)	¹	průměr (%)	¹	průměr (%)	¹
GF 305	0,00	a	13,47	c	71,67	d
GF-8-1	0,27	a	1,20	a	7,70	b
M-LE-1	1,33	a	3,33	b	11,55	c
St. Julien 655/2	3,47	a	15,77	d	3,93	a
Torinel	8,27	b	3,90	b	4,61	a

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

Tabulka 42 Porovnání rozdílností četnosti výskytu předčasného úhynu rostlin podnoží s testovanými inokuly v závislosti na odrůdě inokul v letech 2007-09

předčasný úhyn rostlin podnoží						
	2007		2008		2009	
inokula odrůdy	průměr (%)	²	průměr (%)	¹	průměr (%)	¹
Hargrand_1	5,87	c	2,93	a	3,17	a
Hargrand_2	3,20	abc	30,27	d	21,42	e
Churmai	2,13	abc	6,13	bc	6,54	b
Jantze	0,00	a	3,60	ab	9,84	c
Murfatlar	2,67	abc	6,40	bc	6,54	b
Olimp	2,13	abc	5,60	abc	10,86	c
Poljus Južnyj	1,60	ab	2,67	a	10,09	c
Poyer	1,07	a	5,60	abc	3,56	a
Saldcot	2,67	abc	7,88	c	5,19	ab
Veselka	5,33	bc	4,27	ab	17,60	d

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

5.4 Ověření citlivosti souboru různých podnoží k fytoplazmě ESFY

5.4.1 Porovnání symptomatických projevů fytoplazmy ESFY na rostlinách vybraných podnoží

Pro ověření citlivosti souboru různých podnoží k fytoplazmě ESFY byly porovnávány symptomatické projevy fytoplazmy ESFY na rostlinách vybraných podnoží s inokuly odrůd Vestar a Hargrand_4 (dále jen inokula). Statisticky bylo vzájemně testováno patnáct odlišných podnoží, na které byla naočkována dvě inokula. Byly srovnávány četnosti výskytu symptomatických rostlin podnoží, četnosti různých symptomů na rostlinách podnoží a četnosti předčasného úhynu rostlin podnoží. Za citlivěji reagující k fytoplazmě ESFY byly považovány rostliny podnože, které měly nejvyšší četnosti výše zmíněných symptomatických charakteristik.

Statistická analýza zjistila průkazné rozdíly v četnostech výskytu symptomatických rostlin podnoží ve všech letech výzkumu (Tabulka 43). Hodnoty výskytu symptomatických rostlin měly v celém období stoupající charakter. V prvních dvou letech dosáhla průměrně nejvyššího zastoupení symptomatických rostlin s inokuly podnož GF 305 a v posledním roce podnož AP-1 (89,45 %). Do skupiny podnoží s vyššími výskyty rostlin se symptomy patřily dále Shirofugen, VVA-1 a M-LE-1. Přičemž kontrolní rostliny po dobu pozorování nevykazovaly u většiny podnoží žádné symptomy, jen u podnoží broskvoňového typu (GF 305, AP-1, Lesiberian) se ke konci vegetační doby (září) objevilo slabé červenání listů. Kontrolní rostliny podnoží GF 305 a AP-1 na začátku vegetace roku 2009 uhynuly. Skupina podnoží s vyšším výskytem symptomatických rostlin dosáhla i vysokého zastoupení rostlin s pozitivní PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY (výjimkou byla AP-1 s 30,30 %) - podnož GF 305 (100 %), M-LE-1 (80 %), VVA-1 (57,14 %). Z daného vyplývá, že vyšší zastoupení symptomatických rostlin u zmíněných podnoží bylo s největší pravděpodobností zapříčiněno přítomností fytoplazmy ESFY a tak můžeme tvrdit, že tyto podnože budou citlivější k přítomné fytoplazmě ESFY než ostatní zkoumané podnože. Výjimkou byla podnož Shirofugen, u které nepřirostlo žádné inokulum (špatná afinita), nebyla ani potvrzena přítomnost fytoplazmy ESFY. Naopak k podnožím s nižším průměrným výskytem symptomatických rostlin náležely GF 677, MY-KL-A, Myrobalán 29C ve všech letech výzkumu.

Detekce přítomné fytoplazmy ESFY odhalila nízké četnosti pozitivních rostlin podnoží (MY-KL-A 0,00 %, GF 677 13,30 % a Myrobalán 29C 30,77 % z rostoucích rostlin).

Tabulka 43 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokuly odrůd Vestar a Hargrand_4 v letech 2007-09

výskyt symptomatických rostlin podnoží						
podnož	2007		2008		2009	
	průměr (%)	²	průměr (%)	²	průměr (%)	¹
AP-1	0,00	a	17,33	ab	89,45	e
GF 305	20,00	b	57,33	c	12,50	abc
GF 31	0,00	a	11,43	ab	25,45	abcd
GF 677	0,00	a	10,67	ab	0,00	a
GF-8-1	0,00	a	13,33	ab	18,67	abcd
Lesiberian	1,33	a	21,43	ab	21,43	abcd
M-LE-1	0,00	a	34,67	bc	45,62	cd
MRS 2/5	0,00	a	13,33	ab	15,22	abcd
MY-KL-A	0,00	a	0,00	a	12,31	ab
Myr. 29C	0,00	a	8,00	ab	9,23	a
Shirofugen	1,54	a	29,23	abc	41,54	bcd
St. Julien 655/2	0,00	a	12,86	ab	14,29	abc
Str. myrobal.	0,00	a	21,43	ab	10,00	ab
Torinel	0,00	a	17,33	ab	5,00	a
VVA 1	0,00	a	27,14	abc	46,35	d

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

Statistická analýza prokázala průkazné rozdíly v četnostech výskytu různých symptomů na rostlinách podnoží ve všech letech výzkumu (Tabulka 44). Četnost různých symptomů měla stoupající charakter a pohybovala se v rozmezí od 0,00 do 3 ks (podnož AP-1). V prvních dvou letech dosáhla průměrně nejvyšší různosti symptomů na rostlinách s inokuly podnož GF 305 a v posledním roce podnož AP-1 (Tabulka 44). Do skupiny podnoží s větší četností různých symptomů na rostlinách v období 2007-09 dále patřily Lesiberian a MRS 2/5, jejichž zastoupení pozitivních rostlin na přítomnou fytoplazmu ESFY bylo spíše průměrně nižší (Lesiberian 28,57 % a MRS 2/5 25,86% z rostoucích rostlin). Naopak k podnožím s nižším průměrným výskytem různých symptomů na rostlinách v celém období pozorování náležely GF 677, Strážovický myrobalán, Torinel a Myrobalán 29C.

Tabulka 44 Porovnání rozdílností četnosti výskytu různých symptomů na rostlinách podnoží s inokuly odrůd Vestar a Hargrand_4 v letech 2007-09

výskyt různých symptomů na rostlinách podnoží						
podnož	2007		2008		2009	
	průměr (ks)	²	průměr (ks)	²	průměr (ks)	¹
AP-1	0,00	a	1,00	ab	3,00	d
GF 305	0,60	b	2,00	b	1,00	abc
GF 31	0,00	a	0,80	ab	1,20	abc
GF 677	0,00	a	0,60	ab	0,00	a
GF-8-1	0,00	a	0,40	a	1,40	abcd
Lesiberian	0,20	a	1,40	ab	2,80	cd
M-LE-1	0,00	a	0,80	ab	2,00	bcd
MRS 2/5	0,00	a	1,20	ab	1,80	bcd
MY-KL-A	0,00	a	0,00	a	1,80	bcd
Myr. 29C	0,00	a	0,60	ab	0,40	ab
Shirofugen	0,20	a	1,00	ab	1,20	abc
St. Julien 655/2	0,00	a	1,20	ab	1,60	abcd
Str. myrobal.	0,00	a	0,80	ab	0,40	ab
Torinel	0,00	a	0,80	ab	0,60	ab
VVA 1	0,00	a	1,20	ab	1,60	abcd

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

Statistická analýza předčasného úhynu rostlin podnoží stanovila průkazné rozdíly v jeho četnostech ve všech letech pozorování (Tabulka 45). Předčasný úhyn rostlin podnoží měl stoupající charakter a hodnoty se pohybovaly průměrně od 0,00 % do 100 % (podnož GF 677). Z kontrolních rostlin uhynuli všichni jedinci podnoží GF 305 a AP-1 na počátku vegetace roku 2009, pravděpodobnou příčinou úhynu mohl být vliv stresu z nespecifikovaných vnějších faktorů (vliv nádobového pokusu, stres z přemokření, sucha, silné mrazy v první polovině měsíce leden 2009 - nejnižší přízemní teplota dosáhla až $-21,00^{\circ}\text{C}$). Tudíž úhyn rostlin s inokuly podnože GF 305 nezpůsobila přítomnost fytoplazmy ESFY. Úhyn všech rostlin podnože GF 677 způsobil pravděpodobně přítomnost fytoplazmy ESFY, protože kontrolní rostliny byly bezsymptomatické a bez úhynu. Jinak četnost předčasného úhynu rostlin podnoží byla celkově nízká. Rostliny podnože GF 31, které měly v posledním roce výzkumu vyšší hodnoty předčasného úhynu, měly přesto nulové zastoupení rostlin s pozitivní PCR reakcí k přítomné fytoplazmě ESFY. Po celé období zkoumání měly nulové hodnoty úhynu rostliny podnoží GF-8-1 a St. Julien 655/2.

Rostliny podnože GF-8-1 s pozitivní PCR detekcí dosáhly 40% zastoupení a přesto neuhynul žádný jedinec, i symptomatický projev rostlin patřil spíše k méně výrazným.

Tabulka 45 Porovnání rozdílů četnosti předčasného úhynu rostlin podnoží s inokuly odrůd Vestar a Hargrand_4 v letech 2007-09

předčasný úhyn rostlin podnoží						
podnož	2007		2008		2009	
	průměr (%)	²	průměr (%)	¹	průměr (%)	²
AP-1	0,00	a	0,00	a	12,00	abc
GF 305	0,00	a	0,00	a	73,33	d
GF 31	0,00	a	6,67	b	21,43	c
GF 677	0,00	a	0,00	a	100,00	e
GF-8-1	0,00	a	0,00	a	0,00	a
Lesiberian	0,00	a	6,67	b	0,00	a
M-LE-1	0,00	a	0,00	a	2,67	ab
MRS 2/5	0,00	a	0,00	a	22,67	c
MY-KL-A	0,00	a	0,00	a	2,67	ab
Myr. 29C	0,00	a	0,00	a	2,67	ab
Shirofugen	0,00	a	1,43	a	2,67	ab
St. Julien 655/2	0,00	a	0,00	a	0,00	a
Str. Myrobal.	0,00	a	0,00	a	11,43	abc
Torinel	2,67	b	0,00	a	4,00	ab
VVA 1	0,00	a	1,33	a	13,46	bc

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

5.4.2 Porovnání symptomatických projevů fytoplazmy ESFY na letorostech prorostlých z inokul odrůd Vestar a Hargrand_4

V celém období hodnocení (2007-09) bylo dosaženo průměrně vysokých četností výskytu symptomatických letorostů prorostlých z inokul odebraných ze stromů odrůd Vestar a Hargrand_4 (dále jen inokul Vestar a Hargrand_4), které měly do roku 2008 stoupající charakter a v posledním roce došlo k mírnému poklesu z důvodu vyššího úhynu letorostů. Ve všech letech pozorování byly objeveny průkazné rozdíly v četnosti výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Vestar a Hargrand_4 (dále jen inokul) v závislosti na podnoži (Tabulka 46). Průměrně vyššího výskytu symptomatických letorostů prorostlých z inokul v celém období výzkumu dosáhly letorosty v kombinaci s podnožemi St. Julien 655/2 (61,63 %), AP-1, Lesiberian, Myr. 29C a M-LE-1 (56,37 %). Průměrně vycházely i vysoké četnosti pozitivních letorostů prorostlých z inokul v kombinaci téměř se všemi testovanými podnožemi (výjimkou byla jen podnož Shirofugen).

Letorosty prorostlé z inokul v kombinaci s těmito podnožemi měly citlivější reakci k přítomné fytoplazmě ESFY než s ostatními podnožemi. Naopak nejméně citlivě reagovaly letorosty prorostlé z inokul s podnožemi Shirofugen a MY-KL-A, protože s nimi bylo průměrně nejnižší zastoupení symptomatických letorostů v letech 2007-09. U podnože Shirofugen nepřiřostlo žádné inokulum pravděpodobně z důvodu špatné afinity a u podnože MY-KL-A rostly celkem pouze tři letorosty z inokul odrůdy Hargrand_4 (Příloha 56) a všechny byly pozitivní, ale vzhledem k nízkému počtu prorostlých inokul nelze brát výsledný symptomatický projev za věrohodný. S dřevitým indikátorem GF 305 bylo nejvíce letorostů se symptomy již v prvním roce po inokulaci a v roce 2008 patřily letorosty také do skupiny s vyšší četností symptomatických letorostů, adekvátní byl i výsledek PCR detekce pozitivních letorostů (89,00 % Vestar a 100 % Hargrand_4). S podnožemi MRS 2/5, VVA 1, Strážovický myrobalán a Lesiberian bylo dosaženo také v roce 2008 vysokých výskytů symptomatických letorostů prorostlých z inokul. Vysoká byla i zastoupení detekovaných pozitivních letorostů k přítomné fytoplazmě ESFY a s těmito podnožemi došlo v posledním roce pozorování k vysokým úhynům letorostů. Tudíž letorosty s podnožemi MRS 2/5, VVA 1, GF 305, Strážovický myrobalán, Lesiberian a GF 677 měly ze všech nejrychlejší a nejcitlivější reakci k přítomné fytoplazmě ESFY.

Tabulka 46 Porovnání rozdílností četností výskytu symptomatických letorostů prorostlých z inokul odrůd Vestar a Hargrand_4 na vybraných podnožích v letech 2007-09

výskyt symptomatických letorostů prorostlých z inokul Vestar a Hargrand						
podnož	2007		2008		2009	
	průměr (%)	²	průměr (%)	¹	průměr (%)	¹
AP 1	10,00	ab	75,00	cd	92,67	de
GF 305	64,11	d	71,78	cd	0,00	a
GF 31	0,00	a	65,83	bcd	100,00	e
GF 677	0,00	a	69,30	bcd	0,00	a
GF 8-1	10,00	ab	65,67	bcd	71,44	bcde
Lesiberian	60,00	d	71,67	cd	44,44	abc
M-LE-1	40,00	cd	50,54	bc	78,57	cde
MRS 2/5	0,00	a	98,75	d	57,14	bcde
MY-KL-A	6,67	ab	23,33	ab	50,00	bcd
Myr. 29C	20,00	abc	64,29	bcd	88,33	cde
Shirofugen	0,00	a	0,00	a	0,00	a
St. Julien 655/2	32,67	bc	60,56	bcd	91,67	de
Str. Myrobal.	0,00	a	73,08	cd	30,00	ab
Torinel	20,00	abc	34,00	abc	100,00	e
VVA 1	0,00	a	73,33	cd	65,00	bcde

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

Statistická analýza stanovila průkazné rozdíly v četnostech výskytu různých symptomů na letorostech prorostlých z inokul odrůd Vestar a Hargrand_4 (dále jen inokul) ve všech letech výzkumu (Tabulka 47). Četnost různých symptomů měla stoupající charakter a pohybovala se v rozmezí od 0,00 do 3,7 ks (s podnoží GF-8-1). V prvním roce dosáhly nejvyšší různosti symptomů letorosty s podnoží GF 305 (2,4 ks) a průměrně nejvyšší počet různých symptomů v celém období pozorování měly letorosty s podnožemi GF-8-1 a St. Julien 655/2. Naopak nejméně různých symptomů bylo na letorostech prorostlých z inokul s podnožemi MY-KL-A a Torinel. Na rostlinách podnože Shirofugen nepřirostlo žádné inokulum, tudíž byly hodnoty různosti symptomů letorostů nulové.

Tabulka 47 Porovnání rozdílností četnosti výskytu různých symptomů na letorostech prorostlých z inokul odrůd Vestar a Hargrand 4 na vybraných podnožích v letech 2007-09

výskyt různých symptomů na letorostech prorostlých z inokul Vestar a Hargrand						
podnož	2007		2008		2009	
	průměr (ks)	¹	průměr (ks)	¹	průměr (ks)	³
AP-1	0,10	a	2,30	cde	3,20	cd
GF 305	2,40	c	2,60	de	0,00	a
GF 31	0,00	a	2,10	cde	2,20	bcd
GF 677	0,00	a	2,20	cde	0,00	a
GF-8-1	0,10	a	3,00	de	3,70	d
Lesiberian	0,60	ab	1,50	abcd	0,67	ab
M-LE-1	0,40	ab	1,70	bcde	3,40	cd
MRS 2/5	0,00	a	2,70	de	0,86	ab
MY-KL-A	0,10	a	0,30	ab	1,30	ab
Myr. 29C	0,40	ab	1,60	abcde	2,50	bcd
Shirofugen	0,00	a	0,00	a	0,00	a
St. Julien 655/2	0,80	b	3,10	de	3,40	cd
Str. Myrobal.	0,00	a	3,20	e	0,30	a
Torinel	0,30	ab	0,90	abc	1,70	abc
VVA 1	0,00	a	2,10	cde	1,10	ab

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

³ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Scheffeho testu

Statistická analýza předčasného úhynu letorostů prorostlých z inokul odrůd Vestar a Hargrand_4 (dále jen inokul) našla průkazné rozdíly v jeho četnostech v celém období 2007-09 (Tabulka 48). Hodnoty předčasného úhynu letorostů prorostlých z inokul měly stoupající charakter a pohybovaly se průměrně od 0,00 % do 100 % (s podnoží GF 677). Z kontrolních rostlin uhynuli všichni jedinci podnoží GF 305 a AP-1 na počátku vegetace roku 2009, pravděpodobnou příčinou úhynu mohl být již zmíněný stres z nespecifikovaných vnějších faktorů. Úhyn všech rostlin podnože GF 677 i s letorosty v roce 2009 způsobila pravděpodobně přítomnost fytoplazmy ESFY, protože kontrolní rostliny byly bezsymptomatické a bez úhynu.

Odpovídala by tomu i vysoká pozitivita letorostů k fytoplazmě ESFY. Vzhledem k vysokému symptomatickému projevu letorostů s podnoží GF 677 v předcházejícím roce můžeme tvrdit, že měly letorosty s touto podnoží nejcitlivější a nejagresivnější reakci k přítomné fytoplazmě ESFY. Podobně citlivou reakci měly ještě letorosty s podnožemi Strážovický myrobalán, MRS 2/5, VVA 1 a Lesiberian, se kterými dosáhly vysokých četností úhynu v roce 2009. Naopak nejméně uhynulých letorostů bylo v kombinaci s podnožemi MY-KL-A, St. Julien 655/2, M-LE-1, GF-8-1 a Torinel.

Tabulka 48 Porovnání rozdílností četností předčasného úhynu letorostů prorostlých z inokul odrůd Vestar a Hargrand_4 na vybraných podnožích v letech 2007-09

předčasný úhyn letorostů prorostlých z inokul Vestar a Hargrand						
podnož	2007		2008		2009	
	průměr (%)	²	průměr (%)	¹	průměr (%)	¹
AP-1	0,00	a	3,33	a	25,00	bc
GF 305	0,00	a	0,00	a	81,39	d
GF 31	0,00	a	17,14	c	33,33	c
GF 677	0,00	a	0,83	a	100,00	d
GF-8-1	10,00	b	0,00	a	0,00	a
Lesiberian	0,00	a	0,00	a	72,22	d
M-LE-1	0,00	a	0,00	a	8,75	ab
MRS 2/5	0,00	a	10,00	abc	79,17	d
MY-KL-A	0,00	a	0,00	a	0,00	a
Myr. 29C	0,00	a	0,00	a	21,43	bc
Shirofugen	0,00	a	0,00	a	0,00	a
St. Julien 655/2	0,00	a	2,22	a	0,00	a
Str. Myrobal.	0,00	a	15,00	bc	88,10	d
Torinel	0,00	a	5,00	ab	10,00	ab
VVA 1	0,00	a	0,00	a	73,33	d

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

5.4.3 Porovnání četnosti výskytu jednotlivých symptomů na rostlinách vybraných podnoží

Pro porovnání četnosti výskytu jednotlivých symptomů na rostlinách podnoží bylo statisticky vzájemně testováno osm různých symptomů fytoplazmy ESFY, které se vyskytovaly na sledovaných podnožích.

Symptom svinutka listů na rostlinách podnoží se po celou dobu sledování téměř nevyskytoval. Statistická analýza našla sice průkazné rozdíly v letech 2008 a 2009, ale svinutka listů se objevila pouze u 10,67 % rostlin podnože GF 305 v roce 2008 a v roce 2009 u 1,33 % rostlin podnože M-LE-1. Jinak byly četnosti výskytu u ostatních podnoží nulové (Tabulka 49).

Tabulka 49 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu svinutka listů na rostlinách podnoží s inokuly Vestar a Hargrand_4 v letech 2007-09

četnost symptomu svinutka listů na rostlinách podnoží						
podnož	2007		2008		2009	
	průměr (%)		průměr (%)	¹	průměr (%)	²
AP-1	0,00		0,00	a	0,00	a
GF 305	0,00		10,67	b	0,00	a
GF 31	0,00		0,00	a	0,00	a
GF 677	0,00		0,00	a	0,00	a
GF-8-1	0,00		0,00	a	0,00	a
Lesiberian	0,00		0,00	a	0,00	a
M-LE-1	0,00		0,00	a	1,33	b
MRS 2/5	0,00		0,00	a	0,00	a
MY-KL-A	0,00		0,00	a	0,00	a
Myr. 29C	0,00		0,00	a	0,00	a
Shirofugen	0,00		0,00	a	0,00	a
St. Julien 655/2	0,00		0,00	a	0,00	a
Str. myrobal.	0,00		0,00	a	0,00	a
Torinel	0,00		0,00	a	0,00	a
VVA 1	0,00		0,00	a	0,00	a

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

Četnost žloutenky listů na rostlinách podnoží měla v období výzkumu (2007-09) stoupající charakter (Tabulka 50) a dosáhla rozmezí hodnot 0,00% do 67,03 % (podnož AP-1). Statistická analýza stanovila průkazné rozdíly ve všech letech pozorování. V prvním roce po inokulaci se vyskytla žloutenka pouze u rostlin podnože GF 305, protože se musela inokulace většiny rostlin podnoží zopakovat kvůli špatnému přirůstání. V dalších letech se nejvíce žloutenka listů objevila na rostlinách podnoží M-LE-1 a VVA-1, u nichž byl prokázán i vysoký podíl pozitivních rostlin na přítomnou fytoplazmu ESFY, tudíž byl symptom žloutenka listů s největší pravděpodobností způsoben stresem vyvolaným fytoplazmou. Naopak nulový výskyt žloutenky listů měly po celou dobu rostliny podnože GF 677, která měla nízké zastoupení pozitivních rostlin k přítomné fytoplazmě ESFY. U podnoží MY-KL-A, Shirofugen a GF 31, u kterých se nedetekovala žádná rostlina s fytoplazmou ESFY, se přesto žloutenka listů objevila.

Kontrolní rostliny výše zmíněných podnoží byly bez symptomů nebo se symptom začal objevovat až ke konci vegetačního období. Takže žloutenka listů na rostlinách s inokuly, který se objevil v největším zastoupení ze všech hodnocených symptomů, musel být u popsanych podnoží (AP-1, GF 305, VVA-1 a M-LE-1) vyvolán reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY.

Tabulka 50 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu žloutenka listů na rostlinách podnoží s inokuly Vestar a Hargrand_4 v letech 2007-09

četnost symptomu žloutenka listů na rostlinách podnoží						
podnož	2007		2008		2009	
	průměr (%)	²	průměr (%)	²	průměr (%)	¹
AP-1	0,00	a	6,67	ab	67,03	d
GF 305	2,67	b	8,00	ab	0,00	a
GF 31	0,00	a	8,57	ab	23,64	abc
GF 677	0,00	a	0,00	a	0,00	a
GF-8-1	0,00	a	13,33	ab	16,00	abc
Lesiberian	0,00	a	11,43	ab	10,00	ab
M-LE-1	0,00	a	25,33	b	41,62	bcd
MRS 2/5	0,00	a	9,33	ab	10,05	ab
MY-KL-A	0,00	a	0,00	a	9,23	ab
Myr. 29C	0,00	a	8,00	ab	9,23	ab
Shirofugen	0,00	a	4,62	ab	38,46	bcd
St. Julien 655/2	0,00	a	8,57	ab	11,43	ab
Str. myrobal.	0,00	a	20,00	ab	3,33	a
Torinel	0,00	a	17,33	ab	3,33	a
VVA 1	0,00	a	20,00	ab	46,35	cd

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

Chloróza listů na rostlinách podnoží s inokuly dosáhla nízkého projevu v celém období 2007-09 (Tabulka 51), průkazné rozdíly v četnostech výskytu symptomu byly v roce 2008 a 2009, ve kterých se objevila nejvíce u rostlin podnože Lesiberian. Nejvyšší hodnoty dosáhla chloróza listů v posledním roce u rostlin podnože AP-1 (7,58 %). V prvním roce se nevyskytovala u žádné rostliny s inokuly.

Tabulka 51 Porovnání rozdílnosti četnosti výskytu symptomu chloróza listů na rostlinách podnoží s inokuly Vestar a Hargrand_4 v letech 2007-09

četnost symptomu chloróza listů na rostlinách podnoží						
podnož	2007		2008		2009	
	průměr (%)		průměr (%)	¹	průměr (%)	¹
AP-1	0,00		0,00	a	7,58	b
GF 305	0,00		0,00	a	0,00	a
GF 31	0,00		0,00	a	0,00	a
GF 677	0,00		0,00	a	0,00	a
GF-8-1	0,00		0,00	a	2,67	ab
Lesiberian	0,00		4,29	b	5,71	ab
M-LE-1	0,00		0,00	a	0,00	a
MRS 2/5	0,00		1,33	ab	0,00	a
MY-KL-A	0,00		0,00	a	0,00	a
Myr. 29C	0,00		0,00	a	0,00	a
Shirofugen	0,00		0,00	a	0,00	a
St. Julien 655/2	0,00		0,00	a	0,00	a
Str. myrobal.	0,00		0,00	a	0,00	a
Torinel	0,00		0,00	a	1,67	ab
VVA 1	0,00		0,00	a	0,00	a

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

Chlorotická svinutka listů se na rostlinách podnoží také objevila sporadicky, přestože patří do skupiny nejvíce se projevujících symptomů fytoplazmy ESFY. Nejvyšší hodnoty četnosti bylo dosaženo u rostlin s inokuly podnože Lesiberian (5,71 %) v roce 2009. V roce 2008 mělo chlorotickou svinutku 4,29 % rostlin podnože St. Julien 655/2. Jinak u většiny rostlin podnoží se symptom vůbec neukázal (Tabulka 52). Kontrolní rostliny podnoží neměly žádný výskyt chlorotické svinutky na listech.

Tabulka 52 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu chlorotická svinutka listů na rostlinách podnoží s inokuly Vestar a Hargrand_4 v letech 2007-09

četnost symptomu chlorotická svinutka listů na rostlinách podnoží						
podnož	2007		2008		2009	
	průměr (%)		průměr (%)	²	průměr (%)	¹
AP-1	0,00		0,00	a	1,54	a
GF 305	0,00		0,00	a	0,00	a
GF 31	0,00		0,00	a	0,00	a
GF 677	0,00		0,00	a	0,00	a
GF-8-1	0,00		0,00	a	0,00	a
Lesiberian	0,00		0,00	a	5,71	b
M-LE-1	0,00		0,00	a	0,00	a
MRS 2/5	0,00		0,00	a	0,00	a
MY-KL-A	0,00		0,00	a	0,00	a
Myr. 29C	0,00		0,00	a	0,00	a
Shirofugen	0,00		0,00	a	0,00	a
St. Julien 655/2	0,00		4,29	b	0,00	a
Str. myrobal.	0,00		1,43	b	0,00	a
Torinel	0,00		0,00	a	0,00	a
VVA 1	0,00		0,00	a	0,00	a

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

Statistická analýza prokázala průkazné rozdíly v četnosti výskytu symptomu červení listů na rostlinách s inokuly testovaných podnoží ve všech letech (Tabulka 53). Hodnoty výskytu červení listů rostlin s inokuly se pohybovaly od 0,00 % do 50,67 % (podnož GF 305). Nejvyššího zastoupení rostlin se symptomem bylo dosaženo v roce 2008, v následujícím roce došlo k poklesu výskytu. Nejvíce rostlin s červéním listů měly průměrně v celém období podnože GF 305 a AP-1. U kontrolních rostlin těchto podnoží se poprvé červení listů začalo objevovat v roce 2007 od září a v roce 2008 u podnože GF 305 od konce srpna a u podnože AP-1 od konce června. V posledním roce kontrolní rostliny výše zmíněných podnoží uhynuly. Začátek projevu symptomu u rostlin s inokuly podnože GF 305 nastal v roce 2007 od srpna, v roce 2008 od června a roce 2009 se ukázal u jedné rostliny v květnu a pak všechny rostliny uhynuly. U podnože AP-1 se na rostlinách s inokuly objevilo červení listů v roce 2008 od srpna a v roce 2009 od května. Z porovnání termínu objevení se symptomu vyplývá, že symptom nebude s největší pravděpodobností závislý se svým projevem pouze na přítomné fytoplazmě ESFY.

U kontrolních rostlin se červenaní objevilo ještě u podnože Lesiberian a GF 677, což jsou podnože broskvoňového typu stejně jako již zmíněná podnož GF 305 a AP-1, takže pro tento druh podnoží bude nejspíš červenaní listů více typické než pro ostatní typy podnoží. Tudíž červenaní listů rostlin testovaných podnoží s inokuly nebude v tomto případě pravděpodobně symptom, ale projev rostlin na jiný druh stresu.

Tabulka 53 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu červenaní listů na rostlinách podnoží s inokuly Vestar a Hargrand_4 v letech 2007-09

četnost symptomu červenaní listů na rostlinách podnoží						
podnož	2007		2008		2009	
	průměr (%)	¹	průměr (%)	¹	průměr (%)	¹
AP-1	0,00	a	17,33	ab	7,36	b
GF 305	17,33	b	50,67	b	2,50	ab
GF 31	0,00	a	0,00	a	0,00	a
GF 677	0,00	a	10,67	a	0,00	a
GF-8-1	0,00	a	0,00	a	0,00	a
Lesiberian	1,33	ab	0,00	a	0,00	a
M-LE-1	0,00	a	16,00	ab	0,00	a
MRS 2/5	0,00	a	2,67	a	0,00	a
MY-KL-A	0,00	a	0,00	a	4,62	ab
Myr. 29C	0,00	a	0,00	a	0,00	a
Shirofugen	1,54	ab	21,54	ab	0,00	a
St. Julien 655/2	0,00	a	1,43	a	0,00	a
Str. myrobal.	0,00	a	0,00	a	0,00	a
Torinel	0,00	a	1,33	a	0,00	a
VVA 1	0,00	a	1,43	a	0,00	a

¹ homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí Tukeyova testu

Předčasný opad listů rostlin s inokuly vybraných podnoží neměl v žádném roce průkazné rozdíly v četnosti výskytu a dosáhl nízkých hodnot v celém období 2007-09 (Tabulka 54). Předčasný opad listů byl považován za symptom v případě, že začal dříve než u rostlin kontrolních. Listy kontrolních rostlin v celém období opadávaly od začátku října. U rostlin s inokuly zkoumaných podnoží, u nichž nastal opad listů již v září, byl opad listů považován za předčasný a tím tedy za symptomatický projev rostlin reagujících na přítomnost patogena. V roce 2008 nejvíce rostlin s předčasným opadem měla podnož GF 305 (13,33 %) a v roce 2009 podnož AP-1 (7,69 %).

Žádný předčasný opad listů v celém období 2007-09 se neobjevil u rostlin s inokuly podnoží GF 31, GF 677, GF-8-1, Shirofugen a Strážovický myrobalán.

Tabulka 54 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu předčasný opad listů na rostlinách podnoží s inokuly Vestar a Hargrand_4 v letech 2007-09

četnost symptomu předčasný opad listů na rostlinách podnoží						
podnož	2007		2008		2009	
	průměr (%)		průměr (%)		průměr (%)	
AP-1	0,00		12,00		7,69	
GF 305	0,00		13,33		0,00	
GF 31	0,00		0,00		0,00	
GF 677	0,00		0,00		0,00	
GF-8-1	0,00		0,00		0,00	
Lesiberian	0,00		8,57		2,86	
M-LE-1	0,00		2,67		7,14	
MRS 2/5	0,00		1,33		1,82	
MY-KL-A	0,00		0,00		1,54	
Myr. 29C	0,00		5,33		0,00	
Shirofugen	0,00		0,00		0,00	
St. Julien 655/2	0,00		5,71		0,00	
Str. myrobal.	0,00		0,00		0,00	
Torinel	0,00		5,33		0,00	
VVA 1	0,00		1,43		3,33	

Statistická analýza totálního opadu listů rostlin s inokuly vybraných podnoží nalezla průkazné rozdíly v četnosti výskytu v letech 2008 a 2009, ale symptom dosáhl nízkých hodnot v celém období sledování (Tabulka 55). Totální opad listů byl považován za symptom v případě, že úplný opad listů byl dříve než u rostlin kontrolních. Listy kontrolních rostlin v celém období byly zcela opadané od konce října. U rostlin s inokuly zkoumaných podnoží, u nichž nastal úplný opad listů již v září, byl totální opad listů považován za symptomatický projev rostlin reagujících na přítomnost patogena. V roce 2008 nejvíce rostlin s totálním opadem listů měla podnož VVA-1 (5,71 %) a v roce 2009 podnož St. Julien 655/2 (1,43 %). Žádný totální opad listů v celém období 2007-09 se neobjevil u rostlin s inokuly většiny podnoží.

Tabulka 55 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu totálního opad listů na rostlinách podnoží s inokuly Vestar a Hargrand_4 v letech 2007-09

četnost symptomu totální opad listů na rostlinách podnoží						
podnož	2007		2008		2009	
	průměr (%)		průměr (%)	²	průměr (%)	²
AP-1	0,00		0,00	a	0,00	a
GF 305	0,00		0,00	a	0,00	a
GF 31	0,00		0,00	a	0,00	a
GF 677	0,00		0,00	a	0,00	a
GF-8-1	0,00		0,00	a	0,00	a
Lesiberian	0,00		0,00	a	0,00	a
M-LE-1	0,00		0,00	a	0,00	a
MRS 2/5	0,00		1,33	a	0,00	a
MY-KL-A	0,00		0,00	a	0,00	a
Myr. 29C	0,00		0,00	a	0,00	a
Shirofugen	0,00		0,00	a	0,00	a
St. Julien 655/2	0,00		0,00	a	1,43	b
Str. myrobal.	0,00		0,00	a	0,00	a
Torinel	0,00		0,00	a	0,00	a
VVA 1	0,00		5,71	b	0,00	a

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

Růstová deprese rostlin se objevila také v nízkém zastoupení v celé době výzkumu (2007-09). Statistickou analýzou byly prokázány rozdíly v četnosti symptomu v letech 2008 a 2009, kdy měla stoupající charakter (Tabulka 56). V roce 2008 se četnost růstové deprese pohybovala od 0,00 % do 3,08 % (podnož Shirofugen) a v roce 2009 od 0,00 % do 12,09 % (podnož AP-1). Zajímavé bylo porovnání rostlin s inokuly podnoží s růstovou depresí a úhynem rostlin, protože většina podnoží, jejíž rostliny trpěly růstovou depresí, se objevila i mezi podnožemi s vyšším úhynem rostlin. Pravděpodobně bude růstová deprese předcházet brzkému úhynu rostliny, dokazují to rostliny podnoží Strážovický myrobalán, AP-1, VVA 1, GF 31 a MRS 2/5, které patřily do skupin podnoží jak s vyšším výskytem růstové deprese rostlin, tak s vyšším úhynem rostlin.

Tabulka 56 Porovnání rozdílnosti četnosti výskytu růstové deprese rostlin podnoží s inokuly Vestar a Hargrand_4 v letech 2007-09

četnost symptomu růstová deprese rostlin podnoží						
podnož	2007		2008		2009	
	průměr (%)		průměr (%)	²	průměr (%)	²
AP-1	0,00		0,00	a	12,09	b
GF 305	0,00		0,00	a	0,00	a
GF 31	0,00		2,86	b	3,64	a
GF 677	0,00		0,00	a	0,00	a
GF-8-1	0,00		0,00	a	0,00	a
Lesiberian	0,00		0,00	a	0,00	a
M-LE-1	0,00		0,00	a	2,67	a
MRS 2/5	0,00		0,00	a	6,84	ab
MY-KL-A	0,00		0,00	a	0,00	a
Myr. 29C	0,00		0,00	a	0,00	a
Shirofugen	0,00		3,08	b	0,00	a
St. Julien 655/2	0,00		0,00	a	2,86	a
Str. myrobal.	0,00		0,00	a	6,67	ab
Torinel	0,00		0,00	a	0,00	a
VVA 1	0,00		0,00	a	2,22	a

² homogenní podskupiny na hladině významnosti $\alpha=0,05$ pomocí LSD testu

5.4.3 PCR detekce fytoplazmy ESFY v rostlinách zkoumaných podnoží

V souboru zkoumaných podnoží byla testována metodou PCR přítomnost fytoplazmy ESFY celkem u 149 testovatelných rostlin podnoží, 61 letorostů prorostlých z inokul Vestar. Inokulační materiál pocházel z infikovaného druhého stromu odrůdy Vestar, na kterém byly v době odběru roubů symptomy žloutenka listů a předčasný opad listů. A 32 letorostů prorostlých z inokul Hargrand. Inokulační materiál pocházel z infikovaného čtvrtého stromu odrůdy Hargrand nevykazující žádné symptomy v době odběru roubů. Pozitivní PCR detekce na fytoplazmu ESFY byla vykázána celkem u 43 % testovatelných jedinců podnoží, u 78,7 % testovatelných letorostů prorostlých z inokul Vestar a u 75 % testovatelných letorostů prorostlých z inokul Hargrand.

U jednotlivých podnoží byly zjištěny statisticky vysoce průkazné rozdíly v počtu pozitivních jedinců testovaných metodou PCR. Při pohledu na citlivost k přenosu fytoplazmy ESFY u jednotlivých podnoží byl prokázán molekulární detekcí nejvyšší počet pozitivních jedinců u podnože GF 305 a to u 100 % testovatelných rostlin, dále u podnože M-LE-1 s 80 % testovatelných rostlin a třetí nejvyšší počet pozitivních rostlin (67 %) měla podnož VVA-1. Naopak u podnoží s nejnižším zastoupením pozitivních rostlin (Tabulka 57) lze předpokládat nižší vnímavost k fytoplazmě ESFY (např. MY-KL-A, Torinel, St. Julien 655/2).

Tabulka 57 Znázornění rozdílů v pozitivní PCR detekci fytoplazmy ESFY u rostlin testovaných podnoží s inokuly odrůd Vestar a Hargrand_4

podnož	průměr (%) pozitiv. z testovatelných rostlin
AP-1	50,00
GF 305	100,00
GF 31	0,00
GF 677	28,60
GF-8-1	54,50
Lesiberian	50,00
M-LE-1	80,00
MRS 2/5	42,80
MY-KL-A	0,00
Myr. 29C	44,40
Shirofugen	0,00
St. Julien 655/2	22,20
Str. myrobalán	41,60
Torinel	33,30
VVA 1	66,60

Při testování pozitivivity letorostů prorostlých z inokul Vestar molekulární metodou PCR byly taktéž potvrzeny statisticky vysoce průkazné rozdíly. Nejvyšší procento pozitivních letorostů prorostlých z inokul Vestar vykázaly podnože VVA-1, Lesiberian, Strážovický myrobalán a Myrobalán 29C, u kterých dosáhla pozitivita testovatelných inokul 100% (Tabulka 58). Při testování pozitivivity letorostů z inokul Hargrand_4 molekulární metodou PCR byly taktéž potvrzeny statisticky vysoce průkazné rozdíly.

Nejvyšší procento pozitivních letorostů prorostlých z inokul Hargrand_4 bylo u podnoží GF 305, M-LE-1, GF 677, MY-KL-A a Myrobalán 29C, u kterých bylo detekováno 100 % testovatelných pozitivních letorostů (Tabulka 58).

Tabulka 58 Rozdíly v pozitivní PCR detekci letorostů prorostlých z inokul Vestar a Hargrand_4 na různých podnožích

podnož	průměr (%) pozitiv. z testovatelných letorostů inokul Vestar	průměr (%) pozitiv. z testovatelných letorostů inokul Hargrand_4
AP-1	66,60	0,00
GF 305	88,90	100,00
GF 31	75,00	x
GF 677	33,30	100,00
GF-8-1	83,30	50,00
Lesiberian	100,00	25,00
M-LE-1	66,70	100,00
MRS 2/5	75,00	x
MY-KL-A	x	100,00
Myr. 29C	100,00	100,00
Shirofugen	x	x
St. Julien 655/2	57,40	50,00
Str. myrobalán	100,00	33,30
Torinel	60,00	x
VVA 1	100,00	x

6 DISKUZE

V České republice jsou čtvrtým nejpěstovanějším ovocným druhem v produkčních výsadbách meruňky *Prunus armeniaca* L. (BUCHTOVÁ, 2013). Jedním nejvíce škodlivým činitelem způsobující náhlé odumírání meruňkových a broskvoňových stromů je fytoplazma evropské žloutenky peckovin (ESFY), v současné době označována jako *Candidatus Phytoplasma prunorum*. Při silném výskytu fytoplazmy evropské žloutenky peckovin v ovocných výsadbách dochází k významným ekonomickým ztrátám. Mnoho výzkumů bylo zaměřeno na problematiku přenosu fytoplazmy, na nejvhodnější způsoby detekce, charakterizaci genomu, ale už méně je prozkoumán vliv fytoplazmy na výnos, kvalitu ovoce (GAZEL et al., 2009) a symptomatický projev fytoplazmy ESFY v závislosti na odrůdě a podnoži, které významně ovlivňují reakci rostlin na přítomnost patogena.

Výrazný vliv fytoplazmy ESFY na klíčivost pylu a začátek kvetení byl prokázán především na úrovni individuálních rozdílů, statisticky nebyla potvrzena odlišnost v hodnotách klíčivosti pylu 16 hodnocených odrůd a v začátku kvetení 21 sledovaných odrůd mezi infikovanými a zdravými stromy. U většiny odrůd byly průměrné hodnoty klíčivosti pylu nepatrně vyšší u stromů zdravých, tudíž můžeme tvrdit, že přítomnost fytoplazmy ESFY měla malý vliv na snížení klíčivosti pylu u napadených stromů. U stromů s fytoplazmou ESFY nebyl zjištěn v tomto výzkumu významný rozdíl v začátku kvetení oproti stromům zdravým. Takže nebyl potvrzen vliv přítomnosti fytoplazmy ESFY na předčasné kvetení napadených stromů jako to uvedli PASTORE et al. (1997b) a DESVIGNES (1999).

Násada plodů byla hodnocena hlavně kvůli objektivnosti následně pozorovaných pomologických znaků plodů, na jejichž vlastnosti má velký vliv, mimo jiné je to i důležitý ekonomický ukazatel celkové kondice výsadby. Statistická analýza potvrdila průkazné rozdíly v násadě plodů 17 hodnocených odrůd mezi napadenými stromy fytoplazmou ESFY a zdravými stromy. Průměrně byly násady plodů infikovaných stromů nižší než u stromů zdravých, takže přítomnost fytoplazmy ESFY způsobila u nemocných stromů snížení násady plodů oproti stromům zdravým, podobného závěru docílili i GAZEL et al. (2009).

Největší rozdíly v násadě plodů byly pozorovány mezi stromem zdravým a infikovaným odrůdy Arzami Aromatnyj, kdy násada plodů nemocného stromu byla průměrně o 4,5 bodů nižší než u stromu zdravého. U některých odrůd byly však nalezeny vyšší hodnoty násady plodů u infikovaných stromů než u stromů neinfikovaných. Z daného vyplývá, že kromě vlivu přítomné fytoplazmy ESFY, mají na násadu plodů a s tím spojený výnos vliv i jiné faktory jako přírodní a agronomické podmínky, stáří stromu.

NAVRÁTIL et al. (2000) uvádí jeden z projevů napadení fytoplazmou ESFY v podmínkách ČR předčasné zrání plodů. Během pozorování 16 odrůd nebyly nalezeny statisticky průkazné rozdíly v době zrání mezi stromy infikovanými fytoplazmou ESFY a zdravými stromy. Na základě zjištěných výsledků nelze tvrdit, že by předčasné zrání plodů bylo příznakem napadení, když u poloviny souboru zkoumaných odrůd začala doba zrání plodů z infikovaných stromů dříve než doba zrání plodů zdravých stromů a u druhé poloviny souboru později. Nejvíce odlišná doba zrání byla zaznamenána u stromů odrůdy Murfatlar, plody ze stromu napadeného fytoplazmou ESFY, ale dozrávaly průměrně o jedenáct dní později. Výraznější předčasné zrání plodů (sedm dní dříve) začalo jen u nemocného stromu odrůdy Arzami Aromatnyj. GAZEL et al. (2009) uvedli přehled doby sklizně plodů ze tří infikovaných stromů a jednoho zdravého stromu jedné odrůdy. Z dat vyplývá, že termín doby sklizně byl proměnlivý i mezi napadenými stromy jedné odrůdy, bude tedy ovlivněn i jinými faktory.

Statistická analýza našla průkazné rozdíly mezi hodnotami zkoumaných pomologických znaků plodů z infikovaných a zdravých stromů 16 odrůd meruněk. Výrazný vliv přítomnosti fytoplazmy ESFY na hmotnost plodu, pecky a jádra byl zaznamenán u plodů z napadených stromů odrůd Arzami Aromatnyj, Veselka, Vestar a Hatif Colomer. U těchto plodů došlo působením fytoplazmy ESFY ke zřetelnému snížení celkové hmotnosti plodů, i přesto že jejich násada plodů byla nižší oproti stromům zdravým. Byly i případy opačné, kdy plody ze stromů infikovaných měly průměrné hodnoty hmotnosti plodu, pecky i jádra vyšší než plody z nenapadených stromů (např. stromy odrůd Murfatlar, Poljus Južnyj a Bergeron).

V těchto případech se jednalo o typický vliv vyšší násady plodů u zdravých stromů, působení přítomné fytoplazmy ESFY u nemocných stromů nebylo dostačující k negativnímu snížení hodnot pomologických znaků jako u napadených stromů odrůd Arzami Aromatnyj, Veselka a Hatif Colomer. GAZEL et al. (2009) ve svém pozorování došli k podobným výsledkům, průměrné hodnoty hmotnosti plodů a semen byly během hodnocení proměnlivé a to v rámci třech napadených stromů jedné odrůdy.

Z infikovaných stromů odrůd Arzami Aromatnyj, Hatif Colomer, Veselka a Vestar měly získané plody výrazně nižší hodnoty výšky, šířky i tloušťky oproti plodům pocházejících ze stromů zdravých. Nejspíš půjde o citlivější odrůdy k fytoplazmě ESFY, když byly nižší hodnoty sledovaných pomologických znaků i přesto, že byly násady plodů nižší než u stromů bez přítomné fytoplazmy ESFY. Naproti tomu byla odhalena i skupina odrůd (Murfatlar, Poljus Južnyj, Vardaguin Vagdaas, Bergeron, Lameda a Svatava), u nichž se projevil typický vliv nižší násady plodů u stromů infikovaných a u kterých bylo dosaženo vyšších hodnot průměrné výšky, šířky i tloušťky plodů oproti plodům pocházejících ze stromů zdravých. Infikované stromy těchto odrůd nereagovaly tak citlivě na přítomného patogena, jako stromy odrůd výše zmíněných. GAZEL et al. (2009) publikovali průměrné hodnoty zkoumaných znaků také proměnlivé a to v rámci infikovaných stromů jedné odrůdy. Největší rozdíl (24,56 %) v průměrných hodnotách všech plodů z infikovaných a neinfikovaných stromů byl vypočítán u tloušťky plodu.

Podobné výsledky byly zjištěny i u pomologických znaků výška, šířka a tloušťka pecky. Také největších rozdílů mezi hodnotami výšky, šířky a tloušťky pecky plodů z infikovaných a zdravých stromů bylo dosaženo s odrůdami Arzami Aromatnyj, Hatif Colomer, Veselka a Vestar. Jen u výšky pecky nebyly rozdíly hodnot nemocných a nenapadených stromů odrůdy Vestar průkazné a u tloušťky pecky nebyly průkazné rozdíly průměrů odrůdy Veselka. U všech zmíněných odrůd měla výška, šířka a tloušťka pecky hodnoty výrazně nižší z plodů pocházejících ze stromů napadených fytoplazmou ESFY než ze stromů neinfikovaných. Tolerantnější reakci k přítomné fytoplazmě měly infikované stromy odrůd Murfatlar, Olimp, Bergeron a Palava, u kterých hodnocené pomologické znaky pecky nabyly vyšších hodnot než u pecek plodů ze zdravých stromů, u nichž byly velikosti ovlivněny vyšší násadou plodů.

Index tvaru plodu byl vypočítán podle TANAKA et al. (1995) z hodnocených pomologických znaků plodů a výsledné rozdíly hodnot byly u některých kombinací (odrůdy Arzami Aromatnyj, Poljus Južnyj, Saldcot a Marlen) zdravý a nemocný strom statisticky vysoce průkazné. U většiny odrůd byl tvar plodů ze stromů infikovaných fytoplazmou ESFY kulatější než tvar plodů ze stromů zdravých. Existovaly i výjimky, plody ze stromů nemocných měly oválnější tvar oproti plodům z nenapadeného stromu odrůdy Arzami Aromatnyj. Nebylo však v celém období výzkumu nalezeno seschlých nebo deformovaných plodů, jak uvádí NEMETH M. (1986) cit. v (GAZEL et al., 2009), LAIMER a BERTACCINI (2008).

Pomologické znaky plodů a pecek infikovaných stromů dosahovaly průměrně nižších hodnot než pomologické znaky plodů a pecek stromů zdravých. Nejvíce citlivé se ukázaly být stromy odrůd Arzami Aromatnyj, Hatif Colomer, Veselka a Vestar, u nichž se projevil silnější negativní vliv přítomné fytoplazmy ESFY na snížení celkové velikosti a hmotnosti plodů (Přílohy 48-49), přestože index násady plodů byl nižší oproti násadě plodů zdravých stromů. Na druhou stranu byly v souboru pozorovaných odrůd i více tolerantní stromy odrůd (Murfatlar, Olimp, Bergeron), u nichž se na výsledných hodnotách pomologických znaků odrazily silněji jiné faktory než přítomnost fytoplazmy ESFY, jejíž působení bylo těmito faktory potlačeno. Jedním z faktorů byla právě nižší násada plodů u stromů napadených fytoplazmou ESFY, čímž se dá předpokládat průměrně větších a těžších plodů. U odrůd, u nichž výsledné rozdíly hodnot zkoumaných znaků mezi stromy napadenými a zdravými měly proměnlivý charakter, mohlo působit na nestálost kvantitativní stupeň kolonizace fytoplazmy ESFY, vnější podmínky, kondice stromu, násada plodů a v neposlední řadě specifická interakce patogena a hostitele.

Rozpustná sušina plodů dosáhla průměrně nižších hodnot u plodů ze stromu infikovaných. Statisticky vysoce průkazné rozdíly průměrů mezi plody z nemocných a zdravých stromů byly zjištěny u čtyř odrůd, z nichž u dvou odrůd (Murfatlar a Svatava) byla výrazně vyšší rozpustná sušina plodů ze zdravých stromů a u dvou odrůd (Arzami Aromatnyj a Hargrand) byla významně vyšší u plodů ze stromů s fytoplazmou ESFY. Vzhledem k výši indexu násady plodů bude výše rozpustné sušiny plodů ovlivněna její hodnotou.

U čtrnácti odrůd byl vyšší index násady plodů u zdravých stromů a u osmi stejných odrůd byly nižší hodnoty rozpustné sušiny plodů u zdravých stromů, zdá se že ve většině případů platilo, vyšší násada plodů působila na nižší hodnoty rozpustné sušiny plodů. Vliv přítomné fytoplazmy ESFY nebyl statisticky významný. GAZEL et al. (2009) ve své práci uvedli podobný závěr, že vliv patogena na rozpustnou sušinu plodu nebyl stálý a v jednotlivých letech dosahoval rozdílných hodnot.

Ani u životnosti semen nebyly nalezeny statisticky průkazné rozdíly hodnot mezi infikovanými a zdravými stromy, takže předpokládaný vliv přítomnosti fytoplazmy ESFY na nižší životnost semen nebyl zcela potvrzen, na rozdíl od uvedených výsledků, které uvedl NEČAS et al. (2008). Pouze u sedmi odrůd (Hatif Colomer, Churmai, Murfatlar, Poljus Južnyj, Vestar, Olimp a Veselka) z šestnácti pozorovaných byla vyšší životnost semen ze zdravých stromů než semen z infikovaných stromů a jen 5 % bylo semen deformovaných (z nemocných stromů). Nejspíš bude životnost semen z nemocných stromů ovlivněna více faktory než pouze přítomnou fytoplazmou ESFY.

Možné způsoby přenosu fytoplazmy ESFY byly podrobeny mnoha studiím (CARRARO et al., 1998, 2001, 2004, THÉBAUD et al., 2009 a řada dalších) a doposud byly zaměřeny na dvě možné cesty a to vegetativním způsobem a hmyzím přenašečem *Cacopsylla pruni* Scopoli. Schopnost přenosu fytoplazmy ESFY infikovanými semeny nebyly dosud potvrzeny, spíše se tato cesta přenosu bere za nemožnou. Ale v práci CORDOVA et al. (2003) se podařilo detekovat pomocí metody PCR fytoplazmu LY (Lethal yellowing of coconut, *Candidatus Phytoplasma palmae*) v embryích semen kokosového ořechu a KHAN et al. (2002) našli fytoplazmu v semenech a v semenáčcích vojtkšky, a to i přesto, že chybí přímé spojení sítkovic květních částí a vyvíjejícího se embrya. Přestože semena dále neklíčila, vznikla řada otázek o možnosti přenosu fytoplazem semeny. Při izolaci DNA z květů a plůdků se podařilo vyizolovat DNA fytoplazmy ESFY z květní stopky a pestíku, čímž se potvrdilo, že fytoplazmy kolonizují floém všech částí rostlin, včetně květních orgánů (CLARK et al., 1986), dále z dužniny malých plůdků a nevyzrálých semenných jader, stejně jako uvádí NEČAS et al. (2008). Přičemž nejvíce vzorků s DNA fytoplazmy ESFY bylo získáno v roce 2008, což nasvědčuje vlivu zvyšující se koncentrace fytoplazmy ESFY v závislosti na vnějších podmínkách a kvantitativnímu stupni kolonizace fytoplazmy ESFY.

Symptomatický projev fytoplazmy ESFY je rozmanitý a závisí na botanickém druhu, odrůdě, podnoži, stáří a kondici stromu, podmínkách pěstování, koncentraci a kolonizaci fytoplazmy ESFY uvnitř hostitele (NEČAS a KRŠKA, 2005; KISON a SEEMÜLLER, 2001; JARAUSCH et al., 1999). Některé studie řadí meruňky, japonské slivoně (*Prunus salicina* L. spp.) a broskvoně mezi nejvíce citlivé druhy k fytoplazmě ESFY (JARAUSCH et al., 1998; KISON a SEEMÜLLER, 2001). A naproti tomu kultivary evropských slivoní (*Prunus domestica* L.), které jsou obecně spíše považovány za tolerantní k fytoplazmě ESFY (DESVIGNES a CORNAGGIA, 1982; GUINCHEDI et al., 1982; DOSBA et al., 1991; CARRARO et al., 1998a), ale existují odlišné úrovně citlivosti mezi různými genotypy (JARAUSCH et al., 2000). V této práci byl hodnocen symptomatický projev fytoplazmy ESFY na letorostech prorostlých z inokul pocházejících z deseti infikovaných stromů vybraných odrůd (devět stromů meruněk a jeden strom broskvoně odrůda 'Jantze') v kombinaci s pěti odlišnými podnožemi, na které byla inokula naočkována. Celkový symptomatický projev letorostů prorostlých z inokul zkoumaných odrůd měl ve sledovaném období stoupající charakter hodnot pozorovaných charakteristik, tak jak se předpokládalo vzhledem k zvyšující se koncentraci a kolonizaci fytoplazmy ESFY v letorostech. Průměrně nejvyšší četnost symptomatických letorostů v celém období výzkumu (2007-09) měly letorosty prorostlé z inokul infikovaných stromů odrůdy broskvoně Jantze a odrůdy meruňky Murfatlar (dále jen inokul odrůd). Přičemž u letorostů prorostlých z inokul odrůdy broskvoně Jantze bylo detekováno i vysoké procento pozitivních letorostů k fytoplazmě ESFY a letorosty dosáhly i vyššího předčasného úhynu. Letorosty z inokul odrůdy Murfatlar sice nedosáhly vysokého zastoupení pozitivních jedinců k fytoplazmě ESFY, ale patřily taky do skupiny letorostů s vyšším úhynem. Problematikou detekce fytoplazmy ESFY u stromů meruněk se zabýval i POLÁK et al. (2007, 2013) a došli k závěru, že biologické testování není pro detekci fytoplazmy ESFY dostačující, stejně jako molekulární diagnostika založená na PCR. Vzhledem k tomu, že ověření přítomné fytoplazmy ESFY metodou nested PCR bylo u zkoumaných rostlin provedeno pouze jedenkrát, nebudou některé výsledné četnosti pozitivních jedinců pravděpodobně dostatečné a vycházely pak odlišně od symptomatického projevu rostlin.

Jinak inokula obou zmíněných odrůd pocházela ze stromů se stejným symptomatickým projevem - s chlorotickou svinutkou.

JARAUSCH et al. (1998) uvádí jako typický symptom fytoplazmy ESFY v letním období chlorózu listů doprovázenou svinutkou (chlorotická svinutka), která z 95 % koreluje s přítomností fytoplazmy ESFY v hostiteli. Zvlášť je tento symptom vidět u citlivých druhů jako jsou meruňky, broskvoně a japonské slivoně. KISON a SEEMÜLLER (2001) došli k závěru, že symptomy na listech byly výraznější na stromech infikovaných silnějším kmenem než na stromech infikovaných mírnějším kmenem fytoplazmy ESFY. A ve stupni virulence hráli roli druh hostitele i odrůda. Přičemž četnost detekce a koncentrace fytoplazmy ESFY byla obvykle nižší u více tolerantních hostitelů než u citlivých genotypů. ERMACORA et al. (2010) na základě Real-time PCR našli souvislost koncentrace fytoplazmy s projevem symptomů, přičemž kmen fytoplazmy ESFY vyvolávající silný symptomatický projev je schopen dosáhnout vysoké koncentrace v hostiteli. Korelaci mezi symptomatickými příznaky a koncentrací fytoplazmy evropské žloutenky peckovin potvrdili i MARTINI et al. (2011). Vzhledem k výše uvedeným tvrzením, symptomatickému projevu, četnosti detekce a předčasnému úhynu letorostů by se dalo tvrdit, že inokula pocházející z infikovaných stromů odrůd Jantze a Murfatlar měla pravděpodobně větší koncentraci fytoplazmy ESFY, mohlo jít o více virulentní kmeny fytoplazmy ESFY.

Na druhé straně by inokula odebraná z infikovaného stromu odrůdy Poyer měla pravděpodobně nižší koncentraci fytoplazmy ESFY a mohlo jít o mírný kmen, když detekce PCR potvrdila u letorostů prorostlých z inokul jejího stromu nižší četnost pozitivních jedinců. Strom odrůdy Poyer nevykazoval v době odběru žádné symptomy a letorosty prorostlé z inokul tohoto stromu měly nižší symptomatický projev i nízké hodnoty předčasněho úhynu. Zvláštními byly pak reakce letorostů inokul odrůdy Hargrand_1 a Poljus Južnyj, u nichž byly PCR detekcí potvrzeny vyšší četnosti pozitivních jedinců, takže by se dal očekávat i vyšší symptomatický projev a vyšší předčasný úhyn, ale bylo tomu naopak. Strom odrůdy Poljus Južnyj neukazoval v době odběru inokul žádné symptomy a strom odrůdy Hargrand_1 měl silně svinuté listy. Dle JARAUSCH et. al (1998) je svinutka listů nesespecifický symptom fytoplazmy ESFY. Nízké zastoupení symptomatických letorostů a nižší hodnoty úhynu však symptomatickému projevu stromů, z nichž inokula pocházela, odpovídaly.

Šlo nejspíš o mírné kmeny fytoplazmy ESFY a letorosty měly méně vnímavou reakci se sklonem k latentní infekci, když celkový symptomatický projev symptomů a předčasný úhyn byl nízký i přes vysoké procento pozitivních letorostů k fytoplazmě ESFY.

Symptomatický projev letorostů prorostlých z inokul odrůd byl ovlivněn i podnoží, na kterou byla inokula naočkována. DOSBA et al. (1991) uvedli, že symptomy v podstatě záleží na podnoží a jako velmi citlivou podnoží se projevila v jejich pozorování GF 305. KISON a SEEMÜLLER (2001) došli k závěru, že do skupiny nejvíce citlivých podnoží patří meruňkový semenáč a o něco méně citlivější je podnož GF 305. Podnož GF-8-1 a St. Julien 655/2 se jeví jako středně citlivé. Podnož Torinel (*Prunus domestica* – hexaploid) vzhledem k původu by pak měla patřit k nejméně citlivým. RICHTER (2002) uvedla, že stromy meruňek reagovaly citlivěji k přítomné fytoplazmě v kombinaci s podnoží Torinel než s podnožemi Brompton a St. Julien 655/2. Průměrně vyšší četnost symptomatických letorostů prorostlých z inokul testovaných odrůd byla v kombinaci s podnoží GF-8-1, Torinel a v letech 2007-08 s podnoží GF 305. PCR detekce odhalila průměrně vyšší zastoupení pozitivních letorostů prorostlých z inokul v kombinaci s podnoží GF-8-1 a GF 305, s podnoží Torinel bylo zastoupení nižší. S podnožemi GF 305 a Torinel měly letorosty i vyšší procenta předčasného úhynu v letech 2007-08, výjimkou byl však rok 2009. V tomto roce uhynuly všechny rostliny podnože GF 305 i kontrolní rostliny podnože, tudíž úhyn nemohl být způsoben přítomnou fytoplazmou ESFY a na podnoží Torinel byl naopak úhyn letorostů nejnižší. Letorosty prorostlé z inokul dosáhly nejvyššího úhynu s podnoží GF-8-1 až v posledním roce výzkumu (2009). Vzhledem k nízkým četnostem pozitivních PCR reakcí na přítomnou fytoplazmu ESFY v letorostech prorostlých z inokul na podnoží Torinel a k nízkému úhynu letorostů v kombinaci s touto podnoží v posledním roce výzkumu můžeme tvrdit, že letorosty prorostlé z inokul zkoumaných odrůd měly spíše méně citlivou reakci s podnoží Torinel. A vyšší hodnoty uvedených charakteristik v prvních letech pozorování mohly být i reakcí na jiné stresové faktory (podmínky pěstování). S podnožemi GF 305 a GF-8-1 měly letorosty prorostlé z inokul pozorovaných odrůd na základě výsledků symptomatického projevu, předčasného úhynu a výše detekce pozitivních letorostů nejcitlivější reakci k přítomné fytoplazmě ESFY.

Naproti tomu letorosty prorostlé z inokul vybraných odrůd neměly nejcitlivější reakci s podnoží M-LE-1, jak se předpokládalo, když meruňkový semenáč patří k nejvíce citlivým podnožím (DESIGNES a CORNAGGIA, 1982; KISON a SEEMÜLLER, 2001). Letorosty prorostlé z inokul s touto podnoží průměrně hynuly v celém období nejméně, dosáhly nejnižšího zastoupení symptomatických letorostů a to i přesto, že četnost pozitivních letorostů byla v porovnání s jinými na této podnoži vyšší. Dalo by se tedy tvrdit, že vzhledem k výše uvedeným výsledkům by podnož M-LE-1 měla patřit k méně citlivým.

Porovnáním četností výskytu deseti symptomů, jež byly sledovány na letorostech prorostlých z inokul odrůd, byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly v jejich výskytu a byl potvrzen vliv odrůdy, z jejíhož stromu byla inokula odebrána, vliv podnože i vliv kombinace inokul vybraných odrůd s podnožemi. Nejvíce se na letorostech prorostlých z inokul ve sledovaném období 2007-09 (Přílohy 28-31) vyskytoval symptom chlorotická svinutka listů (24,07 %), žloutenka listů (20,74 %), svinutka listů (12,67 %) a červenání listů (9,16 %). JARAUSCH et al. (1998, 2008), TORRES et al. (2004) uvedli jako typický symptom fytoplazmy ESFY chlorotickou svinutku v létě, která z 90-95 % vzájemně souvisí s přítomností fytoplazmy ESFY. Stejného výsledku dosáhli ve své práci i autoři NEČAS a KRŠKA (2005), také nejspolehlivější detekce fytoplazmy ESFY byla u vzorků ze stromů s příznaky žloutenky, svinutky a růstové deprese (87,5 %). A nejméně pozitivních detekcí nastalo u vzorků ze stromů bez symptomů a se žloutenkou listů. JARAUSCH et al. (2008) ve své práci uvádí chlorózu listů bez svinutky nebo samotnou svinutku listů za nespecifické (nejisté) symptomy. Za specifické symptomy fytoplazmy ESFY u napadených broskvoní považoval červenání listů a podélné svinování listů. V této práci se nejčteněji vyskytovala chlorotická svinutka u letorostů prorostlých z inokul odrůd Jantze (broskvoň), Poljus Južnyj a Churmai oproti ostatním odrůdám. U odrůd Jantze a Poljus Južnyj dosáhla detekce přítomné fytoplazmy ESFY v letorostech vyšších hodnot, ale u odrůdy Churmai bylo zastoupení pozitivních letorostů nižší (39,1 %). Čímž se tvrzení výše uvedených autorů ve všech případech nepotvrdila. Zajímavý byl i symptomatický projev stromů, ze kterých byla inokula odebrána. Strom odrůdy broskvoň Jantze jako jediný ukazoval chlorotickou svinutku, ale strom odrůdy Poljus Južnyj byl bez symptomů a strom odrůdy Churmai měl žloutenku a předčasný opad listů v roce odběru inokulačního materiálu.

Na letorostech z inokul odrůdy Jantze dosáhly vyšších četností ještě symptomy žloutenka, předčasný opad, totální opad listů a růstová deprese oproti ostatním odrůdám. A u letorostů odrůdy Poljus Južnyj patřila vedle chlorotické svinutky k více četnému symptomu ještě svinutka listů.

V závislosti na podnoži se symptom chlorotická svinutka listů objevoval nejvíce na letorostech z inokul odrůd v kombinaci s podnožemi GF-8-1 a St. Julien 655/2 (Příloha 55). Co se týká detekce pozitivních letorostů v kombinaci s těmito podnožemi, tak nejvyšší četnost pozitivních letorostů byla stanovena s podnoží GF-8-1 (63,25 %) a nejnižší s podnoží St. Julien 655/2 (35,47 %). Závislost symptomatického projevu letorostů prorostlých z inokul na podnoži nepotvrdilo tvrzení, že nejspolehlivější detekce fytoplazmy ESFY je v případě projevujícího se symptomu chlorotické svinutky. Kromě letorostů z inokul odrůd Jantze a Poljus Južnyj, dosáhly také vyšších hodnot pozitivních letorostů ještě odrůdy Hargrand_1, Hargrand_2 a Saldcot. U letorostů odrůdy Hargrand_1 bylo průměrně nejvíce jedinců bez symptomů (30,9 %) a přesto bylo detekováno nejvíce pozitivních letorostů na přítomnou fytoplazmu ESFY (průměrně 81,00 %) a ze symptomů se nejvíce projevil symptom žloutenka a chlorotická svinutka listů. I JARAUSCH et al. (1998), TORRES et al. (2004), RICHTER (2002) uvádí možnost detekce (cca 50 %) fytoplazmy ESFY metodou PCR v rostlinách bez symptomů. Na letorostech odrůdy Saldcot i Hargrand_2 byl nejvíce vidět symptom chlorotická svinutka listů a žloutenka. V porovnání s ostatními odrůdami dosáhla navíc odrůda Hargrand_1 vyšší četnosti symptomu červenaní listů na letorostech, odrůda Hargrand_2 růstové deprese letorostů a odrůda Saldcot předčasný opad listů na letorostech. Na stromě odrůdy Hargrand_1 i Hargrand_2 se v době odběru inokul vyskytoval symptom svinutka listů a na stromě odrůdy Saldcot byl kromě svinutky ještě předčasný opad listů. Ani u těchto odrůd nebyly symptomy na stromech z nichž pocházela inokula stejné jako na letorostech prorostlých z inokul (jen u odrůdy Saldcot zůstal zachován symptom předčasný opad listů). Potvrdilo se tvrzení NEČASE et al. (2010), že spektrum symptomů je široké a variabilní. Výskyt rozdílných symptomů na různých stromech jedné odrůdy komplikuje pak studium symptomatologie fytoplazmy ESFY a prokazuje se tím mimo jiné závislost symptomatického projevu na koncentraci, kolonizaci a pravděpodobně na kmenu fytoplazmy ESFY.

U většiny odrůd (Jantze, Saldcot, Poljus Južnyj a Hargrand_2) s vyšší četností pozitivních letorostů byl nejvíce zastoupený symptom chlorotická svinutka, což souhlasí s výše zmíněnými tvrzeními autorů JARAUSCH et al. (1998, 2008), TORRES et al. (2004), NEČAS a KRŠKA (2005). Kromě odrůdy Jantze se ještě u letorostů odrůdy Poyer zachoval stejný projev na stromě z něhož byla odebrána inokula i na letorostech prorostlých z inokul. Jako jediná ze třech odrůd (Olimp, Poljus Južnyj, Poyer), jejíž stromy byly bez symptomů, měla průměrně nejvíce letorostů (v porovnání s ostatními odrůdami) bezsymptomatických (37,03 %) (Příloha 51). Detekce pozitivních letorostů na přítomnou fytoplazmu ESFY byla také nízká (36,7 %). Kdyby byla u těchto letorostů potvrzena i nízká koncentrace fytoplazmy ESFY, pak by bylo prokázáno tvrzení autorů ERMACORA et al. (2010), MARTINI et al., (2011), KISON a SEEMÜLLER (2001), že nízká detekce a koncentrace fytoplazmy ESFY má souvislost s absencí symptomů a byly obvykle nižší u více tolerantních hostitelů.

Celkový symptomatický projev rostlin podnoží v kombinaci s inokuly vybraných deseti odrůd dosáhl ve sledovaném období (2007-09) nízkých četností hodnocených charakteristik, jež měly první dva roky stoupající charakter a v posledním roce nastal mírný pokles. Z tohoto důvodu nebyly ani statisticky porovnávány rozdíly ve výskytu jednotlivých symptomů, jako to bylo provedeno u letorostů. V celém období pozorování dosáhly průměrně nejvyššího zastoupení rostliny podnoží bez symptomatického projevu (82,57 %) a ze symptomů se nejvíce projevíly na rostlinách podnoží žloutenka listů (10,00 %), červenání listů (5,04 %) a předčasný opad listů (3,44 %). I KISON a SEEMÜLLER, (2001) uvedli, že rostliny podnoží nebyly často tolik napadeny jako letorosty. U četnosti výskytu symptomatických rostlin podnoží byla statistickou analýzou potvrzena závislost na podnoží, na kombinaci vybraných odrůd inokul s podnožemi a závislost na odrůdě inokul byla průkazná pouze v posledním roce pozorování. Vyšších četností symptomatických rostlin dosáhly podnože GF 305, M-LE-1 a GF-8-1, u nichž bylo detekováno i nejvíce pozitivních rostlin k přítomné fytoplazmě ESFY. U podnože GF 305 v posledním roce výzkumu došlo ke snížení výskytu symptomatických rostlin z důvodu úhynu všech rostlin, čímž byl výsledný charakter zkreslen. V tomto roce výzkumu (2009) došlo během vegetace (květen) k úhynu i všech kontrolních (neinokulovaných) rostlin podnože GF 305.

Pravděpodobnou příčinou úhynu mohl být vliv stresu z nspecifikovaných vnějších faktorů (vliv nádobového pokusu, stres z přemokření, sucha, silné mrazy v první polovině měsíce leden 2009 - nejnižší přízemní teplota dosáhla až $-21,00^{\circ}\text{C}$). V prvních dvou letech však dosáhla podnož GF 305 nejvyšších hodnot výskytu symptomatických rostlin, měla i nejvyšší zastoupení pozitivních rostlin k fytoplazmě ESFY (69,60 %) a letorosty prorostlé z inokul vybraných odrůd v kombinaci s touto podnoží měly také větší zastoupení symptomatických jedinců, tudíž by se dalo tvrdit, že podnož GF 305 reagovala k přítomné fytoplazmě ESFY nejrychleji a nejcitlivěji oproti ostatním podnožím. Zajímavých výsledků bylo dosaženo u podnože M-LE-1, u níž bylo detekováno poměrně vysoké procento pozitivních rostlin (42,70 %) čemuž by odpovídala i vysoká četnost symptomatických rostlin (51,98 % v roce 2009), ale symptomatický projev letorostů prorostlých z inokul testovaných odrůd byl v kombinaci s touto podnoží nejnižší. KISON a SEEMÜLLER (2001) ve své práci došli k závěru, že meruňkový semenáč patří do skupiny nejcitlivějších podnoží k přítomné fytoplazmě ESFY. Nejsilněji zasáhnuté patogenem byly stromy meruňek na meruňkovém semenáči po inokulaci silnými kmeny fytoplazmy ESFY původem ze stejného druhu hostitele. Naše výsledky byly jiné, letorosty prorostlé z inokul testovaných odrůd byly nejméně postiženy patogenem s meruňkovým semenáčem M-LE-1. Vzhledem k nízkému předčasnému úhynu rostlin podnože M-LE-1 i letorostů prorostlých z inokul vybraných odrůd a slabým příznakům na letorostech bude podnož M-LE-1 zařazena spíše k méně citlivým podnožím. Znovu se potvrzují výsledky autorů DOSBA et al. (1991), že symptomy v podstatě záleží na podnoži. Podnož GF-8-1 dosáhla překvapivě průměrně nejnižšího úhynu rostlin i přesto, že symptomatický projev rostlin podnože a letorostů prorostlých z inokul byl spolu s úhynem letorostů vyšší. Vysoká byla i četnost pozitivních rostlin podnože a letorostů, tudíž bude řazena spíše k citlivějším podnožím k fytoplazmě ESFY. K nejméně citlivým podnožím budou náležet Torinel a St. Julien 655/2 u nichž byly detekovány nejnižší zastoupení pozitivních rostlin podnoží i letorostů prorostlých z inokul testovaných odrůd, nižší hodnoty výskytu symptomatických rostlin podnoží i nižší úhyny rostlin podnoží a letorostů. RICHTER, (2002) uvedla ve své práci, že stromy meruňek na podnoži Torinel byly více citlivé k fytoplazmě ESFY než s podnoží St. Julien 655/2, přičemž naše výsledné charakteristiky poukazují, že citlivost k patogenu obou podnoží bude téměř stejná, jen s podnoží Torinel byla o něco citlivější reakce letorostů.

Takže podle reakce letorostů prorostlých z inokul odrůd a rostlin podnoží na přítomnost fytoplazmy ESFY by nejcitlivější podnoží byla GF 305, citlivou podnoží GF-8-1, méně citlivou M-LE-1 a nejméně citlivé by byly Torinel a St. Julien 655/2.

Ověřením citlivosti podnoží k fytoplazmě ESFY se zabývala celá řada autorů a obecně je známo, že mezi nejvíce citlivé patří semenáče broskvoně a meruněk, mezi citlivé GF 305, *Prunus salicina* Lindl a GF-8-1, méně citlivé *Prunus cerasifera* Ehrh a nejméně citlivé *Prunus domestica* L., obzvlášť renklódový typ (DESVIGNES a CORNAGGIA, 1982; GIUNCHEDEI et al., 1982; DOSBA et al., 1991; JARAUSCH et al., 2000; KISON a SEEMÜLLER, 2001; RICHTER, 2002). V této práci se porovnávala citlivost reakce k přítomné fytoplazmě ESFY u 15 různých podnoží, na jejichž rostliny byla naočkována dvě inokula pocházející ze stromu odrůdy Vestar a ze stromu odrůdy Hargrand. Statistická analýza potvrdila průkazné rozdíly v četnostech výskytu symptomatických rostlin podnoží ve všech letech pozorování (2007-09). Hodnoty měly stoupající charakter, ale byly nízké. Nejvyšších četností výskytu symptomatických rostlin v prvních dvou letech dosáhl dřevitý indikátor GF 305 a v posledním roce rostliny podnože AP-1 (89,45 %). Do skupiny s průměrně vyšším výskytem symptomatických rostlin patřily ještě podnože Shirofugen, VVA-1 a M-LE-1. U výše zmíněných podnoží bylo zjištěno pomocí PCR relativně vysoké zastoupení pozitivních rostlin k fytoplazmě, takže symptomatický projev rostlin byl adekvátní (výjimkou byla nižší pozitivita rostlin podnože AP-1 30,3 % z rostoucích rostlin a nulová detekce pozitivních rostlin podnože Shirofugen). Co se týká předčasného úhynu rostlin těchto podnoží, nedosáhl předpokládaných četností. Nejvíce uhynulo rostlin podnože GF 305, ale úhyn nebyl způsoben vlivem přítomné fytoplazmy ESFY, protože uhynuly i všechny kontrolní rostliny podnože GF 305. U ostatních rostlin podnoží byla četnost úhynu nízká. Naproti tomu nejvyšší úhyn rostlin byl zaznamenán u podnože GF 677 (100 %) v roce 2009, jejíž rostliny měly slabý symptomatický projev a nízké zastoupení pozitivních rostlin (13,3 %) k fytoplazmě ESFY. Nízký podíl pozitivních rostlin i symptomatických jedinců měly i podnože Myrobalán 29C a MY-KL-A, jejichž úhyn rostlin byl však adekvátně nízký.

Nejvíce zastoupeným symptomem na rostlinách podnoží byla v celém období 2007-09 žloutenka listů (průměrně 10,50 %), červenání listů (3,65 %), předčasný opad listů (1,85 %) a růstová deprese (0,99 %). Nejvíce se však objevovaly rostliny podnoží bez symptomů (84,37 %).

Symptomatický projev letorostů prorostlých z inokul odrůd Vestar a Hargrand_4 (dále jen letorostů) na testovaných podnožích byl mnohem výraznější. Výskyt symptomatických letorostů byl nejčetnější v roce 2008 a v celém období výzkumu (2007-09) bylo dosaženo průměrně vysokých hodnot četností oproti rostlinám podnoží. Ve všech letech pozorování byly objeveny průkazné rozdíly v četnosti výskytu symptomatických letorostů i předčasného úhynu letorostů v závislosti na podnoží. Do skupiny podnoží s nimiž bylo nejvíce symptomatických letorostů v roce 2008 a s nimiž bylo nejvyšší zastoupení předčasného úhynu letorostů v následujícím roce 2009 patřily podnože GF 305, VVA-1, MRS 2/5, Strážovický myrobalán, Lesiberian a GF 677. S těmito podnožemi měly letorosty prorostlé z inokul nejrychlejší a nejcitlivější reakci k přítomné fytoplazmě ESFY. Adekvátní byla i četnost pozitivních letorostů k fytoplazmě ESFY v kombinaci s těmito podnožemi. Druhou skupinou byly podnože St. Julien 655/2, AP-1, Myrobalán 29C a M-LE-1, s nimiž byly četnosti výskytu symptomatických letorostů vyšší po celou dobu pozorování, ale s nimiž byly hodnoty předčasného úhynu letorostů nižší.

Porovnáním četností všech sledovaných charakteristik u rostlin podnoží a u letorostů prorostlých z inokul by se podnože daly zařadit do čtyř skupin podle citlivosti reakce k fytoplazmě ESFY. K nejcitlivějším podnožím by patřily GF 305 a GF 677, i když u podnože GF 305 nedošlo k úhynu rostlin vlivem fytoplazmy ESFY. Ale s přihlédnutím na symptomatický projev a úhyn v letech 2007-08 by pravděpodobně tato podnož patřila k nejcitlivějším. U podnože GF 677 nebyl sice symptomatický projev rostlin podnože a letorostů nejsilnější, ani nebylo detekováno vysoké procento pozitivních rostlin podnože, ale došlo k náhlému úhynu všech rostlin, takže reakce rostlin k přítomné fytoplazmě ESFY byla ze všech nejagresivnější. Pravděpodobně byla koncentrace fytoplazmy ESFY v rostlinách podnoží nízká v době PCR detekce, což by vysvětlovalo nízkou zjištěnou pozitivitu i slabý symptomatický projev.

Do druhé skupiny citlivých podnoží by se zařadily MRS 2/5, VVA-1, Strážovický myrobalán, Lesiberian, AP-1 a GF 31. Tyto podnože měly vyšší úhyn rostlin i letorostů v roce 2009, silnější projev symptomů rostlin podnože i letorostů již v roce 2008. Třetí skupinou méně citlivých k fytoplazmě ESFY by byly podnože M-LE-1 a Myrobalán 29C, u nichž byly relativně vysoké četnosti symptomatických letorostů v roce 2009, ale s nižším úhynem letorostů i rostlin podnoží, i přestože u podnože M-LE-1 byl výskyt symptomatických rostlin podnože adekvátní k výši detekce pozitivních rostlin k fytoplazmě ESFY (80,00%). A do poslední skupiny nejméně citlivých podnoží by náležely Torinel, St. Julien 655/2, GF-8-1 a MY-KL-A, u nichž byly průměrně nejnižší hodnoty symptomatického projevu podnože i letorostů a nejméně uhynulých rostlin podnože i letorostů v celém období pozorování. Autorům KISON a SEEMÜLLER, (2001) rozdělení podnoží podle citlivosti k fytoplazmě ESFY vyšlo trochu jiné. Autoři rozdělily testované podnože do pěti skupin. Do skupiny nejméně citlivých zařadili podnože typu *Prunus domestica* L, k podnožím o něco více zasaženým fytoplazmou ESFY patřila podnož Myrabi (*Prunus cerasifera* Ehrh), středně citlivě reagovaly k patogenu podnože GF 677, GF-8-1 a St. Julien 655/2, citlivě byly postiženy podnože GF 305, Ishtara, Myrobalán a nejvíce citlivé byly meruňkové semenáče, broskvoňové semenáče a St. Julien 2.

7 ZÁVĚR

V současnosti nejsou známá účinná a dobře fungující fyto-sanitární opatření, která by omezovala šíření fytoplazem a proto je důležité soustředit se především na preventivní opatření omezující jejich šíření. Jedním z nich je hledání méně citlivých (tolerantních) odrůd a podnoží k fytoplazmě ESFY. Proto hlavním cílem této práce bylo studium symptomatického projevu izolátů fytoplazmy ESFY a rostlin vybraných podnoží, na jehož základě byl soubor zkoumaných podnoží rozdělen do skupin dle jejich vnímavosti k fytoplazmě ESFY. Dále bylo prověřeno, do jaké míry ovlivňuje fytoplazma ESFY biologické vlastnosti pylu, semen, některé fenofáze a pomologické znaky plodů vybraných odrůd meruněk.

Pro studium symptomatického projevu izolátů fytoplazmy ESFY bylo vybráno devět infikovaných stromů meruněk (odrůd Churmai, Murfatlar, Olimp, Poljus Južnyj, Poyer, Saldcot, Veselka a dva stromy odrůdy Hargrand,) a jeden strom broskvoně (odrůda Jantze), z nichž odebraná inokula byla naočkována na pět podnoží (GF 305, GF-8-1, M-LE-1, St. Julien 655/2 a Torinel). Pro ověření citlivosti podnoží k fytoplazmě ESFY bylo použito patnáct různých podnoží (GF 305, GF-8-1, M-LE-1, St. Julien 655/2, Torinel, AP-1, GF 31, GF 677, Lesiberian, MRS 2/5, MY-KL-A, Myrobalán 29C, Shirofugen, Strážovický myrobalán a VVA 1) na jejichž rostliny byla inokulována dvě očka ze dvou infikovaných stromů meruněk (odrůd Vestar a Hargrand). Symptomy fytoplazmy ESFY byly hodnoceny na listech letorostů prorůstajících z infikovaných oček a zvláště na rostlinách podnoží v letech 2007-09. Dále byl sledován u prorůstajících inokul (letorostů) i rostlin podnoží úhyn. Ověření přítomnosti fytoplazmy ESFY bylo provedeno jedenkrát pomocí „nested“ PCR. Míra vlivu fytoplazmy ESFY byla pozorována u klíčivosti pylu, doby kvetení, násady plodů, zrání plodů, životnosti semen a pomologických znaků plodů ze stromů infikovaných a neinfikovaných fytoplazmou ESFY vybraných odrůd v letech 2006-08. Hodnocení pomologických vlastností plodů zahrnovalo výšku, šířku, tloušťku a hmotnost plodu, výšku, šířku, tloušťku a hmotnost pecky, hmotnost jádra, obsah rozpustné sušiny, tvar plodu a termín sklizňové zralosti.

Po tříletém hodnocení plodů z napadených stromů fytoplazmou ESFY a plodů ze zdravých stromů meruněk byly nalezeny statisticky průkazné rozdíly hodnot pomologických znaků a násady plodů. Nejvíce citlivé k fytoplazmě ESFY se ukázaly být infikované stromy odrůd Arzami Aromatnyj, Hatif Colomer, Veselka a Vestar, u nichž se projevil výrazný vliv přítomné fytoplazmy ESFY na snížení celkové velikosti a hmotnosti plodů, přestože jejich násada plodů byla nižší oproti násadě plodů zdravých stromů. Největší rozdíl (39,4 %) byl vypořovován mezi plody ze stromů odrůdy Veselka, u nichž dosahovala průměrná hmotnost plodů ze zdravého stromu 60,02 g a z infikovaného pak 36,40 g. Ostatní zkoumané stromy odrůd nebyly k přítomné fytoplazmě ESFY tak vnímavé a na výsledné hodnoty pomologických znaků působily výrazněji jiné faktory než přítomnost patogena.

Během výzkumu nebyly nalezeny seschlé nebo deformované plody, bylo jen statisticky prokázáno, že plody z infikovaných stromů byly kulatější než plody ze zdravých stromů. Vliv fytoplazmy ESFY na klíčivost pylu, začátek kvetení, dobu zrání, rozpustnou sušinu plodu a životnost semen nebyl tolik významný, rozdíly byly nalezeny spíše na individuální úrovni.

U symptomatického projevu i předčasného úhynu jak letorostů prorostlých z inokul tak i rostlin podnoží byly statistickou analýzou potvrzeny průkazné rozdíly v závislosti na inokulech, v závislosti na použité podnoži i na kombinaci inokul s podnožemi. Pozorované charakteristiky měly stoupající charakter hodnot jak se předpokládalo se zvyšující se koncentrací a kolonizací fytoplazmy ESFY v testovaných rostlinách. Nejvíce citlivou reakci k přítomné fytoplazmě ESFY (nejvýraznější symptomatický projev, vyšší četnost úhynu letorostů, vyšší zastoupení pozitivních letorostů k fytoplazmě ESFY) měly letorosty prorostlé z inokul odebraných z infikovaného stromu odrůdy broskvoně Jantze a ze stromu odrůdy meruňky Murfatlar. Stromy (z nichž pocházel inokulační materiál) obou odrůd měly stejné příznaky napadení fytoplazmou ESFY – chlorotickou svinutku listů. Stejný symptom – chlorotická svinutka listů se objevil v nejvyšším zastoupení i u letorostů prorostlých z inokul těchto odrůd. Nejvyššího symptomatického projevu (100%) dosáhly letorosty prorostlé z inokul odrůdy Murfatlar i odrůdy Jantze v roce 2009 téměř se všemi podnožemi.

Naopak nejméně citlivou reakci k fytoplazmě ESFY (nejnižší četnost symptomatických a uhynulých letorostů, nižší zastoupení letorostů s fytoplazmou ESFY) prokázaly letorosty prorostlé z inokul pocházejících ze stromu odrůdy meruňky Poyer. Fytoplazma ESFY byla PCR detekcí nalezena u 36,7 % letorostů prorostlých z inokul odrůdy Poyer. Průměrně nejvyšší zastoupení měly letorosty bez symptomů (37,03 %). Strom odrůdy Poyer (z něhož byl odebrán inokulační materiál) nevykazoval v době odběru také žádné symptomy. I předčasný úhyn letorostů dosahoval nejnižších průměrných hodnot (v roce 2009 uhynulo průměrně 3,39 % letorostů).

Symptomatický projev letorostů prorostlých z inokul (z vybraných infikovaných stromů) byl ovlivněn i podnoží, na kterou byla inokula naočkována. S podnožemi GF 305 a GF-8-1 měly letorosty prorostlé z inokul nejcitlivější reakci k přítomné fytoplazmě ESFY (nejvýraznější symptomatický projev a vyšší úhyn letorostů prorostlých z inokul, vyšší zastoupení letorostů s přítomnou fytoplazmou ESFY).

Naproti tomu s podnoží M-LE-1 letorosty prorostlé z inokul hynuly průměrně nejméně, dosáhly nejnižšího zastoupení symptomatických letorostů a to i přesto, že četnost pozitivních letorostů byla v porovnání s jinými na této podnoži vyšší. Letorosty měly tedy s meruňkovým semenáčem M-LE-1 neočekávaně nejméně citlivou reakci k přítomné fytoplazmě ESFY.

Porovnáním četností výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorostlých z inokul byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly v jejich výskytu a byl potvrzen vliv zdroje inokul (stromu z něhož byla inokula odebrána), vliv podnože i vliv kombinace inokul s podnožemi. Nejvíce se na letorostech vyskytoval symptom chlorotická svinutka listů (24,07 %), žloutenka listů (20,74 %) a svinutka listů (12,67 %). Chlorotická svinutka byla nejvíce zastoupeným symptomem u letorostů prorostlých z inokul vybraných stromů (odrůd Jantze, Saldcot, Poljus Južnyj a Hargrand_2) s vyšší četností pozitivních jedinců k přítomné fytoplazmě ESFY, půjde tedy o typický symptom tohoto patogena.

Celkový symptomatický projev rostlin podnoží v kombinaci s inokuly dosáhl nižších četností hodnocených charakteristik oproti letorostům. Nejvíce zastoupeným symptomem na rostlinách podnoží byla žloutenka listů (průměrně 10,50 %), ale nejvyšší četnost měly rostliny podnoží bez symptomů (84,37 %).

Na základě porovnání symptomatického projevu, předčasného úhynu rostlin podnoží i letorostů prorostlých z inokul a výsledku detekce přítomné fytoplazmy ESFY v rostlinách byl soubor zkoumaných podnoží rozdělen do čtyř skupin dle jejich citlivosti k fytoplazmě ESFY. Nejcitlivější a nejrychlejší reakci měly podnože GF 677 a GF 305, citlivě reagovaly podnože MRS 2/5, VVA-1, Strážovický myrobalán, Lesiberian, AP-1 a GF 31, méně citlivé se ukázaly být podnože M-LE-1 a Myrobalán 29C a nejméně vnímavé k fytoplazmě ESFY byly podnože Torinel, St. Julien 655/2 a MY-KL-A. Podnož GF-8-1 měla rozdílnou reakci k patogenu v závislosti na zdroji inokul v rámci dvou řešených cílů. Při studiu symptomatického projevu izolátů fytoplazmy ESFY reagovala podnož GF-8-1 citlivěji než podnož M-LE-1 a při ověření vnímavosti podnoží byla reakce podnože GF-8-1 méně citlivá oproti podnoži M-LE-1.

Z výsledků je patrné, že symptomatický projev fytoplazmy ESFY je rozmanitý a závisí na hostitelském druhu, odrůdě, podnoži, podmínkách pěstování, koncentraci, kolonizaci fytoplazmy ESFY uvnitř hostitele a na vzájemné interakci patogena a hostitele. Vzhledem ke stoupajícímu charakteru hodnot sledovaných charakteristik by se mělo ve výzkumu i nadále pokračovat. K lepšímu porozumění chování rostlin po napadení fytoplazmou ESFY by mohlo pomoci stanovení koncentrace patogena v rostlinách, které nemohlo být v této práci v době řešení provedeno.

8 LITERÁRNÍ ZDROJE

- Ahrens, U. a Seemüller, E. 1992: Detection of DNA of plant pathogenic mycoplasma-like organisms by a polymerase chain reaction that amplifies a sequence of the 16S rRNA gene. *Phytopathology* 82. s. 828-832.
- Bertaccini, A., Paltrinieri, S., Laimer, M., Hanzel, V., Balla, I. 2004: Improved molecular methods for detection of European stone fruit yellows (ESFY) phytoplasmas from in vitro shoots of fruit trees. *Acta Hort.* 657. s. 459–500.
- Boudon-Padieu, E., Larrue, J., Clair, D., Hourdel, J., Jeanneau, A., Sforza, R. a Collin, E. 2004: Detection and prophylaxis of Elm Yellows phytoplasma in France. *Investigacion Agraria: Sistemas y Recursos Forestales* 13 (1). s. 71-80.
- Buchtová, I. 2013: Situační a výhledová zpráva ovoce. MZe. 76 s. ISBN 978-80-7434-116-8.
- Carraro L, Osler R, Refatti E, Favali M.A, 1992: Natural diffusion and experimental transmission of plum leptonecrosis. *Acta Horticulturae* 309. s. 285–290.
- Carraro, L., Loi, N., Ermacora, P. a Osler, R. 1998: High tolerance of European plum varieties to plum leptonecrosis. *European Journal of Plant Pathology* 104. s. 141–145.
- Carraro L., Osler R., Loi N., Ermacora P., Refatti E. 1998a: Transmission of European stone fruit yellows phytoplasma by *Cacopsylla pruni*. *Journal of Plant Pathology* 80. s. 233-239.
- Carraro, L., Loi, N., a Ermacora, P. 2001: Transmission characteristics of the European stone fruit yellows phytoplasma and its vector *Cacopsylla pruni*. *European Journal of Plant Pathology* 107. s. 695-700.
- Carraro L, Ferrini F, Ermacora P, Loi N. 2002.: Role of wild *Prunus* species in the epidemiology of European stone fruit yellows. *Plant Pathology* 51. s. 513-517.
- Carraro, L. a Osler, R. 2003: European stone fruit yellows: A destructive disease in the Mediterranean basin. *Options Mediterranean's Série B. n. 45, Virus and virus-like diseases of stone fruits, with particular reference to the Mediterranean region.* s. 113-117.
- Carraro, L., Ferrini, F., Labonne, G., Ermacora, P., and Loi, N. 2004: Seasonal infectivity of *Cacopsylla pruni*, vector of European stone fruit yellows phytoplasma. *Ann. Appl. Biol.* 144. s. 191-195.
- Christensen, N.M., Nicolaisen, M., Hansen, M., Schulz, A. 2004. Distribution of phytoplasmas in infected plants as revealed by real-time PCR and bioimaging. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 17. s. 1175-1184.
- Cieślińska M., Morgaś H. 2010: Occurrence and detection of some less-known viruses and phytoplasmas in stone fruit orchards in Poland. *Folia Hort.* 22 (2). s. 51–57.
- Clark, M.F., Barbara, D.J., Davies, D.L. 1986: Production and characteristic of antisera to *Spiroplasma citri* and clover phyllody associated antigens derived from plants. *Annals of Applied Biology* 103. s. 251-259.

- Cordova, I., Jones, P., Harrison, N.A., Oropeza, C. 2003: In situ PCR detection of phytoplasma DNA in embryos from coconut palms with lethal yellowing disease. *Molecular Plant Pathology*, 4. s. 99-108.
- Cousin, M. T., Boudon-Padieu, E. 2002: Phytoplasma and fytoplasma diseases: vectors, control, and research topics. *Cahiers Agricultures* 11. s. 115-125.
- Danet, J.-L., Bonnet, P., Jarausch, W., Carraro, L., Skoric, D., Labonne, G., Foissac, X. 2007: Imp and secY, two new markers for MLST (multi locus sequence typing) in the 16SrX phytoplasma taxonomic group. *Bulletin of insectology* 60, (2). s. 339-340.
- Desvignes, J.C. a Cornaggia, D. 1982: Observations on apricot chlorotic leaf roll (ACLR): sensitiveness of different Prunus species, detection, spread in plum orchards. *Acta Hortic.* 130. s. 249-256.
- Desvignes, J.C. 1999: Virus Diseases of Fruit Trees. CTIFL editor. s. 113-143.
- DoI, Y., Teranaka, M., Yora, K. a Asuyama, H. 1967. Mycoplasma-or P.L.T. group-like organisms found in phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches' broom, aster yellows, or Paulownia witches' broom.--*Ann. Phytopathol. Soc. Jap.* 33: s. 259-266.
- Dosba, F., Lansac, M., Mazy, K., Garnier, M., Eyquard, J.P. 1991: Incidence of different diseases associated with mycoplasma-like organisms in different species of Prunus. *Acta Hortic.* 283. s. 331-320.
- Duduk, B., Botti, S., Ivanovic, M., Krstic, B., Dukic, N., Bertaccini, A. 2004: Identification of Phytoplasmas Associated with Grapevine Yellows in Serbia. *J. Phytopathology* 152. s. 575–579.
- Fránová J. 2008: Metody detekce fytoplazmových onemocnění. V: Navrátil, M, Fialová, R. Fytoplazmy významné patogeny rostlin. Univerzita Palackého v Olomouci ve spolupráci s Českou fytopatologickou společností. s. 34-43.
- Fránová, J., Příbylová, J., Navrátil, M., Šafařová, D., Ember, I., Kölber, M., Süle, S. Cieslinska, M. a Kaminska, M. 2013: Phytoplasma diseases and their vectors in the Czech Republic, Hungary and Poland. COST ACTION FA0807 FINAL MEETING. s. 4.
- Fialová, R., Navrátil, M., Válová, P., Lauterer, P., Kocourek, F. a Poncarová-Voráčková, Z. 2004: Epidemiology of European stone fruit yellows phytoplasma in the Czech Republic. *Acta Hortic. (ISHS)* 657. s. 483-487.
- Gazel, M., Caglayan, K., Serce, C.U., Son, L. 2009: Evaluations of apricot trees infected by Candidatus Phytoplasma prunorum for horticultural characteristics. *Rom. Biotechnol. Lett.*, Vol. 14, No. 1. s. 4123-4129.
- Genini M., Ramel M.E. 2004: Distribution of European stone fruit yellows phytoplasma in apricot trees in Western Switzerland. *Acta Hortic. (ISHS)* 657. s. 455–458.
- Goidanich, G. 1933: Un deperimento dei susini. *Boll Stn Patol Veg Roma* 13. s. 160-173 (in Italian).
- Goidanich, G. 1934: La leptonecrosi dei ciliegi e degli albicocchi. *Bollettino della Stazione di Patologia vegetale Roma* 14. s. 531-540.
- Giunchedi, L., Poggi-Pollini, C. a Credi, R. 1982: Susceptibility of stone fruit trees to the Japanese plum-tree decline causal agent. *Acta Hortic.* 130. s. 285-290.

- Haggis G.H., Sinha R.C. 1978: Scanning electron microscopy of mycoplasma-like organisms after freeze fracture of plant tissues affected with clover phyllody and aster yellows. *Phytopathology* 68. s. 677-680.
- Hren, M., Boben, J., Rotter, A., Kralj, P., Gruden, K., Ravnkar, M. 2007: Real-time PCR detection systems for Flavescence dorée and Bois noir phytoplasmas in grapevine: comparison with conventional PCR detection and application in diagnostic. *Plant Pathology* 56. s. 785-796.
- IRPCM Phytoplasma/Spiroplasma Working Team-Phytoplasma taxonomy group 2004: 'Candidatus Phytoplasma', a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insects. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 5. s. 1243-1255.
- Jarausch, W., Lansac, M., Saillard, C., Broquaire, J.M. a Dosba, F., 1998: PCR Assay for specific detection of European stone fruit yellows phytoplasmas and its use for epidemiological studies in France. *European Journal of Plant Pathology* 104. s. 17-27.
- Jarausch, W., Lansac, a Dosba, F. 1999: Seasonal Colonization Pattern of European Stone Fruit Yellows Phytoplasma in Different Prunus Species Detected by Specific PCR. *J. Phytopathology* 147. s. 47-54.
- Jarausch, W., Saillard, C., Broquaire, J.M., Garnier, M. a Dosba, F. 2000a: PCR-RFLP and sequence analysis of non ribosomal fragment for genetic characterization of European stonefruit yellows phytoplasma infecting various Prunus species. *Molecular and Cellular Probes*, 14. s. 171-179.
- Jarausch, W., Eyquard, J. P., Lansac, M., Mohns, M., Dosba, F. 2000b: Susceptibility and tolerance of new French Prunus domestica cultivars to European stone fruit yellows phytoplasmas. *J. Phytopathology* 148. s. 489-493.
- Jarausch, W., Jarausch-Wehrheim, B., Danet, J.L., Broquaire, J.M., Dosba, F., Saillard, C., a Garnier, M. 2001: Detection and identification of European stone fruit yellows and other phytoplasmas in wild plants in the surroundings of apricot chlorotic leaf roll-affected orchards in southern France. *European Journal of Plant Pathology* 107. s. 209-217.
- Jarausch, B, Fuchs, A, Mühlentz, I., Lampe, I., Harzer, U., Jarausch, W. 2007: Research on European stone fruit yellows (ESFY) in Germany. *Bulletin of insectology*, 60, (2). s. 389-390.
- Jarausch, B., Mühlentz, I., Beck, A., Lampe, I., Harzer, U. a Jarausch, W. 2008: Epidemiology of European stone fruit yellows in Germany. *Acta Hort.* 781. s. 417-422.
- Jarausch B. a Jarausch W., 2010: Psyllid Vectors and their Control. *Phytoplasmas: genomes, plant hosts, and vectors.* s. 250-271. ISBN 978-184-5935-306.
- Jarausch, W., Bisognin, C., Schneider, B., Grando, S., Velasco, R., Seemüller, E. 2011: Breeding apple proliferation-resistant rootstocks: durability of resistance and pomological evaluation. *Bulletin of Insectology* 64: s. 275-276.
- Khan, A.J., Botti, S., Paltrinieri, S., Al-Subhi, A. M., Bertaccini, A. 2002: Phytoplasmas in alfalfa seedlings: infected or contaminated seeds? In: *Abstracts of 14th International Organization of Mycoplasma Conference*, Vienna, Austria. s. 148.

- Kison, H. Kirkpatrick, B.C. and Seemüller, E. 1997: Genetic comparison of the peach yellow leaf roll agent with European fruit tree phytoplasmas of the apple proliferation group. *Plant Pathology* 46. s. 538-544.
- Kison, H. a Seemüller, E., 2001: Differences in Strain Virulence of the European Stone Fruit Yellows Phytoplasma and Susceptibility of Stone Fruit Trees on Various Rootstocks to this Pathogen, *J. Phytopathology* 149. s. 533-541.
- Kúdela, V., Novacky, A., Fučíkovský, L.: *Rostlinolékařská bakteriologie*. 2002: *Rostlinolékařská bakteriologie*. Academia, Praha. 347 s. ISBN 80-200-0899-3.
- Laimer da Câmara Machado, M., Paltrinieri, S., Hanzer, V. Arthofer, W. Strommer, S., Martini, M., Pondrelli, M. a Bertaccini, A. 2001b: Presence of European stone fruit (ESFY or 16SrX-B) phytoplasmas in apricots in Austria. *Plant Pathology*, 50(1). s. 130-135.
- Laimer, M.: 2003: Detection and elimination of viruses and phytoplasmas from pome and stone fruit trees. *Hortic. Rev.* 28. s. 187–236.
- Laimer, M. a Bertaccini, A. 2008: European stone Fruit Yellows. Characterization, Diagnosis and Management of Phytoplasmas. ISBN: 1-933699-30-2. s. 73-92.
- Laviña, A., Sabaté, J., García-Chapa, M., Batlle, A. and Torres, E. 2004: Occurrence and epidemiology of European stone fruit yellows phytoplasma in Spain. *Acta Hort. (ISHS)* 657. s. 489-494.
- Lebsky, V., Poghosyan, A., Silva-Rosales, L. 2009: Application of scanning elektron microscopy for diagnosing phytoplasmas in single and mixed (virus-phytoplasma) infection in Papaya. *Julius-Kühn-Archiv* 427: s. 70.
- Lee I-M, Davis R.E., Chen T-A., Chiykowski L.N., Fletcher J., Hiruki C., Schaff D.A. 1992: A genotype-based system for identification and classification of mycoplasma-like organisms (MLOs) in the aster yellows MLO strain cluster. *Phytopathology* 82. s. 977-986.
- Lee, I-M., Bertaccini, A., Vibio, M. and Gundersen, D.E. 1995: Detection of multiple phytoplasmas in perennial fruit trees with decline symptoms in Italy, *Phytopathology* 85, no. 6. s. 728-735.
- Lee, I-M., Gundersen-Rindal, D.E., Davis, R.E., Bartoszyk, I.M. 1998: Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analyses of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences. *International Journal of Systematic Bacteriology* 48. s. 1153-1169.
- Lee, I-M., Davis, R. E. & Gundersen-Rindal, D.E. 2000: Phytoplasma: phytopathogenic mollicutes. *Annu Rev Microbiol* 54. s. 221-255.
- Lorenz, K. H., Dosba, F., Poggi Pollini, C., Llacer, G. a Seemüller, E. 1994: Phytoplasma diseases of Prunus species in Europe are caused by genetically similar organisms. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz Journal of Plant Diseases and Protection*, 101. s. 567-575.
- Lorenz, K-H., Schneider, B., Ahrens, U., Seemüller, E., 1995: Detection of the apple proliferation and pear decline phytoplasmas by PCR amplification of ribosomal and nonribosomal DNA. *Phytopathology* 85. s. 771-776.

- Marcone, C., Ragozzino, A. a Seemüller, E. 1996: European stone fruit yellows phytoplasma as the cause of peach vein enlargement and other yellows and decline diseases of stone fruits in Southern Italy. *Journal of Phytopathology*, 144. s. 559-564.
- Marcone C, Ragozzino A a Seemüller E. 1996a: Association of phytoplasmas with the decline of European hazel in southern Italy. *Plant Pathology* 45. s. 857–863.
- Marcone, C., Neimark, H., Ragozzino, A., Lauer, U. & Seemüller, E. 1999b: Chromosome sizes of phytoplasmas composing major phylogenetic groups and subgroups. *Phytopathology* 89. s. 805-810.
- Martini, M., Ermacora, P., Magris, G., Ferrini, F., Loi, N. 2011: Symptom expression and 'Candidatus Phytoplasma prunorum' concentration in different *Prunus* species. *Bulletin of Insectology* 64. s. 171-172.
- Morvan, G. 1977: Apricot chlorotic leaf roll. In "Apricot apoplexy". *Bull. OEPP*, 7. s. 37-55.
- Myrta, A., Ermacora, P., Stamo, B. a Osler, R. 2003: Identification of European stone fruit yellows from apricot and Japanese plum in Albania. *Options Méditerranéennes Série B. n.45, Virus and virus-like diseases of stone fruits, with particular reference to the Mediterranean region.* s. 119-121.
- Navrátil, M. 2000: Fytoplazma chlorotické svinutky listů meruněk. *Rostlinolékař* 3/2000.
- Navrátil, M., Poncarová-Voráčková, Z., Válová, P., Karešová, R., Fránová, J., Fialová, R., Petrová, K., Nebesářová, J. 2001: Survey for stone fruit phytoplasmas in the Czech Republic. *Acta Horticulturae* 550. s. 377-382.
- Navrátil, M. a Válová, P. 2002: Fytoplazma evropské žloutenky peckovin. *Rostlinolékař* 4/2002 příloha.
- Navrátil, M., Lauterer, P., Fialová, R., Bárnet, M., Falta, V., Starý, M. 2008: Metodika ochrany výsadb jabloní a meruněk proti fytoplazmám a jejich vektorům. http://www.lmbm.upol.cz/doc/fyto_metodikaochranxyflo.pdf
- Navrátil M, Fialová R. 2008: Fytoplazmy významné patogeny rostlin. Univerzita Palackého v Olomouci ve spolupráci s Českou fytopatologickou společností. 147 stran.
- Nečas, T. a Krška, B. 2005: Detection of Phytoplasma ESFY in Apricot Trees using Phloem and Petioles. *Plant Protect. Sci.* Vol. 41, No. 4. s. 132–140.
- Nečas, T., Mašková, V., Krška, B. 2008: The possibility of ESFY phytoplasma transmission: Through flowers and seeds. *Acta Horticulturae* 781. s. 443-447.
- Nečas, T., Mašková, V., Krška, B. 2010: Projevy fytoplazmy ESFY u některých genetických zdrojů meruněk. Hodnotenie genetických zdrojov rastlin pre výživu a poľnohospodárstvo. 1. vyd. Piešťany: Centrum výskumu rastlinej výroby. s. 81-84.
- Nemeth, M. 1986: Virus, mycoplasma and rickettsia diseases of fruit trees. *Martinus Nijhoff Publishers, the Netherlands and Akademia Kiado, Budapest, Hungary.* s. 840.

- Pastore, M., Bertaccini, A., Vibio, M., Izzo, P.P., Genovese, M.R. a Santonastaso, M., 1997: Identificazione mediante tecniche molecolari di fitoplasmî associati all'arrotolamento fogliare dell'albicocco in Italia. *Italus Hortus*, 4. s. 76-77.
- Pastore, M., Bertaccini, A., Vibio, M., Izzo, P.P., Genovese, M.R. a Santonastaso, M., 1999: Identification by molecular techniques of phytoplasmas associated with apricot chlorotic leafroll in Italy. *Acta Horticulturae* 488. s. 779-782.
- Pastore M. a Bertaccini A. 2008: Phytoplasmas of Apricot and Japanese Plum. Characterization, Diagnosis and Management of Phytoplasmas. ISBN: 1-933699-30-2. s. 137-152.
- Pastore, M., Raffone, E., Santonastaso, M., Priore, R., Paltrinieri, S., Bertaccini, A. a Simeone, A.M. 2004: Phytoplasma detection in *Empoasca decedens* and *Empoasca* spp. and their possible role as vectors of European stone fruit yellows (16SrX-B) phytoplasma. *Acta Hort. (ISHS)* 657. s. 507-511.
- Poggi Pollini, C., Bissani, R., Giunchedi L. a Vindimian, E. 1995: Occurrence of Phytoplasma Infection in European Plums (*Prunus domestica*). *Journal of Phytopathology* 143 (11-12). s. 701-703.
- Poggi Pollini C., Bissani R. a Giunchedi L. 2001: Occurrence of European stone fruit yellows phytoplasma (ESFY) infection in peach orchards in northern-central Italy. *Journal of Phytopathology* 149. s. 725-730.
- Poggi Pollini, C., Bianchi, L., Forno, F., Franchini, S., Giunchedi, S., Gobber, M., Mattedi, L., Miorelli, P., Pignatta, D., Profaizer, D., Ratti, C., Reggiani, N. 2007: Investigation on European stone fruit yellows in experimental apricot orchards in province of Trentino (Italy). *Bull. Insectol.* 60 (2). s. 323-324.
- Polák, J., Salava, J., Bryxiová, M., Svoboda, J. 2007: Problems in detection of European stone fruit yellows phytoplasma in apricot trees in the Czech Republic. *Bulletin of Insectology* 60 (2): s. 261-262, ISSN 1721-8861.
- Polák, J., Salava, J., Křížan, B. a Svoboda, J. 2013: To the problem of reliable detection and sanitation of European stone fruit yellows phytoplasma in apricots. COST ACTION FA0807 FINAL MEETING. s. 52.
- Richter, S. 2002: Susceptibility of Austrian apricot and peach cultivars to ESFY. *Plant Protection Science* 38 (Special Issue 2). s. 281-284.
- Růžička T. 2008: Fytoplazmy jako karanténní patogeny. In: Navrátil, M., Fialová, R. Fytoplazmy významné patogeny rostlin. Univerzita Palackého v Olomouci ve spolupráci s Českou fytopatologickou společností. s. 44-61.
- Seemüller, E. 1976: Investigation to demonstrate mycoplasma-like organisms in diseased plants by fluorescence microscopy. *Acta Hort.* 67. s. 109-112.
- Seemüller, E., Stolz, H., a Kison, H. 1998: Persistence of the European stone fruit yellows phytoplasma in aerial parts of *Prunus* taxa during the dormant season. *J. Phytopathology* 146. s. 407-410.
- Seemüller, E. a Schneider, B. 2004: 'Candidatus Phytoplasma mali', 'Candidatus Phytoplasma pyri', 'Candidatus Phytoplasma prunorum', the causal agents of apple proliferation, pear decline and European stone fruit yellows, respectively. *International Journal of Systematic and Evolutionary Mikrobiology*, 54. s. 1217-1226.

- Sullivan, M. 2011: CPHST Pest Datasheet for Candidatus *Phytoplasma prunorum*.
 USDA-APHIS-PPQ-CPHST. http://caps.ceris.purdue.edu/webfm_send/750
- Tanaka, T. Wimol, S., Mizutani, T. 1995: Inheritance of fruit shape and seed size of watermelon (*Citrullus lanatus*), *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, Vol. No. v. 64(3). ISSN 0013-7626. s. 543-548.
- Thébaud G., Yvon M., Alary R., Sauvion N., Labonne G. 2009: Efficient transmission of 'Candidatus *Phytoplasma prunorum*' is delayed by eight months due to a long latency in its host-alternating vector.- *Phytopathology*, 99. s. 265-273.
- Torres, E., Martín, M.P., Paltrinieri, S., Vila, A., Masalles, R. a Bertaccini, A. 2004: Spreading of ESFY phytoplasmas in stone fruit in Catalonia (Spain). *Journal of Phytopathology*, 152. s. 432-437.
- Torres, E., Lavina, A., Sabaté, J., Bech, J., Batlle, A. 2010: Evaluation of susceptibility of pear and plum varieties and rootstocks to *Ca. P. pyri* and *Ca. P. prunorum* using realtime PCR. *Julius-Kühn-Archiv* 427. s. 395-398.
- Vachůn, Z., Řezníček, V. 1985: *Ovocnictví, Praktické cvičení II*. s. 120.
- Vachůn, Z. 1999: *Ovocnictví, Podnože ovocných dřevin*. s. 67. ISBN 80-7157-217-9.
- Varga, K., Kolber, M, Martini, M. 2000: *Phytoplasma* identification in Hungarian grapevines by two nested-PCR systems. *Extended Abstracts of XIIIth Meeting of the International Council for the Study of Viruses and Virus-like Diseases of the Grapevine (ICVG)*. Adelaide, Australia, 12-17 March. s 113-115.
- Zull P. 1999: *Bestandsaufnahme von Marillenanlagen in Hinblick auf BaumausfaÈlle durch Apoplexie*. Austria: Diplomprojekt HBLVA Klosterneuburg.

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Seznam vybraných infikovaných stromů meruněk a broskvoně s jejich symptomy.....	30
Tabulka 2 Příprava reakční směsi PCR (NAVRÁTIL et al., 2001).....	39
Tabulka 3 Podmínky PCR reakce v cyklu pro primery R16F1/R16R0 (LEE et al., 1995).....	39
Tabulka 4 Podmínky PCR reakce v cyklu pro primery fU5/rU3 (LORENZ et al., 1995).....	40
Tabulka 5 Podmínky PCR reakce v cyklu pro primery P1/P7; fO1/rO1 (KISON et al., 1997).....	40
Tabulka 6 Sledované symptomy fytoplazmy ESFY na rostlinách.....	44
Tabulka 7 Stanovení přítomnosti fytoplazmy ESFY v květech v letech 2006-08	52
Tabulka 8 Stanovení přítomnosti fytoplazmy ESFY v plůdcích v letech 2006-08.....	53
Tabulka 9 Znázornění rozdílů v pozitivní PCR detekci fytoplazmy ESFY u testovaných rostlin podnoží	132
Tabulka 10 Znázornění rozdílů v pozitivní PCR detekci fytoplazmy ESFY u letorostů prorostlých z inokul testovaných odrůd	133
Tabulka 11 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomatických letorostů prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoží v letech 2007-09.....	134
Tabulka 12 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomatických letorostů prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09	135
Tabulka 13 Porovnání rozdílností četnosti výskytu různých symptomů na letorostech prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoží v letech 2007-09.....	135
Tabulka 14 Porovnání rozdílností četnosti výskytu různých symptomů na letorostech prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09	136
Tabulka 15 Porovnání rozdílností četnosti předčasného úhynu letorostů prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoží v letech 2007-09	137
Tabulka 16 Porovnání rozdílností četnosti předčasného úhynu letorostů prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09	137
Tabulka 17 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu svinutka listů na letorostech prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09	139
Tabulka 18 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu svinutka listů na letorostech prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoží v letech 2007-09.....	139
Tabulka 19 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu žloutenka listů na letorostech prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09	140
Tabulka 20 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu žloutenka listů na letorostech prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoží v letech 2007-09.....	140
Tabulka 21 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu chloróza listů na letorostech prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09	141
Tabulka 22 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu chloróza listů na letorostech prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoží v letech 2007-09.....	142
Tabulka 23 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu chlorotická svinutka listů na letorostech prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09	143
Tabulka 24 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu chlorotická svinutka listů na letorostech prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoží v letech 2007-09.....	143
Tabulka 25 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu červenání listů na letorostech prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09	144

Tabulka 26 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu červení listů na letorostech prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoži v letech 2007-09.....	144
Tabulka 27 Porovnání rozdílností četnosti výskytu předčasného opadu listů na letorostech prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09	145
Tabulka 28 Porovnání rozdílností četnosti výskytu předčasného opadu listů letorostů prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoži v letech 2007-09.....	146
Tabulka 29 Porovnání rozdílností četnosti výskytu totálního opadu listů na letorostech prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09	147
Tabulka 30 Porovnání rozdílností četnosti výskytu totálního opadu listů letorostů prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoži v letech 2007-09.....	147
Tabulka 31 Porovnání rozdílností četnosti výskytu vyholování letorostů prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09	148
Tabulka 32 Porovnání rozdílností četnosti výskytu vyholování letorostů prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoži v letech 2007-09	148
Tabulka 33 Porovnání rozdílností četnosti výskytu růstové deprese letorostů prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09	149
Tabulka 34 Porovnání rozdílností četnosti výskytu růstové deprese letorostů prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoži v letech 2007-09.....	149
Tabulka 35 Porovnání rozdílností četnosti výskytu zavadání listů letorostů prorostlých z inokul v závislosti na použité odrůdě inokul v letech 2007-09	150
Tabulka 36 Porovnání rozdílností četnosti výskytu zavadání listů letorostů prorostlých z inokul vybraných odrůd v závislosti na použité podnoži v letech 2007-09	150
Tabulka 37 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomatických rostlin podnoží s testovanými inokuly v závislosti na podnoži v letech 2007-09	152
Tabulka 38 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomatických rostlin podnoží s testovanými inokuly v závislosti na odrůdě inokul v letech 2007-09.....	152
Tabulka 39 Porovnání rozdílností četnosti výskytu různých symptomů na rostlinách podnoží s testovanými inokuly v závislosti na podnoži v letech 2007-09	153
Tabulka 40 Porovnání rozdílností četnosti výskytu různých symptomů na rostlinách podnoží s testovanými inokuly v závislosti na odrůdě inokul v roce 2007-09.....	153
Tabulka 41 Porovnání rozdílností četnosti výskytu předčasného úhynu rostlin podnoží s testovanými inokuly v závislosti na podnoži v letech 2007-09	154
Tabulka 42 Porovnání rozdílností četnosti výskytu předčasného úhynu rostlin podnoží s testovanými inokuly v závislosti na odrůdě inokul v letech 2007-09.....	154
Tabulka 43 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokuly odrůd Vestar a Hargrand_4 v letech 2007-09.....	156
Tabulka 44 Porovnání rozdílností četnosti výskytu různých symptomů na rostlinách podnoží s inokuly odrůd Vestar a Hargrand_4 v letech 2007-09.....	157
Tabulka 45 Porovnání rozdílností četnosti předčasného úhynu rostlin podnoží s inokuly odrůd Vestar a Hargrand_4 v letech 2007-09.....	158
Tabulka 46 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomatických letorostů prorostlých z inokul odrůd Vestar a Hargrand_4 na vybraných podnožích v letech 2007-09.....	159
Tabulka 47 Porovnání rozdílností četnosti výskytu různých symptomů na letorostech prorostlých z inokul odrůd Vestar a Hargrand_4 na vybraných podnožích v letech 2007-09.....	160
Tabulka 48 Porovnání rozdílností četnosti předčasného úhynu letorostů prorostlých z inokul odrůd Vestar a Hargrand_4 na vybraných podnožích v letech 2007-09	161
Tabulka 49 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu svinutka listů na rostlinách podnoží s inokuly Vestar a Hargrand_4 v letech 2007-09	162

Tabulka 50 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu žloutenka listů na rostlinách podnoží s inokuly Vestar a Hargrand_4 v letech 2007-09	163
Tabulka 51 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu chloróza listů na rostlinách podnoží s inokuly Vestar a Hargrand_4 v letech 2007-09	164
Tabulka 52 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu chlorotická svinutka listů na rostlinách podnoží s inokuly Vestar a Hargrand_4 v letech 2007-09	165
Tabulka 53 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu červenání listů na rostlinách podnoží s inokuly Vestar a Hargrand_4 v letech 2007-09	166
Tabulka 54 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu předčasný opad listů na rostlinách podnoží s inokuly Vestar a Hargrand_4 v letech 2007-09	167
Tabulka 55 Porovnání rozdílností četnosti výskytu symptomu totálního opad listů na rostlinách podnoží s inokuly Vestar a Hargrand_4 v letech 2007-09	168
Tabulka 56 Porovnání rozdílností četnosti výskytu růstové deprese rostlin podnoží s inokuly Vestar a Hargrand_4 v letech 2007-09.....	169
Tabulka 57 Znázornění rozdílů v pozitivní PCR detekci fytoplazmy ESFY u rostlin testovaných podnoží s inokuly odrůd Vestar a Hargrand_4.....	170
Tabulka 58 Rozdíly v pozitivní PCR detekci letorostů prorostlých z inokul Vestar a Hargrand_4 na různých podnožích	171

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 Grafické znázornění rozdílností v klíčivosti pylu (průměrné hodnoty z let 2006-08)	48
Graf 2 Grafické znázornění rozdílností v začátku kvetení (průměry hodnot z roků 2006-08).....	49
Graf 3 Grafické znázornění rozdílností v násadě plodů (průměrné hodnoty z let 2006-08)	50
Graf 4 Grafické znázornění rozdílností ve zrání plodů (průměrné hodnoty z let 2006-08)	51
Graf 5 Grafické znázornění rozdílností v hmotnosti plodů (průměrné hodnoty z let 2006-08).....	54
Graf 6 Grafické znázornění rozdílností v hmotnosti pecek (průměrné hodnoty z let 2006-08).....	55
Graf 7 Grafické znázornění rozdílů v hmotnosti jader pecek (průměrné hodnoty z let 2006-08).....	56
Graf 8 Grafické znázornění rozdílů ve výšce plodu (průměrné hodnoty z let 2006-08).....	57
Graf 9 Grafické znázornění rozdílů ve výšce pecky (průměrné hodnoty z let 2006-08)	58
Graf 10 Grafické znázornění rozdílností v šířce plodu (průměry hodnot z let 2006-08)	59
Graf 11 Grafické znázornění rozdílů v šířce pecky (průměrné hodnoty z roků 2006-08)	60
Graf 12 Grafické znázornění rozdílů hodnot v tloušťce plodu (průměrné hodnoty z let 2006-08).....	61
Graf 13 Grafické znázornění rozdílností hodnot v tloušťce pecek (průměry z let 2006-08)	62
Graf 14 Grafické znázornění rozdílností v indexu tvaru plodu (průměrné hodnoty 2006-08).....	63
Graf 15 Grafické znázornění rozdílů v rozpustné sušině plodu (průměrné hodnoty z let 2006-08)	64
Graf 16 Grafické znázornění rozdílů v životnosti semen (průměrné hodnoty z roků 2006-08).....	65
Graf 17 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Hargrand_1 v jednotlivých letech 2007-09	67
Graf 18 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Hargrand_1 v jednotlivých letech 2007-09	68
Graf 19 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Hargrand_1 v letech 2007-09	69
Graf 20 Grafické znázornění rozdílností v úhynu letorostů prorostlých z inokul Hargrand_1 v jednotlivých letech 2007-09	70
Graf 21 Grafické znázornění rozdílností ve výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Hargrand_1 v jednotlivých letech 2007-09	71
Graf 22 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na rostlinách podnoží s inokulem Hargrand_1 v jednotlivých letech 2007-09	71
Graf 23 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na testovaných podnožích s inokulem Hargrand_1 v letech 2007-09	72
Graf 24 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Hargrand_2 v letech 2007-09	75
Graf 25 Grafické znázornění rozdílností v úhynu letorostů prorostlých z inokul Hargrand_2 v jednotlivých letech 2007-09	76
Graf 26 Grafické znázornění rozdílností ve výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Hargrand_2 v jednotlivých letech 2007-09	77
Graf 27 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na rostlinách podnoží s inokulem Hargrand_2 v jednotlivých letech 2007-09	78
Graf 28 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na testovaných podnožích s inokulem Hargrand_2 v letech 2007-09	79

Graf 29 Grafické znázornění rozdílností v předčasném úhynu rostlin podnoží s inokulem Hargrand_2 v letech 2007-09	80
Graf 30 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Churmai v jednotlivých letech 2007-09	81
Graf 31 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Churmai v jednotlivých letech 2007-09	82
Graf 32 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Churmai v letech 2007-09	83
Graf 33 Grafické znázornění rozdílností ve výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Churmai v jednotlivých letech 2007-09	84
Graf 34 Grafické znázornění rozdílností v předčasném úhynu rostlin podnoží s inokulem Churmai v letech 2007-09	86
Graf 35 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Jantze v jednotlivých letech 2007-09	88
Graf 36 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Jantze v letech 2007-09	89
Graf 37 Grafické znázornění rozdílností v úhynu letorostů prorostlých z inokul Jantze v jednotlivých letech 2007-09	90
Graf 38 Grafické znázornění rozdílností ve výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Jantze v jednotlivých letech 2007-09	91
Graf 39 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na testovaných podnožích s inokulem Jantze v letech 2007-09	92
Graf 40 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Murfatlar v jednotlivých letech 2007-09	94
Graf 41 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Murfatlar v letech 2007-09	95
Graf 42 Grafické znázornění rozdílností ve výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Murfatlar v jednotlivých letech 2007-09	96
Graf 43 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na rostlinách podnoží s inokulem Murfatlar v jednotlivých letech 2007-09	97
Graf 44 Grafické znázornění rozdílností v předčasném úhynu rostlin podnoží s inokulem Murfatlar v letech 2007-09	98
Graf 45 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Olimp v jednotlivých letech 2007-09	100
Graf 46 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Olimp v jednotlivých letech 2007-09	100
Graf 47 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Olimp v letech 2007-09	101
Graf 48 Grafické znázornění rozdílností v úhynu letorostů prorostlých z inokul Olimp v jednotlivých letech 2007-09	102
Graf 49 Grafické znázornění rozdílností ve výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Olimp v jednotlivých letech 2007-09	103
Graf 50 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na rostlinách podnoží s inokulem Olimp jednotlivých letech 2007-09	104
Graf 51 Grafické znázornění rozdílností v předčasném úhynu rostlin podnoží s inokulem Olimp v letech 2007-09	105
Graf 52 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Poljus Južnyj v jednotlivých letech 2007-09	107

Graf 53 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Poljus Južnyj v jednotlivých letech 2007-09.....	108
Graf 54 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Poljus Južnyj v letech 2007-09.....	109
Graf 55 Grafické znázornění rozdílností ve výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Poljus Južnyj v jednotlivých letech 2007-09.....	111
Graf 56 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na rostlinách podnoží s inokulem Poljus Južnyj v jednotlivých letech 2007-09.....	111
Graf 57 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Poyer v jednotlivých letech 2007-09.....	113
Graf 58 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Poyer v jednotlivých letech 2007-09.....	114
Graf 59 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Poyer v letech 2007-09.....	115
Graf 60 Grafické znázornění rozdílností ve výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Poyer v jednotlivých letech 2007-09.....	117
Graf 61 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Saldcot v jednotlivých letech 2007-09.....	119
Graf 62 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Saldcot v jednotlivých letech 2007-09.....	120
Graf 63 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Saldcot v letech 2007-09.....	121
Graf 64 Grafické znázornění rozdílností v úhynu letorostů prorostlých z inokul Saldcot v jednotlivých letech 2007-09.....	122
Graf 65 Grafické znázornění rozdílností ve výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Saldcot v jednotlivých letech 2007-09.....	123
Graf 66 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na rostlinách podnoží s inokulem Saldcot v jednotlivých letech 2007-09.....	124
Graf 67 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu symptomatických letorostů prorůstajících z inokul Veselka v jednotlivých letech 2007-09.....	126
Graf 68 Grafické znázornění rozdílností v četnosti výskytu jednotlivých symptomů na letorostech prorůstajících z inokul Veselka v letech 2007-09.....	127
Graf 69 Grafické znázornění rozdílností v úhynu letorostů prorostlých z inokul Veselka v jednotlivých letech 2007-09.....	128
Graf 70 Grafické znázornění rozdílností ve výskytu symptomatických rostlin podnoží s inokulem Veselka v jednotlivých letech 2007-09.....	129
Graf 71 Grafické znázornění rozdílností v různosti symptomů na rostlinách podnoží s inokulem Veselka v jednotlivých letech 2007-09.....	130
Graf 72 Grafické znázornění rozdílností v předčasném úhynu rostlin podnoží s inokulem Veselka v letech 2007-09.....	131

