

Mendelova univerzita v Brně
Zahradnická fakulta v Lednici

FYTOPLAZMY OVOCNÝCH DŘEVIN

Bakalářská práce

Vedoucí práce:
Ing. Tomáš Nečas, Ph.D.

Vypracovala:
Návratová Marie

Lednice 2016



ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Zpracovatelka: **Marie Návrátová**
Studijní program: Zahradnické technologie
Obor: Zahradnictví
Konzultant: Ing. Jana Nečasová
Název tématu: **Fytoplazmy ovocných dřevin**
Rozsah práce: 45

Zásady pro vypracování:

1. Prostudovat nejnovější literární zdroje k obecné problematice fytoplazem ovocných dřevin, jejich detekci a ochraně vůči nim.
2. Podrobněji se zaměřit na fytoplazmy jako je Pear decline (PD), European stone fruit yellows phytoplasma (ESFY), Apple proliferation (AP).
3. Zpracovat bakalářskou práci v souladu se zásadami zpracování studentských závěrečných prací, uvést obrazovou přílohu.



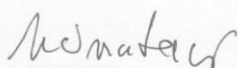
Seznam odborné literatury:

1. HARRISON, N A. – RAO, G P. – MARCONE, C. *Characterization, Diagnosis and Management of Phytoplasmas*. Texas: Studium Press LLC, U.S.A., 2008. 422 s. ISBN 1-933699-30-2.
2. NARAYANASAMY, P. Microbial plant pathogens-detection and disease diagnosis : bacterial and phytoplasmal pathogens. Volume 2. Dordrecht. 2011. ISBN 9789048197699, 9789048197682. URL: http://web2.mendelu.cz/cp_944_navody/Navody/e/Navod%20na%20ebrary-stahovani%20knih.pdf.
3. DICKINSON, M. – HODGETTS, J. *Phytoplasma : methods and protocols*. New York: Springer, 2012. 421 s. ISBN 978-1-62703-088-5.
4. WEINTRAUB, P G. – JONES, P. *Phytoplasmas : genomes, plant hosts, and vectors*. Cambridge, MA: CABI North American Office, 2010. 331 s. ISBN 978-1-84593-530-6.
5. DESVIGNES, J. *Virus Diseases of Fruit Trees : Diseases due to viroids, viruses, phytoplasmas and other undetermined infectious agents*. Paris: CTIFL, 1999. 202 s. ISBN 2-87911-143-9.
6. NAVRÁTIL, M. – FIALOVÁ, R. *Fytoplazmy – významné patogeny rostlin*. Olomouc: Česká fytopatologická společnost, 2008. 147 s. ISBN 80-903545-2-1.

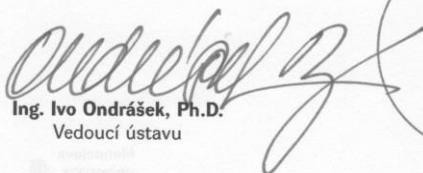
Datum zadání bakalářské práce: říjen 2014

Termín odevzdání bakalářské práce: duben 2015

L. S.

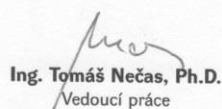


Marie Návrátová
Autorka práce

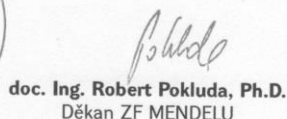


Ing. Ivo Ondrášek, Ph.D.
Vedoucí ústavu





Ing. Tomáš Nečas, Ph.D.
Vedoucí práce



doc. Ing. Robert Pokluda, Ph.D.
Děkan ZF MENDELU

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto práci: **Fytoplazmy ovocných dřevin** 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 Lednici dne:

.....
podpis

Poděkování

Chtěla bych poděkovat svému vedoucímu bakalářské práce Ing. Tomáši Nečasovi, Ph.D. za trpělivost, ochotu a cenné rady. Také děkuji svým rodičům za materiální podporu při celém studiu a mému příteli a kamarádům za podporu při zpracování bakalářské práce.

Obsah

1	ÚVOD.....	8
2	CÍL PRÁCE.....	9
3	LITERÁRNÍ PŘEHLED	10
3.1	Obecná charakteristika fytoplazem	10
3.1.1	Historie.....	11
3.1.2	Bionomie.....	12
3.1.3	Taxonomie	12
3.1.4	Přenos.....	12
3.2	Metody detekce	16
3.2.1	Histologické metody	16
3.2.2	Biologické testy na dřevinných indikátorech.....	16
3.2.3	Serologické metody	17
3.2.4	Molekulární metody.....	17
3.3	Způsoby ochrany.....	22
3.3.1	Monitoring výskytu zdrojů infekce.....	22
3.3.2	Monitoring výskytu přenašečů.....	24
3.3.3	Používání certifikovaných materiálů	26
3.3.4	Fytosanitární opatření	26
3.4	Pear Decline Phytoplasma.....	29
3.4.1	Synonyma	29
3.4.2	Hostitelské rostliny	29
3.4.3	Geografické rozšíření.....	30
3.4.4	Symptomy	30
3.4.5	Přenos.....	31
3.5	European Stone Fruit Yellows Phytoplasma.....	33
3.5.1	Synonyma	33
3.5.2	Hostitelské rostliny	33
3.5.3	Geografické rozšíření.....	33
3.5.4	Symptomy	34

3.5.5	Přenos.....	35
3.6	Apple Proliferation Phytoplasma	37
3.6.1	Synonyma	37
3.6.2	Hostitelské rostliny	37
3.6.3	Geografické rozšíření.....	37
3.6.4	Symptomy	38
3.6.5	Přenos.....	39
4	DISKUSE	41
5	ZÁVĚR.....	42
6	SOUHRN.....	43
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	44
8	PŘÍLOHA.....	52

1 ÚVOD

Fytoplazmy jsou patogenní mikroorganismy, které osídlují vodivá pletiva rostlin a přebývají v těle svých hmyzích přenašečů. Způsobují rozsáhlé škody na rostlinných hostitelích, které jsou pro nás ekonomicky významné. Na infikovaných rostlinách můžeme pozorovat pouze symptomy, které mohou být zaměnitelné i s jiným onemocněním či deficiencí určitých prvků. Jejich přítomnost musí být detekována pomocí složitých metod. Jsou to hospodářsky významné patogeny řady kulturních druhů rostlin. Tito obligátní parazité způsobují více než 700 onemocnění u 300 rostlinných druhů, které můžeme zařadit do 38 různých čeledí. Mimo ovocné dřeviny infikují také polní plodiny, zeleninu, okrasné a tropické rostliny. Některé druhy fytoplazem jsou karanténní a podléhají zákonům ČR a EU.

2 CÍL PRÁCE

Cílem práce je popsat obecnou problematiku fytoplazem ovocných dřevin, jejich detekci a ochranu vůči nim z hlediska nejnovějších literárních zdrojů. Dále se zaměřit na konkrétní druhy fytoplazem jako je Pear decline (PD), European stone fruit yellows phytoplasma (ESFY) a Apple proliferation (AP). Součástí této práce je také obrazová příloha, která je uvedena na konci.

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Obecná charakteristika fytoplazem

Fytoplazmy řadíme mezi prokaryotní organismy, které nemají pevnou buněčnou stěnu (NAVRÁTIL, FIALOVÁ, 2008), jsou obklopeny jednotkovou membránou (OIIVIER, LOWERY, STOBBS, 2009) a v jejich cytoplazmě se nachází vlákna DNA a ribozómy (NAVRÁTIL, FIALOVÁ, 2008). Jsou to nejmenší a nejjednodušší buněčné organismy, které známe. Tyto nekultivovatelné gram pozitivní bakterie obývají sítkovice rostlin nebo hmyzí vektory (HARRISON, RAO, MARCONE, 2008). Právě na těchto místech je můžeme pozorovat pomocí elektronových mikroskopů. Jejich velikost je velice variabilní a závisí také na tvaru buněk. Protáhlé bakterie mohou mít až 800 nm, kulovité nebo oválné od 200 nm do 500 nm (NAVRÁTIL, FIALOVÁ, 2008). Co se týče genomu fytoplazem, je velice malý a pohybuje se v rozmezí 530 – 1 350 kb. Fytoplazmy mají nízký obsah G + C bází v DNA (DICKINSON, HODGETTS, 2013). Vyvolávají mnoho charakteristických symptomů, ačkoli se mohou některé shodovat se symptomy vyvolanými viry (NARAYANASAMY, 2011).

Tabulka I Velikost genomu některých fytoplazem (NAVRÁTIL, FIALOVÁ, 2008)

Fytoplazma	Velikost genomu [kbp]
Apple proliferation	630 až 690
European stone fruit yellows	630
Pear decline	660
X-disease	670 až 1075

Při napadení rostliny je hlavní příčinou výskytu symptomů snížena schopnost translokace asimilátů a dalších molekul ve floému. Napadená rostlina nemusí hned uhynout, ale dochází ke snížení výnosu, kvality plodů a celkové životaschopnosti dřeviny. Mezi symptomy řadíme zakrnělý růst dřevin (rostlin), menší a kyselější plody, zaostalé kořeny, chlorózy, svinutky listů, zarudnutí listů, proliferace výhonů až smrt dřeviny.

Fytoplazmy ovocných dřevin tvoří taxonomicky odlišné skupiny, které mívají vliv na různé rostlinné hostitele. Rozmanité druhy fytoplazem způsobují onemocnění na

jádrovinách a peckovinách (čeleď *Rosaceae*). Mezi ekonomicky nejvýznamnější původce onemocnění patří fytoplasma proliferace jabloně - AP (*Candidatus Phytoplasma mali*), fytoplasma chřadnutí hrušně - PD (*Ca. Ph. pyri*) a fytoplasma Evropské žloutenky peckovin - ESFY (*Ca. Ph. prunorum*). Další ovocné stromy napadány fytoplazmou jsou cicimek jujuba (*Ziziphus jujuba* Mill) z čeledi *Rhamnaceae* nebo ořechovec pekanový (*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch.) z čeledi *Juglandaceae*. Fytoplazmové onemocnění se vyskytují také na tropických stromech např.: papája obecná (*Carica papaya* L.) z čeledi *Caricaceae* nebo kokosová palma (*Cocos nucifera* L.) z čeledi *Arecaceae* (HARRISON, RAO, MARCONE, 2008). V USA je rozšířeno několik druhů fytoplazem, jejichž hlavní hostitelskou rostlinou je broskvoň (*Prunus persica*). K těmto fytoplazmovým onemocněním patří Peach rosette phytoplasma, Peach yellows phytoplasma a Western X disease phytoplasma (NAVRÁTIL, FIALOVÁ, 2008).

3.1.1 Historie

První zmínky o fytoplazmách pochází z Japonska, z období Tokugawa (1603–1868), jako o původcích trpasličí nemoci moruší, kdy nemoc způsobila značné škody na dřevinách, které byly jediným zdrojem potravy bource morušového. V roce 1890 Shirai (první prezident Phytopathological Society of Japan a první profesor fytopatologie na Univerzitě v Tokiu) zjistil, že nemoc byla přenosná rouby, avšak původce nebyl znám (MAEJIMA, OSHIMA, NAMBA, 2014). Již začátkem devatenáctého století byl objeven výskyt žloutenky aster. Za původce této choroby byly však považovány viry a to z důvodu nemožnosti kultivace těchto patogenů a také kvůli přenosu hmyzími vektory (NAVRÁTIL, FIALOVÁ, 2008). V roce 1967 byly objeveny struktury podobné mykoplazmám v lýku rostlin postižených touto nemocí. Těmto přidruženým strukturám chyběly pevné buněčné stěny, byly obklopeny jednotkovou membránou, jejich tvar byl pleomorfní, velikostí se podobaly mykoplazmám (80 – 800 nm) a proto jim byl přiřazen termín mycoplasma-like organism (MLOs) (NAMBA, 2011). Později byla díky elektronovému mikroskopu zjištěna přítomnost buněk fytoplazem v lýku napadených rostlin a ve hmyzích vektorech. Tento objev prokázal, že choroby, tenkrát popisované jako bezsemennost, fylodie, proliferace nebo stolbur, jsou fytoplazmového původu. Vzhledem ke komplikovanému a k pomalému vývinu metod, bylo studium těchto patogenů obtížné (NAVRÁTIL, FIALOVÁ, 2008). Převrat přinesla až 90. léta 20. stol., kdy byla konečně genová sekvence 16S rDNA, patřící fytoplazmové žloutence aster,

porovnána se *Spiroplasmou citri* a několika mykoplazmami (NAMBA, 2011). Díky metodám molekulární genetiky byly odhaleny první informace o genomu fytoplazem (NAVRÁTIL, FIALOVÁ, 2008). V důsledku nových poznatků zakládajících se na této analýze, bylo navrženo, aby se MLOs zařadily do třídy *Mollicutes*. V roce 1994 bylo na 10. kongresu Organization of Mycoplasmaology rozhodnuto o novém triviálním názvu phytoplasma (fytoplazma) (NAMBA, 2011). Začaly být využívány aplikace molekulární hybridizace, PCR, RFLP a sekvencování genů, díky kterým byl položen metodický základ pro moderní diagnostiku fytoplazem (NAVRÁTIL, FIALOVÁ, 2008).

V roce 2004 bylo navrženo, aby se všechny fytoplazmy zahrnuly do nového rodu '*Candidatus Phytoplasma*'. Bylo nahlášeno přibližně 40 druhů fytoplazem z celého světa (MAEJIMA, OSHIMA, NAMBA, 2014). *Candidatus* je předpona, která odráží neschopnost kultivovat fytoplazmy in vitro (THOMPSON, BEL, 2013).

3.1.2 Bionomie

Fytoplazmy žijí v sítkovicích, buňkách floému. Hlavním efektem při napadení fytoplazmou je narušení funkce sítkovic. Několik studií prokázalo, že u takto infikovaných rostlin dochází k inhibici transportu lýkem, což vede k nahromadění abnormálního množství sacharidů v listech a ke snížení těchto sloučenin v zásobních orgánech jako jsou mladé listy, květy, plody a kořeny.

U napadených rostlin se poté projevují symptomy spojené s narušením fyziologických funkcí včetně snížení fotosyntézy, obsahu pigmentu, vodivosti průduchů, transpirace a kořenového dýchání (MARCONE, 2014).

3.1.3 Taxonomie

Doména: *Bacteria*
Oddělení: *Tenericutes*
Třída: *Mollicutes*
Řád: *Acholeplasmatales*
Čeleď: *Acholeplasmataceae*
Rod: '*Candidatus Phytoplasma*' (DAVIS, 2004)

3.1.4 Přenos

Fytoplazmy mohou být na rostliny přenášeny vegetativně prostřednictvím řízků nebo oček. Důležitou rolí ovšem představují hmyzí vektory, které slouží jako jediné

místo k přežívání a množení těchto fytopatogenů mimo hostitelskou rostlinu (NAVRÁTIL a kol., 2008). Za hmyzí přenašeče je považován bodavě savý hmyz z řádu polokřídílí (*Hemiptera*) a to především zástupci rodů křísi (*Auchenorrhyncha*), mery (*Psylloidea*) a v malém množství ploštice (*Heteroptera*). Jelikož se fytoplazmy nachází ve floému, může je pouze hmyz sající floémovou šťávu nasát a dále přenášet. Za další způsob možného přenosu lze považovat přenos pomocí haustorií parazitické rostliny kokotice (*Cuscuta* sp.) (NAVRÁTIL, FIALOVÁ, 2008).

TEDESCHI a kol. (2006) popisuje výzkum, prováděný za účelem zjištění možnosti transovariálního přenosu fytoplazem u mer. Zkoumány byly druhy mera černožilná (*Cacopsylla melanoneura* Förster) jako vektor proliferace jabloně (AP) a mera trnková (*C. pruni* Scopoli) jako vektor Evropské žloutenky peckovin (ESFY). U *C. melanoneura* nebyl transovariální přenos prokázán, na rozdíl od *C. pruni*, kde byl tento přenos potvrzen. Je znám také přenos infekčních zárodků na další generaci u kříska *Hishimonoides sellatiformis* Ishihara, vektora trpasličí nemoci moruší (mulberry dwarf phytoplasma).

3.1.4.1 Vegetativní přenos

Tento přenos je způsobený vegetativním množením rostlinného materiálu, především odkopky, očkováním a roubováním.

3.1.4.2 Přenos pomocí hmyzích vektorů

Mery

Mery se řadí do čeledi Merovití (*Psyllidae*), jsou zelené nebo hnědé barvy, jejich velikost se pohybuje v rozmezí 2-3 mm. Tykadla se skládají z deseti článků a jsou zakončena štětinkami. Mají velké vypouklé složené oči. Křídla mer jsou blanitá, střechovitě složená a zadní nohy jsou skákací. U samic se navíc vyskytuje kladélko. Způsobují deformace a zasychání listů a květů. Medovice, kterou mery produkují, vytváří černé skvrny na listech.

Mera skvrnitá (*C. pyri* L.) způsobuje největší škody na hrušních. Samička je 3 mm dlouhá a zbarvená do žlutohnědé barvy. Přezimuje jako dospělec a vajíčka klade blízko pupenů. Vajíčka jsou bílá, o velikosti 0,4 mm. Larvy se začínají líhnout koncem března a tento proces trvá až do konce kvetení. M. skvrnitá má 3 generace ročně. Je hlavním přenašečem fytoplazmy chřadnutí hrušně (PD) (ŠEFROVÁ, 2006; NESRSTA, 2011).

U m. trnkové (*C. pruni* Scopoli) a m. černožilné (*C. melanoneura* Förster) je podobný vývojový cyklus. Mají jednu generaci ročně. Dospělci přezimují na alternativních rostlinných hostitelích, především na jehličnanech. Na konci zimního období začnou kolonizovat planě rostoucí a pěstované stromy čeledi růžovitých (*Rosaceae*), kde nakladou vajíčka. Postupně se zde začnou objevovat nymfy a noví dospělci. Tito nově vzniklí jedinci migrují na své hostitele koncem jara nebo počátkem léta a zůstávají na nich do konce zimy (TEDESCHI a kol., 2006).

Tabulka II Fytoplazmové onemocnění ovocných dřevin, jejich vektory z rodu mer (*Psylloidea*) a hostitelské rostliny (WEINTRAUB, JONES, 2010).

Druh z rodu mer	Fytoplazma	Název onemocnění	Hostitelská rostlina
<i>Cacopsylla picta</i>	‘ <i>Ca.</i> Phytoplasma mali‘	Proliferace jabloně (AP)	<i>Malus</i>
<i>Cacopsylla melanoneura</i>	‘ <i>Ca.</i> Phytoplasma mali‘	Proliferace jabloně (AP)	<i>Crataegus, Malus</i>
<i>Cacopsylla pruni</i>	‘ <i>Ca.</i> Phytoplasma prunorum‘	Evropská žloutenka peckovin (ESFY)	<i>Prunus sp.</i>
<i>Cacopsylla pyri</i>	‘ <i>Ca.</i> Phytoplasma pyri‘	Chřadnutí hrušně (PD)	<i>Pyrus</i>
<i>Cacopsylla pyricola</i>	‘ <i>Ca.</i> Phytoplasma pyri‘	Chřadnutí hrušně (PD)	<i>Pyrus</i>
<i>Cacopsylla pyrisuga</i>	‘ <i>Ca.</i> Phytoplasma pyri‘	Chřadnutí hrušně (PD)	<i>Pyrus</i>
<i>Cacopsylla qianli</i>	PDTW phytoplasma	Chřadnutí hrušně (PD) – Taiwan	<i>Pyrus</i>
<i>Cacopsylla chinensis</i>	PDTW phytoplasma	Chřadnutí hrušně (PD) – Taiwan	<i>Pyrus</i>
<i>Cacopsylla pyricola</i>	PYLR phytoplasma	Peach yellow leaf roll	<i>Prunus persica</i>

Křísi

Křísi patří do čeledi křískovití (*Cicadellidae*). Nejsou výrazně zbarvení a jsou drobní. Na temeni mají dvě jednoduchá očka, zadní končetiny jsou dlouhé, na holeních pokryté pohyblivými trnitými sety. Za jeden rok křísi vytvoří 1-3 generace. Přezimují jako vajíčko. Největší škoda je způsobena přenosem rostlinných patogenů (ŠEFROVÁ, 2006). Křísek trnkový (*Fieberiella florii* Stal.) je vektorem fytoplazmy evropské žloutenky peckovin (ESFY) (NEČAS, KRŠKA, 2006).

Ploštice

Ploštice přenášející fytoplazmy pochází z čeledi klopuškovití (*Miridae*). Jejich tvar je protáhlý a tělo je většinou jen málo sklerotizované. Nemají temenní očka a nohy jsou dlouhé, třetí pár nohou může být někdy skákavý. Přezimují jako vajíčka. Za rok vytvoří jednu generaci (ŠEFROVÁ, 2006).

3.2 Metody detekce

Efektivní metody detekce jsou důležité pro kontrolu fytoplazem ovocných dřevin a trvalých porostů. Nicméně neschopnost kultivace fytoplazem *in vitro*, jejich nízká koncentrace a nerovnoměrné rozložení v hostitelské rostlině má za příčinu jejich obtížnou detekci. Diagnostické metody zahrnují histologické, biologické, imunologické (serologické metody) a molekulární kroky, díky nimž můžeme fytoplazmy detekovat jak v rostlinách, tak i ve hmyzích vektorech (HARRISON, RAO, MARCONE, 2008). Pro potvrzení přítomnosti patogenu v rostlině můžeme použít histologické nebo biologické metody. Pokud chceme určit konkrétní druh fytoplazmy, je zapotřebí využít metod molekulárních (SCHLESINGEROVÁ, 2011).

3.2.1 Histologické metody

Histologická detekce je založena na zkoumání floémové tkáně. U této metody je využíván elektronový mikroskop nebo fluorescenční mikroskop, díky kterému pozorujeme DNA fytoplazmy obarvenou fluorescenčním barvivem DAPI. Tyto metody nejsou příliš výkonné, ale jsou poměrně jednoduché a v případě metody DAPI i levné. Jelikož tyto metody nezahrnují enzymatické reakce, jsou vhodné jako doplňkové metody detekce fytoplazem. Např.: v kořenech rostlin může být molekulární a serologická metoda omezena kvůli inhibitorům, které jsou přítomny v extraktu z tkání (HARRISON, RAO, MARCONE, 2008).

3.2.2 Biologické testy na dřevinných indikátorech

Posuzování fyto-sanitárního stavu je důležité především u rozmnožovacího materiálu. Navzdory vývoji novějších a specifitějších testů, jsou biologické testy stále doporučovány a to zejména u karanténních organizmů, jako jsou fytoplazmy.

Biologické testy jsou založeny na schopnosti určitých rostlin (indikátorových rostlin), vytvořit příznaky dané choroby při inokulování jejím patogenem. K inokulaci dochází především mechanickým očkováním nebo roubováním (LEGRAND, 2015). Z počátku se infekce projevuje latentně. Po určité době, kdy se zvýší koncentrace patogenu v rostlině, může přijít šoková fáze. V závislosti na chorobě se objevují její charakteristické symptomy. Projevení příznaků může trvat u dřevin i několik let. Vzhledem k tak dlouhé době čekání, se využívají k detekci také laboratorní testy ELISA a PCR. Zatím však nelze ničím nahradit specifické testy na dřevinných indikátorech, jak je předepisují materiály a publikace ISHS a EPPO, které jsou stále doplňovány o nové poznatky pracovníky EPPO. V praxi (v polních testovacích školkách) se používá

metoda dvojitého očkování (double budding), při kterém je na podnož naočkováno jedno oko z indikátorové rostliny a pod něj druhé oko z rostliny testované. Kontrola zdravotního stavu a výskytu symptomů či charakteristických reakcí indikátoru je prováděna dvě vegetační období. Veškeré kontroly se provádí v závislosti na výsledcích monitoringu charakteristických symptomů fytoplazmových chorob na indikátorech (VŠŮO, ©2015-2016).

HARRISON, RAO, MARCONE (2008) udává, že biologické testy jsou pomalejší než přechodí metody a mohou být složité pro interpretaci.

3.2.3 Serologické metody

V případě '*Ca. P. mali*' jsou serologické (imunologické) testy vhodné pro rutinní testování a pro testování ve velkém měřítku. To vše je možné díky jejich specifčnosti, jednoduchosti a nízké ceně (HARRISON, RAO, MARCONE, 2008). Stejně tvrzení uvádí také DELIC, MARTINI a kol. (2007). Dále tvrdí, že v případě negativních či nejistých výsledků ELISA, je vhodné použít metodu PCR pro potvrzení, nebo vyvrácení těchto výsledků.

3.2.3.1 ELISA

ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) je nejpoužívanější imunoenzymatická metoda. Principem této metody je specifická interakce antigenu daného patogenu a protilátky. Vzniká tak spojení protilátky (imunoglobulinu) a antigenu. Postup této metody probíhá tak, že se na specifické protilátky naváže antigen patogenu. V následujícím kroku je přidána enzymově označená protilátka. Nakonec se přidá látka, obsahující substrát enzymu. Pro identifikaci je využita následná reakce, kterou je nejčastěji změna barvy substrátu. Výsledek zbarvení se stanovuje spektrofotometricky (VŠŮO, ©2015-2016).

3.2.4 Molekulární metody

Molekulární metody jsou základním nástrojem v epidemiologických studiích identifikace druhů vektorů a alternativních rostlinných hostitelů. Molekulární diagnostika zahrnuje řadu kroků včetně odběru vzorku tkáně, která je pravděpodobně napadena fytoplazmou, extrakce DNA fytoplazmy z rostlinné tkáně, molekulární analýzy a interpretace výsledků.

Mezinárodní organizace jako jsou NAPPO (North American Plant Protection Organization's) nebo NPPO (National Plant Protection Organization), předepisují

a koordinují normy pro systémy testování a kvalitu záruky (HARRISON, RAO, MARCONE, 2008).

Mezi nejjednodušší a nejčastěji používané molekulární diagnostické metody patří polymerázová řetězová reakce (Polymerase chain reaction, PCR) (DICKINSON, HODGETTS, 2013). Pomocí PCR metod zmnožíme úsek DNA, který je specifický pro fytoplazmy. K rozlišení jednotlivých druhů fytoplazem dále využíváme metody RFLP.

3.2.4.1 PCR

Polymerázová řetězová reakce funguje na principu zmnožení konkrétních úseků DNA odhaleného fytopatogena do velkého množství kopií. Takto zmnožené úseky pak lze vyhodnotit několika způsoby. V případě fytoplazem jsou titry ve vzorcích nízké, je proto vhodné využít metodu nested PCR, kterou docílíme zvýšení citlivosti této metody. Výsledným produktem je tedy zmnožená DNA patogena (VŠŮO, ©2015-2016).

Nested PCR

Pro tuto amplifikaci nám slouží jako templát produkt z reakce PCR (VŠŮO, ©2015-2016). Nejvhodnější odběr vzorků je z listových čepelí rostliny nebo z lýka dvouletých dřevnatých výhonů. Při diagnostice ESFY je nejvhodnější doba pro odběr vzorků z floémové tkáně měsíc červen, pro odběr z listů měsíc září (NEČAS, KRŠKA, MAŠKOVÁ, ADAM, 2008).

Real-time PCR

Real-time PCR (qPCR), kvantitativní polymerázová řetězová reakce. Tato metoda se liší od klasické PCR tím, že umožňuje určování množství sledovaného úseku DNA v reálném čase. Analýza výsledku v agaróze zde neprobíhá. Dochází tady totiž k zaznamenávání každého cyklu PCR ve skutečném čase. Záznam amplifikace je prováděn pomocí fluorescence, za použití fluorescenčních látek (sond), které se vážou na amplifikované DNA specificky nebo nespecificky. Mezi výhody této metody patří snížení potenciálu pro kontaminaci a falešně pozitivních výsledků. Pro tyto důvody je real-time PCR doporučována jako metoda pro rutinní diagnostiku (DICKINSON, HODGETTS, 2013). V Tab. III můžeme vidět několik příkladů používaných primerů.

3.2.4.2 RFLP

Délkový polymorfismus restrikčních fragmentů (Restriction fragment length polymorphism) rozeznává a charakterizuje konkrétní druhy fytoplazem. Pracuje na principu štěpení fytoplazmózní DNA za pomoci specifických enzymů (restrikční endonukleázy). Produkty štěpení jsou následně určovány elektroforetickou analýzou.

3.2.4.3 LAMP

LAMP metoda (Loop Mediated Isothermal Amplification) využívá sadu čtyř nebo šesti primerů a DNA polymerázy s vytěšňováním řetězce aktivitou amplifikace DNA s vysokou specifitou, za izotermických podmínek, za méně než 1 hodinu. Výsledky LAMP metody jsou vizualizovány pomocí gelové elektroforézy, nebo pomocí jiných metod, které jsou vhodné pro použití v terénu. Díky syntéze velkého množství DNA je získána bílá sraženina pyrofosforečnanu hořečnatého. Tato sraženina je někdy viditelná pouhým okem, pokud ne, lze využít turbidimetr (optický přístroj na měření zákalů). V přítomnosti cyaninového barviva (SYBR Green I), pozitivní LAMP reakce produkuje změnu barvy. Tuto změnu lze opět pozorovat pouhým okem, nebo pod UV lampou (WEINTRAUB, JONES, 2010).

VU, PARDO, ALVAREZ a kol. (2016) tvrdí, že LAMP metoda je považována za metodu nadřazenou PCR z důvodu nákladové efektivity, vysoké specifčnosti, lepší citlivosti a pohodlnému řízení. Při využití LAMP není potřeba nákladného termocykleru (lze použít relativně levné tepelné inkubátory) a vše je prováděno při konstantní teplotě. LAMP je také 10-100 krát citlivější než PCR a může zesilovat 10⁹-10¹⁰ krát za tři čtvrtě hodiny až hodinu (Rychlejší než PCR.). Při použití dvou smyček primerů (loop primery) se citlivost reakce zvyšuje desetinásobně a reakční doba je tím snížena na 30 min.

Doposud bylo díky LAMP metodě detekováno fytoplazmové onemocnění na papáje, kokosovém ořechu, barvínku a v některých hmyzích vektorech.

VU, PARDO, ALVAREZ a kol. (2016) provedli testování manioku na přítomnost fytoplazmového onemocnění Cassava Witche's Broom Disease za využití metody LAMP a PCR. Při testování mezi detekce každé sady primerů byl použit pGEM-T plazmid, nesoucí sekvenci cílového fytopatogena. Za použití 100 ng plasmidové DNA a desetinásobných sériových ředění bylo zjištěno, že obě sady primerů by mohly detekovat až 10⁸ - násobné ředění plasmidů. Stejná koncentrace DNA byla využita také u metody PCR. Zde bylo zjištěno, že by mohlo dojít k detekci 10⁷ – násobnému zředění. Z toho vyplývá, že test LAMP byl desetkrát citlivější než test PCR a může detekovat patogena i při nízkém obsahu DNA jako je 10⁻⁶ ng DNA.

OBURA, MASIGA, WACHIRA a kol. (2011) také potvrdili větší citlivost u metody LAMP než u PCR. Vyslovili hypotézu, že u metody LAMP bylo použito čtyř primerů, které hybridizují na 6 různých oblastí cílového genu, kdežto u nested PCR bylo použito dvou primerů, které hybridizují na 2 oblasti cílového genu. Z těchto důvodů

byla citlivost LAMP vyšší. Dalším poznatkem je, že podle LAMP byly 3 asymptomatické vzorky pozitivní, přičemž podle nested PCR byly negativní. K rozdílným výsledkům došlo na základě nízkého titru ve vzorku, který byl pod hranicí detekce nested PCR.

SUGAWARA, HIMENO, KEIMA a kol. (2012) uvádí, že sada primerů GL2 je vhodná pro kolorimetrické vyhodnocení. Také došli k závěru, že metoda LAMP je tolerantnější k biologickému kontaminování než PCR metoda.

Tabulka III Jméno a sekvence primerů a jejich specifita určených pro detekci fytoplazem DNA pomocí real-time PCR (WEINTRAUB, JONES, 2010).

Specifičnost	Cílový gen	Přední primer 5'-3'	Zadní primer 5'-3'	Sonda 5'-3'	Citace
Univerzální	16S rDNA	CGTACGCAAGT ATGAA ACTTAAAGGA	TCTTCGAATTAA ACAACAT GATCCA	TGACGGG ACTC CGCACAA GCG	Christensen et al., 2004
Univerzální	16S rDNA	CYS2Fw AGGTTGAACGG CCACATTG	CYS2Rv TTGCTCGGTCAG AGTT TCCTC	CYS2 Probe ACACGGC CCAAAC TCCTACGG GA	Galetto et al., 2005
Univerzální	16S rDNA	UniRNA Forward AAATATAGTGG AGGTTATC AGGGATACAG	UniRNA Reverse AACCTAACATC TCACGAC ACGAACT	UniRNA Probe ACGACAA CCATGC ACCA	Hren et al., 2007
AP	Nitro-reductase	fAP2 AAGAGCAATTC GTACTTTCG	rAP2 GCCGAACTAGT TTCTAAT TGAC	/	Galetto et al., 2005
AP	Genomic fragment	AP3 GAAACATGTCC TATTGGTGG	AP4 CCAATGTGTGA AATCTGTAG	/	Jarausch et al., 2004

AP	16S rDNA	qAP-16S-F CGAACGGGTGA GTAAC ACGTAA	qAP-16S-R CCAGTCTTAGC AGTCGTT TCCA	qAP-16S TAACCTGC CTCTTA GACG	Baric, Dalla- Via, 2004
	Ribos omal prot.	rpLNS2f GTGCTGAAGCT AATTTATTG	rpLNS2r2 CAATATGGCTA GTTCTTTTT	/	Martini et al., 2007

3.3 Způsoby ochrany

„Epidemiologie fytoplazem, tj. šíření fytoplazem v prostoru a čase, závisí na vztahu konkrétního druhu nebo kmene fytoplazem, jejich rostlinných hostitelů a hmyzích vektorů“ (NAVRÁTIL, FIALOVÁ, 2008, s. 13). Základní podmínky pro šíření chorob způsobených fytoplazmami nastávají v případě, že vedle sebe existují kmen fytoplazmy a potenciální hostitel, který je jak hostitelskou rostlinou, tak současně rostlinou vhodnou pro výživu hmyzího přenašeče. Šíření epidemie je závislé na primárních a sekundárních zdrojích infekce. Mezi primární zdroje se řadí napadené dřeviny a přenašeči, mezi sekundární zdroje počítáme nově infikované rostliny (NAVRÁTIL, FIALOVÁ, 2008). Veškeré ochranné postupy jsou nepřímé a jejich součástí jsou v první řadě zásadové fytosanitární kontroly výsadeb určených pro množení rostlinného materiálu a testování a ozdravování těchto rostlin (SCHLESINGEROVÁ, 2001). Ochrana ovocných dřevin proti fytoplazmám se zakládá především na monitoringu výskytu zdrojů infekce, sledování výskytu hmyzích přenašečů a jejich usměrňování a používání certifikovaného rostlinného a množitelského materiálu (NAVRÁTIL, ŠAFÁŘOVÁ, VÁLOVÁ a kol., 2009).

3.3.1 Monitoring výskytu zdrojů infekce

Množitelské porosty se musí zakládat pouze v místech prostých fytoplazem (SCHLESINGEROVÁ, 2011). Napadené dřeviny je nutno zlikvidovat, a to ne jen ve vlastní výsadbě, ale také v jejím blízkém okolí. NAVRÁTIL, ŠAFÁŘOVÁ, VÁLOVÁ a kol. (2009) uvádí, že blízkým okolím se považuje zóna do 50 až 200 m od dané výsadby. Při likvidaci je důležité zamezit prorůstání podnože a kořenových výmladků. Infikované části jsou zdrojem dalšího šíření choroby. Díky jejich likvidaci přispíváme ke zpomalení šíření (ACKERMANN, KAZDA, 2014). Mezi další ochranné kroky proti fytoplazmám patří udržování ideálního zdravotního stavu rostlin, čímž znemožníme vznik vhodných podmínek pro vývoj choroby (MRÁČEK, 2006). Dobrého zdravotního stavu rostliny docílíme, mimo jiné, odstraněním veškerých stresů rostliny, ať biotických (patogen), nebo abiotických (nedostatek nebo nadbytek světla, vody, minerálů, vysoká nebo nízká teplota, nevhodný řez).

K dalším nepřímým opatřením se řadí také výsadba dřevin ve vhodných pěstebních oblastech a podpora přirozených antagonistů hmyzích přenašečů. K přirozeným nepřátelům mer patří hladěnky (dravé ploštice) *Anthocoris* a *Orius*, sluněčka (*Coccinellidae*), zlatoočka (*Chrysopidae*), škvor obecný (*Forficula*

auricularia), pavouci (*Araneae*) a parazitické vosičky poskočilky (*Trechnites psyllae*). Navýšení početnosti hladěnek a sluněček v ovocných výsadbách můžeme podpořit pěstováním kukuřice seté (*Zea mays*) nebo slunečnice roční (*Helianthus annuus*) v jejich blízkém okolí (VAHALA, 2008).

Alespoň jednou za rok by mělo dojít ke kontrole dřevin ve výsadbách a k prohlídkám sadovnických dřevin ve školkách. Tato prohlídka by se měla vztahovat také na blízké okolí výsadeb. Díky včasnému objevení symptomů na ovocných dřevinách můžeme omezit výskyt těchto patogenů. Jaké symptomy sledovat na konkrétních dřevinách popisuje Tab. III.

Tabulka IV Symptomy, které je potřeba sledovat v průběhu roku (NAVRÁTIL, ŠAFÁŘOVÁ, VÁLOVÁ a kol., 2009).

Botanický druh	Pozorované symptomy	Fytoplazma
Meruňky	Chlorotická svinutka listů Vyholování a odumírání výhonů Předčasné nebo nerovnoměrné dozrávání plodů	ESFY
Jabloně	Proliferace výhonů (metlovitost) Zvětšené palisty Drobnoplodost	AP
Hrušně	Diskolorace v průběhu letního období Chlorózy Červenání listů	PD

Považujeme-li dřeviny za symptomatické je potřeba přítomnost fytoplazmy podložit analýzou PCR a RFLP (NAVRÁTIL, ŠAFÁŘOVÁ, VÁLOVÁ a kol., 2009).

3.3.2 Monitoring výskytu přenašečů

Je zapotřebí provádět monitoring výskytu vektorů fytoplazem a to mer *Cacopsylla pruni* (vektor ESFY), *C melanoneura*, *C. picta* (vektor AP) a *C. pyri* (vektor PD). Sledovat jejich jarní nálety do výsadeb a stanovit podíl infikovaných dospělců. Vzhledem k tomu, že mery přelétají ze svých zimovišť prvně na hloh (*Crataegus*) a trnky obecné (*Prunus spinosa*) a až později do ovocných výsadeb, je vhodné sledovat výskyt mer i na těchto dřevinách.

Kontrola náletů mer se provádí za využití žlutých lepových desek. Ty se zavěšují na větve v koruně stromů, nejlépe 1,5 až 2 m nad zemí. Na návětrnou stranu výsadby se zavěšuje 5 lepových desek. První z nich musí být umístěná na začátku sadu, následující desky pak v rozsahu asi 20 m šikmě směrem do středu výsadby. Instalace probíhá každý týden od února do doby dosažení nejvyššího počtu mer v sadě. V průběhu instalací samozřejmě provádíme určování jedinců chycených na lepových deskách, jejich odpočet a zapisujeme průměrný počet dospělců jednoho druhu na jednu lepovou desku. Při tomto sledování mer, je potřeba dbát na to, abychom nezaměnili hledaný druh s jiným druhem, který se může na lepovou desku také zachytit. Jedná se především o mery vyskytující se na vrbách (*Salix*) a řešetláku (*Rhamnus*) (NAVRÁTIL, LAUTERER, FIALOVÁ a kol., 2008).

Insekticidní ochrana je proti fytoplazmám nefunkční. Lze ji ovšem použít jako chemickou regulaci hmyzích přenašečů (mer) (VAHALA, 2008). Ochrana se provádí v době migrace přenašečů z míst přezimování do ovocných sadů (NAVRÁTIL, ŠAFÁŘOVÁ, VÁLOVÁ a kol., 2009). Přesné termíny a množství ošetření jsou závislé na četnosti týdenního záchytu a počtu přenašečů (SCHLESINGEROVÁ, 2006). Pro insekticidní ochranu bychom se měli rozhodnout pouze v případě, že jsou splněny dvě podmínky. První podmínkou je zachycení alespoň deseti dospělců jednoho druhu na jedné lepové desce týdně. Druhá podmínka zní, že je potřeba objevit z 20 testovaných dospělců alespoň jednoho infikovaného. V případě množitelských výsadeb je oprávnění k provedení chemické ochrany již při splnění první podmínky. Pokud se již ve výsadbě vyskytují stromy se symptomy daného onemocnění, je insekticidní ochrana zbytečná (NAVRÁTIL, LAUTERER, FIALOVÁ a kol., 2008).

Při použití insekticidní ochrany proti merám je potřeba být opatrný. Mery si umí velmi rychle vytvořit rezistenci k různým chemickým postřikům. Chemická ochrana je využívána především v oblastech se silným výskytem přenašečů. Použít se dají různé insekticidy, olejové přípravky, nebo preparáty na bázi kaolinu. Konkrétní přípravky a jejich použití popisuje Tab. IV. Další ochranná opatření se mohou provádět i podle počítání vajíček (VAHALA, 2008). Ochrana proti meře skvrnitě se provádí při zjištění deseti vajíček na dvacet pět listových růžic (ACKERMANN, KAZDA, 2014). Další přípravky, které je možno použít jsou Oleoekol, Tlaster 10 EC. Pouze u jabloní lze použít Nurelle D a u hrušní Nomolt 15 SC (ROD, 2006).

Tabulka V Doporučené přípravky pro aplikaci proti vektorům fytoplazem (NAVRÁTIL, LAUTERER, FIALOVÁ a kol., 2008).

Přípravek	Účinná látka	Dávka [l/ha]	Toxicita k predatorům	Poznámka	Systém použití
Calypso 480 SC	Thiacloprid	0,2-0,25	dravá slunéčka čeledi <i>Coccinellidae</i> , dravé ploštice čeledi <i>Anthocoridae</i>	Registrován proti přezimujícím škůdcům, slupkovým obalečům s výj. o. zimolezového, mšicím a zobonoskám	IOR
Cascade 5 EC	Flufenoxuron	1,5	Dravá slunéčka čeledi <i>Coccinellidae</i> , dravé ploštice čeledi <i>Anthocoridae</i>	Registrován proti sviluškám, BBCH 59	IOR
Decis Flow 2,5	Deltamethrin	0,2	Neselektivní k řadě druhů vč. <i>T. pyri</i>	-	Konv. ochrana
Nurelle D	Chlorpyrifos	0,6	Neselektivní k	-	Konv.

	Cypermethrin		řadě druhů vč. <i>T. pyri</i>		ochrana
Sumithio n Super	Fenitrothion	1,0	<i>Aphidoletes aphidimyza,</i> sluněčka, zlatoočka ob.	Do spotřebování zásob	Konv. ochrana

3.3.3 Používání certifikovaných materiálů

Používání certifikovaných materiálů patří mezi nejdůležitější preventivní opatření v šíření fytoplazem (MRÁČEK, 2006). Certifikovaným materiálem se rozumí množitelské a sadbové rostliny prosté fytoplazem. Je potřeba dodržovat množitelské a certifikační schémata, které berou v úvahu rizika zpětné nákazy rostlinných materiálů (NAVRÁTIL, ŠAFÁŘOVÁ, VÁLOVÁ a kol., 2009). Certifikační schémata vydává EPPO. Certifikovaný ovocný materiál určený k vývozu musí odpovídat fyto-sanitárním předpisům země dovozce, především s ohledem na veškeré škodlivé organismy (karanténní škůdce). Veškerá schémata jsou vydávána v souladu s obecnými postupy navrženými EPPO pro certifikaci ovocných plodin a přijaté Radou EPPO (EPPO, ©1999).

Důležitým aspektem, na který je potřeba klást důraz, je používání rezistentních nebo tolerantních podnoží. V případě fytoplazmy proliferace jabloně SCHLESINGEROVÁ (2006) uvádí jako vhodnou podnož jabloň Sieboldovu (*Malus sieboldii*) a její křížence. U fytoplazmového chřadnutí hrušně je potřeba využívat tolerantních štěpů a podnoží, které jsou prosté všech chorob. Díky použití fytoplazem prostých matečnic je opět znemožněn další vývoj a šíření chorob a také vznik ekonomických i hospodářských ztrát. Vhodné jsou podnože kdouloní, které tlumí rozvoj fytoplazmy v oblastech s nižší teplotou (VAHALA, 2008).

3.3.4 Fyto-sanitární opatření

Fytoplazma proliferace jabloně, fytoplazma chřadnutí hrušně a fytoplazma evropské žloutenky peckovin jsou podle zákona č. 326/2004 Sb., o rostlinolékařské péči a o změně některých souvisejících zákonů, a vyhlášky č. 215/2008 Sb., o opatřeních proti zavlékání a rozšiřování škodlivých organismů rostlin a rostlinných produktů, usměrňovaným škodlivým organismem, který se vyskytuje v EU a je závažný pro celé Společenství. Zavlékání a rozšiřování tohoto patogenu není na území Společenství

dovoleno. Na ‘*Ca. Phytoplasma mali*’, ‘*Ca. Phytoplasma pyri*’, ‘*Ca. Phytoplasma prunorum*’ (karanténní škodlivé organismy) se váže ohlašovací povinnost výskytu, která je uvedena ve vyhlášce č. č. 215/2008 Sb., v příloze č. 1 části A (Vyhláška č. 215/2008 Sb.; Zákon č. 326/2004 Sb.; SCHLESINGEROVÁ, 2011). Pouhá vizuální kontrola symptomů není pro identifikaci fytoplazmy dostačující, proto je vzorek dále diagnostikován v laboratořích určených pro detekci fytoplazem (MRÁČEK, 2006). V případě výskytu škodlivých organismů v množitelských výsadbách nebo v jejich okolí, jsou vyhlášována mimořádná rostlinolékařská opatření, která stanovuje a vyhlašuje Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (ÚKZÚZ) (ACKERMANN, KAZDA, 2014).

Při dovozu rostlin (jabloní, hrušní, kdouloní, meruněk) do členských států EU ze zemí Třetího světa (ze zemí, které nejsou členem EU), ve kterých se vyskytuje onemocnění apple proliferation / pear decline / european stone fruit yellows, je potřeba získat rostlinolékařské osvědčení. Toto osvědčení potvrzuje splnění zvláštních požadavků, které jsou stanoveny vyhláškou č. 215/2008 Sb. Jedna z podmínek je, že původ rostlin musí být z oblastí prostých fytoplazem (AP/PD). Druhá podmínka je, že dřeviny musí být úředně uznány podle certifikačního schématu. Podle certifikačního schématu musí být původ rostlin v přímé linii z materiálů pěstovaných v náležitých podmínkách. Dále musí být tento materiál úředně testován za použití vhodných indikátorových rostlin, či jiných ekvivalentních metod. Výsledky testů musí být negativní na přítomnost fytoplazem. Druhá podmínka se nevztahuje na rostliny vypěstované ze semen. Platí-li druhá podmínka, musí být zároveň splněna i podmínka třetí. Na rostlinách v okolí produkce nebyly objeveny žádné symptomy fytoplazmového onemocnění v době od začátku posledních tří ukončených vegetačních období. Při převozu rostlin mezi různými zeměmi EU jsou uplatňovány stejné podmínky jako u dovozu. Rostliny by navíc měly být opatřeny rostlinolékařským pasem, ve kterém lze dohledat splnění všech výše uvedených podmínek (SCHLESINGEROVÁ 2011, VAHALA 2008).

SCHLESINGEROVÁ (2011) uvádí, že dovoz jabloní do EU je z některých zemí Třetího světa zakázán. Dovoz je povolen z evropských států, které nejsou členy EU. Dále platí možnost dovozu pro neevropské země ze středozevní oblasti, z Austrálie, Kanady, Nového Zélandu a vnitrozemských států USA.

Směrnice Rady 2000/29/ES ze dne 11. června 2008 o ochranných opatřeních proti zavlékání organismů škodlivých rostlinám nebo rostlinným produktům do Společenství a proti jejich rozšiřování na území Společenství zařadilo fytoplazmu proliferace jabloně, fytoplazmu evropského žloutnutí peckovin a fytoplazmu chřadnutí hrušně do přílohy I/A2 (Vyhláška č. 215/2008). Podle NAVRÁTILA a FIALOVÉ (2008) tato směrnice přikazuje přijímat ochranná opatření při jakémkoliv objevení těchto fytoplazem Čili i při výskytu v zahradách, alejích nebo starých sadech. Tato opatření jsou ovšem složitá vzhledem k velkému rozšíření fytoplazem a biologii jejich přenašečů.

3.4 Pear Decline Phytoplasma

Fytoplazmové chřadnutí hrušně je karanténní onemocnění pro EU a je způsobeno patogenem '*Candidatus phytoplasma pyri*' ('*Ca. P. pyri*'). PD se řadí mezi epidemické choroby a při vhodných podmínkách pro vektory nastává rychlé a plošné šíření (VAHALA, 2008).

3.4.1 Synonyma

Phytoplasma pyri, Decline of per, Leaf curl of pear, Moria disease of pear, Parry's disease of pear (NAVRÁTIL, FIALOVÁ, 2008), Pear decline, Moria disease, Pear 'moria', německým názvem zní Birnbaumsterben (VAHALA, 2008). České pojmenování je fytoplazmové chřadnutí hrušně.

3.4.2 Hostitelské rostliny

Mezi hostitelské rostliny se řadí hrušeň obecná (*Pyrus communis*) (NAVRÁTIL, FIALOVÁ, 2008), avšak napadány mohou být i další druhy hrušní jako např.: hrušeň písečná (*Pyrus pyrifolia*), hrušeň ussurijská (*Pyrus ussuriensis*), hrušeň břízolistá (*Pyrus betulifolia*), hrušeň calleryova (*Pyrus calleryana*) (HARRISON, RAO, MARCONE, 2008), případně kdouloň obecná (*Cydonia oblonga*), hrušně štěpované na podnože kdouloní, či barvínkovec růžový (*Catharanthus roseus*) (NAVRÁTIL, FIALOVÁ, 2008; VAHALA, 2008). Výskyt '*Ca. P. pyri*' byl zaznamenán také na třešních v Itálii a v Polsku a na broskvoních v České republice (CIEŠLIŇSKA, 2011).

Většina kultivarů *Pyrus Communis* jsou velmi vhodné pro reprodukci obou přenašečů, jak *Cacopsylla pyri* tak i *C. pyricola*. Naproti tomu existují i druhy, které jsou pro krmení mer méně vhodné, mezi tyto druhy patří *Pyrus ussuriensis* a *Pyrus pyrifolia*. Od roku 1920 je snaha vyvinout potomka kultivarů, který bude odolný merám. Bylo provedeno několik křížení a zpětných křížení mezi kultivary *P. communis* a genotypy *P. ussuriensis*. Z takto vzniklých potomků bylo 60% rezistentní vůči merám. V poslední době je používána také *P. pyrifolia* jako donor rezistence (WEINTRAUB, JONES, 2010).

Z často napadaných hrušní na našem území jsou odrůdy hrušně obecné Boscova lahvice, Konference, Williamsova, podnože OHF 333 a odrůda hrušně písečné Hosui (VAHALA, 2008).

3.4.3 Geografické rozšíření

Fytoplazmové chřadnutí hrušně se vyskytuje v mnoha státech Evropy, především v Albánii, Bosně a Hercegovině, České republice, Francii, Chorvatsku, Itálii, Maďarsku, Moldávii, Německu, Nizozemí, Polsku, Rakousku, Řecku, Slovenské republice, Slovinsku, Srbsku, Španělsku, Švýcarsku a Velké Británii (NAVRÁTIL, FIALOVÁ, 2008). Podle WEINTRAUB a JONES (2010) se PD vyskytuje i v Asijské části Turecka, v Íránu a na Taiwanu. Dalšími kontinenty jsou Afrika (Libye) a Austrálie. Výskyt PD byl zaznamenán také na západní polokouli. V Severní Americe jsou to Kanada a USA. Konkrétněji státy Connecticut, Kalifornie, Oregon a Washington (VAHALA, 2008).

3.4.4 Symptomy

U PD můžeme pozorovat dva druhy chřadnutí a to pomalé chřadnutí a rychlé chřadnutí. Při latentní infekci se u rostlin neobjevují žádné příznaky. Intenzita projevu symptomů je závislá na pěstitelských zásazích, ochraně proti merám a hustotou mer v populaci. Samozřejmě záleží i na náchylnosti podnože a v neposlední řadě na vitalitě celé rostliny. U obou typů chřadnutí hrušně můžeme objevit po odstranění kůry (kambium) nekrotické linie (hnědý pruh) a to na místě štěpování nebo pod ním. Toto zbarvení se může s růstem rostliny během vegetačního období ztrácet.

Rychlé chřadnutí se často vyskytuje u hrušní na orientálních podnožích, jako jsou např. hrušeň písečná (*Pyrus pyrifolia*) nebo hrušeň ussurijská (*Pyrus ussuriensis*). U těchto podnoží se může lýko v místě štěpu zhroudit, následkem toho nastává stres z nedostatku živin a strom většinou umírá během několika týdnů. Plody takto napadených dřevin mají zastavený vývoj a uvadají. U listů se objevuje úžeh (ztmavnutí a následné uschnutí). Toto rychlé chřadnutí probíhá většinou v létě nebo na podzim. Je také ovlivněno abiotickým stresem stromů, jako je např.: sucho nebo teplo. Dalším původcem stresu mohou být houbové choroby, které působí na kořeny rostlin např.: *Phytophthora*, *Pythium* (WEINTRAUB, JONES, 2010; HARRISON, RAO, MARCONE, 2008; VAHALA, 2008).

U tolerantních podnoží, které představují např. sazenice hrušně obecné (*Pyrus communis*), hrušně břízolisté (*Pyrus betulifolia*), hrušně calleryovy (*Pyrus calleryana*) nebo sazenice kdouloně obecné (*Cydonia oblonga*), se většinou projevuje ovlivnění pomalým chřadnutím, čili pozvolným slábnutím. Symptomy mohou být rozdílné u různých odrůd a podnoží, také u různě starých dřevin a v závislosti na stanovišti.

Příznaky se objevují na jaře nebo ke konci léta. Při větším napadení nebo při zvýšení stresových faktorů se příznaky zhoršují. Infikované dřeviny ztrácí svou životaschopnost a umírají v řádech měsíců až let. Existují však i dřeviny, které se z napadení vzpamatují.

Terminální růst rostliny může být redukován nebo zcela ukončen. Následkem toho se objevují výhony s menšími přírůstky, vyholené, případně může docházet k metlovitosti. Objevuje se menší počet drobnějších, kožovitých listů. Na listech se dále projevuje chlorotické zbarvení a svinování od špičky listu k hlavní žilce. Koncem vegetace se začínají listy abnormálně zbarvovat do červena, nakonec začnou hnědnout a předčasně opadat. Kvetení bývá v rané fázi nemoci plné, některé květy se vyvíjí i v pozdější době, avšak v menší početnosti. Plody takto napadených rostlin nedosahují standartní velikosti ani kvality. Některé infikované stromy nemusí plodit vůbec. Na větvích se mohou objevovat trsy listů, celé větve později i odumírají. Vedlejší kořeny většinou odumřou, zatím co hlavní kořen se vyvíjí normálním způsobem. (HARRISON, RAO, MARCONE, 2008; VAHALA, 2008).

3.4.5 Přenos

Přenos může být způsoben vegetativním množením. Mezi nejvýznamnější typ přenosu se ovšem považuje přenos pomocí hmyzích vektorů. PD přenáší mery (*Psylloidea*), které škodí na hrušních. Mezi tyto druhy mer se řadí mera hrušňová (*Cacopsylla pyricola*), která škodí především v Severní Americe a Velké Británii, mera ovocná (*Cacopsylla pyrisuga*), jejíž škodlivost není v Evropě natolik významná a mera skvrnitá (*Cacopsylla pyri*), která je pokládána za hlavního přenašeče v Evropě. K infekci mer dochází při sání potravy (asimilátů) z mladých listů, letorostů nebo z pupenů. Mery mohou být infekční až do konce života a jejich infekčnost stoupá během vegetační doby. U poslední generace, která přezimuje je infekčnost největší. Většinou to bývá na podzim. Přezimujícím stádiem mer je dospělec. Zimoviště si hledají v hrušňových sadech.

Dalším možným způsobem přenosu je štěpování. Nejnáchylnější jsou štěpy pěstované na podnožích hrušní. U '*Ca. Phytoplasma pyri*' dochází během různých období k výrazným změnám. Při nízkých teplotách v zimě pletivo lýka (floému) degraduje, původci choroby zmizí z nadzemních částí rostlin a přemisťují se do jejich kořenů, kde přežívají. Na jaře se opět přesouvají do nadzemní části a dochází k rekolonizaci (opětovnému osídlení celé rostliny). Při pěstování štěpů na podnožích kdoulonů může dojít v chladnějším letním období až k remisi (uzdravení rostliny). Takto

se může stát z důvodu toho, že jejich kořenový systém je těžko osídlován. Pravděpodobnost přenosu u podnoží kdouloní je mnohem menší než u podnoží hrušní (WEINTRAUB, JONES, 2010, VAHALA, 2008).

3.5 European Stone Fruit Yellows Phytoplasma

Fytoplasma Evropské žloutenky peckovin je karanténní onemocnění pro EU, způsobené patogenem '*Candidatus phytoplasma prunorum*' ('*Ca. P. prunorum*') (OSLER, BORSELLI, ERMACORA, 2016).

3.5.1 Synonyma

Phytoplasma prunorum, Apricot chlorotic leafroll phytoplasma, Cherry moličre disease, Decline od Japanese plum, Decline of peach, Dieback of apricot, European yellows of peach, Chlorotic leafroll of apricot, Chlorotic leafroll of nectarine, Chlorotic leafroll of peach, Italian rosette of peach, Leptonecrosis of plum, Plum leptonecrosis, Vein clearing of peach, Vein enlargement of peach. LAYNE, BASSI (2008) ještě uvádí Peach yellows. Český název zní fytoplasma Evropské žloutenky peckovin.

3.5.2 Hostitelské rostliny

Přirozenými hostiteli bývají jak planě rostoucí, tak i pěstované ovocné stromy. Obecně jsou to rostliny rodu *Prunus*, především meruňka (*Prunus armeniaca*), broskvoň (*Prunus persica*) nebo japonská švestka (*Prunus salicina*). Méně náchylné pak bývají Evropské švestky, např. švestka domácí (*Prunus domestica*), trnka obecná (*Prunus spinosa*), slivoň myrobalán (*Prunus cerasifera*) a také třešně (*Prunus avium*) a višně (*Prunus cerasus*). Mimo jiné byl patogen objeven ve Francii na planě rostoucích rostlinách, jako je např.: břestovec jižní (*Celtis australis*), jasan ztepilý (*Fraxinus excelsior*) a růže šípková (*Rosa canina*) nebo v Maďarsku a v Srbsku na révě vinné (*Vitis vinifera*) (CIEŠLIŇSKA, 2011). NEČAS, KRŠKA, MAŠKOVÁ a ADAM (2008) uvádí, že meruňkové a švestkové hybridy jsou náchylnější k infikaci fytoplazmy evropské žloutenky peckovin více, než broskvoně a Evropské švestky.

MRÁČEK (2006) uvádí výskyt ESFY na sakuře ozdobné (*Prunus serrulata*), *Prunus mariana*, *Prunus brigantina*, *Prunus consociiflora*, *Prunus dasycarpa*, *Prunus maritima*, *Prunus mexicana*, *Prunus mume*, *Prunus simonii* a *Prunus cocomilia*. V neposlední řadě zde můžeme zařadit i byliny, jako je svlačec rolní (*Convolvulus arvensis*) nebo troskut prstnatý (*Cynodon dactylon*) (NAVRÁTIL, FIALOVÁ, 2008).

3.5.3 Geografické rozšíření

První zmínky o ESFY pochází z 20. let minulého století z Francie, kdy zde byla rozšířená chlorotická svinutka listů meruňek (Apricot chlorotic leafroll phytoplasma;

ACLP). Evropská žloutenka peckovin je brána za původce ACLP a také za původce plum leptonecrosis (PLN) na japonských švestkách (JARAUSCH a kol., 2001). Přítomnost ESFY na ovocných stromech byla prokázána především v Evropských zemích, jako jsou Česká republika, Francie, Itálie, Maďarsko, Německo, Rakousko, Rumunsko, Řecko, Slovenská republika, Španělsko a Švýcarsko (MRÁČEK, 2006). NAVRÁTIL, FIALOVÁ (2008) ještě dále uvádí Albánie, Bosna a Hercegovina. V mimoevropských oblastech byla ESFY detekována v Malé Asii (Turecko) nebo v Ázerbájdžánu.

Podle laboratorních testů ministerstva zemědělství ČR, byl v roce 2014 potvrzen výskyt ESFY na peckovinách (slivoně, broskvoně, meruňky a třešně) v Jihomoravském kraji, okres Břeclav (MZe, 2014). V České republice se ESFY vyskytuje v 5 až 20% meruňkových sadů (NEČAS, KRŠKA, MAŠKOVÁ, ADAM, 2008).

3.5.4 Symptomy

Příznaky nemoci jsou nejvýrazněji pozorovatelné na meruňkách (*Prunus armeniaca*) a na japonských švestkách (*Prunus salicina*). Podle MRÁČKA (2006) lze pozorovat příznaky ESFY v jarním období na květech, kdy si můžeme všimnout jejich malé násady. U infikovaných stromů je často narušena dormance a stromy začínají růst již v zimním období. Listy se vyvíjí ještě před otevřením květních poupat. Jsou-li zimní teploty nižší než -5°C , dochází mrazem k poškození kambia a následně k vyschnutí kůry i přes to, že se může zvenku jevit jako normální. Příznaky na listech se rozvíjejí během léta a nejviditelnější jsou koncem září. Většinou se na nich vyskytují nepravidelné mezi žilkové chlorózy, svinování listů vzhůru podél střední žíly a mírná až silná žloutenka. Listy mohou předčasně opadat a výhony vyholují, až odumírají. Běžná je také proliferace (prorůstání) pupenů na starých letorostech, na konci krátkých výhonů nebo pod místem roubování (HARRISON, RAO, MARCONE, 2008). Plody infikovaných stromů mají menší velikost, většinou dozrávají předčasně a mohou také ze stromů opadat nebo na nich zasychat (MRÁČEK, 2006).

Při napadení fytoplazmou dochází k odběru zásobních a růstových látek (sacharóza, IAA), což vede k neobvyklým růstovým změnám. Specificita této změny je závislá na hostitelské rostlině. Fytoplazmy osídlují sítkovici rostlin, v důsledku jejich nahromadění se v těchto místech, je pozastavena translokace látek v rostlině. Okvětní lístky květů mohou být někdy zelené, příčinou tohoto jevu je syntéza chlorofylu v této části rostliny. Je to jedna ze známých poruch metabolismu rostlin. Květní stopka může

narůst do neobvyklé délky okolo 2–7 cm. Obvyklým příznakem jsou také fylodie (přeměněné květní orgány v list). V některých případech se u infikovaných dřevin nemusí projevit žádné příznaky choroby (NEČAS, KRŠKA, 2006).

Symptomy na broskvoních jsou mírnější, na listech lze pozorovat chlorózy nebo zbarvení do červena. Docházet může také ke svinování listů. Výhony mohou odumírat, případně lze pozorovat jejich metlovitost (CIEŠLIŇSKA, 2011). U třešní se příznaky ESFY projevují podobně jako u meruněk, lze k tomu ještě připsat výraznou zakrslost. U švestek domácích se objevuje proliferace větví, malolistost, mírná chloróza a prosychání koruny (MRÁČEK, 2006).

Na většinu druhů z rodu *Prunus* nepůsobí ESFY smrtelně, výjimku ovšem tvoří meruňky a broskvoně, které zpravidla uhynou do 12 – 24 měsíců od objevení prvních příznaků (HARRISON, RAO, MARCONE, 2008). ESFY způsobuje značné ekonomické ztráty v důsledku vysoké úmrtnosti meruněk, broskvoní a japonských slivoní (CIEŠLIŇSKA, 2011).

3.5.5 Přenos

Vyloučíme-li antropogenní přenos (vegetativní množení podnoží), pokládáme za nejvýznamnější přenos pomocí hmyzích vektorů (MRÁČEK, 2006). Za hmyzího přenašeče se považuje mera trnková (*Cacopsylla pruni*) a křísek trnkový (*Fiebriella florii*) (NEČAS, KRŠKA, 2006). Podle MRÁČKA (2006) se křísek trnkový vyskytuje především ve střední a jižní Evropě, na našem území lze jeho výskyt považovat za výjimečný. TEDESCHI a kol. (2006) uvádí, že u mery trnkové je možný také transovariální přenos. Přenos semeny rostlin nebyl prokázán.

Mera trnková se vyskytuje na kulturních dřevinách, ale i na planě rostoucích peckovinách např.: slivoň obecná *Prunus domestica* subsp. *insititia*, nebo střemcha obecná *Prunus padus*. Vývoj na planě rostoucích dřevinách je stejný jako na kulturních. *C. pruni* má zpravidla jednu generaci za rok, velikost dospělce se pohybuje kolem 2,4 až 2,9 mm. Mezi přezimující rostliny patří především jehličnany, nejčastěji to bývá smrk (*Picea*). Typickým znakem této mery jsou kroužkovitá křídla tmavě hnědé barvy. Koncem února počátkem března začínají mery migrovat ze svých zimovišť do ovocných sadů. Po dostatečném sání začnou klást vajíčka na spodní stranu listů, takto se děje až do začátku května. Vajíčka jsou bílé zbarvená a mají citrónový tvar. Nymfy se objevují v období od druhého týdne dubna do začátku července. V této době nově vyvinutí jedinci migrují ze sadů na přirozené peckoviny a nakonec zpět na zimoviště,

kde se zdržují od srpna do února. V případě dobře hnojených dřevin mery umírají po několika dnech. Díky tomu se snižuje početnost populace mer. Bylo prokázáno, že k infekci zimních mer dochází v případě, že se mera živí alespoň 7 dní na olistěné dřevině (KRŠKA, NEČAS, 2005).

3.6 Apple Proliferation Phytoplasma

Fytoplazma proliferace jabloně je karanténní onemocnění pro EU, způsobené patogenem ‘*Candidatus phytoplasma mali*’ (‘*Ca. P. mali*’)

3.6.1 Synonyma

Phytoplasma mali, Apple witches’ broom phytoplasma, český název fytoplazma proliferace jabloně

3.6.2 Hostitelské rostliny

Mezi primární hostitelské rostliny patří všechny komerčně pěstované kultivary a podnože jabloně domácí (*Malus x domestica*) (WEINTRAUB, JONES, 2010), ale napadány jsou i další druhy tohoto rodu např.: jabloň drobnoplodá (*M. baccata*), jabloň hnědá (*M. fusca*), jabloň slívolistá (*M. prunifolia*), jabloň mnohokvětá (*M. floribunda*), jabloň purpurová (*M. robusta.*) a další *M. coronaria*, *M. eleyi*, *M. gloriosa*, *M. ionsis*, *M. plotycarpa*, *M. cniedzwezkyana*, *M. purpurea* (NAVRÁTIL, FIALOVÁ, 2008). Zatím je známá dobrá úroveň odolnosti proti AP u japonského druhu jabloně *M. sieboldii* (SCHLESINGEROVÁ, 2011).

Mimo rod *Malus* mohou být alternativními hostitelskými rostlinami také druhy z rodu *Prunus*. V Itálii jsou to např.: japonské švestky, broskvoně nebo třešně. V České republice třešně, ve Slovinsku meruňky a švestky a v Polsku nektarinky (CIEŠLIŇSKA, 2011). Napadány však mohou být i jiné ovocné a lesní dřeviny (hrušeň, hloh) a výjimečně i bylinné druhy (lilie, jirina, šalvěj, jetel, svlačec atd.) Pouze u hlohu je známá souvislost v epidemiologii choroby, u ostatních druhů to zatím jisté není (SCHLESINGEROVÁ, 2011).

Při experimentu roubování 58 okrasných a divokých *Malus* ssp. a jejich poddruhů a 40 hybridů, které byly použity jako podnož, vyšlo, že mají všechny pravděpodobnost nákazy AP (WEINTRAUB, JONES, 2010).

V závislosti na odrůdě pozorujeme rozdíly v náchylnosti k napadení ‘*Ca. P. mali*’. Mezi náchylné odrůdy patří Elstar, Golden Delicious, Starking Delicious a Šampion. To samé lze říci i o podnožích. Citlivou podnoží je v tomto případě M4 (EM IV) (ACKERMANN, KAZDA, 2014).

3.6.3 Geografické rozšíření

Proliferace jabloně byla hlášena ve většině států Evropy, avšak nebyla objevena na územích západní polokoule (FERREE, WARRINGTON, 2003). Jako první byla AP

objevena v sadech v Severní Itálii (WEINTRAUB, JONES, 2010). Po té se začala vyskytovat i v dalších zemích Evropského kontinentu, jako jsou Albánie, Bosna a Hercegovina, Bulharsko, Česká republika, Francie, Chorvatsko, Maďarsko, Moldávie, Německo, Nizozemsko, Norsko, Polsko, Rakousko, Rumunsko, Řecko, Slovensko, Slovinsko, Španělsko, Švýcarsko a Ukrajina (NAVRÁTIL, FIALOVÁ, 2008). Jediné mimoevropské místo, kde byl výskyt proliferace jabloně zaznamenán, je asijská část Turecka.

3.6.4 Symptomy

Stromy infikované AP většinou hned neumírají, nicméně má toto onemocnění výrazný vliv na jejich další vývoj. Příznaky na koruně stromu jsou velice specifické a umožňují spolehlivou diagnózu. Nejlépe jsou symptomy pozorovatelné v době pozdního léta a na podzim (WEINTRAUB, JONES, 2010). Nejvýznamnějším symptomem, díky kterému je tato nemoc také pojmenována, je proliferace (prorůstání) oček ze starého dřeva (FERREE, WARRINGTON, 2003). Mezi další výrazné symptomy se řadí proliferace výhonů (metlovitost), která vede k potlačení apikální dominance, což způsobuje růst spících axilárních pupenů v horní části výhonů (WEINTRAUB, JONES, 2010). Takto nově vzniklé výhony prorůstají v době mezi ukončením prodlužovacího růstu neinfikovaných letorostů a brzkým zráním plodů, čili v druhé polovině vegetačního období. U citlivých podnoží může dojít k prorůstání slabých výhonů, které pak začnou od vrcholu odumírat. U mladých dřevin je obvyklá proliferace oček terminálních výhonů, které mají neukončený stále se prodlužující růst. Palisty bývají většinou zvětšené, avšak toto zvětšení nelze na všech odrůdách pozorovat stejně. U mladých dřevin, intenzivně rostoucích se symptomy AP objevují rychle a jsou jasně viditelné, na rozdíl u starších dřevin nebo u rostlin, které jsou napadeny již dlouhou dobu, se příznaky nemusí objevit vůbec nebo se objeví jen v malé míře (SCHLESINGEROVÁ, 2011).

AP vážně narušuje velikost a hmotnost plodů, ty mohou být sníženy o 30-70%. Plody jsou méně kvalitní, což se projevuje na jejich vybarvenosti a chuti. Toto jsou hlavní příčiny neprodejnosti plodů. Stopka plodů z infikovaných dřevin je z pravidla delší než ze zdravých (FERREE, WARRINGTON, 2003). Podle SCHLESINGEROVÉ (2011) jsou dalšími nespecifickými znaky proliferace jabloně předčasné olistění, pozdní a opakované kvetení, chloróza listů, růžicovité konce výhonů, kratší, tenčí a zmnožené kořeny, případně nekrózy na kůře stromu. Koncem vegetace můžeme na listech

pozorovat zbarvení do červena a listy jsou zpravidla menší s kratší stopkou. AP způsobuje nižší ekonomický výnos a také zhoršuje celkovou životaschopnost stromů (WEINTRAUB, JONES, 2010). Jedním z dalších symptomů je větší pravděpodobnost nákazy padlím jabloně (*Podosphaera leucotricha*) (SCHLESINGEROVÁ, 2011).

Podle CIEŠLIŇSKA (2011) je patogen běžně identifikován u symptomatických stromů, avšak může být detekován i u asymptomatických stromů. U infikovaných švestek a broskvoní bylo zaznamenáno pozdější kvetení a nižší životnost. U třešní se objevily symptomy, jako jsou zakrnělý růst, svinování listů, žloutnutí, vadnutí, nekróza floému a odumírání. Meruňky vykazovaly nekrózy a vadnutí listů, nektarinky zakrnění, chlorotické svinování listů a předčasné zčervenání listů. Asymptomatické dřeviny ovšem nelze považovat za napadené pouze mírným kmenem fytoplazmy, protože i z takto infikovaných matečných rostlin je možné, aby vyrostly dřeviny s normálními symptomy.

U nespecifických příznaků je možnost záměny s nedostatky určitých živin, hlavně v případech, kdy se na stromě jiné symptomy proliferace jabloně nevyskytují. Např.: růžicovitost výhonů může způsobovat i deficit zinku (SCHLESINGEROVÁ, 2011).

3.6.5 Přenos

Jako u všech ostatních fytoplazem je i zde možný vegetativní přenos (roubování, očkování). Nejvýznamnější přenos je ovšem pomocí hmyzích vektorů. Vektorem tohoto patogenu jsou křísi (*Auchenorrhyncha*) a mery (*Psylloidea*) (FERREE, WARRINGTON, 2003).

SCHLESINGEROVÁ (2011) uvádí, že hmyz není infikován bezprostředně po sání asimilátů (sání trvá v řádu hodin až dní). Po sání nastává čas pro množení a šíření fytoplazem v těle. Po inkubační době (2 až 4 týdny, v závislosti na teplotě) se hmyzí vektor stává infekčním. Vajíčka jsou jediným stádiem, které nemůže být infikováno.

Mezi vektory AP patří mera *Cacopsylla picta* (Foerster), mera černožilná (*C. melanoneura*) nebo křísek trnkový (*Fieberiella florii*). V závislosti na druhu přenašeče je přenos této choroby rozdílný. Velikost populace daného druhu závisí na podmínkách, kde se druh vyskytuje. Např.: nadmořská výška, mikroklima, hostitelské rostliny, zdroje infekce. Schopnost přenosu AP je u kříska trnkového nejmenší ze všech tří jmenovaných přenašečů. Pravděpodobnější je jeho přenos ESFY, avšak je pro

epidemiology atraktivní z hlediska toho, že je polyfágní a má schopnost přenášet AP i na jiné hostitele. Za hlavního přenašeče se dá považovat mera *C. picta*, protože její schopnost přenosu je nejvyšší, u mery černožilné je tato schopnost o dost snižená.

Mery přezimují na jehličnatých stromech, v našich podmínkách nejčastěji na smrku (*Picea*). Hostitelská rostlina pro *C. melanoneura* je hloh (*Crataegus*), ale vyvíjí se i na hrušních (*Pyrus*), jabloních (*Malus*) nebo na mišpulích (*Mespilus*). M. černožilná je první z mer přenášející fytoplazmy, která po zimním období migruje na hostitelskou dřevinu. V závislosti na počasí se takto děje od konce února do půlky dubna. Na hostiteli mera naklade vajíčka, která se zde vyvíjí do května. Nově vzniklí jedinci začátkem června odlétají zpět přezimovat.

Vývoj mery *C. picta* probíhá na jabloních (*Malus*). Migrace po přezimování nastává o 2-3 týdny později než u *C. melanoneura*, tedy druhý až třetí týden v březnu. Nově vyvinutí jedinci se vrací zpátky přezimovat v průběhu měsíce června (SCHLESINGEROVÁ, 2011).

4 DISKUSE

Podle NAVRÁTILA a FIALOVÉ (2008) patří fytoplazmy k ekonomicky významným patogenům ovocných dřevin. Tyto patogeny výrazně snižují výnos a také kvalitu plodů. K těm nejvýznamnějším přiřazují AP na jabloních, PD na hrušních a ESFY na meruňkách. Při infikaci dané dřeviny nedochází pouze k přímému poškození úrody, ale ovlivněno je i blízké okolí. V případě karanténních fytoplazem je potřeba likvidovat celé infikované porosty. Na množitelských plochách tak může dojít k obrovským ztrátám.

HARRISON, RAO a MARCONE (2008) popisují, že fytoplazmy snižují transport asimilátů vodivými pletivy rostliny. Stejně jako ostatní autoři se přiklání ke skutečnosti, že je především snížen výnos. Kvalita plodů je také horší, plody mohou být menší, kyselejší nebo mdlé chuti. Celková životaschopnost infikované rostliny je na velmi nízké úrovni. Fytoplazmy tvoří taxonomicky odlišné skupiny, které mají vliv na široký okruh hostitelů.

WEINTRAUB a JONES (2010) zastávají názor, že onemocnění způsobené fytoplazmami nemusí vést k okamžitému úhynu dřeviny, ale má výrazný vliv na její další vývoj. U stromů dochází často k odumírání výhonů a celých větví.

SCHLESINGEROVÁ (2011) se přiklání k tvrzení, které bere v potaz také stáří dřevin. U mladších stromů se symptomy projevují v kratším časovém období než u starších výsadb. Všichni autoři také popisují možnost latentní infekce.

Pro zamezení šíření fytoplazem v budoucnu je potřeba dbát na dodržování fytosanitárních opatření. Kontrolovat ovocné výsadby a používat pouze certifikované dřeviny. Vhodné je zaměřit se na šlechtění rezistentních odrůd ovocných stromů. Přítomnost fytoplazmových onemocnění je u ovocných dřevin limitujícím faktorem pro ekonomický výnos.

5 ZÁVĚR

Závěrem lze říci, že ochrana proti samotným fytoplazmám není v současné době možná, proto je potřeba provádět monitoring výskytu jejich přenašečů a také míst výskytu infekce. Je potřeba vyvarovat se pěstování citlivých odrůd či pěstování na náchylných podnožích. Důraz je kladen na šlechtění odolných nebo rezistentních odrůd a podnoží. Důležité je také používání certifikované sadby ovocných stromů pro zakládání ovocných výsadeb.

Hrušně je doporučováno pěstovat na podnožích kdouloní, které jsou více odolné onemocnění Pear decline. Za donor rezistence je považována hrušeň *Pyrus pyrifolia* a mezi odolnější druhy je řazena také hrušeň *P. ussuriensis*. Naopak mezi náchylné se řadí odrůdy hrušně obecné (*P. communis*) odrůdy Boscova lahvice, Konference, Williamsova nebo podnož OHF 33.

V případě jabloní je odolným druhem *Malus sieboldii*. Za citlivé odrůdy jsou považovány Elstar, Golden Delicious, Starking Delicious a Šampion. Z podnoží je to podnož M4 (EM VI).

6 SOUHRN

Tato bakalářská práce se zabývá obecnou problematikou fytoplazem ovocných dřevin. V podkapitolách jsou zpracovány nejnovější poznatky z okruhu detekce fytoplazem a ochraně vůči nim. Dále se práce zaměřuje na tři konkrétní onemocnění. Popisována je obecná charakteristika Pear decline phytoplasma, European stone fruit yellows phytoplasma a Apple proliferation phytoplasma.

Klíčová slova: fytoplazma, PD, ESFY, AP

SUMMARY

This bachelor thesis deals with general problems of phytoplasma fruit trees. The latest knowledge of phytoplasma detection and protection against them are processed in subchapters. The bachelor thesis focuses on three specific diseases. General characteristic of Pear decline phytoplasma, European stone fruit yellows phytoplasma and Apple proliferation phytoplasma is described.

Key words: phytoplasma, PD, ESFY, AP

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. ACKERMANN, Petr a Jan KAZDA. *Metodiky ochrany zahradních plodin: pro zahradníky a zahradkáře*. Olomouc: Český zahradkářský svaz pro účely svých členů; Agriprint s.r.o., 2014. ISBN 978-80-87091-55-5.
2. *Apples: botany, production, and uses*. Editor David C. FERREE, editor I. J. WARRINGTON. New York, NY: CABI, 2003. ISBN 0-85-199592-6.
3. CIEŚLIŃSKA, Mirosława. EUROPEAN STONE FRUIT YELLOWS DISEASE AND ITS CAUSAL AGENT 'CANDIDATUS PHYTOPLASMA PRUNORUM.'. *Journal of Plant Protection Research* [online]. 2011, roč. 51, č. 4, s. 441-447 [cit. 2015-04-10]. Dostupné z: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=eih&AN=66585122&lang=cs&site=ehost-live>
4. CIEŚLIŃSKA, Mirosława. LESS COMMON PHYTOPLASMAS INFECTING STONE FRUIT TREES. *Journal of Plant Protection Research* [online]. 2011, **51**(4), 435-440 [cit. 2016-04-14]. ISSN 14274345. Dostupné z: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=eih&AN=66585121&lang=cs&site=ehost-live>
5. DAVIS, Robert E. PHYTOPLASMA TAXONOMY. In: *Plantpathology* [online]. United States Department of Agriculture Building 004, BARC-West 10300 Baltimore Ave. Beltsville, MD. 20705, 2004 [cit. 2016-03-29]. Dostupné z: http://plantpathology.ba.ars.usda.gov/pclass/pclass_taxonomy.html
6. DELIC, D., M. MARTINI, P. ERMACORA, A. MYRTA a L. CARRARO. Identification of fruit tree phytoplasmas and their vectors in Bosnia and Herzegovina. *EPPO Bulletin* [online]. 2007, **37**(2), 444-448 [cit. 2016-05-04]. DOI: 10.1111/j.1365-2338.2007.01115.x. ISSN 02508052. Dostupné z: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=26772378&lang=cs&site=ehost-live>

7. DICKINSON, Matthew a Jennifer HODGETTS. *Phytoplasma: methods and protocols*. New York: Humana, c2013, xiii, 421 p. ISBN 16-270-3089-1.
8. EPPO. *Pathogen-tested material of Malus, Pyrus and Cydonia: Certification Schemes* [online]. European and Mediterranean Plant Protection Organization, ©1999 [cit. 2016-05-04]. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2338.1999.tb00828.x/epdf>
9. HARRISON, N A., RAO, G P., MARCONE, C. *Characterization, Diagnosis and Management of Phytoplasmas*. Texas: Studium Press LLC, U. S. A., 2008. 422 s. ISBN 1-933699-30-2.
10. JARAUSCH, W., J. L. DANET, G. LABONNE, F. DOSBA, J. M. BROQUAIRE, C. SAILLARD a M. GARNIER. Mapping the spread of apricot chlorotic leaf roll (ACLR) in southern France and implication of *Cacopsylla pruni* as a vector of European stone fruit yellows (ESFY) phytoplasmas. *Plant Pathology* [online]. 2001, **50**(6), 782-790 [cit. 2016-05-01]. DOI: 10.1046/j.1365-3059.2001.00645.x. ISSN 00320862. Dostupné z: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=5721406&lang=cs&site=ehost-live>
11. KRŠKA, Boris a Tomáš NEČAS. *Candidatus phytoplasma prunorum* [online]. 2005 [cit. 2016-05-01]. Dostupné z: <http://zahradaweb.cz/candidatus-phytoplasma-prunorum/>
12. LEGRAND, P. Biological assays for plant viruses and other graft-transmissible pathogens diagnoses: a review. *EPPO Bulletin* [online]. 2015, **45**(2), 240-251 [cit. 2016-05-03]. DOI: 10.1111/epp.12222. ISSN 02508052. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/epp.12222>
13. MAEJIMA, Kensaku, Kenro OSHIMA a Shigetou NAMBA. Exploring the phytoplasmas, plant pathogenic bacteria. *Journal of General Plant Pathology* [online]. 2014, roč. 80, č. 3, s. 210-221 [cit. 2015-03-17]. DOI:

- 10.1007/s10327-014-0512-8. Dostupné z: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=96065457&lang=cs&site=ehost-live>
14. MARCONE, C. Molecular biology and pathogenicity of phytoplasmas. *Annals of Applied Biology* [online]. 2014, **165**(2), 199-221 [cit. 2016-04-14]. DOI: 10.1111/aab.12151. ISSN 00034746. Dostupné z: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=97545828&lang=cs&site=ehost-live>
15. MRÁČEK, zdeněk. *Nebezpečná choroba ovocných dřevin - evropská žloutenka peckovin: European stone fruit yellows phytoplasma (ESFY)* [online]. Ministerstvo zemědělství ČR ve spolupráci se Státní rostlinolékařskou správou, 2006 [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/file/58581/ESFY_letak.pdf
16. MZE. *Zemědělství 2014* [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství ČR, 2015 [cit. 2016-05-02]. ISBN 978-80-7434-219-6. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/file/407520/Publikace_Zemedelstvi_2014_web.pdf
17. NAMBA, Shigetou. Phytoplasmas: A century of pioneering research. *Journal of General Plant Pathology* [online]. 2011, roč. 77, č. 6, s. 345-349 [cit. 2015-03-16]. DOI: 10.1007/s10327-011-0341-y. Dostupné z: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=66913794&lang=cs&site=ehost-live>
18. NARAYANASAMY, P. *Microbial plant pathogens-detection and disease diagnosis: bacterial and phytoplasmal pathogens. Volume 2* [online]. Dordrecht: Springer, 2011 [cit. 2015-03-16]. ISBN 978-904-8197-699. Dostupné z: <http://site.ebrary.com/lib/mendelu/detail.action?docID=10425352>
19. NAVRÁTIL, M., P. LAUTERER, R. FIALOVÁ, M. BÁRNET, V. FALTA a M. STARÝ. *Metodika ochrany proti fytoplazmám ovocných dřevin: Metodika*

- ochrany výsadeb jabloní a meruněk proti fytoplazmám a jejich vektorům* [online]. In: Katedra buněčné biologie a genetiky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, 2008, s. 15 [cit. 2016-04-12]. Dostupné z: http://www.lmbm.upol.cz/doc/fyto_metodikaochranxyflo.pdf
20. NAVRÁTIL, Milan a Renata FIALOVÁ. *Fytoplazmy - významné patogeny rostlin*. Olomouc: Česká fytopatologická společnost, 2008, 147 s., [6]s. obr. příl. ISBN 80-903545-2-1.
21. NAVRÁTIL, Milan, Dana ŠAFÁŘOVÁ, Pavla VÁLOVÁ a kol. *Metodika detekce a identifikace karanténních fytoplazem ovocných dřevin: Metodika pro Státní rostlinolékařskou správu* [online]. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci; Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.; Mendelova zemědělská a lesnická univerzita; Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy, s.r.o., 2009, 30 [cit. 2016-05-02]. Dostupné z: http://lmbm.upol.cz/doc/fyto_FLOovocnychdrevin.pdf
22. NEČAS, Tomáš a Boris KRŠKA. Candidatus phytoplasma prunorum (european stone fruit yellows phytoplasma (ESFY)). In: *Interaktivní databáze chorob a škůdců ovocných plodin* [online]. s. 1 [cit. 2016-04-22]. Dostupné z: http://tilia.zf.mendelu.cz/ustavy/551/ustav_551/aplikace/soubory/esfy.pdf
23. NEČAS, Tomáš, Boris KRŠKA, V. MAŠKOVÁ a M. ADAM. *Influence of the Time of Sampling on Detection of ESFY Phytoplasma* [online]. Acta Hort., 2008, (781) [cit. 2016-05-03]. DOI: 10.17660 / ActaHortic.2008.781.62. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2008.781.62>
24. NESRSTA, Dušan. *Jádroviny: přes 160 barevných fotografií a popisů odrůd jádrovin*. Olomouc: Petr Baštan, 2011. ISBN 978-80-87091-17-3.
25. OBURA, E., D. MASIGA, F. WACHIRA, B. GURJA a Z.R. KHAN. Detection of phytoplasma by loop-mediated isothermal amplification of DNA (LAMP). *Journal of Microbiological Methods* [online]. 2011, **84**(2), 312-316

- [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.1016/j.mimet.2010.12.011. ISSN 01677012.
Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167701210004422>
26. OIIVIER, Chrystel Y., D. Thomas LOWERY a Lorne W. STOBBS. Phytoplasma diseases and their relationships with insect and plant hosts in Canadian horticultural and field crops. *Canadian Entomologist* [online]. 2009, roč. 141, č. 5, s. 425-462 [cit. 2015-03-16]. DOI: 10.4039/n08-CPA02. Dostupné z: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=eih&AN=45452811&lang=cs&site=ehost-live>
27. OSLER, R., S. BORSELLI, P. ERMACORA a kol. Transmissible tolerance to European stone fruit yellows (ESFY) in apricot: cross-protection or a plant mediated process? *Phytoparasitica* [online]. 2016, , 1 - 9 [cit. 2016-03-29]. DOI: 10.1007/s12600-016-0509-2. ISSN 18767184. Dostupné z: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edselc&AN=edselc.2-52.0-84959172002&lang=cs&site=eds-live>
28. *Phloem: molecular cell biology, systemic communication, biotic interactions*. Editor Gary A. THOMPSON, editor Aart Jan Eeuwe van BEL. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2013. [cit. 2016-04-26]. ISBN 9781118382844. Dostupné z: <http://site.ebrary.com/lib/mendelu/docDetail.action?docID=10593214>
29. ROD, Jaroslav. *Atlas chorob a škůdců ovoce, zeleniny a okrasných rostlin. 2., přeprac. a dopl. vyd. Líbeznice: Víkend, 2006. ISBN 80-86891-29-1.*
30. SCHLESINGEROVÁ, Gabriela. *Candidatus Phytoplasma mali Proliferace jabloně*. [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství ČR ve spolupráci se Státní rostlinolékařskou správou, 2011. [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/file/139699/proliferace_jablone.pdf
31. SUGAWARA, Kyoko, Misako HIMENO, Takuya KEIMA, Yugo KITAZAWA, Kensaku MAEJIMA, Kenro OSHIMA a Shigetou NAMBA. Rapid and reliable

detection of phytoplasma by loop-mediated isothermal amplification targeting a housekeeping gene. *Journal of General Plant Pathology* [online]. 2012, **78**(6), 389-397 [cit. 2016-05-05]. DOI: 10.1007/s10327-012-0403-9. ISSN 1345-2630. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10327-012-0403-9>

32. ŠEFROVÁ, Hana. *Rostlinolékařská entomologie*. 1. vyd. Brno: Konvoj, 2006. ISBN 80-7302-086-6.
33. TEDESCHI, R., V. FERRATO, J. ROSSI a A. ALMA. Possible phytoplasma transovarial transmission in the psyllids *Cacopsylla melanoneura* and *Cacopsylla pruni*. *Plant Pathology* [online]. 2006, **55**(1), 18-24 [cit. 2016-04-06]. DOI: 10.1111/j.1365-3059.2005.01292.x. ISSN 00320862. Dostupné z: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=19411495&lang=cs&site=ehost-live>
34. *The peach: botany, production and uses*. Editor Desmond R LAYNE, editor Daniele BASSI. Wallingford, Oxfordshire, UK: CABI, c2008. ISBN 978-1-84593-386-9.
35. VAHALA, Otmar. *Chřadnutí hrušně, Candidatus Phytoplasma pyri* [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství ve spolupráci se Státní rostlinolékařskou správou, 2008, 2 [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/file/58546/Candidatus_Phytoplasma.pdf
36. VŠŮO. *Diagnostické metody detekce patogenních organismů: Metodické listy OPVK* [online]. Holovousy: Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o, ©2015-2016, 14 s. [cit. 2016-05-04]. Dostupné z: http://www.vsuo.cz/common/cms_files_pr/files_to_download/A9_Diagnosticke_metody_detekce_patogennich_organismu.pdf
37. VU, Nam Tuan, Juan Manuel PARDO, Elizabeth ALVAREZ, Ham Huy LE, Kris WYCKHUYS, Kim-Lien NGUYEN a Dung Tien LE. Establishment of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for the detection of

phytoplasma-associated cassava witches' broom disease. *Applied Biological Chemistry* [online]. 2016, **59**(2), 151-156 [cit. 2016-05-04]. DOI: 10.1007/s13765-015-0134-7. ISSN 2468-0834. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s13765-015-0134-7>

38. Vyhláška č. 215/2008 Sb., o opatřeních proti zavlékání a rozšiřování škodlivých organismů rostlin a rostlinných produktů [online]. In: *Sbírka zákonů*. 11. 6. 2008. [cit. 2016-04-28]. ISSN 1211-1244. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/tematicky-prehled/Legislativa-MZe_uplna-zneni_Vyhlaska-2008-215-rostlinolekarskapece.html
39. WEINTRAUB, P G. -- JONES, P. *Phytoplasmas : genomes, plant hosts, and vectors*. Cambridge, MA: CABI North American Office, 2010. 331 s. ISBN 978-1-84593-530-6.
40. Zákon č. 252/1997 Sb., o zemědělství: Zásady pro poskytování dotací podle § 2 a §2d zákona o zemědělství [online]. Ministerstvo zemědělství, 2014 [cit. 2016-04-28]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/dotace/narodni-dotace/zasady-zemedelstvi-potravinarstvi/>
41. Zákon č. 326/2004 Sb., rostlinolékařské péči a o změně některých souvisejících zákonů [online]. In: *Sbírka zákonů*. 29. 4. 2004. [cit. 2016-04-28]. ISSN 1211-1244. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/tematicky-prehled/Legislativa-MZe_uplna-zneni_zakon-2004-326-viceoblasti.html

Seznam použitých zkratk

ACLP	Svinutka listů meruněk (Apricot chlorotic leafroll phytoplasma)
AP	Proliferace jabloně (Apple Proliferation)
C	Cytosin báze
' <i>Ca. P. prunorum</i> '	' <i>Candidatus phytoplasma prunorum</i> '
' <i>Ca. P. pyri</i> '	' <i>Candidatus phytoplasma pyri</i> '

' <i>Ca. P. mali</i> '	' <i>Candidatus phytoplasma mali</i> '
ČR	Česká republika
DAPI	Fluorescenční barvivo 4',6-diamidin-2-fenylindol
DNA	Deoxyribonukleová kyselina (deoxyribonucleic acid)
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EPPO	Evropská a Středozevní organizace ochrany rostlin (European and Mediterranean Plant Protection Organization)
ESFY	Evropská žloutenka peckovin (European Stone Fruit Yellows Phytoplasma)
EU	Evropská unie
G	Guanin báze
IAA	Kyselina indol-3-octová (Indole Acetic Acid)
IOR	Integrovaná ochrana rostlin
ISHS	International Society for Horticultural Science
LAMP	Izotermální amplifikace (Loop Mediated Isothermal Amplification)
MLOs	Mykoplazmám podobné organismy (mycoplasma-like organism)
MZe	Ministerstvo zemědělství ČR
NAPPO	North American Plant Protection Organization
NPPO	National Plant Protection Organization
PCR	Polymerázová řetězová reakce (Polymerase Chain Reaction)
PD	Chřadnutí hrušně (Pear Decline Phytoplasma)
PLN	Plum leptonecrosis
rDNA	ribozomální deoxyribonukleová kyselina
RFLP	Délkový polymorfismus restrikčních fragmentů (Restriction Fragment Length Polymorphism)
<i>T. pyri</i>	<i>Typhlodromus pyri</i> (dravý roztoč)
VŠŮO	Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy, s.r.o.
ÚKZÚZ	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský

8 PŘÍLOHA

SEZNAM OBRÁZKŮ

- Obr. I Fluorescenční metoda, vzorek z jabloně infikované AP.
- Obr. II Apple Proliferation na plodech jabloně. Výrazné zmenšení plodů s úzkými, protáhlými stopkami.
- Obr. III Zvětšené palisty v důsledku přítomnosti AP.
- Obr. IV Metlovitost výhonů na jabloni, příznak AP.
- Obr. V Proliferace výhonů na jabloni, příznak AP.
- Obr. VI Značně zvětšený květ, složený z mnoha lístků. Symptom AP.
- Obr. VII Svinování listů na meruňce, způsobeno ESFY.
- Obr. VIII Červenání listů na japonské švestce, způsobeno ESFY.
- Obr. IX Předčasné červenání listů na hrušni, způsobeno PD.
- Obr. X Samec mery černožilné (*Cacopsylla melanoneura*).

SEZNAM TABULEK

- Tab. I Velikost genomu některých fytoplazem
- Tab. II Fytoplazmové onemocnění ovocných dřevin, jejich vektory z rodu *Psylloidea* a hostitelské rostliny
- Tab. III Jméno a sekvence primerů a jejich specifčnost určených pro detekci fytoplazem DNA pomocí real-time PCR
- Tab. IV Symptomy, které je potřeba sledovat v průběhu roku
- Tab. V Doporučené přípravky pro aplikaci proti vektorům fytoplazem



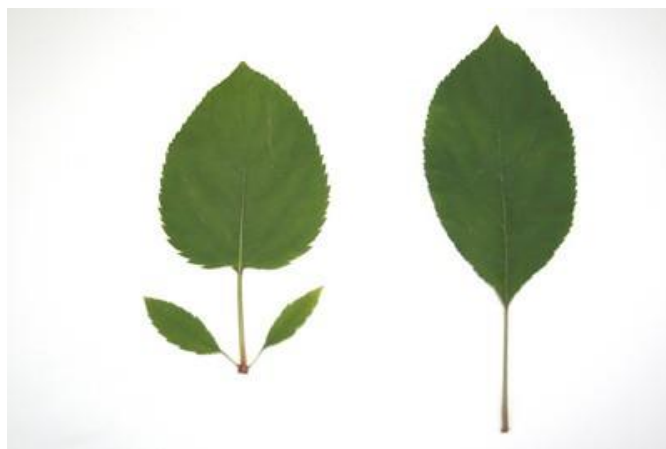
Obr. I Fluorescenční metoda, vzorek z jabloně infikované AP.

Autor: Osler/DBADP (© 2016); zdroj: University of Udine, Italy; dostupné z: <http://www.plantwise.org/knowledgebank/DatasheetImages.aspx?dsID=6502>



Obr. II Apple Proliferation na plodech jabloně. Výrazné zmenšení plodů s úzkými, protáhlými stopkami.

Autor: M. Cielinska (2010); zdroj: COST Action FA0807M Integrated Management of Phytoplasma Epidemics in Different Crop Systems; dostupné z: <http://www.costphytoplasma.ipwgnet.org/WG1/Pictures/Apple%20proliferation%20M.%20Cielinska%201.jpg>



Obr. III Zvětšené palisty v důsledku přítomnosti AP.

Autor: M. Cielinska (2010); zdroj: COST Action FA0807M Integrated Management of Phytoplasma Epidemics in Different Crop Systems; dostupné z: <http://www.costphytoplasma.ipwgnet.org/WG1/Pictures/Apple%20proliferation%20M.%20Cielinska%202.jpg>



Obr. IV Metlovitost výhonů na jabloni, příznak AP.

Autor: M. Cielinska (2010); zdroj: COST Action FA0807M Integrated Management of Phytoplasma Epidemics in Different Crop Systems; dostupné z: <http://www.costphytoplasma.ipwgnet.org/WG1/Pictures/Apple%20proliferation%20M.%20Cielinska.jpg>



Obr. V Proliferace výhonů na jabloni, příznak AP.

Autor: Bojan Duduk (2010); zdroj: COST Action FA0807M Integrated Management of Phytoplasma Epidemics in Different Crop Systems; Dostupné z: http://www.costphytoplasma.ipwgnet.org/WG1/Pictures/Apple_proliferation_Bojan_Duduk.jpg



Obr. VI Značně zvětšený květ, složený z mnoha lístků. Symptom AP.

Autor: Loschi/DBADP (© 2016); zdroj: University of Udine, Italy; dostupné z: <http://www.plantwise.org/knowledgebank/DatasheetImages.aspx?dsID=6502>



Obr. VII Svinování listů na meruňce, způsobeno ESFY.

Autor: M. Cielinska (2010); zdroj: COST Action FA0807M Integrated Management of Phytoplasma Epidemics in Different Crop Systems; dostupné z: <http://www.costphytoplasma.ipwgnet.org/WG1/Pictures/apricot%20ESFY%20M.%20Cielinska.jpg>



Obr. VIII Červenání listů na japonské švestce, způsobeno ESFY.

Autor: M. Cielinska (2010); zdroj: COST Action FA0807M Integrated Management of Phytoplasma Epidemics in Different Crop Systems; dostupné z: <http://www.costphytoplasma.ipwgnet.org/WG1/Pictures/ESFY%20in%20Japanase%20plum%20M.%20Cielinska.jpg>



Obr. IX Předčasné červení listů na hrušni, způsobeno PD.

Autor: M. Cielinska (2010); zdroj: COST Action FA0807M Integrated Management of Phytoplasma Epidemics in Different Crop Systems; dostupné z: <http://www.costphytoplasma.ipwgnet.org/WG1/Pictures/Pear%20decline%20M.%20Cielinska.jpg>



Obr. X Samec mery černožilné (*Cacopsylla melanoneura*).

Autor: Miroslav Deml (2010); zdroj: BioLib.cz; dostupné z: <http://www.biolib.cz/cz/taxonimage/id113217/?taxonid=101680>