

SPOLEHLIVOST ZÁCHYTU VIRŮ JÁDROVIN A VIRU ŠARKY ŠVESTKY METODOU ELISA V ZIMNÍM OBDOBÍ

RELIABILITY OF POME VIRUSES AND PLUM POX VIRUS DETECTION DURING THE WINTERTIME USING AN ELISA METHOD

Martina Rejlová, Lucie Valentová, Josef Podlipný,
Radek Čmejla

VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s. r. o.,
Holovousy 129, 508 01 Holovousy

e-mail: rejlova@vsuo.cz

ABSTRAKT

Přítomnost viru mozaiky jabloně (Apple mosaic virus, ApMV), viru chlorotické skvrnitosti listů jabloně (Apple chlorotic leaf spot virus, ACLSV), viru vrásčitosti kmene jabloně (Apple stem pitting virus, ASPV), viru žlábkovitosti kmene jabloně (Apple stem grooving virus, ASGV) a viru šarky švestky (Plum pox virus, PPV) je v ovocných dřevinách celosvětově pravidelně monitorována. Pro rutinní testování těchto rostlinných virů se obvykle využívá sérologická metoda ELISA. Možnost celoročního testování je ale ovlivněna proměnlivou spolehlivostí zachytu virů v rostlinných pletivech ovocných dřevin. Tato práce je zaměřena na vhodnost využití rostlinného materiálu odebraného v zimním období k detekci jabloňových virů a viru šarky švestky metodou ELISA. Testy byly provedeny u infikované jabloně a slivoně ve čtyřech různých lednových termínech z dormantních a narašených pupenů. Ukázalo se, že ke spolehlivému zachytu virů ACLSV, ApMV a ASPV dostačuje sedmidenní rašení, v případě viru ASGV je nutné 14tidenní rašení. Optimální termín odběru je od druhé poloviny ledna. Virus šarky švestky byl spolehlivě detekován po celý měsíc leden z dormantních pupenů v den odběru bez nutnosti rašení.

Klíčová slova: ACLSV, ApMV, ASPV, ASGV, PPV, detekce ELISA, pupeny

ABSTRACT

Apple mosaic virus (ApMV), Apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV), Apple stem pitting virus (ASPV), and Apple stem grooving virus (ASGV), and together with Plum pox virus (PPV) are regularly monitored worldwide in fruit trees. These viruses are usually routinely tested using a serological method enzyme linked immunosorbent assays

(ELISA). However, the suitability of the ELISA method for virus testing throughout the entire year is limited by an inconsistent reliability of virus detections in plant tissues during seasons. Our work focused on suitability of plant tissues sampled during the wintertime for the detection of the apple viruses and PPV using ELISA. Shoots of infected apple and plum trees were sampled in four terms in January, and either dormant buds or sprouting buds were used for the testing. We found that ACLSV, ApMV, and ASPV could be reliably detected in buds after 7 days of sprouting. However, 14 days of sprouting was necessary for ASGV. Ideally, sampling should be carried out in the second half of January. PPV was reliably detected during the entire January from dormant buds without any need of forced sprouting.

Keywords: ACLSV, ApMV, ASPV, ASGV, PPV, ELISA detection, buds

ÚVOD

Virus mozaiky jabloně (Apple mosaic virus, ApMV), virus chlorotické skvrnitosti listů jabloně (Apple chlorotic leaf spot virus, ACLSV), virus vrásčitosti kmene jabloně (Apple stem pitting virus, ASPV), virus žlábkovitosti kmene jabloně (Apple stem grooving virus, ASGV) a virus šarky švestky (Plum pox virus, PPV) patří mezi celosvětově rozšířené patogeny ovocných plodin, které způsobují ekonomicky významné ztráty. Účinná ochrana ovocných plodin spočívá v zamezení šíření virů a v jejich postupném vymýcení. Toho lze docílit produkcí a používáním zdravého certifikovaného množitelského materiálu, protože rostlinné viry jsou přenosné infikovaným množitelským materiálem, jako např. rouby, očky a vegetativně množenými podnožemi. Virus šarky švestky se může přirozeně šířit pomocí bodavě svého hmyzu neperzistentním způsobem. Šíření výše uvedených jabloňových virů pomocí vektoru nebylo doposud pozorováno (Grimová a kol. 2016, Schlesingerová 2011).

Dle nařízení Evropského parlamentu a Rady 2016/2031 (čl. 37, odst. 2) a prováděcího nařízení Komise (EU) 2019/2072 ze dne 28. listopadu 2019 se řadí viry ApMV, ACLSV, ASPV, ASGV a PPV mezi regulované nekaranténní škodlivé organizmy (RNŠO) pro rozmnožovací materiál ovocných rostlin (EUR-Lex 2019). V rámci EU se uplatňují certifikační schémata testování rostlinných hostitelů zmíněných virů, které vydává Evropská a Středozevní organizace ochrany rostlin (European and Mediterranean Plant Protection Organization, EPPO). V České republice jsou požadavky na zdravotní stav množitelského materiálu ovocných plodin stanoveny vyhláškou č. 96/2018 Sb. a v příloze č. 2 je uveden seznam RNŠO, ohledně jejichž výskytu se musí provádět vizuální přehlídka a ve vhodných případech odběr vzorků a testování rozmnožovacího materiálu. Dle standardů EPPO je povinnou součástí certifikace matečné rostliny testování pomocí dřevinných indikátorů, což je metoda prostorově a časově náročná, neboť hodnocení příznaků onemocnění trvá minimálně 2 roky. Proto se na začátku procesu certifikace využívají sérologické a molekulárně genetické metody k tzv. předtestům vytipované matečné rostliny. Při nich

je infikovaná rostlina detekována a vyřazena ještě před vstupem do několikaletého certifikačního schématu. Jedním z důvodů, proč se nevyužívá pouze těchto specifických a citlivých laboratorních metod pro proces certifikace, je proměnná spolehlivost testů v závislosti na ročním období (EPPO 1991). Z tohoto důvodu musí být výsledky poměrně levné a relativně jednoduché sérologické metody enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ověřovány i dalšími postupy např. PCR testy. Správné naplánování odběrů je proto velmi důležité.

Matic a kol. v roce 2008 publikovali data týkající se studia přítomnosti virů PNRSV, PDV a ApMV sledovaných v průběhu roku 2005 na stromech peckovin pomocí metody ELISA. Nejvyšší míra úspěšnosti detekce u všech tří virů byla dosažena v zimě. S výjimkou ApMV byla detekce spolehlivá i na jaře a počátkem léta. Problematikou týkající se optimálního termínu odběru vzorku a vhodnosti typu analyzovaného pletiva se v České republice zabývali autoři certifikované metodiky diagnostiky virů ApMV, ACLSV a ASGV v odrůdách a podnožích jabloně a hrušně pomocí metody ELISA (Svoboda a Polák 2010). Vhodný termín odběru pro zkoumané viry, tj. období s nejvyšším výskytem viru byl zjištěn na jaře v době květu jaderovin, a jako nejvhodnější materiály k analýze byly doporučeny mladé listy a okvětní plátky. V certifikované metodice autorů Grimová, Winkowská a Ryšánek z roku 2016 nalezneme přehledy zkoumaných a posléze doporučených nejvhodnějších termínů pro odběr konkrétního typu rostlinného pletiva jabloní pro detekci jednotlivých virů ApMV, ACLSV, ASPV, ASGV v průběhu roku pomocí detekčních metod ELISA, RT-PCR a kvantitativní RT-PCR. Nicméně tito autoři se v metodice nezabývali testováním virů v listopadu a zimních měsících leden a únor. V dostupné literatuře nejsou uvedeny další studie týkající se detekce rostlinných virů ovocných plodin metodou ELISA v podmínkách České republiky v zimních měsících.

Obecně je možné provést testování ovocných plodin na přítomnost virů i v zimních měsících, kdy se odebírají výhony a pro vlastní detekci se používají narašené pupeny. Přemístěním odebraných výhonů do vody a jejich stáním při pokojové teplotě lze docílit narašení pupenů. Tento krok vede k přerušení exogenní (vnější) dormance, jenž je v přírodních podmínkách indukována např. chladem, mrazem či suchem. Naproti tomu se endogenní dormance odvíjí od zkracování světelné části dne a snižování teploty a současně závisí na ovocném druhu, odrůdě a stáří dřeviny (Heide a Prestrud 2005). Konec endogenní dormance nastává u různých ovocných druhů přibližně ve stejné době, a to tehdy, když teplotní podmínky v přírodě jsou pro rašení rostlin již trvale nepříznivé, tj. po trvalém poklesu průměrných denních teplot pod bod mrazu (Červenka 1972, Lang 1987). Nízká teplota současně indukuje v pupenech pokles hladiny inhibičního fytohormonu. Úplné vymizení endogenního odpočinku je možno konstatovat zpravidla až v polovině ledna, což by mohlo negativně ovlivňovat možnost vybuzení dormantních pupenů v prosinci nebo lednu (Prudil 2017).

Cílem naší studie tedy bylo ověřit vhodnost využití pletiv ovocných dřevin odebraných v lednu a zhodnotit spolehlivost detekce rostlinných virů z materiálu odebraného v zimním období. Tento přístup by umožnil časnější zpracování většího

množství vzorků diagnostickými laboratořemi a zároveň by pěstitelům umožnil plánování odběrů vzorků pro testování v delším časovém období.

MATERIÁL A METODY

Vzorkování

Pro sledování záchytu rostlinných virů v zimním období byly vybrány dva infikované stromy rostoucí v soukromých zahradách v okrese Jičín, a to slivoň (neznámá odrůda) a jabloň odrůdy 'Lipno'. U těchto ovocných dřevin byla v minulosti opakovaně potvrzena virová infekce metodou ELISA. Z výsledků předchozích testů bylo známo, že slivoň byla infikována virem šarky švestky (PPV) s vysokou virovou náloží a zároveň byla vyloučena přítomnost viru zakrslosti slivoně (Prune dwarf virus, PDV) a viru nekrotické kroužkovitosti slivoně (Prunus necrotic ringspot virus, PNRSV). U jabloně byla potvrzena směsná infekce všech čtyř virů ApMV, ACLSV, ASPV a ASGV a současně byla negativní na přítomnost fytoplazmy proliferace jabloně (*Candidatus Phytoplasma mali*).

V průběhu měsíce ledna 2021 byly odebírány vzorky ze dvou vytipovaných infikovaných stromů, a to celkem čtyři odběry v týdenních intervalech (4. 1., 11. 1., 18. 1. a 25. 1. 2021). Z různých částí koruny byly odebrány čtyři jednoleté výhony s dormantními pupeny, které byly ihned po transportu do laboratoře analyzovány (kromě odběru 4. 1. 2021) a dále ponechány k rašení při pokojové teplotě ve vodě. Narašené výhony byly analyzovány 7. a 14. den od data odběru. Zdrojovým materiálem pro analýzy byly v den odběru dormantní pupeny, a po 7 a 14 dnech rašení květní a listové pupeny. Průběh zimních měsíců byl monitorován pomocí teploty. Údaje o teplotě vzduchu byly získány z meteostanice Holovousy.

Postup ELISA

Z každého výhonu bylo k analýze odebráno 0,2 g rostlinného materiálu. Pro diagnostiku virů se použily komerčně dostupné DAS-ELISA detekční kity a originální reagentie od firmy Bioreba (PPV k.č. 150565, ApMV k.č. 150765, ACLSV k.č. 151065, ASPV k.č. 151865 a ASGV k.č. 150865). Bylo postupováno podle návodu výrobce. Homogenizace rostlinného pletiva v extrakčním pufru v poměru 1:20 (w/v) se prováděla tyčovým homogenizátorem (Polytron, Anselma–Industrie). Specifické protilátky naředěné v potahovacím pufru v poměru 1:1 000 se inkubovaly 4 hodiny při 30 °C v mikrotitrační destičce (Nunc MaxiSorp, Thermo Scientific, dodavatel Bioreba). Po vymytí nenavázaných protilátek se dávkovaly extrakty vzorků v dubletu a proběhla inkubace přes noc při 4 °C. Pro potvrzení úspěšně proběhlého testu ELISA se současně se vzorky dávkovaly do destičky dodané negativní a pozitivní kontroly z detekčních kitů, a rovněž infikované a viruprosté rostlinné kontroly. Jako negativní kontrola celého postupu byl použit samotný extrakční pufr. Specifické protilátky

s navázanou alkalickou fosfatázou naředěné v konjugačním pufru v poměru 1:1 000 se dávkovaly do destičky po vymytí vzorků. Inkubace probíhala celkem 5 hodin při 30 °C. Na závěr po vymytí destičky se dávkoval substrátový pufr s chromogenním substrátem (*p*-nitrofenylfosfát) o koncentraci 1 mg/ml. Inkubace proběhla v temnu za pokojové teploty po dobu 60 minut. Spektrofotometrem se odečetla intenzita zabarvení dle doporučení výrobce Bioreba při vlnových délkách 405 nm a 492 nm (Sunrise RC, TECAN). Naměřená data byla zpracována softwarem KIM. Vyhodnocení dat a stanovení meze positivity bylo provedeno dle modifikované metody výrobce Bioreba. Pro stanovení negativity se vypočítala prahová hodnota absorbance: $A_p = X + 3SD$, kde X je průměrná absorbance extrakčních případně negativních kontrol a SD je jejich standardní odchylka. Negativní vzorky měly alespoň jednu hodnotu absorbance menší nebo rovnu prahové hodnotě absorbance, pozitivní vzorky měly obě hodnoty absorbance vyšší nebo rovny dvojnásobku prahové hodnoty absorbance. Za potenciálně pozitivní vzorky („podezřelé“) byly označeny vzorky, které nelze vyhodnotit jako pozitivní ani jako negativní.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Během měsíce ledna byl u odebraných infikovaných ovocných dřevin proveden monitoring koncentrace jabloňových virů a viru šarky švestky. U těchto již dříve testovaných stromů byly v předchozích letech opakovaně zachyceny viry ApMV, ACLSV, ASPV a ASGV u jabloně a virus PPV u slivoně. Hlavním cílem práce bylo zhodnotit spolehlivost detekce virů u ovocných dřevin i v zimním měsíci lednu. Dílčím cílem bylo ověření, zdali je nutné před samotnou analýzou ponechat dormantní pupeny jednoletých výhonů po určitou dobu rašit.

V této práci byly porovnány výsledky získané po odběru vzorků během čtyř lednových termínů. Současně byly porovnány i různé zdrojové materiály pocházející z totožného výhonu. V praxi se jako primární materiál pro detekci patogenů metodou ELISA používají zejména listy. Vzhledem k nepřítomnosti listů v průběhu zimního a na začátku jarního období se však k analýzám využívají narašené květní a listové pupeny, kůra a lýko. Využití dormantních pupenů by tak umožnilo zkrácení procesu analýzy vzorku o 7–14 dní.

Analýza detekovatelnosti jabloňových virů ApMV, ACLSV, ASPV a ASGV

Co se týká vývoje detekovatelnosti sledovaných jabloňových virů v rostlinném pletivu v průběhu měsíce ledna, nebyl pozorován jednoznačný trend (Tabulka 1). Ke strmému nárůstu detekovatelnosti viru po 14 dnech rašení došlo zejména u vzorků odebraných ve druhé polovině ledna, a to u ACLSV, ASPV a ASGV. Tento trend je pravděpodobně spojen s poklesem průměrné teploty vzduchu pod bod mrazu 14 dní před jejich odběrem (Graf 1). Můžeme se tedy domnívat, že působením nepříznivých podmínek

v první polovině ledna jabloně vystoupily z endogenní dormance, což se projevilo příznivějšími podmínkami k namnožení virů v rašících pupenech. U viru ApMV tento jev však pozorován nebyl. Možnou příčinou může být nerovnoměrná distribuce virových částic ApMV nejen na úrovni různých částí koruny stromu, ale i na úrovni jednotlivých partií jednoletého výhonu. Tyto výsledky tedy potvrzují nutnost použití smíšeného vzorku z různých částí koruny stromu pro spolehlivé zachycení viru.

V certifikované metodice autorů Svobody a Poláka z roku 2010, týkající se diagnostiky virů ApMV, ACLSV a ASGV v odrůdách a podnožích jabloně a hrušně používající sérologické metody ELISA je uvedeno, že virus ApMV nebyl detekován v dormantních pupenech jabloní odebraných v listopadu. Naproti tomu byl zachycen v jarních měsících v listech a květech těchto stromů. Vzhledem k vysoké náloži ApMV v námi testované jabloni se virus podařilo detekovat i v dormantních pupenech již v měsíci lednu. Pro spolehlivou detekci viru ASGV udávají autoři v jejich metodice tři nejvhodnější období. Jedno z nich je stanoveno od konce listopadu až do konce ledna s tím, že odebrané výhony se uchovávají v chladu. Po době odpočinku se v březnu výhony přemístí do vhodných podmínek k vyvolání rašení a následně se provede detekce viru z narašených listů. Pro stanovení viru ACLSV v metodice doporučují, vzhledem k jeho nízkým obsahům v pletivech jabloní, provádět testy v období intenzivního růstu, tj. v květnu v době květu nebo v červnu. Z našich výsledků je však patrné, že jabloňové viry lze spolehlivě detekovat již v lednu s tím, že v druhé polovině ledna byly viry ApMV, ACLSV a ASPV spolehlivě zachyceny i v pupenech bez jejich narašení. Pro validní testování lednových odběrů jabloní však doporučujeme provádět odběry od poloviny ledna a ponechat výhony rašit 7 dní před stanovením virů ApMV, ACLSV, ASPV a 14 dní pro spolehlivou detekci viru ASGV.

Analýza detekovatelnosti viru šarky švestky

Výsledky testování PPV jsou uvedeny v Tabulce 2. V případě PPV dochází v průběhu rašení překvapivě spíše ke snížení nálože viru v rašících pupenech slivoně. Možným vysvětlením může být kvalita zdrojového materiálu. Jednalo se o větve s krátkými jednoletými výhony s nízkým počtem pupenů. Při poslední navážce materiálu k analýze odpovídající 14 dnům rašení, stoupl poměr kůry a lýka vůči pupenům. Nicméně přesto lze konstatovat, že použití dormantních pupenů poskytuje u viru PPV obdobné výsledky jako v pupenech po jednom týdnu rašení, a to u všech čtyř lednových odběrů. Virus PPV lze tedy validně a bez problémů detekovat v průběhu celého ledna přímo z pupenů bez nutnosti jejich narašení.

ZÁVĚR

Spolehlivé detekce virů jabloní ACLSV, ApMV, ASPV a ASGV metodou ELISA lze docílit i v měsíci lednu, avšak za určitých podmínek týkajících se termínu odběru a

přípravy vzorků před samotnou analýzou. V souvislosti s charakterem počasí a výstupem ovocných dřevin z endogenní dormance lze doporučit pro detekci přítomnosti jabloňových virů v jádrovinách odběry vzorků v druhé polovině ledna. Odebrané výhony je poté vhodné ponechat minimálně 7 dní rašit při pokojové teplotě ve vodě. Pro virus ASGV doporučujeme rašení pupenů před vlastní analýzou po dobu 14 dní. Testování slivoní na přítomnost viru PPV lze provádět bez omezení v průběhu ledna již v den odběru z dormantních pupenů. Na druhou stranu se nejedná o období s nejvyšší koncentrací viru, které bývá zpravidla až v jarních měsících v době intenzivního růstu ovocných dřevin, proto doporučujeme obezřetnost při výběru vhodného termínu testování metodou ELISA s ohledem na účel testování. V případě potřeby je však i testování lednových vzorků spolehlivé.

PODĚKOVÁNÍ

Výzkum byl realizován v rámci institucionální podpory RO1521 poskytnuté Ministerstvem zemědělství České republiky. Poděkování patří také laborantce paní Lucii Zálešákové za precizně odvedenou práci v průběhu experimentů v laboratoři ELISA.

POUŽITÁ LITERATURA

- Certification scheme. Virus-free or virus-tested fruit trees and rootstocks [online]. *Bulletin OEPP/EPPO*. 1991, 21(2): 267–277. [cit. 2021-02-17]. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-2338.1991.tb01239.x>.
- ČERVENKA, K. a kol. *Ovocnictví*. 3.vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1972.
- EUR-Lex. Dokument 02019R2072-20210101. Prováděcí nařízení Komise (EU) 2019/2072 ze dne 28. listopadu 2019 [online]. [cit. 2021-02-17]. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A02019R2072-20210101>.
- GRIMOVÁ L., L. WINKOWSKA a P. RYŠÁNEK. *Detekce vybraných virů infikujících jabloně*. Certifikovaná metodika. Česká zemědělská univerzita v Praze, 2016. ISBN: 979-80-216-2722-1.
- HEIDE, O.M. and A.K. PRESTRUD. Low temperature, but not photoperiod controls growth cessation and dormancy induction and release in apple and pear [online]. *Tree Physiology*. 2005, 25: 109–114 [cit. 2021-02-19]. ISSN 1758-4469. DOI: 10.1093/treephys/25.1.109.
- LANG, G.A. Dormancy: a new universal terminology. *HortScience*. 1987, 22: 817–820. ISSN 0018-5345.
- MATIC, S., J. A. SANCHEZ-NAVARRO, B. MANDIC, A. MYRTA and V. PALLAS. Tracking three ilarviruses in stone fruit trees throughout the year by ELISA and

- tissue-printing hybridization [online]. *Journal of Plant Pathology*. 2008, 90: 137–141 [cit. 2021-02-17]. ISSN 2239-7264. Dostupné z: <https://www.jstor.org/stable/41998472>.
- Mendelova univerzita v Brně. Webhost.mendelu.cz. Úloha č. 19: Dormance a rašení pupenů dřevin [online]. [cit. 2021-02-17]. Dostupné z: http://web2.mendelu.cz/af_211_multitext/vyuka/fyr1/rtf/19.pdf.
- NAVRÁTIL M., P. VÁLOVÁ a J. ROHOŽKOVÁ. *Cvičení z obecné virologie. Praktická cvičení z obecné virologie pro posluchače Přírodovědecké fakulty UP* [online]. 2014, [cit. 2021-02-18]. Dostupné z: https://www.prf.upol.cz/fileadmin/userdata/PrF/katedry/kbb/Dokumenty/Materialy_k_vyuce/OBVS_B_Cviceni_z_obecne_virologie_navody_2015.docx.
- SCHLESINGEROVÁ, G. *Virus šarky švestky* [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství ČR ve spolupráci se Státní rostlinolékařskou správou. 2011, [cit. 2021-02-18].
- SVOBODA, J. a J. POLÁK. *Metodika diagnostiky ApMV, ACLSV a ASGV v odrůdách a podnožích jabloně a hrušně pomocí ELISA*. Certifikovaná metodika pro praxi. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. [online]. 2010, [cit. 2021-02-17]. Dostupné z: <http://invenio.nusl.cz/record/113413/files/metodikadiagnostiky.pdf>.
- System ALA. Sonda pro měření teploty vzduchu [online]. [cit. 2021-02-17]. Dostupné z: <http://data.ala1.com/chart/cl.php?probe=11359193>.

TABULKY A OBRÁZKY

Tabulka 1. Výsledky testování výhonů jabloně na přítomnost jabloňových virů ACLSV (Varianta A), ApMV (Varianta B), ASPV (Varianta C) a ASGV (Varianta D) s použitím metody ELISA. Průměrná hodnota absorbance vzorků byla stanovena ze 4 výhonů za podmínek provedení testu v technických duplikátech. Uvedeny hodnoty absorbance po odečtení pozadí ($A_{405\text{ nm}} - A_{492\text{ nm}}$) a následném odečtení průměrné hodnoty absorbance extrakčního pufru. [-] negativní výsledek, [+] pozitivní výsledek, [PP] potenciálně pozitivní výsledek.

Table 1. Results of ELISA testing of apple shoots for the presence of apple viruses ACLSV (Variant A), ApMV (Variant B), ASPV (Variant C), and ASGV (Variant D). Four shoots were analyzed in technical duplicates. Absorbance was measured at 405 nm from which a background measured at 492 nm was subtracted. Afterwards, an average value of a pure extraction buffer was subtracted, and means and standard deviations were calculated. [-] negative result; [+] positive result; [PP] potentially positive result.

Varianta A

Variant A

ACLSV	Analýza v den odběru ¹⁾		7 dní rašení ²⁾		14 dní rašení ³⁾	
4.1.2021	neanalyzováno ⁴⁾		PP	0,106 ± 0,031	+	0,237 ± 0,076
			+		+	
			+		+	
			PP		+	
11.1.2021	+	0,120 ± 0,034	+	0,179 ± 0,062	+	0,300 ± 0,156
	+		+		+	
	PP		+		+	
	PP		+		+	
18.1.2021	PP	0,119 ± 0,034	+	0,202 ± 0,134	+	0,748 ± 0,192
	+		+		+	
	+		+		+	
	PP		+		+	
25.1.2021	+	0,190 ± 0,022	+	0,314 ± 0,095	+	0,521 ± 0,118
	+		+		+	
	+		+		+	
	+		+		+	

1) Analysis at sampling date, 2) Budding for 7 days, 3) Budding for 14 days, 4) Not analyzed

Varianta B*Variant B*

ApMV	Analýza v den odběru ¹⁾		7 dní rašení ²⁾		14 dní rašení ³⁾	
4.1.2021	neanalyzováno ⁴⁾		+	3,223 ± 0,093	+	3,562 ± 0,206
		+				
		+				
		+				
11.1.2021	+	0,847 ± 0,380	+	0,443 ± 0,156	+	2,532 ± 1,200
	+					
	+					
	+					
18.1.2021	PP	1,561 ± 0,845	+	3,101 ± 0,634	+	3,416 ± 0,069
	+					
	+					
	+					
25.1.2021	+	2,212 ± 0,360	+	1,421 ± 0,300	+	3,442 ± 0,165
	+					
	+					
	+					

1) Analysis at sampling date, 2) Budding for 7 days, 3) Budding for 14 days, 4) Not analyzed

Varianta C*Variant C*

ASPV	Analýza v den odběru ¹⁾		7 dní rašení ²⁾		14 dní rašení ³⁾	
4.1.2021	neanalyzováno ⁴⁾		+	0,349 ± 0,034	+	0,432 ± 0,142
		+				
		+				
		+				
11.1.2021	+	0,209 ± 0,034	+	0,418 ± 0,089	PP	0,301 ± 0,164
	+					
	+					
	+					
18.1.2021	+	0,290 ± 0,082	+	0,390 ± 0,062	+	0,557 ± 0,101
	+					
	+					
	+					
25.1.2021	+	0,498 ± 0,026	+	0,617 ± 0,135	+	1,639 ± 0,274
	+					
	+					
	+					

1) Analysis at sampling date, 2) Budding for 7 days, 3) Budding for 14 days, 4) Not analyzed

Varianta D

Variant D

ASGV	Analýza v den odběru ¹⁾		7 dní rašení ²⁾		14 dní rašení ³⁾	
4.1.2021	neanalyzováno ⁴⁾		+	0,140 ± 0,040	+	0,194 ± 0,140
			+		+	
			PP		PP	
			+		+	
11.1.2021	-	0,003 ± 0,010	-	0,014 ± 0,014	+	0,120 ± 0,072
	PP		PP		-	
	-		PP		+	
	PP		-		+	
18.1.2021	-	-0,012 ± 0,007	+	0,207 ± 0,130	+	0,488 ± 0,132
	-		PP		+	
	-		PP		+	
	-		+		+	
25.1.2021	-	-0,002 ± 0,008	+	0,124 ± 0,041	PP	0,123 ± 0,034
	PP		+		+	
	-		+		+	
	-		PP		+	

1) Analysis at sampling date, 2) Budding for 7 days, 3) Budding for 14 days, 4) Not analyzed

Tabulka 2. Výsledky testování výhonů slivoně na přítomnost viru PPV pomocí metody ELISA. Průměrná hodnota absorbance vzorků byla stanovena ze 4 výhonů za podmínek provedení testu v technických duplikátech. Uvedeny hodnoty absorbance po odečtení pozadí ($A_{405 \text{ nm}} - A_{492 \text{ nm}}$) a následném odečtení průměrné hodnoty absorbance extrakčního pufru. [-] negativní výsledek, [+] pozitivní výsledek, [PP] potenciálně pozitivní výsledek.

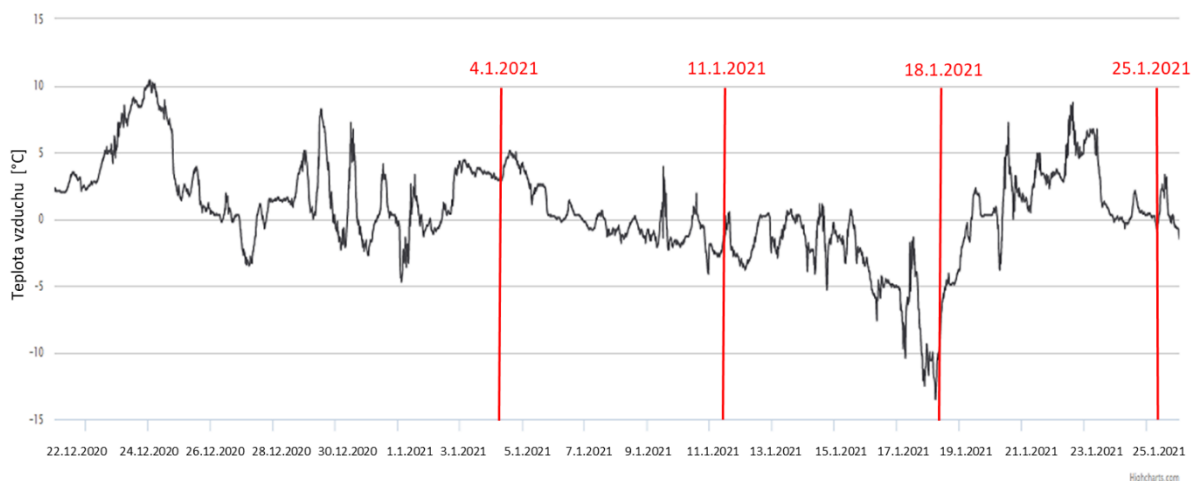
Table 2. Results of ELISA testing of plum shoots for the presence of PPV. Four shoots were analyzed in technical duplicates. Absorbance was measured at 405 nm from which a background measured at 492 nm was subtracted. Afterwards, an average value of a pure extraction buffer was subtracted, and means and standard deviations were calculated. [-] negative result, [+] positive result, [PP] potentially positive result.

PPV	Analýza v den odběru ¹⁾		7 dní rašení ²⁾		14 dní rašení ³⁾		
4.1.2021	neanalyzováno ⁴⁾		+	1,720 ± 0,101	+	0,699 ± 0,079	
		+			+		
		+			+		
		+			+		
11.1.2021	+	1,440 ± 0,182	+	1,035 ± 0,344	+	1,590 ± 0,069	
	+						+
	+						+
	+						+
18.1.2021	+	1,345 ± 0,402	+	1,886 ± 0,442	+	1,043 ± 0,747	
	+						+
	+						+
	+						+
25.1.2021	+	2,362 ± 0,041	+	1,969 ± 0,209	+	0,791 ± 0,294	
	+						+
	+						+
	+						+

1) Analysis at sampling date, 2) Budding for 7 days, 3) Budding for 14 days, 4) Not analyzed

Graf 1. Teplota vzduchu z lokality se stromy, ze kterých byly vzorky odebrány v uvedených termínech. Data sondy ze systému ALA označené Kamenec VŠÚO.

Graph 1. Air temperature recording from a location of tested trees. Shoots were sampled at indicated times. Data were retrieved from the ALA system probe named “Kamenec VŠÚO”.



X-axis: date, Y-axis: air temperature [°C]