

# EXPERIMENTÁLNÍ VÝSADBA MERUNĚK: POROVNÁNÍ PCR DETEKCE FYTOPLAZMY ESFY SE SYMPTOMY ONEMOCNĚNÍ SPOJOVANÉ S ESFY

EXPERIMENTAL ORCHARD OF APRICOTS: COMPARISON OF PCR DETECTION OF  
ESFY PHYTOPLASMA WITH SYMPTOMS OF  
DISEASE ASSOCIATED WITH ESFY

Martina Rejlová, Boris Krška

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

e-mail: Martina.REJLOVA@vsuo.cz

## ABSTRAKT

Fytopatogenní bakterie ‘*Candidatus Phytoplasma prunorum*’, označovaná jako fytoplasma ESFY (European stone fruit yellows), je původcem onemocnění peckovin s velmi variabilními příznaky. Meruňky patří k citlivým druhům peckovin k infekci fytoplazmou ESFY. Onemocnění způsobuje značné ekonomické ztráty zapříčiněné úhynem stromů meruněk. V této studii byl sledován výskyt symptomů fytoplazmové infekce v experimentálním sadu meruněk a zároveň byla provedena molekulární detekce patogenu. Výsadba byla na počátku práce otestována pomocí metody PCR na detekci fytoplazmy ESFY. Na konci vegetační doby byly odečítány symptomy onemocnění v letech 2018–2020. Až 18 % pozorovaných stromů meruněk detekovaných na přítomnost fytoplazmy ESFY nevykazovalo žádný ze sledovaných příznaků onemocnění. Naopak 21 % na fytoplazmu ESFY negativních stromů meruněk vykazovalo alespoň jeden z uvedených typických či nespecifických symptomů onemocnění ESFY. V korelaci s výsledky PCR detekce fytoplazmy jsme mezi typické příznaky onemocnění pozorované v říjnu zařadili předčasný opad listů, žloutnutí s chlorózou listů a silnou svinutku listů. Za nespecifické symptomy byly označeny mírně narůžovělé listy a mírná svinutka listů. Ve skupině symptomatických ESFY pozitivních stromů byl zaznamenán nejvyšší roční úhyn, a to 11,7 %. V následujících dvou letech došlo u této skupiny stromů ke snížení četnosti výskytu typických vizuálních příznaků onemocnění ESFY. Na základě příznaků pozorovaných na konci vegetační doby nelze jednoznačně označit stromy meruněk za pozitivní/negativní na fytoplazmu ESFY.

**Klíčová slova:** *Prunus armeniaca* L., meruňka obecná, fytoplasma ESFY, vizuální příznaky, detekce PCR

## ABSTRACT

Phytopathogenic bacterium ‘*Candidatus Phytoplasma prunorum*’, referred to as phytoplasma ESFY (European stone fruit yellows), is the causal agent of stone fruit disease with highly

variable symptoms. Apricots are considered to be one of the stone fruit species sensitive for ESFY infection. The disease causes considerable economic losses due to the mortality of apricot trees. In this study, experimental apricot planting was monitored to observe the occurrence of symptoms and for molecular detection of pathogen. In the beginning, the plantation was tested using PCR method for ESFY detection. Symptoms of the disease were observed at the end of growing season in years 2018–2020. 18 % of the PCR ESFY positive apricot trees did not show any visible symptoms of the disease. Conversely, 21 % of ESFY negative apricot trees manifested at least one of the typical or non-specific symptoms of ESFY. In correlation with PCR results, we considered premature leaf fall, yellowing with leaf chlorosis and severe leaf-roll in October to be the typical symptoms of ESFY. Slightly pinkish leaves and mild leaf-roll were identified as non-specific symptoms. The group of symptomatic ESFY positive trees manifested the highest annual mortality rate 11.7 %. However, the group of phytoplasma symptomatic trees reduced the incidence of typical visual symptoms of ESFY in following 2 years. In conclusion, apricot trees cannot be reliably marked as positive/negative for presence of ESFY based only on symptom observation at the end of the growing season.

**Keywords:** *Prunus armeniaca* L., apricot, phytoplasma ESFY, visual symptoms, detection by PCR

## ÚVOD

Onemocnění evropskou žloutenkou peckovin (European stone fruit yellows, ESFY) je spojováno s infekcí patogenní bakterii 'Candidatus Phytoplasma prunorum' (Seemüller a Schneider 2004). Tato choroba, rozšířená na území téměř celé Evropy, ale i Malé Asie, vede k významným ekonomickým ztrátám u ovocných druhů rodu *Prunus* (Cieslinska 2011, EPPO 2021). Postihuje především meruňky, japonské slivoně a broskvoně. V druhé polovině 20. století byly choroby u peckovin vyvolané fytoplazmou označovány jako apricot chlorotic leaf roll, plum leptonecrosis, peach yellowing, declining of plum, peach and almond. Až později došlo k jednotnému označení onemocnění European stone fruit yellows (ESFY) na základě potvrzení společné etiologie chorob (Cieslinska 2011).

Příznaky onemocnění ESFY se liší u jednotlivých druhů peckovin, kultivarů, podnoží a jsou ovlivněny faktory prostředí. Existuje mnoho tolerantních hostitelů, kteří nevykazují žádné příznaky onemocnění, přestože jsou infikovány bakterii 'Ca. P. prunorum' (Sullivan 2014). Meruňky a japonské švestky obecně vykazují typické žloutnutí a svinutku listů s následným červenáním listů u japonské švestky, redukcí terminálního růstu, potlačení dormance s následným rizikem poškození rašících pupenů mrazem, pokročilou nekrózu, chřadnutí až případné odumření stromu (Morvan 1977). Infekce fytoplazmou ESFY může způsobit rašení květních a listových pupenů v pozdní zimě, což má za následek snížení produkce ovoce a chlorózu listů ve vegetačním období (Jarausch *et al.* 2008). Předčasné vystoupení z dormance zvyšuje náchylnost stromů k mrazu, jenž může způsobit nekrózy floému. Onemocnění se v začátcích projevuje pouze u několika větví. Nicméně šířením fytoplazmy v rostlinných pletivech pomocí kontinuálního systému sítkovic dochází k zasažení celého stromu. Infikované výhony mohou být zakrnělé s menšími deformovanými listy, které mohou předčasně opadávat. Současně i plody na postižených stromech nedosahují jakostních parametrů co do vnitřních, tak i pomologických znaků, a mohou předčasně opadávat. Cílem práce bylo v kolekci mnoha genotypů meruněk v experimentální výsadbě VŠÚO Holovousy porovnat vizuální symptomy

pozorované na konci vegetační doby s výsledkem detekce PCR. A dále posoudit možnost využití vizuální detekce symptomů na konci vegetační doby k selekci infikovaných stromů a následnému snížení infekčního tlaku patogenu ve výsadbě meruněk.

## MATERIÁL A METODY

Pozorování vlivu patogenní bakterie 'Ca. Phytoplasma prunorum' na experimentální výsadbu meruněk lokalizovanou na pozemcích VŠÚO Holovousy bylo zahájeno v létě 2018. Byly sledovány a hodnoceny symptomy přisuzované onemocnění evropské žloutenky peckovin (European stone fruit yellows, ESFY) vyvolané bakterií 'Ca. Phytoplasma prunorum'. Zároveň byly vzorky výhonů z celkem 606 stromů analyzovány v laboratoři na pracovišti VŠÚO akreditovanou metodou „Detekce Ca. Phytoplasma spp. skupiny 16SrX metodou PCR z rostlinného materiálu“. Výsadba zahrnovala různé odrůdy meruněk a jejich hybridy rostoucí na různých podnožích. Stromy byly vysazovány v průběhu let 2011–2016.

Hodnocení symptomů probíhalo jednou ročně v měsíci říjnu v letech 2018–2020. V severním mírném podnebném pásu se v říjnu stromy meruněk nacházejí na konci vegetační doby a dochází k vývoji zbarvení listů, tudíž by symptomy měly být nejzřetelnější a častěji by se mohly vyskytovat dva i více příznaků. Za příznakové byly označeny stromy vykazující alespoň jeden z osmi uvedených symptomů. Hodnocení vizuálních příznaků vycházelo z metodiky (Krška 2018, nepublikováno): 1 - bez příznaků, 2 - mírně narůžovělé listy, 3 - mírná svinutka listů, 4 - svinutka s chlorózou listů, 5 - předčasný opad listů, 6 - žloutnutí s chlorózou listů, 7 - silná svinutka listů, 8 - silné žloutnutí listů, 9 - zakrslost.

Z důvodů pokrytí velkého množství analyzovaných stromů meruněk na přítomnost fytoplazmy ESFY byly výhony odebírány od konce srpna 2018 do února 2019. Pro zvýšení možnosti zachytu fytoplazmy byly z různých částí koruny stromu odebírány čtyři dvouleté výhony. K diagnostice fytoplazmy bylo použito lýko a z něho izolovaná DNA posloužila jako vstupní materiál pro detekci pomocí metody real-time PCR. Celková DNA byla izolována pomocí kitu Exgene Plant SV mini (firma GeneAll) dle návodu výrobce. Pro orientační ověření kvality DNA se využilo spektrofotometrické stanovení koncentrace a čistoty izolované nukleové kyseliny (NanoDrop Lite, Thermo Fisher Scientific). Interní kontrola kvality izolace DNA byla ověřena detekcí přítomnosti chloroplastové 16S rDNA též v real-time PCR uspořádání. Pro vlastní real-time PCR detekci se použily následující reagenty: qPCR 2x Blue Master Mix (Top-Bio) dle návodu výrobce, navržené specifické primery a sondy pro chloroplastovou DNA a fytoplazmy skupiny 16SrX (Tabulka 1), 2 µl čerstvé DNA bez úpravy koncentrací a PCR voda do celkového objemu 20 µl. Detekce se prováděla pomocí termocykleru Rotor-Gene Q (Qiagen): počáteční denaturace DNA probíhala 5 minut při 94 °C, následovala tříkroková amplifikace DNA s 50 cykly – denaturace 20 sekund při 94 °C, hybridizace primerů 20 sekund při 58 °C, elongace 20 sekund při 72 °C.

## VÝSLEDKY A DISKUZE

Pro stanovení korelace symptomů s přítomností patogenní fytoplazmy ESFY v pletivech stromů meruněk bylo analyzováno celkem 606 symptomatických i asymptomatických stromů. 'Ca. Phytoplasma prunorum' byla detekována v 315 stromech, nicméně alespoň jeden z příznaků onemocnění byl pozorován pouze u 205 infikovaných stromů. Tudíž 35 % stromů,

přestože bylo pozitivních na fytoplazmu ESFY, se jevílo jako bezpříznakové. Procentuální zastoupení stromů v sadu, pozitivních/negativních na fytoplazmu ESFY a symptomatických/asymptomatických, je znázorněno v grafu 1. V období od října 2018 do října 2019 odumíraly stromy ve výsadbě i bez ohledu na přítomnost fytoplazmy ESFY a symptomů. Dle očekávání nejvyšší počet uhynulých stromů, a to 11,7 %, byl zaznamenán u příznakových infikovaných stromů. Zatímco u skupiny příznakových ESFY negativních stromů odumřelo pouhých 5,6 %. Překvapivým zjištěním by mohl být 8,4 % úhyn ve skupině stromů bezpříznakových ESFY negativních. Avšak detekce fytoplazmy pomocí PCR metody ve vzorcích z odumírajících stromů v létě 2019 prokázala téměř u poloviny z nich infekci fytoplazmou ESFY. Ze skupiny bezpříznakových infikovaných stromů během roku uhynulo 7,3 %. Je zřejmé, že v námi sledované experimentální výsadbě meruněk se na odumírání stromů podílí významnou měrou přítomnost fytoplazmy, ale i jiné biotické a abiotické faktory.

Srovnání frekvence výskytu symptomů na konci vegetačního období v roce 2018 spojovaných s onemocněním ESFY u symptomatických infikovaných a neinfikovaných stromů meruněk fytoplazmou ESFY je zobrazeno v grafu 2. Nejčastěji se objevujícím symptomem byly mírně narůžovělé listy. Vyskytovaly se u 69 % infikovaných stromů. Výskyt tohoto symptomu nemusí vždy plně souviset s přítomností patogenu, neboť byl pozorován i u 59 % na fytoplazmu ESFY negativních stromů. Mírná svinutka listů byla pozorována ve shodném zastoupení u obou sledovaných skupin stromů (31 %). Přítomnost mírně narůžovělých listů a mírné svinutky mohla být vyvolána taktéž silným abiotickým stresem způsobeným extrémním teplem a suchem v roce 2018 na území České republiky. Tudíž výše popsané symptomy se jeví ve vztahu k onemocnění ESFY jako nespecifické příznaky. V Německu byly u meruněk popsány náledující specifické symptomy onemocnění ESFY: předčasné rašení pupenů v pozdní zimě, chlorotická svinutka listů a odumírání větví či apoplexie pozorované v létě. Uvedené symptomy korelovaly s detekcí fytoplazmy ESFY z 95 %, 89 % a 94 %. Za nespecifické symptomy byly považovány chloróza listů nebo svinutka listů, které korelovaly s infekcí fytoplazmou ESFY z 67 % (Jarusch *et al.* 2007, 2008). Výskyt typických příznaků onemocnění ESFY ve výsadbách peckovin ve Francii, jako jsou chlorotická svinutka listů v létě a rašení pupenů během dormance, koreloval z 95 % s detekcí fytoplazmy ESFY. Nicméně, pouze 51 % stromů s nespecifickými příznaky bylo detekováno na přítomnost fytoplazmy ESFY (Jarusch *et al.* 1998). Pravděpodobně vhodným termínem pro pozorování symptomů svinutky listů a chlorotické svinutky listů, které souvisejí s onemocněním ESFY, jsou letní měsíce. Dle naší analýzy by mohly být za symptomy spojené s onemocněním ESFY, viditelné na konci vegetačního období, považovány předčasný opad listů, žloutnutí společně s chlorózou listů a silnou svinutkou listů. Symptomy korelovaly s detekcí fytoplazmy ESFY z 73 %, 73 % a 82 %. Silné žloutnutí a zakrslost se objevily v experimentální výsadbě minoritně. Nelze tedy symptomy jasně označit za typické pro onemocnění ESFY vzhledem k vysokému počtu pozitivně detekovaných stromů ve výsadbě. Zajímavé je srovnání se studií publikovanou kolektivem ze Zahradnické fakulty v Lednici (Nečas *et al.* 2014). Po několikaletém pozorování výsadeb meruněk byla jako hlavní příznak, který poukazoval na přítomnost fytoplazmy ESFY v sadech, stanovena chlorotická svinutka listů. Vyskytovala se u 45 % případů infikovaných stromů. Mezi další příznaky onemocnění ESFY zařadili typické žloutnutí listů nebo svinutku listů a předčasný opad listů. Nicméně v námi pozorované výsadbě meruněk se chlorotická svinutka listů objevila pouze u 2 % infikovaných stromů. Významný rozdíl ve frekvenci výskytu tohoto symptomu by mohl být zapříčiněn i termínem pozorování symptomů. V publikaci bylo uvedeno, že symptomy byly pozorovány po celou vegetační dobu,



již od března/dubna (od doby kvetení) do září/října (do konce vegetační doby) (Nečas *et al.* 2014).

Ve studii provedené v Itálii mezi nejtypičtější příznaky onemocnění způsobené fytoplazmou ESFY u meruněk výzkumníci zařadili předčasné rašení pupenů či dřívější rašení listových pupenů oproti květním pupenům, rašení květních pupenů mimo dobu kvetení, chlorotickou svinutku listů, svinutku s červenáním listů, ztlustělé a křehké listy, nekrózy lýka, korkovatění plodů a jejich malformace. Stromy jimi označené jako symptomatické, tedy s onemocněním ESFY, musely vykazovat alespoň tři různé výše uvedené příznaky. Příznaky onemocnění ESFY na meruňkách sledovali po dobu deseti let s frekvencí odečítání symptomů nejméně 4x za rok (Osler *et al.* 2016). Zatímco v naší studii jsme symptomy pozorovali jednou ročně na konci vegetační doby, tudíž jsme se mohli zaměřit pouze na projevy na listech a větvích. V tabulce 2 je uvedena frekvence výskytu jednotlivých symptomů u fytoplazmy ESFY pozitivních a negativních stromů. Skupina ESFY negativních stromů pouze s jedním příznakem měla vyšší procentuální zastoupení než skupina ESFY pozitivních stromů (77,6 % oproti 62,0 %). Naopak skupina ESFY pozitivních stromů měla vyšší procentuální zastoupení u dvou a více příznakových stromů oproti skupině ESFY negativních stromů, což koresponduje s očekáváním.

Dále byly vyhodnoceny vizuální příznaky u fytoplazma ESFY pozitivních stromů pozorovaných v letech 2018–2020. Srovnání vývoje symptomů v průběhu tří let je zobrazeno v grafu 3. Frekvence výskytu nespecifických příznaků byla v druhém a třetím roce pozorování nižší. Což koresponduje s tvrzením o manifestaci symptomů způsobené abiotickým stresem v prvním roce pozorování. Četnost typických vizuálních příznaků onemocnění ESFY v posledním roce monitoringu významně poklesla na pouhých 0–5 % z 11–16 %. Je známo, že může docházet k vymizení příznaků spojovaných s onemocněním ESFY. Rostlina se stává tolerantní k onemocnění (Osler *et al.* 2014). Citlivé odrůdy s typickými příznaky odumřely. Kombinace svinutky s chlorózou, silné žloutnutí, zakrslost se ve všech letech pozorování vyskytovaly minoritně (0–2 %).

V současnosti v literatuře není uvedena jednotná metodika popisující specifické symptomy onemocnění fytoplazmou ESFY u peckovin a pro ně vhodné termíny pozorování.

## ZÁVĚR

Na základě tříletého pozorování různých typů příznaků spojovaných s onemocněním ESFY na listech a větvích stromů meruněk a s podporou detekce pomocí PCR lze stanovit následující závěry. Ve výsadbě meruněk byly zjištěny rozdílné projevy symptomů případně i jejich absence u stromů, které byly detekovány jako pozitivní na přítomnost patogenu (52 % vzorků, resp. stromů). Dále byly zjištěny rozdílné projevy symptomů u stromů, jež byly detekovány jako PCR negativní (48 % vzorků, resp. stromů). Celkem 18 % pozorovaných stromů meruněk se nacházelo v latentní infekci. A naopak 21 % na fytoplazmu ESFY negativních stromů meruněk vykazovalo alespoň jeden z uvedených typických či nespecifických symptomů onemocnění ESFY (mírně narůžovělé listy, mírná svinutka listů, svinutka s chlorózou listů, předčasný opad listů, žloutnutí s chlorózou listů, silná svinutka listů, silné žloutnutí listů, zakrslost). Nejvyšší mortalita stromů byla zaznamenána ve skupině symptomatických ESFY pozitivních stromů, a to 11,7 % během jednoho roku. Specifické symptomy spojené s onemocněním ESFY, viditelné na konci vegetačního období, dle naší analýzy jsou: předčasný opad listů, žloutnutí s chlorózou listů a silná svinutka listů. Mezi často se vyskytující nespecifické symptomy jsme

zařadili mírně narůžovělé listy a mírnou svinutku. Příznaky svinutka s chlorózou listů, silné žloutnutí listů a zakrslost se vyskytovaly minoritně jak u fytoplazmy ESFY pozitivních, tak u negativních stromů. V následujících dvou letech pozorování se snižovala četnost výskytu typických vizuálních příznaků onemocnění ESFY u symptomatických pozitivně detekovaných stromů na počátku studie. V posledním roce monitoringu významně poklesla na pouhých 0–5 % z 11–16 % a přibližně 40 % těchto stromů bylo bezpříznakových. Na základě námi zjištěných rozdílných projevů příznaků, a také z literárních pramenů, mají rozdílné genotypy meruněk rovněž rozdílný projev symptomů. Četnost výskytu vizuálních příznaků ESFY (specifických i nspecifických) se mění v průběhu let pozorování, hlavně vlivem stresových podmínek a to jak u pozitivně tak i negativně detekovaných vzorků, resp. stromů. Pro jednoznačnou detekci ESFY je potřeba spojit výsledky vizuálního hodnocení s výsledky molekulární detekce.

## PODĚKOVÁNÍ

Práce vznikla za finanční podpory projektů NAZV QK1920124 a RO1521 poskytnutých Ministerstvem zemědělství České republiky.

## LITERATURA

- CIEŠLIŇSKA, M. European stone fruit yellows disease and its causal agent 'Candidatus *Phytoplasma prunorum*'. *Journal of Plant Protection Research*. 2011, 51(4): 441–447. DOI: 10.2478/v10045-011-0073-1.
- EPPO Global Database. 'Candidatus *Phytoplasma prunorum*', Distribution. [online]. [cit. 2022-02-25]. Dostupné z: <https://gd.eppo.int/taxon/PHYPPR/distribution>.
- JARAUSCH, B., A. FUCHS, I. MUHLENZ, I. LAMPE, U. HARZER and W. JARAUSCH. Research on European stone fruit yellows (ESFY) in Germany. *Bulletin of Insectology*. 2007, 60(2): 389. [online]. [cit. 2022-02-25]. Dostupné z: <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.510.9351&rep=rep1&type=pdf>
- JARAUSCH, B., I. MUHLENZ, A. BECK, I. LAMPE, U. HARZER and W. JARAUSCH. Epidemiology of European stone fruit yellows in Germany. *Acta Horticulturae*. 2008, 781: 417–422. DOI: 10.17660/actahortic.2008.781.59.
- JARAUSCH, W., M. LANSAC, C. SAILLARD, J.M. BROQUAIRE and F. DOSBA. PCR assay for specific detection of European stone fruit yellows phytoplasmas and its use for epidemiological studies in France, 1998. *European Journal of Plant Pathology*. 1998, 104(1): 17–27. [online]. [cit. 2022-02-25]. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1008600828144>.
- MORVAN, G. Apricot chlorotic leaf roll. *EPPO Bulletin*. 1977, 7: 37–55.
- NEČAS, T., I. ONDRÁŠEK and B. KRŠKA. 'Candidatus *Phytoplasma prunorum*' - a pathogen spreading uncontrollably in apricot orchards in the Czech Republic. In: *XXIX International Horticultural Congress on Horticulture: Sustaining Lives, Livelihoods and Landscapes (IHC2014)*: 1105. 2014: 131–136. DOI: 10.17660/ActaHortic.2015.1105.19.
- OSLER, R., S. BORSELLI, P. ERMACORA, F. FERRINI, A. LOSCHI, M. MARTINI, S. MORUZZI, R. MUSETTI, M. GIANNINI, S. SERRA and N. LOI. Transmissible tolerance to

European stone fruit yellows (ESFY) in apricot: cross-protection or a plant mediated process? *Phytoparasitica*. 2016, 44(2): 203–211. DOI: 10.1007/s12600-016-0509-2.

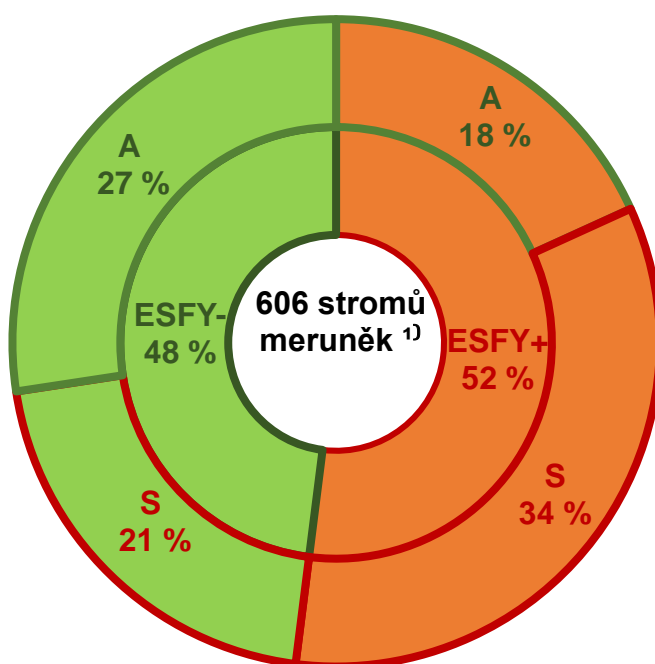
SEEMÜLLER, E. and B. SCHNEIDER. 'Candidatus Phytoplasma mali', 'Candidatus Phytoplasma pyri' and 'Candidatus Phytoplasma prunorum', the causal agents of apple proliferation, pear decline and European stone fruit yellows, respectively. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2004, 54(4): 1217–1226. DOI: 10.1099/ijs.0.02823-0.

SULLIVAN, M. CPHST Pest Datasheet for 'Candidatus Phytoplasma prunorum'. USDA-APHIS-PPQ-CPHST, 2014. [online]. [cit. 2022-02-25]. Dostupné z: <http://download.ceris.purdue.edu/file/3038>.

## GRAFY A TABULKY

**Graf 1.** Přítomnost patogenní bakterie 'Ca. *Phytoplasma prunorum*' (ESFY) a výskyt symptomů spojených s onemocněním vyvolaným touto bakterií v experimentální výsadbě meruněk

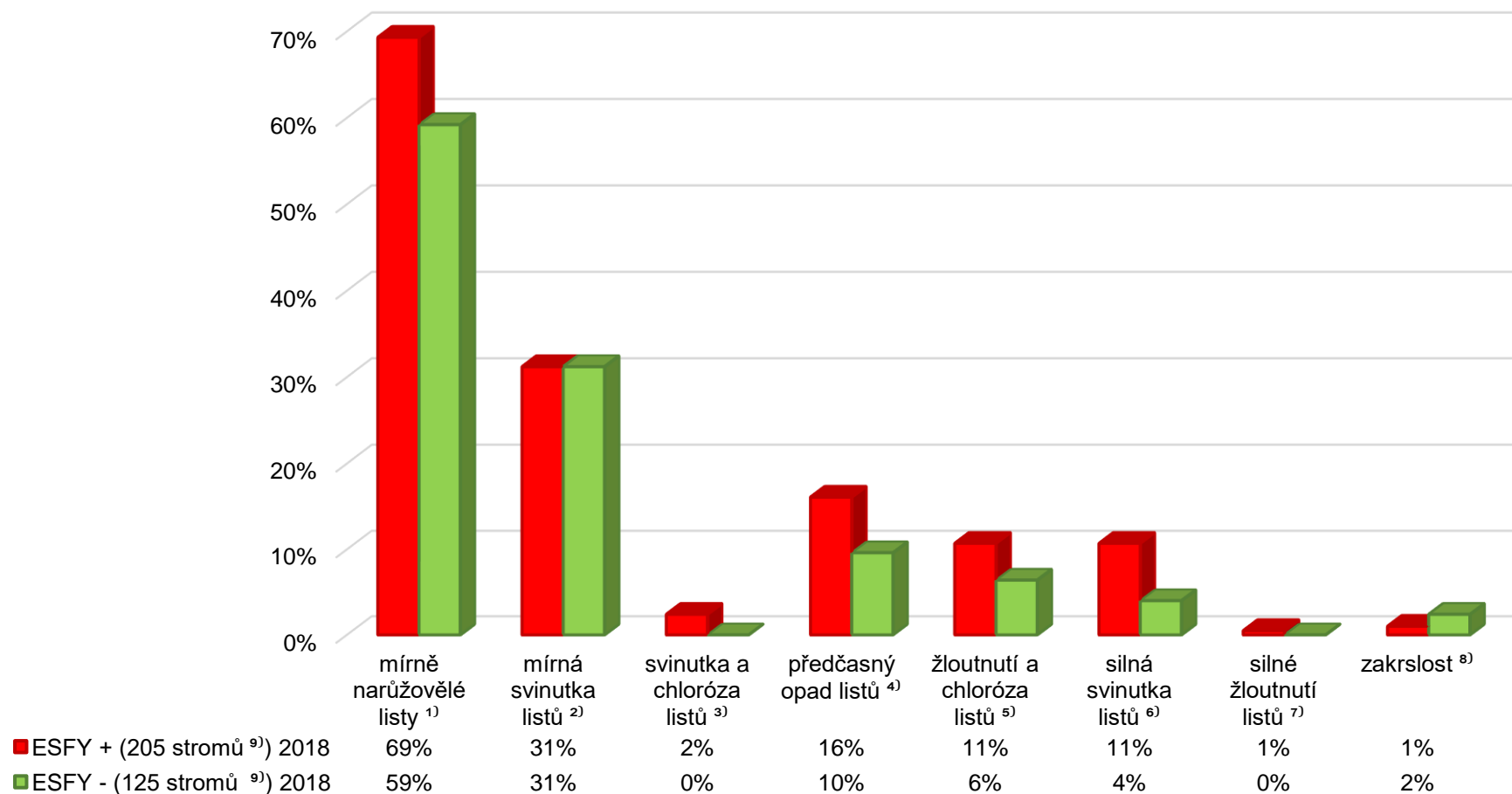
**Graph 1.** Presence of pathogenic bacteria 'Ca. *Phytoplasma prunorum*' (ESFY) and the occurrence of symptoms associated with disease caused by this bacteria in the experimental apricot orchard



ESFY+ pozitivní <sup>2)</sup>, ESFY- negativní <sup>3)</sup>, S - symptomatické stromy <sup>4)</sup>, A - asymptomatické stromy <sup>5)</sup>

1) 606 apricot trees, 2) ESFY positive, 3) ESFY negative, 4) symptomatic trees, 5) asymptomatic trees

**Graf 2.** Srovnání výskytu symptomů u infikovaných a neinfikovaných stromů fytoplazmou ESFY v experimentální výsadbě meruněk  
**Graph 2.** Comparison of incidence of symptoms in infected and uninfected trees by the phytoplasma ESFY in the experimental apricot orchard

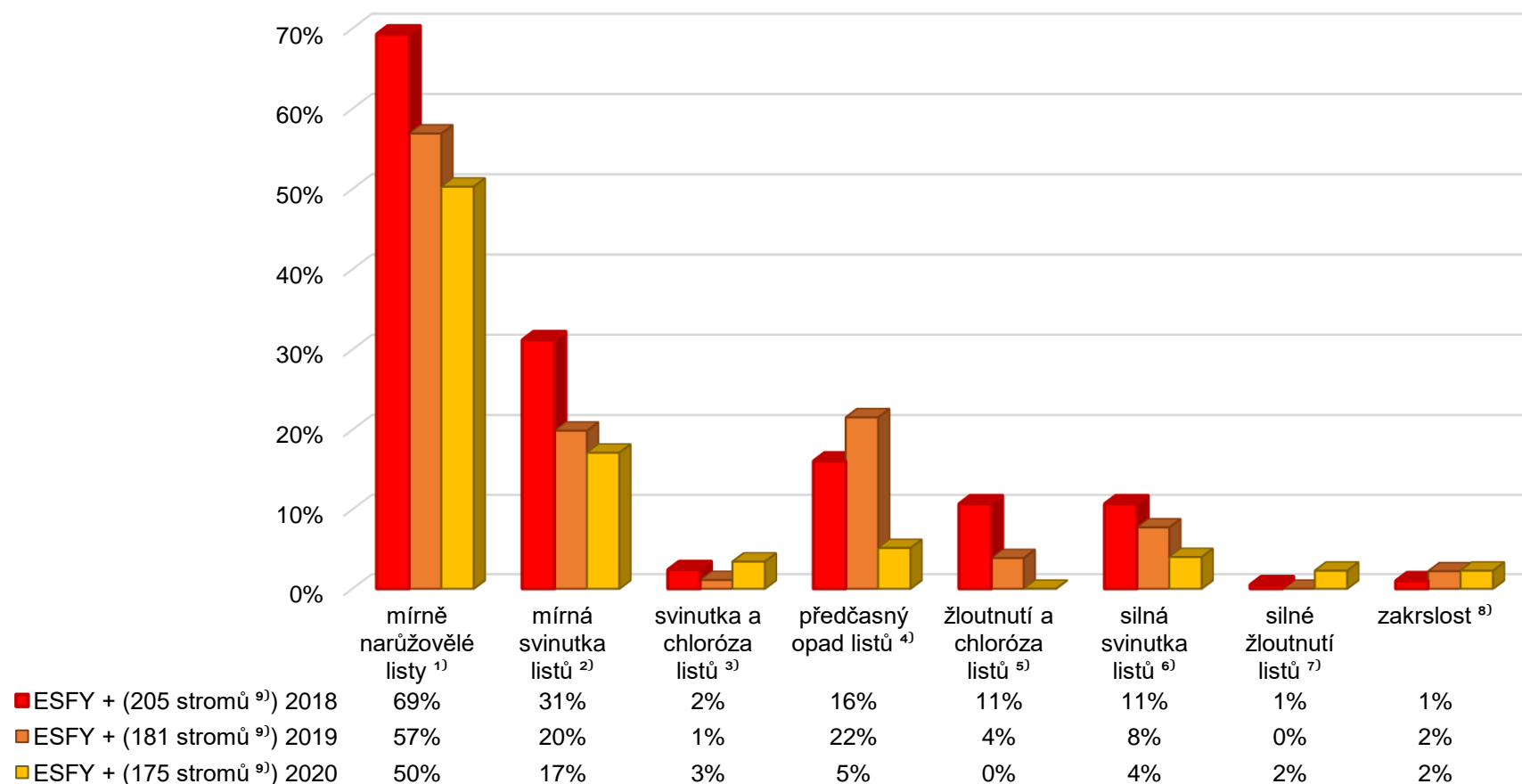


1) Slightly pinkish leaf, 2) Mild leaf-roll, 3) Chlorotic leaf-roll, 4) Premature leaf fall, 5) Yellowing and chlorosis leaves, 6) Severe leaf-roll, 7) Severe yellowing, 8) Dwarfism, 9) Trees



**Graf 3.** Srovnání výskytu symptomů u infikovaných stromů fytoplazmou ESFY viditelných na konci vegetační doby v letech 2018–2020 v experimentální výsadbě meruněk

**Graph 3.** Comparison of occurrence of symptoms in infected trees with phytoplasma ESFY visible at the end of growing season in years 2018–2020 in experimental apricot orchard



1) Slightly pinkish leaf, 2) Mild leaf-roll, 3) Chlorotic leaf-roll, 4) Premature leaf fall, 5) Yellowing and chlorosis leaves, 6) Severe leaf-roll, 7) Severe yellowing, 8) Dwarfism, 9) Trees

**Tabulka 1.** Primery a sondy použité ve studii**Table 1.** Primers and probes used in the study

Patogen <sup>1)</sup>	Primer/sonda <sup>2)</sup>	Sekvence <sup>3)</sup>	Finální koncentrace <sup>4)</sup> μM
'Ca. Phytoplasma prunorum'	Forward	GCAGCTGCGGTAATACATGG	0,5
	Reverse	GAATTCCACTTGCCTCTATCCAA	0,5
	Sonda	AGTTCAACGCTTAACGTTGTGATGCTAT	0,25

1) Pathogen, 2) Probe, 3) Sequence, 4) Final concentration

**Tabulka 2.** Výskyt a frekvence symptomů u fytoplazma ESFY pozitivních a negativních stromů. Zkratky: MS: mírná svinutka listů, BD: barevná diskolorace listů (narůžovělé listy), SS: silná svinutka, PO: předčasný opad, ŽCH: žloutnutí a chloróza listů

**Table 2.** Occurrence and frequency of symptoms in phytoplasm of ESFY positive and negative trees. Abbreviations: MS: slightly leaf-roll, BD: discoloration of leaves (slightly pinkish leaf), SS: strong leaf-roll, PO: premature leaf fall, ŽCH: yellowing and chlorosis of leaves

	ESFY pozitivní <sup>1)</sup>	ESFY negativní <sup>2)</sup>
<b>Symptomatické stromy <sup>3)</sup> (n)</b>	205	125
1 symptom <sup>4)</sup> (n)	127 (62,0 %)	97 (77,6 %)
2 symptomy <sup>5)</sup> (n)	63 (30,7 %)	21 (16,8 %)
<b>Nejčastější kombinace symptomů <sup>6)</sup> (n)</b>	11 (17,5 %) MS, BD 10 (15,9 %) BD, MS 7 (11,1 %) SS, BD	7 (33,3 %) MS, BD 4 (19 %) BD, PO 4 (19 %) ŽCH, BD
3 symptomy <sup>5)</sup> (n)	8 (3,9 %)	1 (0,8 %)
<b>Nejčastější kombinace symptomů <sup>6)</sup> (n)</b>	2 (25 %) SS, PO, BD	1 (100 %) ŽCH, BD, MS
4 symptomy <sup>5)</sup> (n)	1 (0,8 %) ŽCH, SS, PO, BD	0
5 a více symptomů <sup>7)</sup> (n)	0	0

1) ESFY positive, 2) ESFY negative, 3) Symptomatic trees, 4) Symptom, 5) Symptoms, 6) Of the most prevalent combination, 7) And more symptoms