

5. Závěr

V předložené doktorské dizertační práci byla řešena problematika variability populace hub *Pyrenophora teres* v České republice a možnosti její detekce v pletivech napadených rostlin pomocí metod molekulární biologie. Tato práce je shrnutím poznatků získaných během pěti let řešení projektu Národní agentury pro zemědělský výzkum České republiky: Vývoj metody pro kvantifikaci houbových patogenů na bázi real-time PCR (QC1361) a postupně publikovaných v odborných fytopatologických časopisech a ve sbornících ze seminářů a konferencí.

Nejdůležitější výsledky práce jsou:

- Studium genetické variability 83 izolátů hub *Pyrenophora teres*, *Pyrenophora graminea*, *Pyrenophora tritici-repentis* a *Helminthosporium sativum* z České republiky, Německa, Slovenska, Norska a Sýrie pomocí metody AFLP ukázalo velkou míru variability mezi jednotlivými izoláty. Nebyla prokázána korelace mezi genetickou variabilitou a geografickým výskytem izolátu: byla nalezena větší genetická vzdálenost mezi českými izoláty navzájem než mezi českými a např. norskými izoláty. Vyšší korelace byla nalezena mezi genetickou variabilitou a rokem sběru izolátů. Spektrum patotypů *Pyrenophora teres* se tedy v České republice liší z roku na rok.
- Analýzou ITS oblastí ani aplikací publikovaných STS markerů se nepodařilo rozlišit české izoláty obou forem *Pyrenophora teres*.
- Pomocí metody AFLP byly jasně odlišeny jednotlivé studované druhy a dokonce i obě formy *Pyrenophora teres*. Byly nalezeny dva izoláty s intermediárními haplotypy, které by mohly být potomky křížení forem *Pyrenophora teres* f. sp. *teres* a *Pyrenophora teres* f. sp. *maculata*.
- Na základě AFLP DNA fragmentů specifických pro *Pyrenophora teres* f. sp. *teres* a *Pyrenophora teres* f. sp. *maculata* byly vyvinuty molekulární markery rozlišující obě

formy. Lze pomocí nich specificky detekovat obě formy *Pyrenophora teres* v listových pletivech hostitele.

- Byla vyvinuta a optimalizována metodika pro kvantitativní detekci obou forem *Pyrenophora teres* v listových pletivech rostlin získaných jak z umělých infekcí, tak i ze sběrů z polních podmínek. Pro další analýzy bylo použito multiplexové uspořádání se simultánní detekcí obsahu DNA patogena a rostliny. Plasmidové standardy umožňují absolutní kvantifikaci DNA obou forem *Pyrenophora teres* a odrůdy ječmene Beate (*Hordeum vulgare*).
- U vzorků uměle infikovaných izoláty *Pyrenophora teres* f. sp. *teres* a *Pyrenophora teres* f. sp. *maculata* byla nalezena významná korelace mezi obsahem patogena a velikostí symptomů na listech pouze v ranných stádiích infekce. Pokud jsou rostliny inokulovány směsí obou forem v poměru 1:1, je *Pyrenophora teres* f. sp. *maculata* ve srovnání s *Pyrenophora teres* f. sp. *teres* agresivnější, tj. její podíl roste rychleji.
- Pomocí TaqMan real-time PCR bylo zjištěno, že v roce 2003 a 2004 byl na lokalitě Kroměříž dominantní výskyt *Pyrenophora teres* f. sp. *teres*.