

**ŠTÚDIUM GENETICKEJ DIVERZITY PŠENICE LETNEJ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) POMOCOU MIKROSATELITNÝCH MARKEROV.
STUDY OF WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.) GENETIC DIVERSITY USING MICROSATELLITE MARKERS.**

Martin Vivodík, Zdenka Gálová

ABSTRACT

The aim of this study was to detect genetic diversity within a set of 30 wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) and another set of 30 barley genotypes (*Hordeum vulgare* L.) using microsatellite markers and also to establish efficiency of chosen SSR markers for the differentiation. Seventeen microsatellite markers based on PCR-reactions were used for detection of genetic diversity of the 30 wheat cultivars. These seventeen primer pairs amplified altogether 94 different polymorphic alleles with an average number of 5.5 alleles per locus. The number of alleles ranged from 3 (*Xgwm95*) to 9 (*Xgwm174*). All the seventeen microsatellite markers were polymorphic and produced reproducible data. The diversity index (DI), polymorphic information content (PIC) and probability of identity (PI) of the tested SSR markers were calculated. The diversity index of the tested SSR markers ranged from 0.347 (*Xgwm495*) to 0.824 (*Xgwm540*) with an average of 0.636. The polymorphic information content ranged from 0.332 (*Xgwm495*) to 0.816 (*Xgwm540*) with an average of 0.618. The dendrogram based on hierarchical cluster analysis using UPGMA algorithm for the detection of genetic diversity was prepared. The cultivars were grouped into two main clusters. It was not possible to distinguish cultivars Rába and Samanta from each other. Same was the case for another set of cultivars Brea and Niagara which could not be distinguished from each other.

Key words: wheat, microsatellites, genetic diversity, PCR, DNA markers

ÚVOD

Identifikácia, charakteristika a diferenciacia genotypov pšenice a je možná na úrovni polymorfizmu bielkovín a DNA, pričom je dôležité, aby použitá metóda bola jednoznačná, s vysokou rozlišovacou schopnosťou, dostatočne rýchlo a jednoducho manuálne uskutočniteľná a finančne nenáročná. Popri bielkovinových analýzach sa do popredia dostávajú aj DNA analýzy. DNA markery sa využívajú pri mapovaní genómu, v štúdiu genetickej diverzity, pri selekcii genotypov s hospodársky významným génom tesne viazaným k určitému molekulárnemu markeru atď. DNA markery, ktoré sa využívajú pri selekcii požadovaných genotypov, nie sú ovplyvnené agroekologickými podmienkami pestovania a nezávisia od štádia vývoja rastliny, v ktorom sú analyzované. Je ich vhodné použiť vtedy, keď je ťažké a časovo náročné použiť bežné šľachtiteľské metódy. Molekulárne markery založené na metóde PCR sa využívajú napríklad aj pri príprave geneticky modifikovaných rastlín, ale tiež pri detekcii vnesených génov do vybraných genotypov, čím je možné odlíšiť modifikované genotypy od nemodifikovaných. Zlepšenie vlastností rastlín, či už prírodnou selekciou alebo cieľným šľachtením, bolo založené na vytvorení, hodnotení a selekcii správnych kombinácií alel. Použitím molekulárnych markerov je možné sledovať významné alely v štiepiacej populácii a ich následné mapovanie. Spomedzi DNA techník dopĺňajúcich proteínové analýzy, ktoré sa v súčasnosti používajú, najväčší polymorfizmus vykazujú mikrosatelitné markery. Mikrosatelitné markery ako efektívne markerovacie systémy sa môžu využiť pri identifikácii a diferenciacii genotypov pšenice, čo je možné následne využiť pri výbere genetických zdrojov pre šľachtenie, pri hodnotení ich genetickej rozmanitosti využiteľnej v šľachtení, určovaní novosti, odlišnosti, vyrovnanosti a stálosti registrovaných odrôd, ale aj pri najrôznejších štúdiách v systematike a genetike.

Polymorfizmus DNA možno rozdeliť na (**Chambers a MacAvoy, 2000**):

1. bodový polymorfizmus, ktorého príčinou je najčastejšie mutácia príslušného nukleotidu v sekvencii DNA (nukleotidová substitúcia alebo delécia), ktorá môže byť pozorovaná pri štiepení restriktívnymi endonukleázami (v RFLP technike, AFLP technike) a pri štúdiu dĺžkového polymorfizmu restriktívnych fragmentov,

2. polymorfizmus v počte tandemových repetícií (VNTR-Variable Number of Tandem Repeats) rozdelených do viacerých skupín na základe dĺžky repetitívneho motívu a počtu kópií.

Chambers a MacAvoy (2000) navrhli nasledovné delenie pre tandemové repetície:

- Satelitey –vysoko opakované úseky zložené zo 100 i viac (do 300) opakovaných nukleotidov, ktoré sú viac menej uniformné a majú dĺžku 10^3 až 10^7 nukleotidov.
- Minisatelitey –stredne opakované úseky 10 až 100 nukleotidov vytvárajúce viac menej uniformné zoskupenia dlhé 10^2 až 10^5 nukleotidov.
- Mikrosatelitey –krátke úseky 2 až 10 opakujúcich sa nukleotidov zoskupených až do 10^2 nukleotidov.
- Mononukleotidy –uniformné jednonukleotidové sekvencie ľubovoľnej dĺžky.

Veľkosť repetitívnej sekvencie u mikrosatelitov je predmetom diskusie rôznych autorov. **Tautz (1993)** navrhuje dĺžku repetitívnej jednotky od 1 do 10 bp, ďalší navrhujú 1-6 bp (**Goldstein & Pollock, 1997**) prípadne 1-5 bp (**Schlotterer, 1998**). **Chambers a MacAvoy (2000)** navrhujú pri mikrosatelitoch minimálnu dĺžku konečného zoskupenia 8 nukleotidov a dĺžku repetitívnej jednotky 2-6 nukleotidov. Mononukleotidové repetície navrhujú vyčleniť samostatne a nezaraďujú ich medzi mikrosatelitey ani 7-10 nukleotidové repetície kvôli nedostatku informácií o mutačných procesoch v rámci nich.

Mikrosatelitey alebo tiež krátke tandemové repetície (STR-Short Tandem Repeats), jednoduché opakovania sekvencií (SSR-Simple Sequence Repeat), dĺžkový polymorfizmus jednoduchých sekvencií (SSLP-Simple Sequence Length Polymorphism) sa rozdeľujú na dokonalé (perfect), nedokonalé (imperfect) a zložené (compound) mikrosatelitey (**Weber, 1990**). Dokonalé mikrosatelitey sú tvorené jedným súvislým repetitívnym motívom napr. (AT)₁₄. V nedokonalých mikrosatelitoch je základný motív prerušený poradím niekoľkých nukleotidov napr. (AC)₁₆GT(AC)₄. Zložené mikrosatelitey predstavujú niekoľko sekvenčných motívov napr. (AT)₁₅(AC)₂₀. V dôsledku nových informácií o rôznych sekvenčných motívoch vo vnútri mikrosatelitov, **Chambers a MacAvoy (2000)** rozšírili uvedené rozdelenie na šesť tried, pričom termín „perfect“ nahradili termínom „pure“ pre označenie dokonalých mikrosatelitov a termín „imperfect“ nahradili termínom „interrupted pure“ pre označenie nedokonalých mikrosatelitov.

Mikrosatelitey sa vyskytujú často, náhodne a vo veľkom množstve vo všetkých preskúmaných eukaryotických jadrových DNA (**Tautz & Renz, 1984, Gupta et al., 1996**). Frekvencia výskytu mikrosatelitov sa líši významne medzi rôznymi organizmami (**Morgante a Olivieri, 1993, Gupta et al., 1996**). Odhaduje sa, že ľudský genóm obsahuje v priemere o 10x viac mikrosatelitov ako rastlinný genóm (**Powell et al., 1996**). V rastlinných druhoch sa najčastejšie vyskytujú dinukleotidové repetície (AC)_n a (GA)_n, pričom pšenica obsahuje viac dinukleotidových repetícií ako ryža či kukurica (**Gupta a Varshney, 2000**).

Cieľom práce bolo pomocou mikrosatelitných markerov identifikovať, diferencovať a charakterizovať genotypy pšenice letnej (*Triticum aestivum* L.). Získané výsledky bude možné následne využiť pri výbere genetických zdrojov pre šľachtenie, pri hodnotení ich genetickej rozmanitosti, určovaní novosti, odlišnosti, vyrovnanosti a stálosti registrovaných odrôd, ako aj pri najrôznejších štúdiách v systematike a genetike.

MATERIÁL A METODIKA

Na mikrosatelitné analýzy sme použili súbor 30 odrôd pšenice letnej (*Triticum aestivum* L.) (Tabuľka 1). Jednotlivé vzorky boli získané z UKSÚP Bratislava, AGRO BSS s.r.o. Sládkovičovo a Génovej banky semenných druhov SR VÚRV v Piešťanoch. Anorganické a organické chemikálie, enzýmy a ďalšie špeciálne chemikálie, ktoré sme používali pri analýzach boli zakúpené od firiem: Sigma, Merck, Fermentas, Sklochem.

Tabuľka 1 Zoznam analyzovaných 30 odrôd pšenice letnej (*Triticum aestivum* L.)

| | Odroda | Rodokmeň | Rok povolenia a krajina pôvodu |
|-----|---------|---|--------------------------------|
| 1. | Apache | Axial/NRPB 84-4233 | 1995 FR |
| 2. | Arida | Bu-39 / Barbara | 2001 SR |
| 3. | Armelis | BU-39 / SO 6673 | 2002 SR |
| 4. | Astella | Viginta x SO-80-2208 | 1995 SR |
| 5. | Bety | HE 3083/Viginta | 1994 ČR |
| 6. | Brea | BR 918 x Hana | 1992 ČR |
| 7. | Bonita | SK 8366-2-85 / SK 8416-18-85 | 2003 SR |
| 8. | Charger | Fresco sib./Mandate | 1997 UK |
| 9. | Eva | BU-39/(Viginta / Selekt) | 2001 SR |
| 10. | Favorit | GK 34.82/GK Mini Mano | HUN |
| 11. | Hana | NS-984-1 x (Mironovská 808 x Moisson) | 1985 ČR |
| 12. | Ilava | | |
| 13. | Ilona | Amika x (Siete Cerros x Kavkaz) | 1989 SR |
| 14. | Istar | Blava/Barbara | SR |
| 15. | Magvas | | HUN |
| 16. | Matador | SQUAREHEAD/GELDERSE-RIS//CHALLENGE[GRIS-2001];SQUAREHEAD/GELDERSE-RIS//CHALLENGE-BASTAARD[GRIS-2001]; | 1996 NL |
| 17. | Niagara | Viginta x Danubia x Ilona | 1999 ČR |
| 18. | Ormil | Axial x H-86028-E | 1995 FR |
| 19. | Petrana | BR 1701 / ST 1393 | 2002 SR |
| 20. | Petur | Thesee/Othalom | HUN |
| 21. | Rába | Bucsanyi 20/HE 82 | HUN |
| 22. | Rada | Viginta x Mardler | 1995 SR |
| 23. | Samanta | Hana x Viginta | 1993 ČR |
| 24. | Sana | Maris Mardler / K 6072/73-5-89 | 1995 SR |
| 25. | Sideral | Armindia x Festival | 1998 FR |
| 26. | Torysa | Maris Marksman x Vala | 1992 SR |
| 27. | Vanda | Zdar / Hana | 2001 SR |
| 28. | Velta | Barbara / Solida | 2001 SR |
| 29. | Viginta | (Norin 75 x Alba) x Iljičovka | 1989 SR |
| 30. | Zerda | Koral x Pannondur | 1999 SR |

Celkovú rastlinnú DNA sme izolovali z mladých 7-10 dňových listov pšenice. Rastlinný materiál sme homogenizovali v trecej miske v tekutom dusíku. Pre samotnú izoláciu DNA pšenice sme použili postup vytvorený kombináciou dvoch izolačných postupov – podľa **Dellaportu et al. (1983)** a **Granera et al. (1990)**. Mikrosatelitné analýzy sme uskutočňovali v objeme 20 µl. Ako primery sme pri pšenici použili 17 špecifických 17-22 oligonukleotidových sekvencií, ktoré popísal **Röder et al. (1998)** (Tabuľka 2). Amplifikačné podmienky pre jednotlivé mikrosatelitné markery pšenice sme používali taktiež podľa **Rödera et al. (1998)**.

Tabuľka 2 Zoznam použitých 17 špecifických SSR markerov

| SSR marker | Lokus na chromozóme | Anelačná teplota | Motív repetície | Sekvence primero (5' - 3') |
|------------|---------------------|------------------|--|--|
| Xgwm18 | 1B | 50 °C | (CA) ₁₇ GA(TA) ₄ | TGGCGCCATGATTGCATTATC TTC GGTTGCTGAAGAACCTTATTT AGG |
| Xgwm44 | 7D | 61 °C | (GA) ₂₈ | GTTGAGCTTTTCAGTTCGGC ACTGGCATCCACTGAGCTG |
| Xgwm46 | 7B | 60 °C | (GA) ₂ GC(GA) ₃₃ | GCACGTGAATGGATTGGAC TGACCCAATAGTGGTGGTCA |
| Xgwm88 | 6B | 60 °C | (GT) ₁₈ TT(GA) ₄ | CACTACAACATATGCGCTCGC TCCATTGGCTTCTCTCTCAA |
| Xgwm95 | 2A | 62 °C | (AC) ₁₆ | GATCAAACACACACCCCTCC AATGCAAAGTGA AAAAACCCG |
| Xgwm161 | 3D | 60 °C | (CT) ₁₅ | GATCGAGTGATGGCAGATGG TGTGAATTA CTGGACGTGG |
| Xgwm174 | 5D | 55 °C | (CT) ₂₂ | GGGTTCTATCTGGTAAATCC C GACACACATGTTCTGCCAC |
| Xgwm192 | 5D | 60 °C | (CT) ₄₆ | GGTTTTCTTTCAGATTGCGC CGTTGTCTAATCTTGCCCTGC |
| Xgwm194 | 4D | 50 °C | (CT) _{32imp} | GATCTGCTCTACTCTCCTCC CGACGCAGAACTTAAACAAG |
| Xgwm234 | 5B | 56 °C | (CT) ₁₆ (CA) ₂₀ | GAGTCCTGATGTGAAGCTGTT G CTCATTGGGGTGTGTACGTG |
| Xgwm291 | 5A | 61 °C | (CA) ₃₅ | CATCCCTACGCCACTCTGC AATGGTATCTATTCCGACCCG |
| Xgwm334 | 6A | 50 °C | (GA) ₁₉ | AATTTCAAAAAGGAGAGAGA AACATGTGTTTTAGCTATC |
| Xgwm344 | 7B | 55 °C | (GT) ₂₄ | CAAGGAAATAGCGGTA ACT ATTTGAGTCTGAAGTTTGCA |
| Xgwm389 | 3B | 60 °C | (CT) ₁₄ (GT) ₁₆ | ATCATGTGCGATCTCCTTGACG TGCCATGCACATTAGCAGAT |
| Xgwm469 | 6D | 60 °C | (CT) ₁₉ (CA) ₁₀ | CAACTCAGTGCTCACACAAC G CGATAACCACTCATCCACAC C |
| Xgwm495 | 4B | 60 °C | (GA) ₂₀ | GAGAGCCTCGCGAAATATAG G TGCTTCTGGTGTTCCTTCG |
| Xgwm540 | 5B | 55 °C | (CT) ₃ CC(CT) ₁₆ | TCTCGCTGTGAAATCCTATTT C AGGCATGGATAGAGGGGC |

Amlifikované alely sme separovali v 6 % polyakrylamidových géloch (35 cm x 45 cm x 0,4 mm) denaturovaných močovinou. DNA profily sme hodnotili kvalitatívne z hľadiska prítomnosti DNA fragmentov. Zároveň sme určovali aj veľkosť amplifikovaných fragmentov pomocou DNA štandardov. Výsledné PCR produkty v polyakrylamidových géloch sme skenovali pomocou CCD kamery UVP a načítané polyakrylamidové gély sme vyhodnocovali pomocou dokumentačných a vyhodnocovacích programov systému Grab-It 1D pre Windows. Na hodnotenie polymorfizmu medzi genotypmi pšenice a jačmeňa a využiteľnosť mikrosatelitných markerov pri ich diferenciacii sme použili index diverzity (DI) (Weir, 1990), pravdepodobnosť identity (PI) (Paetkau et al., 1995) a polymorfický informačný obsah (PIC) (Weber, 1990). V DNA profiloch sme hodnotili polymorfické

reprodukovateľné markery ako prítomné (1) alebo neprítomné (0). Vytvorili sme tabuľku a získané údaje sme použili na výpočet Jaccardovho koeficientu genetickej podobnosti pre všetky párové kombinácie, ktoré sme robili modulom SPSS Professional Statistics 16,0, štatistického balíka programov SPSS for Windows (SPSS inc., Chicago, Ill., USA). Takto získanú maticu genetickej podobnosti sme použili na konštrukciu dendrogramu.

Výsledný dendrogram sme skonštruovali hierarchickou klastrovou analýzou metódou UPGMA (Unweighted Pair Group Method using arithmetic Averages). Genetickú diverzitu v grafických vyjadreniach dendrogramov sme vyjadrovali v relatívnych hodnotách v rozmedzí od 0-25.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na identifikáciu 30 odrôd pšenice letnej sme použili 17 mikrosatelitných markerov, ktoré publikovali Röder et al. (1998). Deväť mikrosatelitov bolo dokonalých, 2 nedokonalé a 6 bolo zložených. Pri všetkých analyzovaných odrodách pšenice letnej sme detekovali len jednu alelu, čo nám dokazuje, že všetky analyzované odrody pšenice letnej sú v homozygotnom stave. Celkovo sme na 17 lokusoch detegovali 94 alel na chromozómoch 2A, 5A, 6A, 1B, 3B, 4B, 5B, 6B, 7B, 3D, 4D, 5D, 6D, 7D. Počet alel na lokus sa pohyboval od 3 do 9 s priemerným počtom 5,5 alel na lokus. Najvyšší počet alel (9) sme pozorovali v lokuse Xgwm174 a najnižší počet alel (3) bol detegovaný v lokuse Xgwm95.

Úroveň polymorfizmu medzi analyzovanými genotypmi sme charakterizovali podľa indexu diverzity (DI), ktorý vyjadruje rozmanitosť alel v danom lokuse, polymorfického informačného obsahu (PIC), ktorý zohľadňuje aj frekvenciu alel. Do akej miery sú dva genotypy identické vyjadruje pravdepodobnosť identity (PI). Všetky hodnoty (Tabuľka 3) boli vypočítané na základe frekvencie alel každého markera.

Tabuľka 3 Prehľad počtu získaných mikrosatelitných alel, vypočítané hodnoty DI, PIC, PI

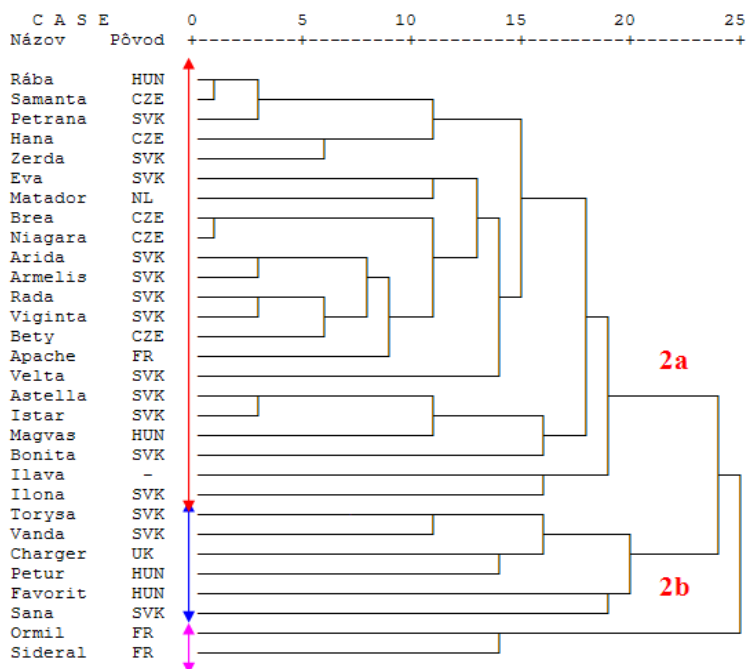
| SSR marker | Počet alel | Lokus na chromozóme | DI | PIC | PI |
|------------|------------|---------------------|-------|-------|-------|
| Xgwm18 | 4 | 1B | 0,513 | 0,484 | 0,257 |
| Xgwm44 | 6 | 7D | 0,676 | 0,671 | 0,066 |
| Xgwm46 | 7 | 7B | 0,709 | 0,708 | 0,044 |
| Xgwm88 | 4 | 6B | 0,560 | 0,465 | 0,287 |
| Xgwm95 | 3 | 2A | 0,460 | 0,449 | 0,263 |
| Xgwm161 | 4 | 3D | 0,471 | 0,443 | 0,298 |
| Xgwm174 | 9 | 5D | 0,804 | 0,800 | 0,024 |
| Xgwm192 | 4 | 5D | 0,589 | 0,586 | 0,088 |
| Xgwm194 | 7 | 4D | 0,796 | 0,786 | 0,032 |
| Xgwm234 | 7 | 5B | 0,696 | 0,694 | 0,054 |
| Xgwm291 | 5 | 5A | 0,642 | 0,582 | 0,182 |
| Xgwm334 | 5 | 6A | 0,651 | 0,647 | 0,090 |
| Xgwm344 | 5 | 7B | 0,524 | 0,522 | 0,170 |
| Xgwm389 | 6 | 3B | 0,776 | 0,760 | 0,051 |
| Xgwm469 | 5 | 6D | 0,776 | 0,757 | 0,049 |
| Xgwm495 | 5 | 4B | 0,347 | 0,332 | 0,438 |
| Xgwm540 | 8 | 5B | 0,824 | 0,816 | 0,024 |
| Priemer | 5,5 | | 0,636 | 0,618 | 0,142 |

Index diverzity (DI), ktorý vyjadruje rozmanitosť alel v danom lokuse, sa pohyboval v rozmedzí od 0,347 (*Xgwm495*) do 0,824 (*Xgwm540*) s priemernou hodnotou 0,636. Hodnoty polymorfického informačného obsahu (PIC), ktoré navyše zohľadňujú aj frekvenciu alel, sa pohybovali v rozmedzí od 0,332 (*Xgwm495*) do 0,816 (*Xgwm540*) s priemernou hodnotou 0,618. Pravdepodobnosť identity (PI) bola nízka, a to v rozmedzí od 0,024 (*Xgwm174* a *Xgwm540*) do 0,438 (*Xgwm495*) s priemernou hodnotou 0,142 a vyjadruje s akou pravdepodobnosťou sú dva genotypy identické.

Hodnoty DI boli vo väčšine lokusov (82%) väčšie ako 0,5 okrem lokusov *Xgwm95*, *Xgwm161* a *Xgwm495* a taktiež hodnoty PIC boli vo väčšine (70,6%) lokusov väčšie ako 0,5 okrem lokusov *Xgwm18*, *Xgwm88*, *Xgwm95*, *Xgwm161* a *Xgwm495*. Zo 17 použitých mikrosatelitných markerov, pri 10 lokusoch (59%) sme detegovali hodnoty DI väčšie ako 0,6, hodnoty PIC pri 9 lokusoch (53%), čo poukazuje na vysokú diferenciačnú schopnosť mikrosatelitných markerov.

Na základe veľkostí mikrosatelitných alel pre každý zo 17 lokusov získaných v analýzach bolo možné využitím UPGMA algoritmu vytvoriť dendrogram (Obrázok 1), ktorý naznačuje genetické vzťahy medzi odrodami pšenice. Odrody bolo možné rozdeliť do dvoch hlavných klastrov, pričom prvý klaster zahŕňa 2 odrody a druhý klaster obsahuje 28 odrôd pšenice letnej.

V prvom klasteri sú samostatne odlišené dve francúzske odrody Ormil a Sideral. Druhý klaster bol rozdelený do dvoch skupín, pričom v skupine 2a tvoria samostatnú skupinu odrody Ilava a Ilona a druhú skupinu tvorí 20 odrôd, z ktorých 11 odrôd (55%) bolo vyšľachtených v Slovenskej republike a 5 odrôd (25%) bolo vyšľachtených v Českej republike. V skupine 2b je obsiahnutých 6 odrôd pšeníc, ktoré sú zoskupené do troch dvojíc. Prvú dvojicu tvoria slovenské odrody Torysa a Vanda, druhú dvojicu tvoria odrody Charger a Petur a tretiu dvojicu maďarská odroda Favorit a slovenská odroda Sana.



Obrázok 1: Dendrogram 30 odrôd pšenice letnej s využitím 17 SSR markerov.

Použitím 17 mikrosatelitných markerov sa nám podarilo odlíšiť 26 z 30 odrôd pšenice letnej. Nepodarilo sa nám od seba odlíšiť odrody Rába a Samanta a české odrody Brea a Niagara.

ZÁVER

V 17 pšeničných mikrosatelitných lokusoch sme detegovali 94 alel s rôznou veľkosťou. Najvyšší počet rôznych alel (9) sme pozorovali v lokuse *Xgwm174* a najnižší počet alel (3) sme detegovali v lokuse *Xgwm95* s priemernou hodnotou 5,5 alely na lokus. Vysoký stupeň polymorfizmu v sledovaných 17 lokusoch pšenice potvrdzujú aj vysoké hodnoty indexu diverzity (DI) a polymorfického informačného obsahu (PIC). Zo 17 použitých mikrosatelitných markerov pšenice, pri 10 lokusoch sme detegovali hodnoty DI väčšie ako 0,6 a pri 9 lokusoch hodnoty PIC väčšie ako 0,6, čo poukazuje na vysokú diferenciačnú schopnosť použitých mikrosatelitných markerov, pričom tieto hodnoty prezentujú vysokú úroveň polymorfizmu genotypov pšenice detegovaného pomocou mikrosatelitných markerov. Na základe veľkostí mikrosatelitných alel pre každý zo 17 lokusov získaných v analýzach, bolo možné využitím UPGMA algoritmu zostrojiť dendrogram, ktorý naznačuje genetické vzťahy medzi genotypmi. Vzniknuté zoskupenia čiastočne zohľadňujú rodokmene odrôd a tiež miesta ich vyšľachtenia. V dendrograme bolo možné odlíšiť 26 z 30 odrôd pšenice letnej. Nepodarilo sa nám odlíšiť aplikovanými markermi odrody Rába a Samanta a odrody Brea a Niagara.

LITERATÚRA

- DELLAPORTA, S. L. - WOOD, J. - HICKS, J. B. 1983. Plant DNA minipreparation: version II. In *Plant Mol Biol Rep*, vol. 1, 1983, p. 19-21
- GOLDSTEIN, D. B. – POLLOCK, D. D. 1997. Launching microsatellites: a review of mutation processes and methods of phylogenetic inference. In *J. Hered.*, vol. 88, 1997, p. 335-342
- GRANER, A. - SIEDLER, H. - JAHOR, A. et al. 1990. Assessment of the degree and the type of restriction fragment length polymorphism in barley (*Hordeum vulgare*). In *Theoretic and Applied Genetics*, 80, 1990, s.826-832
- GUPTA, P.K. - BALYAN, H.S. – SHARMA, S. et al. 1996. Microsatellites in plants: a new class of molecular markers. In *Curr Sci.*, vol. 70, 1996, p. 45-54
- GUPTA, P.K. - VARSHNEY, R.K. 2000. The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. In *Euphytica*, vol. 113, 2000, p. 163-185
- CHAMBERS, G.K. – MACAVOY, E.S. 2000. Microsatellites: consensus and controversy. In *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, vol. 126, 2000, p. 455-476
- MORGANTE, M. – OLIVIERI, A. M. 1993. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. In *Plant. J.*, vol. 3, 1993, p. 175-182
- PAETKAU, D. – CALVERT, W. – STIRLING, I. – STROBECK, C. 1995. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. In *Mol. Ecol.*, vol. 4, 1995, p. 347-354
- POWELL, W. – MORGANTE, M. – ANDRE, C. et al. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. In *Molecular Breeding*, vol. 2, 1996, p. 225-238
- RÖDER, M.S. – KORZUN, V. – WENDEHAKE, K. – PLASCHKE, J. – TIXIER, M.H. – LEROY, P. – GANAL, M.W. 1998. A microsatellite map of wheat. In *Genetics*, vol. 149, 1998, p. 2007-2023

SCHLÖTTERER, C. – RITTER, R. – HARR, B. et al. 1998. High mutation rates of a long microsatellite allele in *Drosophila melanogaster* provides evidence for allele-specific mutation rates. In: *Mol. Biol. Evol.*, vol. 15, 1998, p. 1269-1274

TAUTZ, D. – RENZ, M. 1984. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. In *Nucl Acid Res.*, vol. 12, 1984, p. 4127-4138

TAUTZ, D. 1993. Notes of the definition and nomenclature of tandemly repetitive DNA sequences. In Pena, S.D.J.-Chakraborty, R.-Epplen, J.Z.-Jeffreys, A.J.(eds.) *DNA fingerprinting : State of science*. Birkhäuser, Basel, 1993. p. 21-28

WEBER, J. L. 1990. Informativeveness of human (dC-dA)_n x (dG-dT)_n polymorphism. In *Genomics*, vol. 7, 1990, p. 524-530

WEIR, B.S. 1990. *Genetic data analysis*. Sinauer Associated, Sunderland, Mass.

Kontaktná adresa:

Martin Vivodík, Katedra biochémie a biotechnológie, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita Nitra, Tr.A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, E-mail: vivodik@afnet.uniag.sk

Zdenka Gálová, Katedra biochémie a biotechnológie, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita Nitra, Tr.A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, E-mail: galova@afnet.uniag.sk