

Acta fytotechnica et zootechnica 2
Nitra, Slovaca Universitas Agriculturae Nitriae, 2011, s. 32–36

MORFOMETRICKÁ A CYTOMETRICKÁ CHARAKTERIZÁCIA GENOTYPOV *PRUNUS* × *FRUTICANS* Z OKRAJOVÝCH ZÓN AGROBIOGENÓZ

MORPHOMETRIC AND CYTOMETRIC CHARACTERIZATION OF *PRUNUS* × *FRUTICANS* GENOTYPES FROM MARGINAL ZONES OF AGROBIOCOENOSES

Kristína MURÁŇOVÁ, Luba ĎURIŠOVÁ, Peter FERUS, Milan BEŽO, Tibor BARANEC

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Prunus L. (plum) is a polymorphic genus with high hybridization ability. Species of genus plum naturally occur in wild shrub corridors (ecological corridors) of agricultural landscape. In this environment arises spontaneous hybridization of taxa which results in an increasing dominance of hybrid populations of genus plum (particularly *Prunus* × *fruticans*). Consequently *P.* × *fruticans* substitutes autochthonic parental species, *Prunus spinosa*. This research was focused on variability determination in selected morphometric characteristics and genome size of taxon *Prunus* × *fruticans* Weihe at locality Čechynce. Variability and genome size evaluation of the hybrid is indispensable to determine taxon and its diacritical characteristics. Material (fruits) was collected during the vegetation period in the September – October 2010. Length, width and thickness of kernels as well as width of fruits were measured using caliper. Relative proportion of kernel width to fruit width was evaluated. Fruits and kernel morphology analysis showed considerable variability in evaluated characteristics. Length of kernels varied from 9 ± 0.79 mm to 12.2 ± 0.82 mm, width from 7.24 ± 0.39 to 8.1 ± 0.31 mm and thickness from 5.41 ± 0.32 to 6.33 ± 0.24 mm. In relative proportion of kernel width analysis, two different groups of genotypes were identified (59% proportion and 63% proportion). Genome size analysis of taxa *P.* × *fruticans* was analyzed in seed fragments (without seed coat) with internal pea (*Pisum sativum* L. cv. 'Ctirad') standard using reagent kit CyStain PI absolute P® and flow cytometer (CyFlow ML®, Partec, Germany). The genome size of *P.* × *fruticans* taxa varied in scale 1.42 ± 0.01 – 1.55 ± 0.01 pg.

Key words: *Prunus* × *fruticans*, morphometric characteristics, genome size, flow cytometry

Slivka (*Prunus* L.) je druhovo rozsiahly a hospodársky významný rod so zastúpením viac ako 200 druhov krov a stromov. Je rozšírený najmä na severnej pologuli (Eurázia) ako dôležitý komponent lesných spoločenstiev (Bortiri, Hevvel and Potter, 2006). Rod je morfológicky veľmi rôznotvárný (Bertová, 1992) s výraznou fenotypovou plasticitou (Bortiri, Hevvel and Potter, 2006.) Vďaka slabým izolačným bariéram medzi polyploidnými druhmi dochádza v rámci rodu k častej medzidruhovej hybridizácii.

Autochtónne druhy rodu slivka tvoria dominantné zastúpenie v populáciách nelesnej drevinovej vegetácie v poľnohospodárskej krajine južného Slovenska. Vyskytujú sa predovšetkým v podobe neudržiavaných krovinných pásov (biokoridorov) na okrajoch poľnohospodárskej pôdy. V tomto prostredí dochádza k samovoľnému spontánnemu kríženiu jedincov, čoho dôsledkom je narastajúca prevaha zastúpenia populácií hybridov rodu slivka. Najčastejšie sa vyskytujúcim taxónom je slivka čerešňová (*Prunus* × *fruticans* Weihe), ktorá vznikla krížením slivky trnkovej (*Prunus spinosa* L.), ktorá je tetraploid, $2n = 32$ (Bertová, 1992) a slivky domácej (*Prunus domestica* L.), ktorá je hexaploid, $2n = 6x = 48$ (Baranec, 1990; Bertová, 1992). Tento taxón postupne vytlačá z fytocenózy biokoridorov pôvodné a rodičovské druhy (najmä slivku trnkovú), pretože vplyvom introgresívnej hybridizácie dochádza k zvýšeniu ich genetickej variability. Medzidruhová hybridizácia je tiež jednou z príčin ohrozenia autochtónnych a vzácných druhov.

Cieľom našej práce bolo hodnotenie variability vybraných morfometrických charakteristík a stanovenie veľkosti genómu slivky čerešňovej. Analýza variability slivky čerešňovej je dôležitá z hľadiska determinácie taxónu a jeho hlavných diakritických znakov.

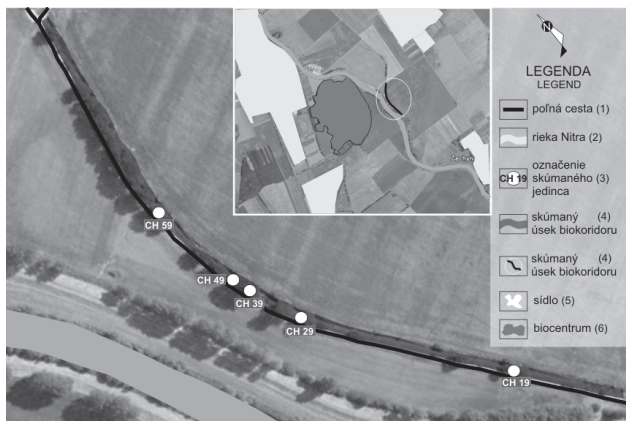
Materiál a metódy

Charakteristika rastlinného materiálu

Predmetom skúmania bola lokálna populácia slivky čerešňovej (*P.* × *fruticans*), ktorá je súčasťou krovinných biokoridorov na okrajoch poľnohospodárskej využívannej pôdy v katastrálnom území obce Čechynce. Z fytocenologického hľadiska sa skúmaná populácia začleňuje do zväzu *Pruno spinosae* – *Crataegum monogyna* (Soó), radu *Prunetalia spinosae*, asociácie *Ligustro* – *Prunetum* (trnkové kriačiny). V typickej forme sú to nepreniknuteľne husté, 2 – 4 m široké pásy mezofilných kriačín, výraznej fyziognómie. Porasty tvoria prevažne trnité a malolisté druhy krov, najčastejšie trnka, hloh, ruže, ostružiny (Ružičková et al., 1996).

Materiál sme odobrali z 5 označených voľne rastúcich jedincov, ktoré boli súčasťou lokálnej populácie slivky čerešňovej tvoriacej krovinné biokoridory na okrajoch agroocenózy. Vybrané jedince sme označili nasledovne: CH19, CH29, CH39, CH49, CH59 (obr. 1). Jedince sme zvolili náhodným výberom z celej plochy skúmaného biokoridoru.

Slivka čerešňová (*P.* × *fruticans*) je strom alebo vyšší ker. Konáre má v mladosti chlpaté, zvyčajne bez trňov, len ojedinele trnité. Listy elipsovité, široké, na vrchole tupé, na okraji tupo pílkovité, chlpaté, najmä na rube, na žilnatinie. Stopky listov chlpaté, 1,5 cm dlhé. Kvety veľké, zvyčajne jednotlivé na skrátenej brachyblastoch, pučia spolu s listami, stopky kvetov chlpaté, ± 1 cm dlhé. Korunné lupienky elipsovité, vajcovité, na vrchole vykrojené, žltkaste, na báze krátkonechtíkovité. Plody guľaté, 15 – 20 mm v priemere, čiernomodré. Kvitnutie apríl – máj. Európsko-prednoázijský druh (Bertová, 1992).



Obrázok 1 Zaujímavá lokalita v blízkosti obce Čechynce
Figure 1 Locality of interest close to Čechynce village
 (1) country road (2) Nitra river (3) analysed plant individual (4) analysed ecological corridor section (5) urban area (6) biocentre

Charakteristika záujmového územia

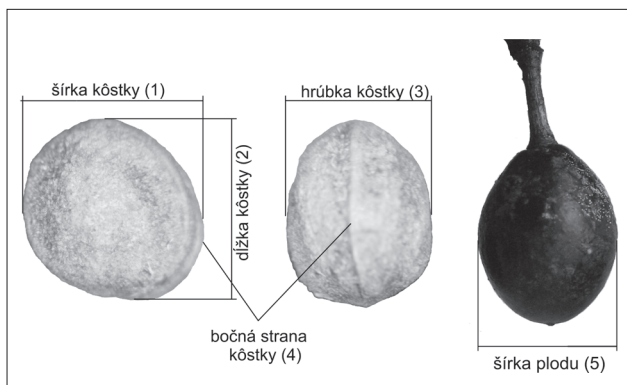
Lokalita sa nachádza v katastrálnom území obce Čechynce v okrese Nitra (obr. 1). Čechynce je obec prevažne poľnohospodárskeho charakteru. Chotár obce leží na okraji Žitavskej pahorkatiny, na ľavostrannej nive terasy rieky Nitry v nadmorskej výške 131 – 210 m.n.m. Chotár bol kedysi často zaplavovaný vodami rieky Nitra.

Geologický podklad lokality je tvorený neogénnymi sivými a pestrými ílmi, prachmi, pieskami, štrkami, slojami lignitu, sladkovodnými vápencami a polohami tufitov (Biely et al., 2002). Pôdy sú černozemné nivné.

Z klimatologického hľadiska zaraďujeme lokalitu do teplej oblasti, konkrétne do suchého klimatického okrsku s miernou zimou (Lapin et al., 2002).

Z fytogeografického hľadiska patrí lokalita Čechynce do oblasti panónskej flóry (*Pannonicum*), do obvodu eupanónskej xerothermnej flóry (*Eupannonicum*) (Futák, 1980). V biokoridoroch poľnohospodárskej krajiny na území strednej Európy sú hojne zastúpené autochtónne krovinné spoločenstvá (rad *Prunetalia spinosae*), v ktorých dominantné druhy patria do rodov slivka (*Prunus*), hloh (*Crataegus*) a ruža (*Rosa*) (Baranec et al., 2009).

Analýzovaný úsek skúmaného biokoridoru sa nachádza severozápadne od obce Čechynce. Má dĺžku 739 m a šírku



Obrázok 2 Prehľad parametrov zisťovaných na kôstkach a plodoch
Figure 2 Overview of parameters analysed in kernels and fruits
 (1) kernel width (2) kernel length (3) kernel thickness (4) kernel lateral side (5) fruit width

10 m. Tiahne sa pozdĺž zavlažovacieho kanála a prameňa, ktoré sú intenzívne znečisťované produktami antropogénnej činnosti. Orientácia biokoridoru je severo-južná. Koridor sa nachádza v blízkosti rieky Nitra. Okolie koridoru tvorí poľnohospodárska pôda.

Analýza taxonomicky dôležitých morfológických znakov

Na analýzu taxonomicky dôležitých morfológických znakov bol materiál (plody v plnej zrelosti) získavaný odberom z označených jedincov slivky čerešňovej (*P. × fruticans*). Odber bol realizovaný počas obdobia september až október 2010. Podľa metodiky uplatnenej v prácach Rybníková (2010) a Depypere et al. (2007) sa stanovovali nasledovné taxonomicky dôležité morfológické charakteristiky (obr. 2): dĺžka, šírka, hrúbka kôstok a šírka plodov (mm), ktoré boli mechanicky merané s presnosťou $\pm 0,2/100$ mm zo súboru 30 plodov ($n = 30$).

Analýza veľkosti genómu

Na analýzu absolútnej veľkosti genómu taxónu slivky čerešňovej (*P. × fruticans*) boli použité semená skúmaných jedincov. Interným štandardom bol hrach siaty (*Pisum sativum* L.) kultivar 'Ctirad' so známou veľkosťou genómu ($2C = 9,09$ pg) (Doležel et al., 2007). Extrakcia jadier z buniek a sfarbenie jadrovej DNA sa realizovali prostredníctvom komerčnej súpravy CyStain PI absolute P® (Partec, Nemecko).

Na prípravu farbiaceho roztoku (na 10 analyzovaných vzoriek) bol pripravený farbiaci ustálený roztok Partec-CyStain PI Absolut P® (20 ml) s pridaním 120 μ l propidium jodidu (PI) a 60 μ l roztoku RNázy.

1. Príprava vzorky

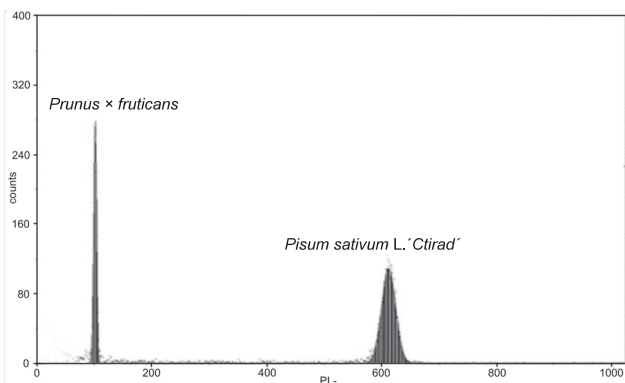
Na cytometrickú analýzu vybraných jedincov taxónu *P. × fruticans* boli použité segmenty semien skúmaných jedincov (klíčne listy a embryonálna os, príp. celé semená). Semená boli spolu s endokarpom skladované po dobu 5 mesiacov pri teplote 4 °C. Pred samotnou analýzou boli semená extirpované zo sklerenchymatického endokarpu a zbavené osemenia. Na prípravu vzorky interného štandardu boli použité čerstvé listy (segment o veľkosti približne 0,5 cm²).

Príprava vzorky bola realizovaná podľa metodiky Partec-CyStain PI Absolut P (2009). Segment semena skúmaného jedinca bol rezaný (po dobu 30 – 60 sekúnd) ostrou žiletkou v Petriho miske (priemer 55 mm) v 500 μ l extrakčného ustáleného roztoku. Pre každú novú analyzovanú vzorku bola použitá osobitná žiletka. Po 30 – 90 sekundovej inkubácii v extrakčnom ustálenom roztoku bola vzorka prefiltrovaná do skúmavky cez nylonový filter (veľkosť pórov 42 μ m). Do filtrátu bol pridaný 1% polyvinylpyrolidón (PVP) (Jedrzejczyk, Sliwinski, 2010, Yokoya et al., 2000) a 2 ml farbiaceho roztoku (s PI a RNázou). Takto pripravená vzorka bola inkubovaná po dobu 60 minút (pre taxóny rodu *Prunus* L.) pri teplote 4 °C chránená pred svetlom. Inkubačná doba pre vzorku interného štandardu (*Pisum sativum* L. 'Ctirad') bola 10 – 15 minút.

Pred samotnou cytometrickou analýzou bola suspenzia skúmanej vzorky (*P. × fruticans*) zmiešaná so suspenziou interného štandardu v pomere 1 : 1.

2. Cytometrická analýza

Vzorky boli analyzované prietokovým cytometrom CyFlow ML® (Partec, Nemecko) pevným laserom emitujúcim zelené svetlo o vlnovej dĺžke 532 nm. V každom meraní bolo analyzovaných minimálne 5 000 častíc (jadier). Pre každú skúmanú vzorku sa realizovali merania v troch opakovaniach (v priebehu 3 dní, $n = 3$). Namerané hodnoty boli spracované v podobe his-



Obrázok 3 Histogram intenzity fluorescencie meraných častíc. Vrcholy histogramu zodpovedajú intenzite fluorescencie jadier neznámeho genotypu a interného štandardu (*Pisum sativum* L. cv. 'Ctirad') o priemerných koeficientoch variability 2,88 resp. 2,04 %
Figure 3 Histogram of nuclei fluorescence intensity. Peaks represent fluorescence intensity of unknown genotype nuclei and internal standard nuclei (*Pisum sativum* L. cv. 'Ctirad') of average variability coefficients 2.88 or 2.04%, respectively

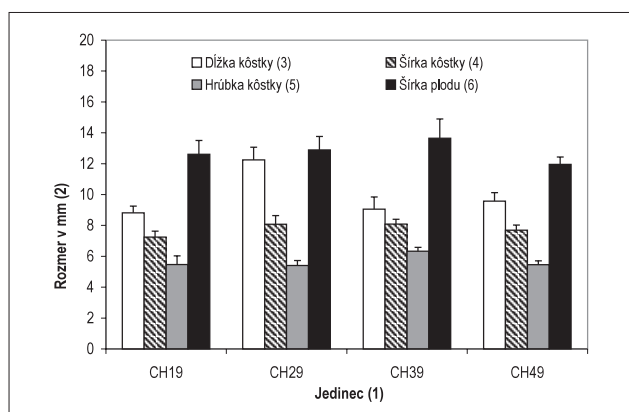
togramu intenzity fluorescencie meraných častíc, ktoré korešpondovali s obsahom jadrovej DNA (obr. 3). Histogram pozostával z dvoch dominantných G1 vrcholov reprezentujúcich jadrá referenčnej a skúmanej vzorky (Roberts et al., 2008). Histogram bol analyzovaný softvérom FloMax® (Partec, GmbH, Münster, Germany)

Podľa metodiky Doležel, Greilhuber a Suda (2007) bola veľkosť genómu skúmanej vzorky vypočítaná zo vzťahu:

$$\text{genóm vzorky (pg)} = \text{genóm interného štandardu} \times \frac{\text{relatívna poloha vrcholu vzorky}}{\text{relatívna poloha vrcholu štandardu}}$$

Následne bola vypočítaná priemerná hodnota obsahu 2C jadrovej DNA.

Získané hodnoty morfometrických znakov a cytometrické údaje boli matematicky spracované a štatisticky vyhodnotené



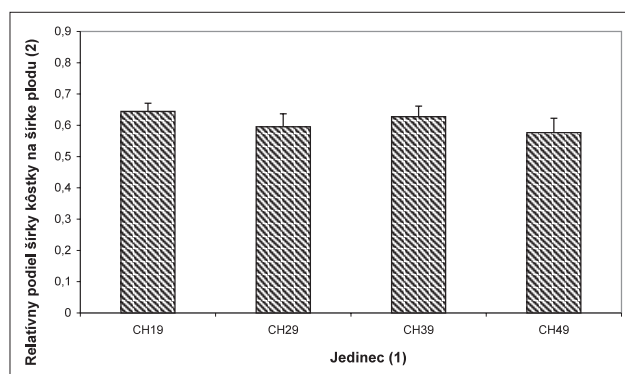
Obrázok 4 Morfometrická analýza plodu a kôstky viacerých jedincov *Prunus x fruticans* v biokoridore pri obci Čechynce ($n = 30$ opakovaní). Odlišné písmenné označenie stĺpcov (a,b,c) poukazuje na štatisticky preukazný rozdiel na hladine významnosti 95 %
Figure 4 Fruit and kernel morphometric analysis in several *Prunus x fruticans* individuals of the ecological corridor close to Čechynce ($n = 30$). Different letters (a,b,c) indicate level of significance at $\alpha = 0,05$
 (1) individual, (2) size in mm, (3) kernel length, (4) kernel width, (5) kernel thickness, (6) fruit width

v programoch Excel MS Office a Statgraphics, ver. 4. Pri štatistickom vyhodnocovaní bola použitá analýza rozptylu ANOVA (LSD test na hladine významnosti $\alpha = 0,05$).

Výsledky a diskusia

Analýza taxonomicky dôležitých morfologických znakov

Plody skúmaných jedincov, ktorými sú holé kôstkovice, dozrievajú v septembri až októbri. Zrelé plody sú guľaté, čierne, modro oinovatené (Bertová, 1992). Analýzou morfometrických charakteristík kôstok boli zistené preukazné rozdiely vo všetkých sledovaných znakov (obr. 4). Dĺžka kôstky plodov odobratých z jedincov CH19 a CH39 bola na úrovni $9 \pm 0,79$ mm, pri genotypy CH49 približne na úrovni $9,6 \pm 0,54$ mm a ker CH29 mal plody s najdlhšou kôstkou (v priemere $12,2 \pm 0,82$ mm). V prípade šírky kôstky bola situácia odlišná. Najnižšie hodnoty sme pozorovali pri genotypy CH19, preukazne vyššie pri genotypy CH49 a genotypy CH29 a CH39 dosiahli najväčšiu šírku $8,1 \pm 0,31$ mm. Značnú variabilitu v dĺžke a šírke kôstky slivky čerešňovej (*P. x fruticans*) z lokality Čechynce zistila aj Rybníkárová (2010), ktorá uvádza priemerné hodnoty pre dĺžku kôstky $9,76$ mm a šírku kôstky $7,49$ mm. Odlišné veľkostné parametre pre dĺžku a šírku kôstky zistil Depyrere et al. (2007), ktorý vo vzorkách *P. x fruticans* pôvodom z Belgicka uvádza nižšiu priemernú hodnotu pre šírku kôstky ($6,3$ mm), avšak priemerná dĺžky kôstky bola porovnateľná s údajmi získanými našimi pozorovaniami ($11,1$ mm). Hrúbkou kôstky sa plody jednotlivých krov líšili od seba najmenej. Takmer pri všetkých testovaných genotypoch dosahovala hrúbka kôstky približne $5,4 \pm 0,24$ mm, iba pri genotypy CH39 narastla o $0,9$ mm ($6,33 \pm 0,24$ mm). Na druhej strane, v šírke plodov sme identifikovali nasledovné skupiny genotypov: prvú skupinu tvoril genotyp CH49 s priemernou hodnotou $12,0 \pm 0,47$ mm, druhú skupinu genotypy CH19 a CH29 s priemernými hodnotami $12,6 \pm 0,89$ a $12,9 \pm 0,87$ mm, a tretiu skupinu genotyp CH39 s priemerom $13,7 \pm 1,24$ mm. Vyššiu priemernú hodnotu pre šírku plodov *P. x fruticans* z lokality Čechynce uvádza Rybníkárová (2010), ktorá v roku 2009 zistila priemernú šírku plodov $14,56$ mm.



Obrázok 5 Relatívny podiel šírky kôstky na šírke plodu pri viacerých jedincoch *Prunus x fruticans* v biokoridore pri obci Čechynce ($n = 30$ opakovaní). Odlišné písmenné označenie stĺpcov (a,b) poukazuje na štatisticky preukazný rozdiel na hladine významnosti 95 %
Figure 5 Relative ratio of kernel to fruit width in several *Prunus x fruticans* individuals of the ecological corridor near Čechynce village ($n = 30$). Different letters (a,b) indicate level of significance at $\alpha = 0,05$
 (1) individual, (2) relative proportion of kernel width fo fruit width

Pri hodnotení relatívneho podielu šírky kôstky na šírke plodu (obr. 5) sme identifikovali dve skupiny genotypov, a to s podielom na úrovni 59 % (genotypy CH29 a CH49) resp. 63 % (genotypy CH19 a CH39) v priemere. Genotypy s nižším podielom kôstky k dĺžkatej časti oplodia sú vhodnejšie pre selekciu a prípadné hospodárske využitie taxónu.

Analýza veľkosti genómu

Prietoková cytometria (FCM – flow cytometry) je v súčasnosti čoraz častejšie používanou metódou v mnohých oblastiach biologického výskumu. Touto metódou je možné jednoducho, rýchlo a spoľahlivo stanoviť celkový obsah jadrovej DNA, ploidiu taxónov, analyzovať fázy bunkového cyklu, spôsoby reprodukcie a pod. FCM slúži tiež na zisťovanie a kvantifikáciu interšpecifických krížencov, výskyt a vzájomné interakcie medzi cytotypmi v populáciách a pod. (Suda a Pyšek 2010).

Prietoková cytometria je vhodnou alternatívou aj pre určenie ploidity / veľkosti genómu zástupcov čeľade *Rosaceae*, pretože chromozómy týchto druhov sú často malé a početné a určenie ploidity pomocou počítania chromozómov je náročné. Okrem toho, mikroskopické počítanie chromozómov je časovo náročné a obmedzené len na niekoľko pletív. Prietoková cytometria je rýchla a presná metóda na výpočet obsahu DNA a stáva sa čoraz častejšie používanou metódou pre určenie veľkosti genómu rastlín (Jedrzejczyk and Sliwiska 2010).

Pre prietokovú cytometriu sa najčastejšie používajú mladé listy, avšak zvlášť pri druhoch obsahujúcich inhibitory farbenia nachádzajúce sa v cytosole listov môžu byť semená vhodnejšie ako listy (Sliwiska, Zielinska and Jedrzejczyk, 2005).

Hodnota 2C sa pri zástupcoch čeľade ružovité (*Rosaceae*) pohybuje v rozmedzí od 0,20 do 7,30 pg (Bennett and Leitch, 2005). Predstavitelia podčeľade slivkovaté (*Prunoideae*) patria k druhom s malým genómom. Meraním obsahu DNA 12 diploidných taxónov rodu *Prunus* a ich medzidruhových krížencov zistili Baird, Estager and Wells (1994) hodnoty od 0,30 pg do 0,79 pg.

Aj keď cudzoopelenie medzi jedincami s rozdielnou úrovňou ploidity pri zástupcoch čeľade ružovité je možné, Jedrzejczyk and Sliwiska (2010) nepozorovali rozdiely v ploidity medzi listami a semenami pochádzajúcimi z toho istého stromu alebo kra, napr. pri čremche obyčajnej (*Prunus padus*) bol obsah DNA z listov a semien identický $1,15 \pm 0,02$ pg.

Cytometrickými analýzami semien bola zistená veľkosť genómu jednotlivých krov slivky čerešňovej dosahujúca hodnoty v škále $1,42 \pm 0,01$ až $1,55 \pm 0,01$ pg (Tab. 1). Genotypy CH39 a CH49 pritom vykazovali hodnoty v spodnej časti intervalu a genotyp 5 v hornej časti intervalu. Pri genotypoch CH19 a CH29 sme zistili veľkosť genómu, ktorá nebola preukazne od-

Tabuľka 1 Veľkosť genómu jednotlivých genotypov *Prunus × fruticans* z biokoridoru pri obci Čechynce ($n = 3$). Odlišné písmenné označenie hodnôt (a,b) poukazuje na štatisticky preukazný rozdiel na hladine významnosti 95%

Jedinec (1)	Veľkosť genómu (pg) (2)
CH19	$1,51 \pm 0,03$ ab
CH29	$1,49 \pm 0,05$ ab
CH39	$1,42 \pm 0,01$ a
CH49	$1,44 \pm 0,06$ a
CH59	$1,55 \pm 0,01$ b

Tabuľka 1 Genome size of individual *Prunus × fruticans* genotypes from ecological corridor near Čechynce village ($n = 3$). Different letters (a,b) indicate level of significance at $\alpha = 0,05$ (1) individual (2) genome size (pg)

lišná od týchto troch jedincov. Výsledky analýzy veľkosti genómu naznačujú, že populácia slivky čerešňovej na danej lokalite nepozostáva len z čistých hybridov, ale aj z prechodných foriem. Porovnaním morfometrických údajov jednotlivých genotypov s veľkosťou ich genómu neboli zistené preukazné vzťahy medzi nameranými hodnotami. V hodnotenom súbore zvyšujúca sa veľkosť genómu nemala vplyv na zvyšovanie hodnôt karpologických charakteristík.

Záver

V sledovaných morfometrických znakoch je medzi kríkmi slivky čerešňovej (*P. × fruticans*) z biokoridoru pri obci Čechynce značná variabilita, ktorá poukazuje na odlišný potenciál týchto krížencov v kontexte využitia na pestovateľské a potravinárske účely. Jednotlivé genotypy vykazujú aj odlišnosti vo veľkosti genómu.

Intenzívna poľnohospodárska aktivita na priľahlých agroecenózach spôsobuje stratu prirodzených biotopov a zvyšuje možnosti hybridizácie s nepôvodnými pestovanými druhmi, na základe čoho dochádza k vytlačaniu pôvodných taxónov z prirodzených populácií. Dôkazom toho je aj slivka čerešňová, ktorá v populáciách biokoridorov na okrajoch agroecenóz postupne nahrádza pôvodný rodičovský druh slivku trnkovú. Zistená značná variabilita slivky čerešňovej vo všetkých sledovaných morfometrických znakoch a aj vo veľkosti genómu naznačuje, že v populáciách radu *Prunetalia spinosae*, ktoré sa vyskytujú v biokoridoroch na okrajoch agroecenóz, dochádza k intenzívnej hybridizácii. Výsledky výskumu je možné uplatniť pri plánovaní, resp. rekonštrukcii poľnohospodárskej krajiny v súlade so zásadami trvalo udržateľného rozvoja.

Súhrn

Rod slivka (*Prunus* L.) je morfológicky rôznorodý s vysokou mierou hybridizácie. Druhy tohto rodu sa prirodzene vyskytujú predovšetkým v podobe neudržiavaných krovinných pásov (biokoridorov) na okrajoch poľnohospodárskej pôdy. V tomto prostredí dochádza k samovoľnému spontánnemu kríženiu druhov, čoho výsledkom je postupný prevládajúci výskyt krížencov rodu slivka. V prevažnej miere je to slivka čerešňová, ktorá vytlačá pôvodný rodičovský druh trnku (*P. spinosa*). Realizovali sme analýzu variability jednotlivých genotypov slivky čerešňovej (*P. × fruticans*) v sledovaných morfometrických znakoch plodov ako aj hodnotenie veľkosti genómu týchto genotypov cytometrickými metódami. Analýza variability a veľkosti genómu genotypov slivky čerešňovej je dôležitá z hľadiska determinácie taxónu a jeho diakritických charakteristík. Materiál bol získavaný počas vegetačného obdobia september – október 2010 z 5 označených voľne rastúcich jedincov, ktoré boli súčasťou lokálnej populácie slivky čerešňovej tvoriacej krovinné biokoridory na okrajoch agroecenózy v katastrálnom území obce Čechynce. Cieľom tohto výskumu bolo analyzovať variabilitu v šírke plodu a hrúbke, šírke, dĺžke kôstky, stanoviť veľkosť genómu jednotlivých genotypov a na základe výsledkov posúdiť vzťahy medzi sledovanými charakteristikami. Analýzou morfometrických charakteristík kôstok na intrašpecifickej úrovni boli zistené preukazné rozdiely vo všetkých sledovaných znakoch. Dĺžka kôstok varíovala v rozmedzí od $9 \pm 0,79$ mm do $12,2 \pm 0,82$ mm, šírka kôstok od $7,24 \pm 0,39$ do $8,1 \pm 0,31$ mm a hrúbka kôstok od $5,41 \pm 0,32$ do $6,33 \pm 0,24$ mm. Pri hodnotení relatívneho podielu šírky kôstky na šírke plodu sme identifikovali dve skupiny genotypov, a to s podielom na úrovni 59 %

a 63 % v priemere. Pri stanovovaní absolútnej veľkosti genómu slivky čerešňovej cytometrickou analýzou boli použité semená skúmaných jedincov (zbavené osemenia). Ako interný štandard bol použitý hrach siaty (*Pisum sativum* L.) 'Ctirad'. Extrakcia jadier a sfarbenie jadrovej DNA sa realizovali prostredníctvom reagentného kitu CyStain PI absolute P® (s PI a RNázou) s pridaním 1% PVP. Cytometrickými analýzami s použitím prietokového cytometra (CyFlow ML®, Partec, Germany) sme zistili veľkosť genómu jednotlivých genotypov slivky čerešňovej, ktorý dosahoval hodnoty v škále 1,42±0,01 pg až 1,55±0,01 pg.

Kľúčové slová: slivka čerešňová, morfometrické charakteristiky, veľkosť genómu, prietoková cytometria

Tento článok vznikol s podporou projektu „Excelentného centra pre uchovávanie a využívanie agrobiodiverzity“ na základe podpory operačného programu Výskum a vývoj, financovaného z Európskeho fondu regionálneho rozvoja a VEGA 1/0779/11.

Literatúra

- BAIRD, W. V. – ESTAGER, A. S. – WELLS, J. K. 1994. Estimation nuclear DNA content in peach and related diploid species using laser flow cytometry and DNA hybridization. *Plant genetics and breeding*. In: American Society for Horticultural Science, vol. 119, 1994, no. 6, p. 1312 – 1316.
- BARANEC, T. 1990. Nové spontánne krížence rodu *Prunus* L. pre Česko-Slovensko. In: *Dendrologická sdělení*, roč. 34, 1990, s. 38–40.
- BARANEC, T. – IKRÉNYI, I. – DEBNÁRIKOVÁ, P. – RYBNÍKÁROVÁ, J. 2009. Analysis of vegetation structure of bio-corridors on the territory of agricultural landscape in SW Slovakia. In: *Landscape – theory and practice. Abstracts of the 15th International symposium on Problems of Landscape ecological research*. Bratislava, 2009, p. 128.
- BENNET, M. D. – LEITCH, I. J. 2005. "Plant DNA C-values Database". [s.a.] [online] [cit.2011-15-04]. Dostupné na internete <<http://data.kew.org/values>>
- BERTO VÁ, L. (ed.), 1992. *Flóra Slovenska IV/3*. Bratislava : VEDA, 1992, s. 498 – 509. ISBN 80-224 0077-7.
- BIELY A. – BEZÁK, V. – ELEČKO, M. – GROSS, P. – KALIČIAK, M. – KONEČNÝ, V. – LEXA, J. – MELLO, J. – NEMČOK, J. – POLÁK, M. – POTFAJ, M. – RAKÚS, M. – VASS, D. – VOZÁR, J. – VOZÁROVÁ, A. 2002. *Geologická stavba*. 1 : 500 000. In Hrnčiarová, T. (ed.). *Atlas krajiny Slovenskej republiky*. Bratislava : MŽP SR, 2002, s. 74 – 5. ISBN 80-88833-27-2.
- BORTIRI, E. – HEUVEL, B.V. – POTTER, D. 2006. Phylogenetic analysis of morphology in *Prunus* reveals extensive homoplasy. In: *Plant Systematics and Evolution*, vol. 259, 2006, p. 53 – 71. DOI:10.1007/s00606-006-0427-8

DEPYPERE, L. – CHAERLE, P. – MIJNSBRUGGE, K.V. – GOETGHEBEUR, P. 2007. Stony endocarp dimension and shape variation in *Prunus* Section *Prunus*. In: *Annals of Botany*, vol. 100, 2007, p. 1585 – 1597. ISSN 0305-7364

DOLEŽEL, J. – GREILHUBER, J. – SUDA, J. 2007. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. In: *Nature protocols*, vol. 2, 2007, no. 9, p. 2233 – 2244. DOI:10.1038/nprot.2007.310

FUTÁK, J. 1980. Fytogeografické členenie. 1 : 1 000 000.

JEDRZEJCZYK, I. – SLIWINSKA, E. 2010. Leaves and Seeds as Materials for Flow Cytometric Estimation of the Genome Size of 11 Rosaceae Woody Species Containing DNA – Staining Inhibitors. In: *Journal of Botany*, 2010, 9 p.

LAPIN, M. – FAŠKO, P. – MELO, M. – ŠŤASTNÝ, P. – TOMLAIN, J. 2002. Klimatické oblasti 1 : 1 000 000. In: Hrnčiarová, T. (ed.). *Atlas krajiny Slovenskej republiky*. Bratislava : MŽP SR, 2002, s. 95. ISBN 80-88833-27-2.

ROBERTS, A.V. – GLADIS, Th. – BRUMME, H. 2008. DNA amounts of roses (*Rosa* L.) and their use in attributing ploidity levels. In: *Plant Cell Reports*, vol. 28, 2009, no. 1, p. 61 – 71. DOI 10.1007/s0029-008-0615-9

RUŽIČKOVÁ, H. – HALADA, L. – JEDLIČKA, L. – KALIVODOVÁ, E. 1996. *Biotopy Slovenska. Príručka k mapovaniu a katalóg biotopov*. Bratislava : Ústav krajinej ekológie SAV, 1996, 192 s. ISBN 80-967527-3-1.

RYBNÍKÁROVÁ, J. 2010. *Reprodukčná biológia vybraných autochtónnych druhov rodu Prunus L.: dizertačná práca*. Nitra : SPU, 2010, 104 s.

SLIWINSKA, E. – ZIELINSKA, E. – JEDRZEJCZYK, I. 2005. Are seeds suitable for flow cytometric estimation of plant genome size. In: *Cytometry*, vol. 64, 2005, no. 2, p. 72 – 79.

SUDA, J. – PYŠEK, P. 2010. Flow cytometry in botanical research: introduction. In: *Preslia* vol. 82, 2010, p. 1 – 2.

VAN ZEIST, W. – WOLDBRING, H. 2000. Plum (*Prunus domestica* L.) varieties in late- and post-medieval Groningen: the archaeobotanical evidence. In: *Palaeohistoria*, vol. 39/40, 2000, p. 563 – 576. ISSN 0552-9344

YOKOYA, K. – ROBERTS, A. V. – MOTTLEY, J. – LEWIS, R. – BRANDHAM, P. E. 2000. Nuclear DNA Amounts in Roses. In: *Annals of Botany*, vol. 85, 2000, no. 4, p. 557 – 561., DOI 10.1006/anbo.1990.1102

Kontaktná adresa:

Ing. Kristína Muráňová, prof. RNDr. Tibor Baranec, CSc, Katedra botaniky, FAPZ, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: kristina.muranova@uniag.sk, tibor.baranec@uniag.sk
prof. RNDr. Milan Bežo, CSc, Katedra genetiky a šľachtenia rastlín, FAPZ, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: milan.bezo@uniag.sk