

Ministerstvo školstva Slovenskej republiky  
Vedecká rada Fakulty agrobiológie a potravinových zdrojov  
Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre

**Ing. Veronika Štefúnová**

**Genetická analýza láskavca (*Amaranthus L.*)  
DNA markérmí**

Nitra 2008

SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA V NITRE  
FAKULTA AGROBIOLÓGIE A POTRAVINOVÝCH ZDROJOV  
Katedra genetiky a šľachtenia rastlín

**Genetická analýza láskavca (*Amaranthus L.*)  
DNA markérmí**

Autoreferát dizertačnej práce na získanie  
vedecko-akademickej hodnosti „philosophiae doctor“  
vo vednom odbore 15-03-9 genetika

Ing. Veronika Štefúnová

Nitra 2008

Dizertačná práca bola vypracovaná v externej forme doktorandského štúdia na Katedre genetiky a šľachtenia rastlín Fakulty agrobiológie a potravinových zdrojov Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre

Doktorandka: Ing. Veronika Štefúnová  
Katedra genetiky a šľachtenia rastlín  
Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov  
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Vedúci dizertačnej práce: prof. RNDr. Milan Bežo, CSc.  
Katedra genetiky a šľachtenia rastlín  
Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov  
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Oponentka/ti: doc. RNDr. Dana Urminská, CSc.  
Katedra biochémie a biotechnológie  
Fakulta biotechnológie a potravinárstva  
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

prof. Ing. Štefan Hraška, DrSc.  
Katedra botaniky a genetiky  
Fakulta prírodných vied  
Univerzita Konštantína Filozofa

RNDr. Juraj Faragó, CSc.  
Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu Nitra,  
Oddelenie poľnohospodárskych biotechnológií  
Výskumný ústav rastlinnej výroby v Piešťanoch

Autoreferát bol rozoslaný dňa

Stanovisko k dizertačnej práci vypracovala Katedra genetiky a šľachtenia rastlín, FAPZ SPU v Nitre.

Obhajoba dizertačnej práce sa koná dňa \_\_\_\_\_ pred komisiou pre obhajobu dizertačných prác vedného odboru 15-03-9 genetica na Fakulte agrobiológie a potravinových zdrojov SPU v Nitre.

Miesto konania: Katedra genetiky a šľachtenia rastlín  
Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov  
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre  
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

Miestnosť: miestnosť AA-41

S dizertačnou prácou sa možno oboznámiť na dekanáte Fakulty agrobiológie a potravinových zdrojov SPU v Nitre.

Predseda komisie pre obhajoby vo vednom odbore 15-03-9:

prof. RNDr. Daniel Vlček, DrSc.  
Katedra genetiky  
Prírodovedecká fakulta  
Univerzita Komenského v Bratislave  
Mlynská Dolina B-2, 842 15 Bratislava

## SÚHRN

V práci boli analyzované vzťahy medzi 16 genotypmi láskavca chvostnatého (*Amaranthus caudatus* L.), 18 genotypmi láskavca metlinatého (*Amaranthus cruentus* L.) a 21 genotypmi láskavca červenoklasého (*Amaranthus hypochondriacus* L.) metódami RAPD a ISSR.

RAPD analýzou bol zistený polymorfizmus nasynťetizovaných DNA fragmentov v rozsahu 72,73–94,12 % medzi genotypmi láskavca chvostnatého, 63,64–93,75 % medzi genotypmi láskavca metlinatého a 70,00–100,00 % medzi genotypmi láskavca červenoklasého. ISSR analýzou bol polymorfizmus nasynťetizovaných fragmentov v rozmedzí 55,56–100,00 % medzi genotypmi láskavca chvostnatého, 70,00–100,00 % medzi genotypmi láskavca metlinatého a 64,71–100,00 % medzi genotypmi láskavca červenoklasého.

Pomocou prajmera RALA-05 (CCCGCTCCC) bolo rozlíšených 75 % genotypov a prajmermi ISLA-(CA)<sub>6</sub>GG a ISLA-(GT)<sub>6</sub>CC 88 % genotypov láskavca chvostnatého. Pomocou prajmerov RALA-03 (CCTGGGCTC) a RALA-08 (CCGGCTTCC) bolo rozlíšených 72 % a prajmermi ISLA-(GTG)<sub>3</sub>GC a ISLA-(GA)<sub>6</sub>CC 89 % genotypov láskavca metlinatého. Prajmermi RALA-01 (CCTGGGTGGA) a ISLA-(GTG)<sub>3</sub>GC bolo rozlíšených 62 % genotypov láskavca červenoklasého.

Vysoký stupeň genetickej príbuznosti genotypov láskavca chvostnatého, s hodnotou  $S_{NL}$  rovnéj jednej, PI 480816 IC-38286 a PI 480854 IC-38313 z Indie bol potvrdený pomocou prajmerov RALA-01, RALA-05 a RALA-06 (CCGGCTTAC), ISLA-(CA)<sub>6</sub>GG, ISLA-(GTG)<sub>3</sub>GC, ISLA-(GAG)<sub>3</sub>GC, ISLA-(CT)<sub>8</sub>AC a ISLA-(GA)<sub>6</sub>CC.

Pomocou siedmich prajmerov, RALA-2/5 (CTTGACGGGG), RALA-05, RALA-LA07 (CCGGCTTAG), RALA-08, ISLA-(CA)<sub>6</sub>GG, ISLA-(CT)<sub>8</sub>AC a ISLA-(GA)<sub>6</sub>CC, bol genotyp PI 511876 Huatle z Mexika v hierarchickej zhlukovej analýze vyčlenený ako samostatný zhluk.

Geografický pôvod genotypov láskavca metlinatého pochádzajúcich z krajín Afriky odhalili prajmery RALA-07, RALA-08, ISLA-(GTG)<sub>3</sub>GC, ISLA-(GA)<sub>6</sub>CC a ISLA-(CT)<sub>8</sub>AC.

**Kľúčové slová:** láskavec chvostnatý (*Amaranthus caudatus* L.), láskavec metlinatý (*Amaranthus cruentus* L.), láskavec červenoklasý (*Amaranthus hypochondriacus* L.), genetická príbuznosť, RAPD, ISSR.

## ABSTRACT

Sixteen genotypes of *Amaranthus caudatus*, eighteen genotypes of *Amaranthus cruentus* and twenty-one genotypes of *Amaranthus hypochondriacus* were analyzed using RAPD and ISSR markers.

RAPD analysis revealed 72,73–94,12 % polymorphism between *Amaranthus caudatus* genotypes, 63,64–93,75 % polymorphism between *Amaranthus cruentus* genotypes and 70,00–100,00 % between *Amaranthus hypochondriacus* genotypes. ISSR analysis revealed 55,56–100,00 % polymorphism between *Amaranthus caudatus* genotypes, 70,00–100,00 % polymorphism between *Amaranthus cruentus* genotypes and 64,71–100,00 % between *Amaranthus hypochondriacus* genotypes.

Totally 75 % of *Amaranthus caudatus* genotypes were identified using RALA-05 (CCCGCTCCC) primer and 88 % of genotypes were identified using ISLA-(CA)<sub>6</sub>GG and ISLA-(CT)<sub>6</sub>CC primers. Using RALA-03 (CCTGGGCTC) and RALA-08 (CCGGCTTCC) primers 72 % of *Amaranthus cruentus* genotypes were identified and using ISLA-(GTG)<sub>3</sub>GC and ISLA-(GA)<sub>6</sub>CC primers 89 % of genotypes were identified. In case of using RALA-01 (CCTGGGTGGA) and ISLA-(GTG)<sub>3</sub>GC were 62 % of *Amaranthus hypochondriacus* genotypes identified.

High degree of genetic similarity of *Amaranthus caudatus* PI 480816 IC-38286 and PI 480854 IC-38313 genotypes originated from India was confirmed using RALA-01, RALA-05 a RALA-06 (CCGGCTTAC), ISLA-(CA)<sub>6</sub>GG, ISLA-(GTG)<sub>3</sub>GC, ISLA-(GAG)<sub>3</sub>GC, ISLA-(CT)<sub>8</sub>AC and ISLA-(GA)<sub>6</sub>CC primers in RAPD and ISSR analysis. The Nei and Li's similarity index was 1,00.

The PI 511876 Huatle genotype from Mexico generated separated cluster in cluster analysis using seven primers – RALA-2/5 (CTTGACGGGG), RALA-05, RALA-07 (CCGGCTTAG), RALA-08, ISLA-(CA)<sub>6</sub>GG, ISLA-(CT)<sub>8</sub>AC and ISLA-(GA)<sub>6</sub>CC.

Geographic relations between *Amaranthus cruentus* genotypes with origin in Africa were revealed using RALA-07 (CCGGCTTAG), RALA-08, ISLA-(GTG)<sub>3</sub>GC, ISLA-(GA)<sub>6</sub>CC and ISLA-(CT)<sub>8</sub>AC primers in RAPD and ISSR analysis.

**Key words:** *Amaranthus*, *Amaranthus caudatus* L., *Amaranthus cruentus* L., *Amaranthus hypochondriacus* L., genetic similarity, RAPD, ISSR.

## ÚVOD

Druhy rodu laskavec boli dôležitými plodinami v rôznych častiach sveta v rôznych obdobiach počas posledných niekoľko tisíc rokov. Najväčšie pestovateľské plochy boli zaznamenané počas vrcholného obdobia Aztéckej civilizácie v Mexiku okolo roku 1400. V období počas posledných dvoch storočí boli druhy rodu laskavec pestované v rozmanitých oblastiach, ako Mexiko, štáty strednej Ameriky, India, Nepál, Čína a východná Afrika (Myers, Putnam, 1988).

Rod laskavec zahŕňa skupinu voľne rastúcich druhov, burín a domestikovaných druhov, ktoré vznikli procesom hybridizácie v rámci a medzi uvedenými skupinami (Kulakow, Jain, 1990).

Významnosť zaradenia laskavca medzi komerčne využívané plodiny spočíva najmä v priaznivom chemickom zložení semena. Z nutričného hľadiska je zaujímavý obsah bielkovín a tuku, ktoré sú zastúpené v relatívne väčšom množstve v porovnaní s inými obilninami prípadne pseudoobilninami. Obsah lyzínu je považovaný za kľúčový pre hodnotenie kvality bielkoviny laskavca, hoci semená obsahujú viac esenciálnych aminokyselín ako známa obilnina (Bressani, 1988). Laskavce môžu byť vďaka vysokej produkcii biomasy v krátkom časovom intervale využité ako krmivo pre domáce zvieratá (Kauffman, Weber, 1990).

Zaradenie laskavca ako plodiny s dobrou nutričnou kvalitou, s vysokou schopnosťou prispôbenia sa rozmanitým podmienkam prostredia a pestovateľským technológiám, si vyžaduje detailné poznanie evolúcie, príbuznosti a genetickej rozmanitosti. Toto poznanie je potrebné pre uchovávanie genetických zdrojov, ako aj pre selekciu nových odrôd laskavcov (Kulakow, Jain, 1990).

Genetické zdroje laskavca sú popísané a udržiavané v génových bankách v približne 11 krajinách. Pre využiteľnosť genetických zdrojov je nevyhnutná podrobná charakteristika jednotlivých genotypov. Popisné klasifikátory pre jednotlivé druhy sú prístupné v Rodale Research Center, v katalógu pre genetické zdroje (Kauffman, Weber, 1990). Popisný klasifikátor všeobecného charakteru bol spracovaný Jainom (Grubben, Sloten, 1981). Pre efektívne využívanie genetických zdrojov rastlín je však nevyhnutné poznať informácie, týkajúce sa genetickej príbuznosti a rozmanitosti (Chan, Sun, 1997).

Pre šľachtiteľské programy boli vybrané niektoré znaky, na ktoré je potrebné sa zamerať pri tvorbe a zlepšovaní odrôd, s dôrazom na veľkosť semena, toleranciu k patogénom a škodcom, životaschopnosť semien, redukciu vypadávanie nažiek, stabilitu (odolnosť voči poliehaniu), jednoduchosť čistenia semien od obalových vrstiev a vysoký obsah bielkovín (Weber, Kauffman, 1990).

## 1. PREHLAD O SÚČASNOM STAVE RIEŠENEJ PROBLEMATIKY

### 1.1 História a využitie laskavca

Archeologické nálezy dokazujú výskyt laskavca v oblasti údolia Tehuacan v Mexiku v období 6 700 až 5 000 rokov pred našim letopočtom. Druhy centrálnej Ameriky, laskavec červenoklasý a laskavec metlinatý, sa stali najdôležitejšími plodinami v období Aztéckeho impéria (Flores, Teutonico, 1986). Aztécke písomnosti dokazujú uchovávanie veľkého množstva semien laskavca spolu s kukuricou a fazuľou, ako každoročnú vďaka vládnucej vrstve. Aztékovia používali laskavec, ktorý nazývali „huautli“, v nápochoch, omáčkach, pre placky „tortillas“ a pre rôzne medicínske účely. Pukané alebo mleté laskavcové semená sa často pridávali do medu, alebo iných sladkých, lepkavých rastlinných materiálov, a boli formované do rôznych tvarov a figúrok, ktoré sa využívali pri oslavách a náboženských rituáloch (Brenner et al., 2000). Z čias Aztéckej civilizácie sú pre laskavec známe synonymá „mystické semená Aztékov“, „super semená Aztékov“ a „zlaté semeno Bohov“ (Stallknecht, Schulz-Schaeffer, 1993).

Až do polovice 20. storočia bola India jedinou krajinou so vzrastajúcou produkciou laskavca. Dôkazy o kvalite bielkovín spustili obnovenie záujmu o laskavec. Za posledných dvadsať rokov sa získalo mnoho poznatkov o nutričnej kvalite, ako aj o požiadavkách na pestovanie. Boli vyšľachtené odrody so zlepšenými vlastnosťami, hoci v oblasti šľachtenia laskavca je stále potrebné ďalšie štúdium (Brenner et al., 2000).

### 1.2 Genetická rozmanitosť

Genetická rozmanitosť je vo všeobecnosti definovaná ako množstvo genotypovej rozmanitosti v populácii, alebo počet odlišných alel v lókuse a výskyt lókusov s viac ako jednou alelou v rámci druhu alebo populácie.

Poznanie genetickej rozmanitosti a genetických príbuzenských vzťahov v rámci biologického materiálu je vhodným nástrojom pre šľachtiteľské ciele. V súčasnosti je dostupných mnoho metód pre analýzu genetickej rozmanitosti v zbierkach genofondov rastlín (El-Itrby, 2007).

### 1.3 Molekulárne markéry na úrovni nukleových kyselín

V nedávnej minulosti sa molekulárne markéry stali základnou a nevyhnutnou súčasťou práce rastlinných biológov. Molekulárne markéry sú vhodné pre zisťovanie genetických odtlačkov genotypov, fylogenetické štúdie, zisťovanie príbuznosti druhov v rámci čeľade, evolučných zmien v poradí nukleotidov DNA, určovanie zhody medzi inbrédnymi líniami (z hľadiska maximalizácie heterózy u hybridov), mapovanie rastlinných genómov atď. (Fu Yu et al., 1993; McClean, 1998).

Termin „molekulárny markér“ je používaný pre mnohé techniky, ktoré sú zamerané na hodnotenie variability na úrovni DNA (Koebner et al., 1994). Podľa autorov Ford-Lloyd, Painting (1994) ide o poradie nukleotidov DNA, ktoré môže byť zistené a jeho dedičnosť monitorovaná. Kahl (2001) uvádza, že tiež markéry na úrovni analýzy bielkovín patria do skupiny molekulárnych markérov.

Molekulárny markér môže byť odvodený od akýchkoľvek molekulárnych údajov, ktoré poskytujú analyzovateľný polymorfizmus medzi dvomi organizmami, ktoré sú porovnávané (Weising et al., 1998). Vhodné molekulárne markéry by mali spĺňať niektoré kritériá. Ford-Lloyd, Painting (1994), Kahl (2001) uvádzajú nasledovné požadované vlastnosti molekulárneho markéra: (a) polymorfizmus, (b) kodominancia, (c) výskyt v genóme, (d) jednoduché, rýchle a finančne nenáročné určovanie, (e) opakovateľnosť v rámci a medzi laboratóriami.

#### 1.3.1 Polymorfizmus náhodne zmnoženej DNA

Polymorfizmus náhodne zmnoženej DNA (RAPD) bol prvýkrát popísaný Williamsom et al. (1990). RAPD využíva polymerázovú reťazovú reakciu s použitím krátkych oligonukleotidov, najčastejšie dekamérov, s náhodným poradím nukleotidov, s 50–80 % obsahom guanínu a cytozínu. Po zmnožení sú fragmenty rozdeľované v agarózovom géli, farbené etídiom bromidom a vizualizované v transiluminátore pri UV žiarení (Kahl, 2001).

Počet namnožených úsekov DNA je závislý od použitého prajmera a genomickej DNA. Jednoduchá zmena v nukleotidovom zložení prajmera môže viesť k zmene výsledného RAPD profilu. Podmienky PCR limitujú veľkosť zmnožených fragmentov od 100 do 3000 bp. RAPD markéry sú prevažne dominantné a dedičné (Fu Yu et al., 1993).

Nevyhnutnou súčasťou každej štúdie, využívajúcej metódu RAPD, je z hľadiska zlepšenia opakovateľnosti optimalizácia (Lim et al., 2000). Pre optimalizáciu reakcií je potrebné zvážiť množstvo templátovej DNA, koncentráciu  $Mg^{2+}$ , koncentráciu prajmera (Marsan et al., 1993); obsah guanínu a cytozínu (GC) v prajmerocho (Lim et al., 2000); koncentráciu DNA polymerázy, pomer medzi koncentráciou prajmera a templátovej DNA, koncentráciu deoxyribonukleotidov, ako aj druh termocykléra (Lowe et al., 1996; Tcherneva et al., 2000) a teplotný a časový profil polymerázovej reťazovej reakcie (Yu, Pauls, 1992; 1994).

Po optimalizácii podmienok RAPD je možné dosahovať opakovateľné výsledky v rámci laboratória. Kahl et al. (2001) uvádza ako variant RAPD, metódu optimalizovanú RAPD (optimized stringent RAPD, OS-RAPD), ktorú charakterizuje ako viac opakovateľnú. RAPD bola využitá pri analýze genetickej príbuznosti čajovníka čínskeho (Lai et al., 2001); identifikácií odrôd a hodnotení genetickej príbuznosti dvojslivky čínskej (Ding et al., 2000); štúdiu genetickej variability v populáciách eukalyptu (Li, 2000); genetickej analýze hybridnej populácie chryzantémovky (Huang et al., 2000); zisťovaní reprodukčnej biológie fubovníka bodkovaného (Arnholdt, 2000); identifikácií odrôd ľuľka zemiakového (Polzerova, Ptacek, 2000; Heldák et al., 2001); hodnotení genetickej diverzity kolekcie genofondu manioka jedlého (Colombo et al., 2000); genetickej analýze klonov olejnice guinejskej (Nurhaimi, Darussamin, 1997) a iné.

#### 1.3.2 Molekulárne markéry využívajúce mikrosatelity

Mikrosatelity (opakujúce sa krátke poradia nukleotidov – SSR; jednoduché tandemové opakovania – STR) sú tandemové opakovania krátkych poradí nukleotidov (obyčajne 1–5), ktoré sú prítomné v eukaryotických genómoch (Bežo et al., 2001). Významnou vlastnosťou mikrosatelitných poradí nukleotidov je ich neobyčajne vysoký stupeň rozmanitosti medzi organizmami, ktorá sa prejavuje vo variabilnom počte tandemových opakovaní.

Vo všeobecnosti možno techniky, zaoberajúce sa analýzou variability mikrosatelitných poradí nukleotidov rozdeliť do štyroch skupín.

- Využitie sond s mikrosatelitným poradím nukleotidov pre multilokusovú RFLP analýzu.

- Využitie oligonukleotidov, komplementárnych k mikrosatelitným poradiam nukleotidov (prípadne v kombinácii s náhodnými prajmermi) pre zmoženie úsekov DNA v polymerázovej reťazovej reakcii: MP-PCR (PCR s prajmermi komplementárnymi k mikrosatelitnému poradiu nukleotidov), SPAR (reakcia s jednoduchým prajmerom), AMP-PCR (PCR sukotvenými prajmermi, komplementárnymi k mikrosatelitnému poradiu nukleotidov), ISSR (zmoženie oblastí medzi jednoduchými opakovaniami nukleotidov), RAMP (polymorfizmus náhodne zmoženej mikrosatelitnej DNA).
- Využitie sond s mikrosatelitným poradiem nukleotidov pre odhalenie sekundárneho polymorfizmu hybridizáciou sond s elektroforeticky rozdelenými RAPD alebo MP-PCR fragmentmi: RAMPO (polymorfizmus náhodne zmoženej DNA s následnou hybridizáciou produktov s mikrosatelitnou sondou).
- Využitie špecifických prajmerov, ohraničujúcich mikrosatelitné poradie nukleotidov pre jej zmoženie v polymerázovej reťazovej reakcii pre analýzu variability dĺžky mikrosatelitných úsekov DNA: STMS (sekvenčné označenia miesta mikrosatelitnej DNA), synonymá: SSR (opakujúce sa krátke poradia nukleotidov), STRs (jednoduché krátke opakovania), mikrosatelity – microsattellites (Zietkiewicz et al., 1994; Richardson et al., 1995; Wolff et al., 1995; Ramser et al., 1997; Weising et al., 1998).  
Využitie mikrosatelitných poradií nukleotidov ako molekulárnych markérov má niekoľko výhod: (a) výskyt mikrosatelitných poradií nukleotidov je variabilný v rôznych organizmoch, a to najmä v spojitosti s počtom tandemových opakovaní, (b) mikrosatelity sú v genómoch zastúpené frekventovane a vo veľkom počte vo všetkých doteraz testovaných eukaryotických genómoch, (c) mikrosatelitné poradia nukleotidov sú rovnomerne sa vyskytujúce v genómoch a (d) mikrosatelity sú pravdepodobne nefunkčné, a preto by mali spĺňať podmienku nezávislosti (Weising et al., 1998).

## 2. CIEĽ PRÁCE

Cieľom dizertačnej práce „Genetická analýza láskavca (*Amaranthus L.*) DNA markérmí“ bolo na základe teoretických poznatkov a vlastných experimentálnych výsledkov analyzovať a zhodnotiť možnosti využitia DNA polymorfizmu na určenie biologickej rozmanitosti genotypov láskavca chvostnatého, láskavca metlinatého a láskavca červenoklasého.

Dizertačná práca bola zameraná na:

- Získanie *in vitro* rastlín genotypov troch druhov rodu láskavec, vhodných pre izoláciu celkovej genomickej DNA pre molekulárne analýzy.
- Získanie vhodného protokolu a jeho optimalizáciu pre izoláciu DNA láskavca vhodnej kvality a množstva pre polymerázovú reťazovú reakciu.
- Optimalizáciu podmienok polymerázovej reťazovej reakcie pre RAPD a ISSR.
- Overenie možnosti uplatnenia RAPD a ISSR metódy a vhodnosť vybraných prajmerov pre štúdium genetickej variability genotypov láskavca.
- Porovnanie biologickej rozmanitosti kolekcie genofondu láskavca na úrovni polymorfizmu DNA technikami RAPD a ISSR.
- Určenie genetickej príbuznosti medzi genotypmi láskavca chvostnatého, láskavca metlinatého a láskavca červenoklasého.
- Vyhodnotenie zoskupení genotypov láskavca chvostnatého, láskavca metlinatého a láskavca červenoklasého pri použití jednotlivých DNA markérov v PCR reakciách pre zistenie rozmanitosti genofondu láskavca.

Vedecké zameranie dizertačnej práce bolo orientované na analýzu polymorfizmu medzigénovej DNA, vyplývajúceho z porovnávania nasynetizovaných fragmentov dvojvláknovej DNA v PCR ohraničenými krátkymi náhodnými poradiami nukleotidov (RAPD) a ohraničenými, krátkymi, po sebe sa opakujúcimi poradiami nukleotidov (ISSR) v rámci zbierky genotypov láskavca chvostnatého, láskavca metlinatého a láskavca červenoklasého rôzneho pôvodu a úrovne šľachtienia.

Spoločenský prínos riešenia dizertačnej práce sa predpokladá v oblasti získavania objektívnych údajov pre identifikáciu a vzájomné rozlišovanie odrôd, ktoré sa uplatnia v génových bankách a pri právnej a obchodnej ochrane výsledku šľachtienia, množenia osiva, autorských, licenčných a iných práv šľachtiteľa, množiteľa a majiteľa odrody a pri tvorbe východiskového šľachtiteľského materiálu.

### 3. MATERIÁL A METÓDY

#### 3.1 Biologický materiál

Biologický materiál vo forme semien bol získaný z génovej banky z North Central Regional PI Station (NC 7), Iowa State University, Ames. V tabuľkách 3.1, 3.2 a 3.3 sú uvedené druhy a genotypy, ktoré boli súčasťou genetickej analýzy.

Tabuľka 3.1 Prehľad genotypov láskavka chvostnatého (*Amaranthus caudatus* L.).

Kód	Genotyp	Krajina pôvodu	Poznámka
LCH-01	Ames 12751 1 667	Nepál	Neznámy pôvod
LCH-02	PI 490440 LSK 19	Peru	Neznámy pôvod
LCH-03	PI 490604 HH 50	Bolívia	Neznámy pôvod
LCH-04	PI 490642 LSK 462	Peru	Neznámy pôvod
LCH-05	PI 480816 IC-38286	India	Neznámy pôvod
LCH-06	PI 480854 IC-38313	India	Neznámy pôvod
LCH-07	PI 511693 Achis	Peru	Pestovaný materiál
LCH-08	PI 511711 HH 77	Ekvádor	Pestovaný materiál
LCH-09	PI 568147 coime	Bolívia, Tarija	Pestovaný materiál
LCH-10	PI 175039 RRC 10	India	Neznámy pôvod
LCH-11	PI 553073 Love-Lies-Bleeding	USA, New Jersey	Odroda
LCH-12	PI 166045 Chua	India	Neznámy pôvod
LCH-13	PI 632249	USA, Iowa	Neznámy pôvod
LCH-14	Ames 5600	India	Neznámy pôvod
LCH-15	Ames 5685	USA, Pensylvánia	Neznámy pôvod
LCH-16	NSL 109789	Taliansko	Neznámy pôvod

Tabuľka 3.2 Prehľad genotypov láskavka metlinatého (*Amaranthus cruentus* L.).

Kód	Genotyp	Krajina pôvodu	Poznámka
LM-01	Ames 1959 RRC 1	Ghana	Odroda
LM-02	Ames 5129 RRC 360	Nigéria	Neznámy pôvod
LM-03	Ames 21948	Papua-Nová Guinea	Neznámy pôvod
LM-04	PI 566896 Komo	USA, Arizona	Krajová odroda
LM-05	PI 511719 Niqua, alegria, chang	Guatemala	Pestovaný materiál
LM-06	PI 511876 Huatle	Mexiko	Krajová odroda
LM-07	PI 527567 IZ 32	Burundi	Krajová odroda
LM-08	PI 604558 Mapes 821	Mexiko	Krajová odroda
LM-09	PI 612169 Tibet Yellow	Čína	Pestovaný materiál
LM-10	Ames 5638 RRC 1139	Mexiko, Puebla	Neznámy pôvod
LM-11	Ames 5648 RRC 1148	Mexiko, Sonova	Neznámy pôvod
LM-12	PI 477913 RRC 1011	Mexiko	Odroda
LM-13	Ames 5493 RRC 768	Mexiko, Morelos	Neznámy pôvod
LM-14	Ames 5369 RRC 685	Kongo	Odroda
LM-15	Ames 5310 RRC 659	Mexiko, Sonova	Krajová odroda
LM-16	Ames 25121 CEN/IB/97/AMA/003	Nigéria, Oyo	Voľne rastúci druh
LM-17	Ames 2215 RRC 308	Mexiko, Sonova	Krajová odroda
LM-18	PI 566897 Kerala Red	India, Kerala	Pestovaný materiál



Tabuľka 3.3 Prehľad genotypov láskavca červenoklasého (*Amaranthus hypochondriacus* L.).

Kód	Genotyp	Krajina pôvodu	Poznámka
LČ-01	Ames 2064 RRC 126	Nepál	Šľachtiteľský materiál
LČ-02	Ames 2086 RRC 149	Nepál	Neznámy pôvod
LČ-03	Ames 2061 RRC 124	Nepál	Neznámy pôvod
LČ-04	Ames 21046 Annapurna	India	Odroda
LČ-05	PI 481464 EC-18626	Nepál	Neznámy pôvod
LČ-06	PI 538794 AJCO74	Rusko	Pestovaný materiál
LČ-07	PI 542595	Čína	Pestovaný materiál
LČ-08	PI 568130 DB 926	USA, Iowa	Šľachtiteľský materiál
LČ-09	PI 511731 HH 104	Mexiko	Pestovaný materiál
LČ-10	Ames 12744 I 91	Nepál	Neznámy pôvod
LČ-11	Ames 1972 RRC 18 A	Nigéria	Šľachtiteľský materiál
LČ-12	PI 274279 RRC 171	India, Himachal Pradesh	Neznámy pôvod
LČ-13	PI 337611 P 373	Uganda	Krajová odroda
LČ-14	PI 477915 RRC 1008	India	Šľachtiteľský materiál
LČ-15	PI 477916 RRC 1023	Mexiko	Odroda
LČ-16	PI 477917 RRC 1024	Mexiko	Odroda
LČ-17	Ames 2178 RRC 266	Nepál	Šľachtiteľský materiál
LČ-18	Ames 5132 RRC 363	Mexiko, Chihuahua	Krajová odroda
LČ-19	Ames 5209 RRC 457	Mexiko, Mexiko	Krajová odroda
LČ-20	Ames 5321 RRC 539	Mexiko, Chihuahua	Krajová odroda
LČ-21	Ames 5467 RRC 720	Mexiko, Oaxaca	Neznámy pôvod

### 3.2 Izolácia DNA

DNA bola izolovaná z čerstvých listov rastlín, genotypov rodu láskavec, pestovaných *in vitro* podmienkach, pričom každý genotyp reprezentovalo desať individuálnych rastlín. Pre izoláciu DNA bol optimalizovaný protokol autorov Rogers, Bendich et al. (1994).

### 3.3 Optimalizované podmienky PCR pre RAPD a ISSR

Na základe optimalizácie polymerázovej reťazovej reakcie boli stanovené podmienky pre RAPD analýzu. Všetky reakcie prebiehali v 25  $\mu$ l reakčnej zmesi, obsahujúcej: 20 mmol.dm<sup>-3</sup> Tris-HCl, pH 8,0 (Invitrogen™, Life Technologies), 50 mmol.dm<sup>-3</sup> KCl (Invitrogen™, Life Technologies), 1 U Taq polymerázy (Invitrogen™, Life Technologies), 3 mmol.dm<sup>-3</sup> MgCl<sub>2</sub> (Invitrogen™, Life Technologies), 0,1 mmol.dm<sup>-3</sup> deoxyribonukleotidy (Promega), 0,4  $\mu$ mol.dm<sup>-3</sup> prajmer (tabuľka 3.4), 20 ng DNA.

Časový a teplotný profil reakcií bol nasledovný: 2 minúty pri 94 °C pre úvodnú denaturáciu, 45 cyklov: 1 minútu pri 94 °C pre denaturáciu, 1 minútu pri 36 °C pre naviazanie prajmera, 2 minúty pri 72 °C pre polymerizáciu a záverečný krok 7 minút pri 72 °C pre polymerizáciu. Reakcie prebiehali v termocykléri PTC-150 Minicycler (MJ Research). Produkty polymerázovej reťazovej reakcie boli rozdeľované v 2 % agarózovom géli (3 : 1, Amresco) v 1  $\times$  TBE tlmivom roztoku, farbené etídiom bromidom (0,5  $\mu$ g.ml<sup>-1</sup>) a fotografované pri UV žiarení pomocou dokumentačného systému KODAK EDAS 290. V elektroforeogramoch bol použitý markér 100 bp a 250 bp DNA markér (Invitrogen™, Life Technologies) pre určenie veľkosti zmnožených fragmentov. Pre zabezpečenie kontroly opakovateľnosti produktov bola polymerázová reťazová reakcia s DNA láskavca chvostnatého genotypu PI 553073 Love-Lies Bleeding opakovaná trikrát.

Na základe optimalizácie polymerázovej reťazovej reakcie boli stanovené podmienky pre ISSR analýzu. Všetky reakcie prebiehali v 25  $\mu$ l reakčnej zmesi, obsahujúcej: 20 mmol.dm<sup>-3</sup> Tris-HCl, pH 8,0 (Invitrogen™, Life Technologies), 50 mmol.dm<sup>-3</sup> KCl (Invitrogen™, Life Technologies), 1 U Taq polymerázy (Invitrogen™, Life Technologies), 3 mmol.dm<sup>-3</sup> MgCl<sub>2</sub> (Invitrogen™, Life Technologies), 0,1 mmol.dm<sup>-3</sup> deoxyribonukleotidy (Promega), 0,2  $\mu$ mol.dm<sup>-3</sup> prajmer (tabuľka 3.5), 20 ng DNA. Časový a teplotný profil reakcií bol nasledovný: 2 minúty pri 94 °C pre úvodnú denaturáciu, 45 cyklov: 1 minútu pri 94 °C pre denaturáciu, 1 minútu pri 50 °C pre naviazanie prajmera (annealing), 2 minúty pri 72 °C pre polymerizáciu a záverečný krok 7 minút pri 72 °C pre polymerizáciu. Reakcie prebiehali v termocykléri

PTC-150 Minicycler (MJ Research). Produkty polymerázovej reťazovej reakcie boli rozdeľované v 2 % agarózovom géli (3 : 1, Amresco) v 1 × TBE tlmivom roztoku, farbené etídiom bromidom (0,5 µg.ml<sup>-1</sup>) a fotografované pri UV žiarení pomocou dokumentačného systému KODAK EDAS 290. Vo elektroforeogramoch bol použitý markér 250 bp DNA markér (Invitrogen™, Life Technologies) pre určenie veľkosti zmožených fragmentov.

Pre zabezpečenie kontroly opakovateľnosti produktov bola polymerázová reťazová reakcia s DNA láskavca chvostnatého genotypu PI 553073 Love-Lies Bleeding opakovaná trikrát.

Tabuľka 3.4 Prehľad prajmerov pre RAPD analýzu.

Označenie prajmera	Poradie nukleotidov (5' → 3')	Označenie prajmera	Poradie nukleotidov (5' → 3')
RALA-01 <sup>(1)</sup>	CCTGGGTGGA	RALA-09 <sup>(1)</sup>	CCGGCCCCAA
RALA-02 <sup>(1)</sup>	GGTGGCGGGA	RALA-10 <sup>(1)</sup>	TTACCTGGGC
RALA-03 <sup>(1)</sup>	CCTGGGCCTC	RALA-11 <sup>(1)</sup>	AAAACCGGGC
RALA-04 <sup>(1)</sup>	GGGCCGTTTA	RALA-1/6 <sup>(2)</sup>	TACGATGACG
RALA-05 <sup>(1)</sup>	CCCGCCTCCC	RALA-1/8 <sup>(2)</sup>	CAAACGGCAC
RALA-06 <sup>(1)</sup>	CCGGCCTTAC	RALA-2/5 <sup>(2)</sup>	CTTGACGGGG
RALA-07 <sup>(1)</sup>	CCGGCCTTAG	RALA-3/8 <sup>(2)</sup>	AGGAGTGAGA
RALA-08 <sup>(1)</sup>	CCGGCCTTCC		

Vysvetlivky: <sup>(1)</sup> – Invitrogen™, Life Technologies, <sup>(2)</sup> – Integrated DNA Technologies

Tabuľka 3.5 Prehľad prajmerov pre ISSR analýzu.

Označenie prajmera	Poradie nukleotidov (5' → 3')
ISLA-(AGC) <sub>4</sub> G <sup>(1)</sup>	AGC AGC AGC AGC G
ISLA-(CA) <sub>6</sub> AG <sup>(1)</sup>	CA CA CA CA CA CA AG
ISLA-(CA) <sub>6</sub> GG <sup>(1)</sup>	CA CA CA CA CA CA GG
ISLA-(CA) <sub>6</sub> GT <sup>(1)</sup>	CA CA CA CA CA CA GT
ISLA-(CT) <sub>8</sub> <sup>(1)</sup>	CT CT CT CT CT CT CT CT
ISLA-(CT) <sub>8</sub> AC <sup>(1)</sup>	CT CT CT CT CT CT CT CT AC
ISLA-(CT) <sub>8</sub> TG <sup>(1)</sup>	CT CT CT CT CT CT CT CT TG
ISLA-(GA) <sub>6</sub> CC <sup>(1)</sup>	GA GA GA GA GA GA CC
ISLA-(GAG) <sub>3</sub> GC <sup>(1)</sup>	GAG GAG GAG GC
ISLA-(GTG) <sub>3</sub> GC <sup>(1)</sup>	GTG GTG GTG GC
ISLA-(GT) <sub>6</sub> CC <sup>(1)</sup>	GT GT GT GT GT GT CC

Vysvetlivky: <sup>(1)</sup> – Invitrogen™, Life Technologies

### 3.4 Analýza dát

Digitálny obraz elektroforeogramu bol vyhodnotený pomocou programu KODAK 1 D. Program Microsoft Excel 2003 bol použitý na spracovanie podkladových dát prítomnosti alebo neprítomnosti prúžku v dráhe elektroforeogramu, čo bolo podkladom pre hierarchickú zhlukovú analýzu metódou UPGMA. Analýzou UPGMA v programe SYNTAX boli určené priemerné euklidovské vzdialenosti zhlukov (PEVZ) a zostavili sa vetvové členenia zhlukov.

Podkladové údaje prítomnosti alebo neprítomnosti prúžku v dráhe elektroforeogramu boli použité aj pre výpočet indexu (koeficientu) príbuznosti (Nei, Li, 1979) podľa vzorca:

$$S_{AB} = 2 \times \text{počet spoločných prúžkov} / (\text{počet prúžkov v dráhe A} + \text{počet prúžkov v dráhe B}).$$

Hodnota určitého PCR produktu bola hodnotená na základe podobnosti k optimálnym podmienkam (optimálne podmienky znamenajú, že 50 % genotypov obsahuje produkt). Túto „informativnosť“ PCR produktu“  $I_b$  je možné vyjadriť v rozsahu od 0 do 1 na základe vzorca:  $I_b = 1 - (2 \times |0,5 - p|)$ , kde  $p$  je podiel z hodnoteného množstva genotypov, ktoré obsahujú príslušný PCR produkt. Hodnota  $I_b$  bola vypočítaná pre všetky produkty, ktoré sa jednotlivými technikami získali. Ak sú všetky produkty optimálne informatívne, vtedy tým najlepším prajmerom alebo technikou je tá, ktorá generuje najviac PCR produktov. Za predpokladu, že tieto produkty sú vzťahnuté k ich príbuznosti k optimálnej „informativnosti

PCR produktu“, schopnosť prajmera alebo techniky rozlíšiť veľké množstvo genotypov je reprezentované sumou týchto hodnôt, ako rozlišovacia schopnosť prajmera (Rp):  $R_p = \sum I_b$  (Prevost, Wilkinson [1999]; Chakrabarti et al. [2001]).

Koeficient rozlíšiteľnosti genotypov bol vypočítaný ako podiel rozlíšených genotypov z celkového počtu analyzovaných genotypov.

#### 4. VÝSLEDKY

Genotypy láskavca chvostnatého boli analyzované pomocou 5 RAPD a 8 ISSR prajmerov. V RAPD analýze bolo vytvorených 10–17 úrovní rozdelenia namnožených DNA úsekov v PCR, v ISSR analýze to bolo 14–21 úrovní namnožených DNA úsekov. Polymorfizmus DNA fragmentov v RAPD dosahoval hodnoty 72,73–94,12 %, v ISSR 55,56–100,00 %. Priemerný počet fragmentov v RAPD bol 4,38–9,81, v ISSR dosahovali priemerné hodnoty 4,88–12,25. Rozlišovacia schopnosť prajmera (Rp) dosahovala v RAPD hodnoty 3,25–6,88, v ISSR 4,50–7,75. Priemerná hodnota indexu príbuznosti ( $SI_{NL}$ ) bola v RAPD v intervale od 0,63 do 0,81, v ISSR boli hodnoty v intervale 0,50–0,88. Minimálne hodnoty PEVZ boli aj v prípade RAPD aj v prípade ISSR 0,000E+00. Maximálne hodnoty boli v RAPD analýze v intervale od 0,148E+02 (prajmer RALA-06) do 0,285E+02 (prajmer RALA-05). V ISSR analýze bola najnižšia maximálna hodnota PEVZ 0,196E+02 (prajmer ISLA-(CA)<sub>6</sub>GT) a najvyššia 0,395E+02 (prajmer ISLA-(GAG)<sub>3</sub>GC). Z hľadiska počtu rozlíšených genotypov možno skonštatovať, že v RAPD analýze bolo možné prajmerom RALA-05 rozlíšiť  $\frac{3}{4}$  (hodnota koeficientu rozlíšiteľnosti genotypov 0,75) genotypov láskavca chvostnatého. V rámci ISSR analýzy bolo rozlíšených  $\frac{3}{4}$  a viac genotypov láskavca chvostnatého pomocou prajmerov: ISLA-(CA)<sub>6</sub>GT, ISLA-(CA)<sub>6</sub>AG, ISLA-(CA)<sub>6</sub>GG a ISLA-(GT)<sub>6</sub>CC. Najvyšší počet genotypov (koeficient rozlíšiteľnosti genotypov 0,88) láskavca chvostnatého bolo možné rozlíšiť prajmermi ISLA-(CA)<sub>6</sub>GG a ISLA-(GT)<sub>6</sub>CC. Okrem genotypov PI 480816 IC-38286 (LCH-05) a PI 480854 IC-38313 (LCH-06) z Indie, bolo rozlíšených ostatných 14 genotypov v prípade použitia prajmera ISLA-(CA)<sub>6</sub>GG.

Na základe vetvových členení podľa UPGMA, ako aj na základe indexov príbuznosti bola potvrdená zhoda oboch metódami medzi genotypmi láskavca chvostnatého: PI 490440 LSK 19 (LCH-02) a PI 490604 HH 50 (LCH-03) s pôvodom v Peru a Bolívií, PI 490440 LSK 19 (LCH-02) a PI 511693 Achis (LCH-07) s pôvodom v Peru, PI 480816 IC-38286 (LCH-05) a PI 480854 IC-38313 (LCH-06) s pôvodom v Indii, PI 511693 Achis (LCH-07) z Peru a PI 511711 HH 77 (LCH-08) z Ekvádora a PI 553073 Love-Lies-Bleeding (LCH-11) z USA, PI 553073 Love-Lies-Bleeding (LCH-11) a Ames 5685 (LCH-15) z USA, PI 632249 (LCH-13) z USA a Ames 5600 (LCH-14) z Indie ako aj PI 632249 (LCH-13) a Ames 5685 (LCH-15) z USA.

Najčastejšie boli samostatne zhlukované metódou RAPD genotypy láskavca chvostnatého PI 480816 IC-38286 (LCH-05) a PI 480854 IC-38313 (LCH-06) s pôvodom v Indii, medzi ktorými bola preukázaná vysoká genetická príbuznosť niekoľkými prajmermi. Metódou ISSR sa okrem genotypov LCH-05 a LCH-06, samostatne zhlukovali genotypy PI 568147 coime (LCH-09) a PI 175039 RRC 10 (LCH-10) z Bolívie a Indie.

Genotypy láskavca metlinatého boli analyzované pomocou 9 RAPD a 6 ISSR prajmerov. V RAPD analýze bolo vytvorených 9–17 úrovní rozdelenia namnožených fragmentov. V ISSR analýze bolo vytvorených 11–25 úrovní. Polymorfizmus DNA fragmentov dosahoval hodnoty v RAPD analýze 63,64–93,75 %, v ISSR analýze 70,00–100,00 %. Priemerný počet nasyntetizovaných DNA úsekov bol v RAPD v intervale od 3,60–7,89, v ISSR od 3,61–13,83. Rozlišovacia schopnosť prajmera (Rp) dosahovala minimálnu hodnotu v RAPD 2,11, v ISSR 3,44 a maximálnu hodnotu v RAPD 7,89, v ISSR 10,33. Priemerné hodnoty indexu príbuznosti ( $SI_{NL}$ ) boli v RAPD v intervale od 0,67 do 0,84, v ISSR boli hodnoty v intervale 0,60–0,86. Minimálne hodnoty PEVZ boli aj v prípade RAPD aj v prípade ISSR 0,000E+00. Maximálne hodnoty PEVZ boli v RAPD analýze v intervale od 0,117E+02 (prajmer RALA-2/5) do 0,297E+02 (prajmer RALA-1/8). V ISSR analýze bola najnižšia hodnota PEVZ 0,170E+02 (prajmer ISLA-(CA)<sub>6</sub>GG) a najvyššia 0,428E+02 (prajmer ISLA-(GAG)<sub>3</sub>GC). Pri hodnotení počtu rozlíšených genotypov sme dosiahli nasledovné výsledky. V RAPD analýze bolo rozlíšených maximálne 13 z hodnotených 18 genotypov (hodnota koeficientu rozlíšiteľnosti genotypov 0,72) prajmermi RALA-03 a RALA-08. V ISSR analýze bolo možné rozlíšiť najviac 16 z hodnotených 18 genotypov láskavca metlinatého a to prajmermi ISLA-(GTG)<sub>3</sub>GC a ISLA-(GA)<sub>6</sub>CC.

Na základe vetvových členení podľa UPGMA, ako aj na základe indexov príbuznosti bola potvrdená zhoda medzi viacerými genotypmi metódami RAPD aj ISSR. Zhodné zhlukovanie medzi určitými genotypmi bolo potvrdené ako metódou RAPD, tak aj metódou ISSR.

V rámci hodnotenia láskavca metlinatého bol najčastejšie samostatne zhlukovaný genotyp PI 511876 Huatle (LM-06) z Mexika. V rámci RAPD analýzy bol uvedený genotyp samostatne zhlukovaný pomocou prajmerov RALA-2/5, RALA-05, RALA-07 a RALA-08 a v rámci ISSR vytvoril uvedený genotyp samostatný zhluk pomocou prajmerov ISLA-(CA)<sub>6</sub>GG, ISLA-(CT)<sub>8</sub>AC a ISLA-(GA)<sub>6</sub>CC. Je možné predpokladať vyššiu genetickú odlišnosť medzi uvedeným genotypom a ostatnými hodnotenými genotypmi láskavca metlinatého.

Genotypy láskavca červenoklasého boli analyzované pomocou 4 RAPD a 7 ISSR prajmerov. V RAPD analýze bolo vytvorených 10–13 úrovní rozdelenia namnožených DNA fragmentov, v ISSR to bolo 10–21 úrovní. Polymorfizmus DNA fragmentov v RAPD analýze dosahoval hodnoty 70,00–100,00 %, v ISSR analýze to boli hodnoty 64,71–100,00 %. Priemerný počet fragmentov v RAPD dosahoval hodnoty 5,67–7,10, v ISSR 3,24–11,81. Hodnoty rozlišovacej schopnosti prajmera (Rp) mali minimálnu hodnotu v RAPD 4,00 a maximálnu 6,29, v ISSR bola najnižšia hodnota Rp 2,48 a najvyššia 5,81. Priemerná hodnota indexu príbuznosti (SI<sub>NL</sub>) bola v RAPD v intervale od 0,63 do 0,77 a v ISSR od 0,58 do 0,84. Minimálne hodnoty PEVZ boli aj v prípade RAPD aj v prípade ISSR 0,000E+00. Maximálne hodnoty boli v RAPD analýze v intervale od 0,153E+02 (prajmer RALA-01) do 0,185E+02 (prajmer RALA-03). V ISSR analýze bola najnižšia hodnota PEVZ 0,160E+02 (prajmer ISLA-(CT)<sub>8</sub>AC) a najvyššia hodnota 0,421E+02 (prajmer ISLA-(GAG)<sub>3</sub>GC). Z hľadiska počtu rozlíšených genotypov možno konštatovať, že aj v RAPD aj v ISSR analýze bolo možné rozlíšiť maximálne 13 z 21 analyzovaných genotypov (hodnota koeficientu rozlíšiteľnosti prajmerov 0,62) pomocou prajmerov RALA-01 a ISLA-(GTG)<sub>3</sub>GC.

Na základe vetvových členení podľa UPGMA, ako aj na základe indexov príbuznosti bola potvrdená zhoda medzi viacerými genotypmi metódami RAPD a ISSR.

V rámci hodnotenia láskavca červenoklasého bol najčastejšie zhlukovaný genotyp PI 511731 HH 104 (LČ-09) z Mexika pomocou prajmerov ISLA-(CA)<sub>6</sub>AG a ISLA-(GTG)<sub>3</sub>GC a Ames 2086 RRC 149 (LČ-02) z Nepálu pomocou prajmerov ISLA-(GTG)<sub>3</sub>GC, ISLA-(CT)<sub>8</sub>AC a ISLA-(GA)<sub>6</sub>CC.

Z hľadiska možného rozlíšenia genotypov možno konštatovať, že metódou RAPD bolo možné rozlíšiť 75 % genotypov láskavca chvostnatého pomocou jedného prajmera – RALA-05, viac ako 50 % genotypov bolo možné rozlíšiť pomocou dvoch prajmerov – RALA-01 a RALA-03 a menej ako 50 % bolo možné rozlíšiť pomocou prajmerov RALA-06 a RALA-08. Metódou ISSR bolo možné rozlíšiť 75 % genotypov pomocou prajmera ISLA-(CA)<sub>6</sub>GT, 81 % genotypov bolo rozlíšených pomocou prajmera ISLA-(CA)<sub>6</sub>AG a 88 % genotypov bolo rozlíšených pomocou prajmerov ISLA-(CA)<sub>6</sub>GG a ISLA-(GT)<sub>8</sub>CC, 50 % genotypov rozlíšil prajmer ISLA-(GA)<sub>6</sub>CC a menej ako 50 % genotypov bolo rozlíšených pomocou troch prajmerov – ISLA-(GTG)<sub>3</sub>GT, ISLA-(GAG)<sub>3</sub>GC a ISLA-(CT)<sub>8</sub>AC.

Metódou RAPD bolo možné rozlíšiť 72 % genotypov láskavca metlinatého pomocou prajmerov RALA-03 a RALA-08. 50 % a viac genotypov bolo možné rozlíšiť pomocou štyroch prajmerov – RALA-1/8, RALA-01, RALA-02 a RALA-07. A menej ako 50 % genotypov bolo rozlíšených pomocou prajmerov RALA-2/5, RALA-05 a RALA-06. Metódou ISSR bolo rozlíšených 78 % genotypov pomocou prajmera ISLA-(GT)<sub>6</sub>CC a 89 % genotypov pomocou prajmerov ISLA-(GTG)<sub>3</sub>GC a ISLA-(GA)<sub>6</sub>CC. 50 % a viac genotypov bolo možné rozlíšiť pomocou prajmerov ISLA-(CA)<sub>6</sub>GG a ISLA-(GAG)<sub>3</sub>GC. Menej ako 50 % genotypov bolo rozlíšených pomocou prajmera ISLA-(CT)<sub>8</sub>AC.

Pomerne málo rozlíšiteľné boli genotypy láskavca červenoklasého, u ktorých sme dosiahli oboma metódami 62 % a menej rozlíšených genotypov pomocou prajmerov RALA-01, RALA-08, ISLA-(CA)<sub>6</sub>AG, ISLA-(GAG)<sub>3</sub>GC, ISLA-(GT)<sub>6</sub>CC. Menej ako 50 % genotypov bolo rozlíšených pomocou prajmerov RALA-03, RALA-05 a ISLA-(CA)<sub>6</sub>GG, ISLA-(CT)<sub>8</sub>AC, ISLA-(GA)<sub>6</sub>CC.

V rámci analýzy genetickej príbuznosti láskavca metlinatého bol identifikovaný prajmer RALA-07, ktorý vyčlenil 100 % genotypov s pôvodom Afrike s hodnotou PEVZ 0,00E+00, čiže genotypy Ames 1959 RRC 1, Ames 5129 RRC 360, PI 527567 IZ 32, Ames 5369 RRC 685 a Ames 25121 CEN/IB/97/AMA/003 (LM-01, LM-02, LM-07, LM-14 a LM-16). Prajmer RALA-07 vyčlenil do skupiny afrických genotypov aj genotyp Ames 21948 (LM-03) z Papuy-Novej Guiney a PI 511719 Niqua, alegria, chang (LM-05) z Guatemaly. Prajmer RALA-08 tiež vyčlenil 100 % genotypov láskavca metlinatého s pôvodom v Afrike, 80 % genotypov LM-01, LM-02, LM-07 a LM-14 malo hodnotu PEVZ 0,00E+00 a genotyp LM-16 sa spájal s ostatnými s hodnotou 0,224E+01. Medzi genotypy s pôvodom v Afrike bol

prajmerom RALA-08 vyčlenený aj genotyp LM-03 z Papuy-Novej Guiney. Je možné predpokladať, že medzi uvedenými genotypmi je blízka genetická príbuznosť.

ISSR analýzou boli identifikované 3 prajmery, ktoré odhalili geografické vzťahy medzi genotypmi láskavca metlinatého. Prajmer ISLA-(GTG)<sub>3</sub>GC vyčlenil všetky genotypy s pôvodom v Afrike (spolu s genotypmi z Papuy-Novej Guiney, USA a Mexika) v rámci jedného zhluku. Druhý zhluk tvorili genotypy z Ameriky (Mexiko, Guatemala) a Ázie (India, Čína). Prajmerom (GA)<sub>6</sub>CC boli vyčlenené genotypy láskavca metlinatého s pôvodom v Afrike v rámci jedného zhluku opäť spolu s genotypom z Papuy-Novej Guiney a tiež genotypom z Mexika. Druhý zhluk tvorili genotypy z Ameriky a Ázie.

Kým RAPD analýzou bola potvrdená viac-menej zhoda medzi genotypmi s pôvodom v Afrike, ISSR analýzou boli genotypy vyčlenené do zhluku s rôznymi úrovňami zhlukovania sa do podskupín, s výnimkou prajmera ISLA-(CT)<sub>8</sub>AC, ktorý vyčlenil genotypy s pôvodom v Afrike, avšak medzi genotypmi LM-02, LM-07, LM-14 a LM-16 bola potvrdená zhoda (PEVZ 0,00E+00). V rámci podskupiny prvého zhluku boli spolu s genotypmi z Afriky vyčlenené aj genotypy LM-03 z Papuy-Novej Guiney, LM-05 z Guatemaly, a LM-18 z Indie.

Dizertačná práca dokumentuje aplikáciu molekulových markérov pre štúdium vzťahov medzi genotypmi troch druhov rodu láskavec. Získané výsledky poukazujú na schopnosť metód RAPD a ISSR rozlíšiť genotypy láskavca chvostnatého, láskavca metlinatého a láskavca červenoklasého. Boli zistené rozdielne priemerné hodnoty rozlišovacej sily prajmerov medzi genotypmi a preukázala sa vysoká rozlišovacia schopnosť piatich prajmerov. Bola zistená vysoká variabilita medzi úsekmi DNA namnoženými v PCR s prajmermi komplementárnymi k mikrosatelitným poradiam nukleotidov, ktorú je možné využiť pre rozlíšenie genotypov druhov rodu láskavec. Boli rozlíšené genotypy rôzneho geografického pôvodu pomocou oboch použitých metód.

Výsledky uvedené v dizertačnej práci sú vhodným základom pre ich aplikáciu v stanovení stratégie pre uchovávanie genetických zdrojov rodu láskavec a môžu prispieť k širšiemu využitiu molekulových metód pri určovaní pôvodu jednotlivých genotypov láskavca chvostnatého, láskavca metlinatého a láskavca červenoklasého.

Uchovávanie genetických zdrojov rastlín si v mnohých prípadoch vyžaduje zachovanie veľkých populácií *in situ* alebo *ex situ*. Doterajšie poznatky naznačujú potrebu uchovávať čo najviac genotypov, pričom genotypy z rôznych proveniencií môžu ukrývať významné úrovne genetickej variability. Pre rozlišovanie genetických zdrojov predstavujú molekulové techniky spoľahlivý a efektívny nástroj.

Odlíšnosť genotypov na základe ich vzťahu ku geografickému pôvodu poukazuje na existenciu takých úsekov DNA, ktoré sú použiteľné pre určenie pôvodu rastlinného materiálu. Tieto charakteristické „informatívne“ DNA fragmenty je možné konvertovať na molekulové markéry s potenciálom na kontrolu pôvodu konkrétneho genotypu prípadne pre výber na požadované vlastnosti. Tieto nástroje môžu byť aj vhodným pomocným prvkom v markérmi podporovanom šľachtení jednotlivých druhov rodu láskavec, ako aj pri kontrole pravosti genotypov pestovaných pre špeciálne potravinárske použitie.

## 5. ZÁVER

Metódy využívajúce polymerázovú reťazovú reakciu – RAPD a ISSR – sa hodnotili z hľadiska ich aplikovateľnosti ako systémov genetických markérov pre hodnotenie vzťahov medzi genotypmi troch druhov láskavca – láskavca chvostnatého, láskavca metlinatého a láskavca červenoklasého.

A. Stanovenie optimálnych podmienok polymerázovej reťazovej reakcie pre analýzu DNA každého individuálneho genotypu viedlo k opakovateľným PCR produktom získaným oboma metódami, ktoré boli použité na hodnotenie príbuzenských vzťahov medzi genotypmi.

B. DNA polymorfizmus láskavca chvostnatého bol hodnotený metódou RAPD pomocou 5 prajmerov. Priemerná hodnota indexu príbuznosti medzi genotypmi podľa Nei, Li (1979) bola 0,71. Rozlišovacia schopnosť prajmera bola v rozsahu 3,25–6,88, s priemerom 4,85. Použitím jednotlivých prajmerov bolo možné rozlíšiť 19–75 % genotypov. Najviac genotypov (75 %) bolo možné rozlíšiť prajmerom RALA-05.

C. Polymorfizmus zmožených úsekov DNA genotypov láskavca chvostnatého medzi jednoduchými opakujúcimi sa poradiami nukleotidov bol analyzovaný pomocou 8 prajmerov. Priemerná hodnota indexu príbuznosti medzi rovnakým spektrom genotypov podľa Nei, Li (1979) bola takmer na rovnakej úrovni, ako priemerná hodnota zistená metódou RAPD (0,72). Priemerná hodnota rozlišovacej sily prajmera Rp (6,30) bola o 29,82 % vyššia ako priemerná hodnota rozlišovacej schopnosti prajmera zistená metódou

RAPD. Ôsmimi prajmermi použitými v ISSR analýze sa rozlíšilo od 38 do 88% genotypov. Viac ako 75% genotypov sa rozlíšilo pomocou štyroch prajmerov (ISLA-(CA)<sub>6</sub>GT – 75 %, ISLA-(CA)<sub>6</sub>AG – 81 %, ISLA-(CA)<sub>6</sub>GG – 88 %, ISLA-(GT)<sub>6</sub>CC – 88 %).

**D.** Dva genotypy laskavca chvostnatého PI 480816 IC-38286 (LCH-05) a PI 480854 IC-38313 (LCH-06) vytvorili spoločný zhuk pomocou prajmerov RALA-01, RALA-05 a RALA-06 v RAPD analýze a pomocou prajmerov ISLA-(CA)<sub>6</sub>GG, ISLA-(GT)<sub>3</sub>GC, ISLA-(GAG)<sub>3</sub>GC, ISLA-(CT)<sub>8</sub>AC a ISLA-(GA)<sub>6</sub>CC v ISSR analýze s hodnotou PEVZ 0,000E+00. Vysoký stupeň genetickej príbuznosti medzi genotypmi laskavca chvostnatého, určený na základe polymorfizmu RAPD a ISSR markerov, indikuje spoľahlivosť oboch metód pre hodnotenie vzájomných vzťahov.

**E.** Zhlukovou analýzou boli zaznamenané dve dvojice genotypov laskavca chvostnatého, ktoré sa najčastejšie vyskytovali v samostatných zhlukoch. Dvojica genotypov PI 480816 IC-38286 (LCH-05), PI 480854 IC-38313 (LCH-06) z Indie tvorila samostatný zhuk v RAPD analýze s použitím prajmerov RALA-05 a RALA-06 a ISSR analýze pri použití prajmerov ISLA-(CA)<sub>6</sub>AG a ISLA-(CT)<sub>8</sub>AC. Obdobne dvojica genotypov PI 568147 coime (LCH-09) z Bolívie a PI 175039 RRC (LCH-10) z Indie vytvorila samostatný zhuk v ISSR analýze pomocou prajmerov ISLA-(GTG)<sub>3</sub>GC, ISLA-(GAG)<sub>3</sub>GC, ISLA-(GA)<sub>6</sub>CC a ISLA-(GT)<sub>6</sub>CC.

**F.** Polymorfizmus náhodne zmnoženej DNA metódou RAPD medzi genotypmi laskavca metlinatého bol hodnotený pomocou 9 prajmerov. Priemerná hodnota indexu príbuznosti (0,76) bola o 6,60 % vyššia ako v genotypoch laskavca chvostnatého. Na druhej strane, priemerná hodnota rozlišovacej schopnosti prajmera Rp (3,89) v metóde RAPD bola o 19,79 % nižšia ako priemerná hodnota rozlišovacej schopnosti prajmera v metóde RAPD zistená v genotypoch laskavca chvostnatého. Setom uvedených prajmerov sa odlišilo od 22 do 72 % genotypov. Prajмеры RALA-03 a RALA-08 rozlíšili najviac genotypov (72 %) laskavca metlinatého.

**G.** Polymorfizmus zmnožených úsekov DNA laskavca metlinatého medzi jednoduchými opakujúcimi sa poradiami nukleotidov bol analyzovaný pomocou 6 prajmerov. Priemerná hodnota indexu príbuznosti genotypov laskavca metlinatého (0,74) bola o 2,63 % nižšia ako pri použití metódy RAPD. Obdobne ako pri metóde RAPD, aj pri použití ISSR bola priemerná hodnota rozlišovacej sily prajmera (5,28) nižšia ako pri analýze genotypov laskavca chvostnatého. Použitím šiestich prajmerov sa rozlíšilo od 39 do 89 % genotypov. Tri prajмеры (ISLA-(GT)<sub>6</sub>CC, ISLA-(GTG)<sub>3</sub>GC, ISLA-(GA)<sub>6</sub>CC) umožnili rozlíšiť viac ako 75 % analyzovaných genotypov.

**H.** V zhlukovej analýze mal osobitné postavenie genotyp laskavca metlinatého PI 511876 Huatle z Mexika, ktorý vytvoril samostatný zhuk ako pri použití metódy RAPD (prajмеры RALA-2/5, RALA-05, RALA-07 a RALA-08), tak pri použití metódy ISSR (prajмеры ISLA-(CA)<sub>6</sub>GG, ISLA-(CT)<sub>8</sub>AC a ISLA-(GA)<sub>6</sub>CC). Rovnako koeficienty príbuznosti svedčili o skutočnosti, že uvedený genotyp je geneticky najvzdialenejší od ostatných študovaných genotypov laskavca metlinatého.

**I.** Polymorfizmus náhodne zmnoženej DNA laskavca červenoklasého bol hodnotený metódou RAPD pomocou 4 prajmerov. Priemerná hodnota indexu príbuznosti (0,70) bola najnižšia v porovnaní s predchádzajúcimi dvomi druhmi laskavca. Priemerná hodnota rozlišovacej schopnosti prajmera Rp (4,91) pre genotypy laskavca červenoklasého bola najvyššia zo všetkých troch analyzovaných druhov metódou RAPD. Jednotlivé prajмеры v RAPD analýze rozlíšili 38 až 62 % genotypov. Žiaden z prajmerov nerozlíšil viac ako 75% genotypov, najviac genotypov (62 %) bolo možné rozlíšiť pomocou prajmera RALA-01.

**J.** ISSR polymorfizmus DNA genotypov laskavca červenoklasého bol analyzovaný pomocou 7 prajmerov. Priemerná hodnota indexu príbuznosti (0,73) bola porovnateľná s ostatnými analyzovanými druhmi laskavca. Na druhej strane priemerná hodnota rozlišovacej sily prajmera Rp (4,27) bola najnižšia medzi porovnávanými druhmi laskavca, analyzovanými metódou ISSR. Jednotlivé prajмеры v ISSR analýze rozlíšili 29–62 % genotypov. Rovnako pri analýze metódou RAPD, aj pri metóde ISSR, bolo možné jedným prajmerom rozlíšiť len 62 % genotypov použitím prajmera ISLA-(GTG)<sub>3</sub>GC.

**K.** Najčastejšie samostatne zhlukovaný bol genotyp laskavca červenoklasého PI 511731 HH 104 (LČ-09) z Mexika pomocou prajmerov ISLA-(CA)<sub>6</sub>AG a ISLA-(GTG)<sub>3</sub>GC a Ames 2086 RRC 149 (LČ-02) z Nepálu pomocou prajmerov ISLA-(GTG)<sub>3</sub>GC, ISLA-(CT)<sub>8</sub>AC a ISLA-(GA)<sub>6</sub>CC.

**L.** Zhlukovou analýzou PCR produktov získaných metódou RAPD (prajmermi RALA-07, RALA-08) sa zistili rozdiely medzi skupinami genotypov laskavca metlinatého pochádzajúcich z rôznych geografických lokalít. Prajmer RALA-07 vyčlenil 100 % genotypov s pôvodom Afriky s hodnotou PEVZ 0,00E+00 (genotypy Ames 1959 RRC 1, Ames 5129 RRC 360, PI 527567 IZ 32, Ames 5369 RRC 685 a Ames 25121 CEN/IB/97/AMA/003). Prajmerom RALA-08 sa tiež vyčlenilo 100 % genotypov laskavca

metlinatého s pôvodom v Afrike, pričom 83 % genotypov malo hodnotu PEVZ 0,00E+00, a genotyp Ames 25121 CEN/IB/97/AMA/003 sa spájal s ostatnými genotypmi pochádzajúcimi z Afriky s hodnotou PEVZ 0,224E+01. Genetické vzťahy hodnotené na základe RAPD polymorfizmu pomocou uvedených prajmerov sú v súlade geografickými údajmi ich pôvodu a môžu byť asociované a takou časťou genómu, ktorá je charakteristická len pre genotypy pochádzajúce z Afriky.

M. Podobne zhlukovú analýzu ISSR produktov sa zistili rozdiely medzi genotypmi láskavca metlinatého, ktoré korešpondovali s ich pôvodným územím pestovania, resp. prirodzeného výskytu. Dva prajmery ISLA-(GT)<sub>6</sub>GC a ISLA-(GA)<sub>6</sub>CC vyčlenili genotypy láskavca metlinatého s pôvodom z Afriky do jedného zhluku.

N. Metóda RAPD umožnila odlišiť genotypy pochádzajúce z Afriky od skupiny ostatných analyzovaných genotypov bez hierarchizácie. ISSR analýzou boli tiež genotypy vyčlenené do zhluku genotypov pochádzajúcich z Afriky, ale aj s rôznymi úrovňami zhlukovania sa do podskupín, s výnimkou prajmera ISLA-(CT)<sub>6</sub>AC, ktorý vyčlenil genotypy s pôvodom v Afrike, avšak medzi genotypmi Ames 5129 RRC 360, PI 527567 IZ 32, Ames 5369 RRC 685 a Ames 25121 CEN/IB/97/AMA/003 bola potvrdená zhoda (PEVZ 0,00E+00).

## 6. POUŽITÁ LITERATÚRA

ARNHOLDT, S. B. 2000. RAPD analysis: a method to investigate aspects of the reproductive biology of *Hypericum perforatum* L. In: Theoretical and Applied Genetics, vol. 100, 2000, no. 6, p. 906–911.

BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽOVÁ, K. – KUTIŠOVÁ, J. 2001. Techniky molekulárnej biológie pri práci s genetickými zdrojmi rastlín. In: Nové poznatky z genetiky a šľachtienia poľnohospodárskych rastlín. Piešťany: Výskumný ústav rastlinnej výroby, 2001, s. 11–15. ISBN 80-88790-19-0

BRENNER, D. M. – BALTENSPERGER, D. D. – KULAKOW, P. A. et al. 2000. Genetic Resources and Breeding of *Amaranthus*. In: Plant Breeding Reviews, vol. 19, 2000, p. 227–285. ISBN 0-471-38787-8

BRESSANI, R. 1988. Amaranth: The nutritive value and potential uses of the grain and by-products. In: Food and Nutrition Bulletin, vol. 10, 1988, no. 2.

COLOMBO, C. – SECOND, G. – CHARRIER, A. 2000. Diversity within American cassava germplasm based on RAPD markers. In: Genetics and Molecular Biology, vol. 23, 2000, no. 1, p. 189–199.

DING, X. D. – LU, L. X. – CHEN, X. J. – GUAN, X. – DING, X. D. – LU, L. X. – CHEN, X. J. – GUAN, X. 2000. Identifying litchi cultivars and evaluating their genetic relationships by RAPD markers. In: Journal of Tropical and Subtropical Botany, vol. 8, 2000, no. 1, p. 49–54.

EL-ITRIBY, H. 2007. Genetic Diversity and Germplasm Conservation Using Molecular and Genomic Techniques. In: <http://www.icarda.org/aprp/Datepalm/Topics/Biotech/Biotech-right.htm> (10-10-2007).

FLORES, H. E. – TEUTONICO, R. A. 1986. Amaranths (*Amaranthus* spp.): Potential Grain and Vegetable Crops. In: BAJAJ, Y. P. S.: Biotechnology in Agriculture and Forestry 2, Berlin, Heiderberg, New York, Tokyo: Springer-Verlag, 1986, p. 568–578. ISBN 3-540-15842-1

FORD-LLOYD, B. – PAINTING, K. 1996. Measuring Genetic Variation Using Molecular Markers. In: <http://www.cgiar.org/ipgri> (20-08-2001).

FU YU, K. – DEYNZE, A. D. – PAULS, K. P. 1993. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Analysis. In: GLICK, Breeding material R. – THOMPSON, J. E.: Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology. Boca Raton: CRC Press, 1993, p. 287–301. ISBN 0-8493-5164-2

GRUBBEN, G. J. H. – SLOTEN, D. H. 1981. Genetic Resources of Amaranths – a global plan of action. Rome: International Board for Plant Genetic Resources, 1981. 57 p.

HELDÁK, J. – BEŽO, M. – FORIŠEKOVÁ, K. – DEBREOVÁ, K. 2001. Identifikácia odrôd zemiaka (*Solanum tuberosum* L.) metódou RAPD. In: Nové poznatky z genetiky a šľachtienia poľnohospodárskych rastlín. Piešťany: Výskumný ústav rastlinnej výroby, 2001, s. 29–32. ISBN 80-88790-19-0

HUANG, S. CH. – TSAI, CH. CH. – SHEU, CH. S. 2000. Genetic analysis of *Chrysanthemum* hybrids based on RAPD molecular markers. In: Bot. Bull. Acad. Sin., 2000, no. 41, p. 257–262.

CHAKRABARTI, S. K. – PATTANYAK, D. – NAIK, P. S. 2001. Fingerprinting Indian potato cultivars by random amplified polymorphic DNA (RAPD) Markers. In: Potato Research, vol. 44, 2001, p. 375–387.

- CHAN, K. F. – SUN, M. 1997. Genetic diversity and relationships detected by isozyme and RAPD analysis of crop and wild species of *Amaranthus*. In: Theoretical and Applied Genetics, vol. 95, 1997, no. 5-6, p. 865–873.
- KAHL, G. 2001. The Dictionary of Gene Technology. Second Edition. Weinheim: WILEY-VCH, 2001. 941 p. ISBN 3-527-30100-3
- KAUFFMANN, C. S. – WEBER, L. E. 1990. Grain Amaranth. In: <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/proceedings1990/v1-127.htm#GENETICS> and PLANT BREEDING (2000-08-20).
- KOEBNER, R. M. D. – DEVOS, K. M. – GALE, M. D. 1994. Advances in the Application of Genetic Markers in Plant Breeding. In: Asian Seed '94, Chiang Mai, Thailand, 27.–29. September 1994. Chiang Mai, 1994, p. 1–13.
- KULAKOW, P. A. – JAIN, S. K. 1990. Grain Amaranth – Crop species, Evolution and Genetics. In: Proceedings of the Fourth National Amaranth Symposium: Perspectives on Production, Processing and Marketing. Minneapolis, 1990, p. 105–114.
- LAI, J. A. – YANG, W. CH. – HSIAO, J. Y. 2001. An assessment of genetic relationships in cultivated tea clones and native wild tea in Taiwan using RAPD and ISSR markers. In: Bot. Bull. Acad. Sin., 2001, no. 42, p. 93–100.
- LI, G. – QUIROS, C. F. 2001- Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica*. In: Theoretical and Applied Genetics, vol. 103, 2001, p. 455–461.
- LIM, S. H. – PHUA, D. C. Y. – TAN, H. T. W. 2000. Primer design and optimization for RAPD analysis of *Nepenthes*. In: Biologia Plantarum, vol. 43, 2000, no. 1, p. 153–155.
- LOWE, A. J. – HANOTTE, O. – GUARINO, L. 1996. Standardisation of molecular genetic techniques for the characterisation of germplasm collections: the case of random amplified polymorphic DNA (RAPD). In: Plant Genetic Resources Newsletter, 1996, no.107, p. 50–54.
- MARSAN, P. A. – EGIDY, G. – MONFREDINI, G. – DI SILVESTRO, S. – MOTTO, M. 1993. RAPD markers in maize genetic analysis. In: Maydica, 1993, no. 38, p. 259–264.
- MCCLEAN, P. 1998. Analysis of Plant Genomes with Molecular Markers. In: <http://www.cc.ndsu.nodak.edu/instruct/mcclean/plsc731/analysis/analysis1.htm> (2001-02-14).
- MYERS, R. L. – PUTNAM, D. H. 1988. Growing Grain Amaranth as a Speciality Crop. In: <http://www.extension.umn.edu/distribution/cropsystems/DC3458.html> (2000-08-20).
- NEI, M. – LI, W. H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. In: Proc. Natl. Acad. Sci., vol. 76, 1979, no. 10, p. 5269–5273.
- NURHAIMI, H. – DARUSSAMIN, A. 1997. RAPD analysis of oil palm clones with normal and abnormal fruits. In: Menara-Perkebunan, vol. 2, 1997, no. 65, p. 64–74.
- POLZEROVA, H. – PTACEK, J. 2000. Detection of DNA polymorphism in potato cultivars using RAPD technique. In: Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, vol. 36, 2000, no. 1, p. 11–15.
- PREVOST, A. – WILKINSON, M.J. 1999. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. In: Theor Appl Genet., vol. 98, 1999, p.107–112.
- RAMSER, J. – WEISING, K. – CHIKALEKE, V. – KAHL, G. 1997. Increased Informativeness of RAPD Analysis by Detection of Microsatellite Motifs. In: BioTechniques, vol. 23, 1997, no. 2, p. 285–290.
- RICHARDSON, T. – CATO, S. – RAMSER, J. – KAHL, G. – WEISING, K. 1995. Hybridization of microsatellites to RAPD: a new source of polymorphism markers. In: Nucleic Acids Research, vol. 23, 1995, no. 18, p. 3798–3799.
- ROGERS, S. O. – BENDICH, A. J. 1994. Extraction of total cellular DNA from plants, algae and fungi. In: GELVIN, S. B. – SCHILPEROORT, R. A.: Plant Molecular Biology Manual D1. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1994, p. D1/1–D1/8. ISBN 0-7923-2858-2
- STALLKNECHT, G. F. – SCHULZ-SCHAEFFER, J. R. 1993. Amaranth Rediscovered. In: JANICK, J. – SIMON, J. E.: New Crops, 1993, p. 211–218. ISBN 0-471-59374-5
- TCHERNEVA, E. – RIJPENS, N. – JERSEK, B. – HERMAN, L. M. F. 2000. Differentiation of *Brucella* species by Random Amplified Polymorphic DNA analysis. In: Journal of Applied Microbiology, 2000, no. 88, p. 69–80.
- WEBER, L. E. – KAUFFMAN, C. S. 1990. Plant Breeding and Seed Production. In: Proceedings of the Fourth National Amaranth Symposium: Perspectives on Production, Processing and Marketing. Minneapolis, 1990, p. 115–126.



WEISING, K. – WINTER, P. – HÜTTEL, B. – KAHL, G. 1998. Microsatellite Markers for Molecular Breeding. In: Journal of Crop Production, vol. 1, 1998, no. 1, p. 113–143. ISSN 1092-678X

WEISING, K. – WINTER, P. – HÜTTEL, B. – KAHL, G. 1998. Microsatellite Markers for Molecular Breeding. In: Journal of Crop Production, vol. 1, 1998, no. 1, p. 113–143. ISSN 1092-678X

WILLIAMS, J. G. K. – KUBELIK, A. R. – LIVAK, K. J. – RAFALSKI, J. A. – TINGEY, S. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. In: Nucleic Acid Research, vol. 18, 1990, no. 22, p. 6531–6535.

WOLFF, K. – ZIETKIEWICZ, E. – HOFSTRA, H. 1995. Identification of *Chrysanthemum* cultivars and stability of fingerprint patterns. In: Theoretical and Applied Genetics, vol. 91, 1995, p. 439–447.

YU, K. – PAULS, K. P. 1992. Optimization of the PCR program for RAPD analysis. In: Nucleic Acid Research, vol. 20, 1992, no. 10, p. 2606.

YU, K. – PAULS, K. P. 1994. Optimization of DNA-extraction and PCR procedures for random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis in plants. In: GRIFFIN, H. G. – GRIFFIN, A. M.: PCR Technology: Current innovations. Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo: CRC Press, 1994, p. 193–199. ISBN 0-8493-8674-8

ZIETKIEWICZ, E. – RAFALSKI, A. – LABUDA, D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. In: Genomics, vol. 20, 1994, p. 176–183.

## **7. ZOZNAM PUBLIKOVANÝCH PRÁC AUTORKY SÚVISIACICH S RIEŠENOU PROBLEMATIKOU**

### **Kapitoly vo vysokoškolských učebniciach vydané v domácich vydavateľstvách**

BEŽO, M. – HRUBÍKOVÁ, K. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽOVÁ, K.: Posudzovanie rizík súvisiacich s geneticky modifikovanými organizmami. In: TÓTH, D. et al. 2007. Biologická bezpečnosť. 1. vyd. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2007. s. 221–238. ISBN 978-80-8069-846-1.

BEŽO, M. – HRUBÍKOVÁ, K. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽOVÁ, K. – TÓTH, D.: Možnosti zvládnutia rizík z GMO. In: TÓTH, D. et al. 2007. Biologická bezpečnosť. 1. vyd. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2007. s. 239–249. ISBN 978-80-8069-846-1.

### **Vedecké práce v domácich karentovaných časopisoch**

ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽO, M.: Genetic diversity analysis of amaranth (*Amaranthus cruentus* L.) germplasm collection by RAPD. In: Biológia, vol. 58/Suppl. 12, 2003, p. 53–57. ISSN 1335-6372.

### **Vedecké práce v domácich nekarentovaných časopisoch**

BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽOVÁ, K. – KUTIŠOVÁ, J.: Plant genome mapping. In: Acta fytotechnica et zootechnica, Proceedings from the International Scientific Conference on the occasion of the 55th anniversary of the Slovak University of Agriculture in Nitra, Supplement, 2001, no. 4, p. 264–266. ISBN 80-7137-959-X

BEŽO, M. – CANDRÁKOVÁ, A. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – ŽIAROVSKÁ, J. – HRUBÍKOVÁ, K. – BEŽO, M. ml.: Identification of flax germplasm collection duplicates using randomly amplified polymorphic DNA markers (PCR-RAPD). In: Acta fytotechnica et zootechnica, vol. 8, 2005, No. 3, p. 62–66

HRUBÍKOVÁ, K. – BEŽO, M. – ŽIAROVSKÁ, J. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽO, M. ml.: Určenie genetickej vzdialenosti medzi odrodami ľuľka zemiakového (*Solanum tuberosum* L.) na základe polymorfizmu pozícií *Tst1* retrotranspozónu. In: Acta fytotechnica et zootechnica, roč. 8, 2005, č. 4, s. 85–89.

BEŽO, M. – CANDRÁKOVÁ, A. – KRAĽOVIČOVÁ, M. – BEŽO, M. ml. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – ŽIAROVSKÁ, J. – HRUBÍKOVÁ, K.: Genetická analýza DNA ľanu sieteho mikrosatelitmi. In: Acta fytotechnica et zootechnica, roč. 9, 2006, č. 1, s. 1–4.

BEŽO, M. – HRUBÍKOVÁ, K. – ŽIAROVSKÁ, J. – HELDÁK, J. – ŠTEFÚNOVÁ, V.: Variabilita pozícií retrotranspozónu *Tst1* v populáciách ľuľka zemiakového s rôznou odolnosťou voči háďatku zemiakovému. In: Poľnohospodárstvo, roč. 53, 2007, č. 2, s. 73–80.

### **Publikované príspevky zo zahraničných konferencií**

HRUBÍKOVÁ, K. – BEŽO, M. – HELDÁK, J. – ŽIAROVSKÁ, J. – ŠTEFÚNOVÁ, V.: Variabilita rozmiestnenia kópií *Tst1* retrotranspozónu v hybridnej kombinácii ľuľka zemiakového (*Solanum*

*tuberosum* L.). In: Biotechnology 2006, Zborník referátov z medzinárodnej vedeckej konferencie. České Budějovice: Scientific Pedagogical Publishing, 2006. Supplements. ISBN 80-85645-54-8. (CD-ROM).

BEŽO, M. – HRUBÍKOVÁ, K. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – ŽIAROVSKÁ, J. – BEŽO, M. ml. – CANDRÁKOVÁ, A.: Plant germplasm evaluation using retrotransposons and microsatellites. In: Biotechnology 2006, Zborník referátov z medzinárodnej vedeckej konferencie. České Budějovice : Scientific Pedagogical Publishing, 2006, s. 30–35. ISBN 80-85645-54-8. (CD-ROM).

#### **Publikované príspevky na domácich vedeckých konferenciách**

BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽOVÁ, K. – KUTIŠOVÁ, J.: Geneticky modifikované organizmy a biologická bezpečnosť. In: Biologická bezpečnosť. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2001, s. 5–6. ISBN 80-7137-857-7.

BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽOVÁ, K. – KUTIŠOVÁ, J.: Techniky molekulárnej biológie pri práci s genetickými zdrojmi rastlín. In: UŽÍK, M.: Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín. Piešťany: Výskumný ústav rastlinnej výroby, 2001, s. 11–15. ISBN 80-88790-19-0.

BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽOVÁ, K. – KUTIŠOVÁ, J.: DNA čipy. In: BEŽO, M. – KUTIŠOVÁ, J. – ŠTEFÚNOVÁ, V.: Biotechnologické metódy v šľachtení rastlín BIOS 2001. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2001, s. 7–12. ISBN 80-7137-915-8

ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽO, M.: Optimalizácia PCR pre analýzu genómu jadra láskavca metlinátoho (*Amaranthus cruentus* L.) metódou RAPD. In: BEŽO, M. – KUTIŠOVÁ, J. – ŠTEFÚNOVÁ, V.: Biotechnologické metódy v šľachtení rastlín BIOS 2001. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2001, s. 63–67. ISBN 80-7137-915-8.

BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽOVÁ, K. – KUTIŠOVÁ, J.: Geneticky modifikované organizmy v agropotravinárstve. In: Trendy tvorby a využívania GMO. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2001, s. 3–12. ISBN 80-7137-993-X

BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽOVÁ, K. – KUTIŠOVÁ, J.: Biologická bezpečnosť pri tvorbe a využívaní GMO v systéme potravinových zdrojov. In: Biologická bezpečnosť v agropotravinárstve. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2002, s. 22–30. ISBN 80-8069-064-2.

BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽOVÁ, K. – KUTIŠOVÁ, J.: Geneticky modifikované rastliny. In: Biologické dni. Zborník referátov z medzinárodnej vedeckej konferencie. Nitra: Fakulta prírodných vied, Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre, 2002, s. 234–235. ISBN 80-8050-520-9.

BEŽO, M. – BEŽOVÁ, K. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – KUTIŠOVÁ, J.: Gén a mechanizmy regulácie činnosti génov. In: Biologické dni. Zborník referátov z medzinárodnej vedeckej konferencie. Nitra: Fakulta prírodných vied, Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre, 2002, s. 233–234. ISBN 80-8050-520-9.

ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽO, M.: Analýza genetickej rozmanitosti genotypov láskavca metlinátoho (*Amaranthus cruentus* L.) metódou RAPD. In: Biologické dni. Zborník referátov z medzinárodnej vedeckej konferencie. Nitra: Fakulta prírodných vied, Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre, 2002, s. 272–273. ISBN 80-8050-520-9.

BEŽOVÁ, K. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – TÓTHOVÁ, K. – RAFAY, J.: DNA polymorfizmus inbrídnej populácie brojlerových králikov. In: XX. Genetické dny. Sborník referátů z medzinárodní vědecké konference o současných poznatcích genetiky zvířat a jejich praktickém využití. Brno: Urban, 2002, s. 94–96. ISBN 80-7157-607-7.

ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽO, M. – HELDÁK, J. – KUTIŠOVÁ, J.: Retrotranspozóny v genetickej analýze ľuľka zemiakového (*Solanum tuberosum* L.). In: Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín. Piešťany: Výskumný ústav rastlinnej výroby Piešťany, 2003, 107–108. ISBN 80-88790-29-8.

BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽOVÁ, K. – KUTIŠOVÁ, J.: Geneticky modifikované rastliny v potravinách. In: Biologická bezpečnosť v agropotravinárstve. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2003, s. 27–29. ISBN 80-8069-204-1.

ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽO, M.: RAPD markéry v genetickej analýze láskavca metlinátoho (*Amaranthus cruentus* L.). In: BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – KUTIŠOVÁ, J.: Biotechnologické metódy v šľachtení rastlín. BIOS 2003. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2003 (zborník referátov na CD). s. 24–27. ISBN 80-8069-259-9.

BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽOVÁ, K. – KUTIŠOVÁ, J.: Pohyblivé genetické častice – transpozóny v rastlinných biotechnológiách. In: BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – KUTIŠOVÁ, J.:

Biotechnologické metódy v šľachtení rastlín. BIOS 2003 (zborník referátov na CD). Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2003. s.8–12. ISBN 80-8069-259-9.

ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽO, M.: Retrotranspozóny ako molekulárne markéry v genetickej analýze rastlín. In: BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – KUTIŠOVÁ, J.: Biotechnologické metódy v šľachtení rastlín. BIOS 2003 (zborník referátov na CD). Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2003. s. 13–15. ISBN 80-8069-259-9.

HELDÁK, J. – DEBROVÁ, K. – BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V.: Hodnotenie rezistencie proti vírusu Y zemiaka (PVY) v genetických zdrojoch ľuľka zemiakového (*Solanum tuberosum* L.). In: BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – KUTIŠOVÁ, J.: Biotechnologické metódy v šľachtení rastlín. BIOS 2003 (zborník referátov na CD). Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2003. s. 87–92. ISBN 80-8069-259-9.

BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – HELDÁK, J. – KUTIŠOVÁ, J.: Metódy IRAP, REMAP a ISSR v genetickej analýze ľuľka zemiakového (*Solanum tuberosum* L.). In: BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – KUTIŠOVÁ, J.: Biotechnologické metódy v šľachtení rastlín. BIOS 2003 (zborník referátov na CD). Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2003. s. 119–123. ISBN 80-8069-259-9.

ŽIAROVSKÁ, J. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽO, M.: Výber prajmerov pre RAPD na rozlíšenie genotypov ľanu siateho (*Linum usitatissimum* L.). In: BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – KUTIŠOVÁ, J.: Biotechnologické metódy v šľachtení rastlín. BIOS 2003 (zborník referátov na CD). Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2003. s. 128–132. ISBN 80-8069-259-9.

BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – MIKO, M. – GAŽO, J.: ISSR markéry v analýze genetickej rozmanitosti jarabiny oskorušovej (*Sorbus domestica* L.). In: BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – KUTIŠOVÁ, J.: Biotechnologické metódy v šľachtení rastlín. BIOS 2003 (zborník referátov na CD). Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2003. s. 133–136. ISBN 80-8069-259-9.

BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽO, M. ml.: Mapovanie rastlinného genómu (výučbový program). In: BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – KUTIŠOVÁ, J.: Biotechnologické metódy v šľachtení rastlín. BIOS 2003 (zborník referátov na CD). Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2003. s. 178–180. ISBN 80-8069-259-9.

HELDÁK, J. – BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – FORIŠEKOVÁ, K. – DEBROVÁ, K. – GALLIKOVÁ, A.: Využitie retrotranspozónov ako markerov pre hodnotenie rezistencie proti vírusu Y zemiaka (PVY) v ľuľku zemiakovom (*Solanum tuberosum* L.). In: Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín. Zborník z 11. odborného seminára, 24.–25.11.2004, VÚRV Piešťany, 2004, s.36–39. ISBN 80-88790-34-4.

BEŽO, M. – ŽIAROVSKÁ, J. – HRUBÍKOVÁ, K. – BEŽOVÁ, K. – ŠTEFÚNOVÁ, V.: Retrotranspozóny v hodnotení genómu rastlín. In: BIOS 2005 [elektronický zdroj]: biotechnologické metódy v šľachtení rastlín. Elektronický konferenčný zborník. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2005. ISBN 80-8069-587-3.

HRUBÍKOVÁ, K. – BEŽO, M. – HELDÁK, J. – ŽIAROVSKÁ, J. – ŠTEFÚNOVÁ, V.: Využitie polymorfizmu zmnožených úsekov medzi kópiami *Tst1* retrotranspozónu pre analýzu F1 hybridov ľuľka zemiakového (*Solanum tuberosum* L.). In: BIOS 2005 [elektronický zdroj]: biotechnologické metódy v šľachtení rastlín. Elektronický konferenčný zborník. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2005. ISBN 80-8069-587-3.

BEŽO, M. – HELDÁK, J. – ŽIAROVSKÁ, J. – HRUBÍKOVÁ, K. – ŠTEFÚNOVÁ, V.: Využitie včlenených kópií *Tst1* retrotranspozónu pre analýzu F1 hybridov ľuľka zemiakového (*Solanum tuberosum* L.). In: BIOS 2005 [elektronický zdroj]: biotechnologické metódy v šľachtení rastlín. Elektronický konferenčný zborník. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2005. ISBN 80-8069-587-3.

HRUBÍKOVÁ, K. – BEŽO, M. – KERTÉZSOVÁ, N. – ŽIAROVSKÁ, J. – BEŽO, M. ml. – ŠTEFÚNOVÁ, V.: Využitie retrotranspozónu *Tst1* pre zhodnotenie populácií ľuľka zemiakového (*Solanum tuberosum* L.). In: BIOS 2005 [elektronický zdroj]: biotechnologické metódy v šľachtení rastlín. Elektronický konferenčný zborník. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2005. ISBN 80-8069-587-3.

ŽIAROVSKÁ, J. – BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽO, M. ml. – HRUBÍKOVÁ, K.: PCR-RAPD hodnotenie genofondu ľanu siateho. In: BIOS 2005 [elektronický zdroj]: biotechnologické metódy v šľachtení rastlín. Elektronický konferenčný zborník. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2005. ISBN 80-8069-587-3.

HELDÁK, J. – BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – FORIŠEKOVÁ, K. – DEBREOVÁ, K. – GALLIKOVÁ, A.: Zhodnotenie genetickej variability medzi slovenskými odrodami ľuľka zemiakového (*Solanum tuberosum* L.) s využitím techník založených na retrotranspozónoch a mikrosatelitoch. In: Elektronický konferenčný zborník. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2005. ISBN 80-8069-587-3.

BEŽO, M. – HRUBÍKOVÁ, K. – BEŽOVÁ, K. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – ŽIAROVSKÁ, J. – KUTIŠOVÁ, J. Genova – genetické inžinierstvo rastlín (výučbový program). In: BIOS 2005 biotechnologické metódy v šľachtení rastlín. Elektronický konferenčný zborník. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2005. ISBN 80-8069-587-3. (CD-ROM).

HELDÁK, J. – BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – FORIŠEKOVÁ, K. – DEBREOVÁ, K. – GALLIKOVÁ, A.: Dedičnosť génov rezistencie proti vírusu Y zemiaka (PVY) v hybridoch z vybraných genetických zdrojov ľuľka zemiakového (*Solanum tuberosum* L.). In: Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín. Zborník z 12. odborného seminára, 23.–24. 11. 2005, VÚRV Piešťany, 2005, s. 27–30. ISBN 80-88790-43-3

HELDÁK, J. – BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – DEBREOVÁ, K. – FORIŠEKOVÁ, K. – GALLIKOVÁ, A.: Analýza génov rezistencie proti vírusu Y zemiaka (PVY) a vírusu X zemiaka (PVX) v genetických zdrojoch ľuľka zemiakového (*Solanum tuberosum* L.) pomocou molekulových markérov. In: Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín. Zborník z 13. vedeckej konferencie, 14.–15. 11. 2006, Piešťany: SCPV – VÚRV, s.39–42.

HELDÁK, J. – BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – GALLIKOVÁ, A. – ŽÁKOVÁ, M.: Hodnotenie genetickej príbuznosti medzi kultivarmi ľuľka zemiakového použitím metódy amplifikácie jedného retrotranspozónového prajmera. In: BEŽO, M. – HRUBÍKOVÁ, K. – ŽIAROVSKÁ, J. – CANDRÁKOVÁ, A. – KERTÉZSOVÁ, N. Zborník referátov z X. vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou Biotechnologické metódy v šľachtení rastlín – BIOS 2007. Nitra: SPU v Nitre, 2007, s. 31–36. ISBN 978-80-8069-933-8.

HELDÁK, J. – BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – DEBREOVÁ, K. – FORIŠEKOVÁ, K. – GALLIKOVÁ, A.: The use of molecular markers for selection of genetic resources and breeding clones for resistance to diseases. In: 18th EUCARPIA genetic resources section meeting, 23–26, May, 2007, Piešťany, 2007, p.152–153.

#### **Abstrakty príspevkov zo zahraničných konferencií**

HELDÁK, J. – BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – FORIŠEKOVÁ, K. – DEBREOVÁ, K. – GALLIKOVÁ, A.: The use of retrotransposon *Tst1* and microsatellites as markers for evaluation of resistance in potato (*Solanum tuberosum* L.) to potato virus Y (PVY). In: Abstracts from EAPR Pathology Section Meeting, 11.–16. 7. 2004, Lille, France.

HELDÁK, J. – BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – FORIŠEKOVÁ, K. – DEBREOVÁ, K. – GALLIKOVÁ, A.: Retrotransposons in genotyping and molecular characterisation of potato resistance to PVY in potato. In: Abstracts of papers and posters I. 16<sup>th</sup> Triennial conference of the EAPR, 2005, Bilbao: EJAZN-SCPGV, s.97–100, BI-1.687-05.

#### **Abstrakty príspevkov z domácich konferencií**

ŠTEFÚNOVÁ, V.: Hodnotenie genetickej variability láskavca metlinatého (*Amaranthus cruentus* L.) RAPD markérmí. In: VIII. medzinárodná vedecká konferencia študentov a doktorandov. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2002, s. 160–161. ISBN 80-8069-009-X.

ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽO, M.: RAPD markéry v genetickej analýze láskavca metlinatého (*Amaranthus cruentus* L.). In: BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – KUTIŠOVÁ, J.: Biotechnologické metódy v šľachtení rastlín. BIOS 2003 (zborník súhrnov). Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2003, s. 31. ISBN 80-8069-258-0.

BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽOVÁ, K. – KUTIŠOVÁ, J.: Pohyblivé genetické častice – transpozóny v rastlinných biotechnológiách. In: BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – KUTIŠOVÁ, J.: Biotechnologické metódy v šľachtení rastlín. BIOS 2003 (zborník súhrnov). Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2003, s. 7. ISBN 80-8069-258-0.

ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽO, M.: Retrotranspozóny ako molekulárne markéry v genetickej analýze rastlín. In: BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – KUTIŠOVÁ, J.: Biotechnologické metódy v šľachtení rastlín. BIOS 2003 (zborník súhrnov). Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2003, s. 8. ISBN 80-8069-258-0.

HELDÁK, J. – DEBŘEOVÁ, K. – BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V.: Hodnotenie rezistencie proti vírusu Y zemiaka (PVY) v genetických zdrojoch ľuľka zemiakového (*Solanum tuberosum* L.). In: BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – KUTIŠOVÁ, J.: Biotechnologické metódy v šľachtení rastlín. BIOS 2003 (zborník súhrnov). Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2003. s. 23. ISBN 80-8069-258-0.

BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – HELDÁK, J. – KUTIŠOVÁ, J.: Metódy IRAP, REMAP a ISSR v genetickej analýze ľuľka zemiakového (*Solanum tuberosum* L.). In: BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – KUTIŠOVÁ, J.: Biotechnologické metódy v šľachtení rastlín. BIOS 2003 (zborník súhrnov). Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2003. s. 30. ISBN 80-8069-258-0.

ŽIAROVSKÁ, J. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽO, M.: Výber prajmerov pre RAPD na rozlíšenie genotypov ľanu siateho (*Linum usitatissimum* L.). In: BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – KUTIŠOVÁ, J.: Biotechnologické metódy v šľachtení rastlín. BIOS 2003 (zborník súhrnov). Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2003. s. 32. ISBN 80-8069-258-0.

BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – MIKO, M. – GAŽO, J.: ISSR markéry v analýze genetickej rozmanitosti jarabiny oskorušovej (*Sorbus domestica* L.). In: BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – KUTIŠOVÁ, J.: Biotechnologické metódy v šľachtení rastlín. BIOS 2003 (zborník súhrnov). Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2003. s. 33. ISBN 80-8069-258-0.

BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – BEŽO, M. ml.: Mapovanie rastlinného genómu (výučbový program). In: BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – KUTIŠOVÁ, J.: Biotechnologické metódy v šľachtení rastlín. BIOS 2003 (zborník súhrnov). Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2003. s. 43. ISBN 80-8069-258-0.

#### **Postery zo zahraničných konferencií**

HELDÁK, J. – BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – FORIŠEKOVÁ, K. – DEBŘEOVÁ, K. – GALLIKOVÁ, A.: Genetic relationships of Slovak potato varieties (*Solanum tuberosum* L.) assessed by IRAP and REMAP analysis. In: Book of abstract 2<sup>nd</sup> *Solanaceae* genome workshop 2005, 25–29.9.2005, Ischia, Italy, PS-89.

HELDÁK, J. – BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – DEBŘEOVÁ, K. – FORIŠEKOVÁ, K. – GALLIKOVÁ, A.: Analysis of genes of resistance to potato virus Y (PVY) in potato genetic resources. In: EAPR-EUCARPIA The science of selection: potato breeding methodology for the 21<sup>st</sup> century, Carlow, Ireland, 2006, P-38.

#### **Skriptá a učebné texty**

BEŽO, M. – HRUBÍKOVÁ, K. – BEŽOVÁ, K. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – KUTIŠOVÁ, J. – ŽIAROVSKÁ, J.: Genetické inžinierstvo rastlín. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2005. 192 s. ISBN 80-8069-636-3

BEŽO, M. – HRUBÍKOVÁ, K. – BEŽOVÁ, K. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – KUTIŠOVÁ, J. – ŽIAROVSKÁ, J.: Genetické inžinierstvo rastlín v obrazoch : časť 1. 1. vyd. E-vzdelávanie v genetike. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2005. ISBN 80-8069-627-6. (CD-ROM).