

**Žiarovská, Jana - Bežo, Milan - Štefúnová, Veronika -  
Senková, Slavomíra - Bošeľová, Danka**

**Hodnotenie variability genetických zdrojov slivky domácej  
markérováním TRIM elementu Cassandra**

**Nitra 2017**

**Názov:** Hodnotenie variability genetických zdrojov slivky domácej  
markérováním TRIM elementu Cassandra

**Autorský kolektív:**

**doc. Ing. PaedDr. Jana Žiarovská, PhD. (3,0 AH)**

**prof. RNDr. Milan Bežo, CSc. (1,25 AH)**

**Ing. Veronika Štefúnová, PhD. (1,25 AH)**

**Ing. Slavomíra Senková, PhD. (0,5 AH)**

**Ing. Danka Bošeľová (0,46 AH)**

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre  
Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov

**Recenzenti:**

**prof. RNDr. Zdenka Gálová, CSc.**

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

**doc. Dr. Ing. Eloy Fernández Cucimamani**

Česká zemědělská univerzita v Praze

Schválil rektor Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre  
dňa 8. 12. 2017 ako vedeckú monografiu.

**ISBN 978-80-552-1766-6**

Autorský kolektív ďakuje recenzentke a recenzentovi za ich čas a cenné rady a pripomienky pri posudzovaní práce.

Podakovanie rovnako patrí kolegom z Katedry genetiky a šľachtenia rastlín a Ing. Beáte Kováčovej za technickú pomoc pri realizácii jednotlivých analýz.

## OBSAH

|           |                                                                                                                               |           |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1.</b> | <b>Úvod</b>                                                                                                                   | <b>7</b>  |
| <b>2.</b> | <b>Charakteristika a genetická variabilita rodu <i>Prunus</i></b>                                                             | <b>9</b>  |
| 2.1       | Fylogenetický pôvod slivky domácej                                                                                            | 9         |
| 2.2       | Rod slivka a genetické zdroje slivky domácej                                                                                  | 10        |
| 2.3       | Genetická diverzita a mapovanie rodu slivka a druhu slivka domáca                                                             | 18        |
| <b>3.</b> | <b>Retrotranspozóny v mapovaní genetickej variability</b>                                                                     | <b>23</b> |
| 3.1       | Charakteristika retrotranspozónov                                                                                             | 23        |
| 3.2       | TRIM element Cassandra                                                                                                        | 28        |
| 3.3.      | Význam retrotranspozónov ako molekulových markérov genómov rastlín.                                                           | 30        |
| <b>4.</b> | <b>Analytické postupy hodnotenia variability genómu slivky domácej</b>                                                        | <b>42</b> |
| 4.1       | Biologický materiál slivky domácej                                                                                            | 42        |
| 4.2       | Izolácia DNA                                                                                                                  | 44        |
| 4.3       | Izolácia RNA                                                                                                                  | 45        |
| 4.4       | Kontrola integrity extrahovanej RNA                                                                                           | 44        |
| 4.5       | Prepis RNA do cDNA                                                                                                            | 46        |
| 4.6       | Návrh IRAP prajmerov pre testovanie DNA polymorfizmu na vybraných genotypoch slivky domácej ( <i>Prunus domestica</i> , L.)   | 47        |
| 4.7       | Identifikácia retrotranspozónu Cassandra a jeho LTR úseku na vybraných genotypoch slivky domácej                              | 51        |
| 4.8       | Identifikácia vnútornej oblasti retrotranspozónu Cassandra vo vybraných genotypoch slivky domácej                             | 53        |
| 4.9       | Identifikácia retrotranspozónu Cassandra a jeho LTR úseku na vybraných genotypoch slivky domácej pomocou metódy Real-Time PCR | 55        |
| 4.10      | Sekvenácia retrotranspozónu Cassandra                                                                                         | 56        |
| <b>5.</b> | <b>Hodnotenie variability slivky domácej markérováním TRIM elementu Cassandra</b>                                             | <b>59</b> |
| 5.1       | DNA polymorfizmus hodnotený IRAP metódou na vybraných genotypoch slivky domácej pomocou prajmera IRAP1 a IRAP2                | 59        |
| 5.2       | DNA polymorfizmus hodnotený IRAP metódou na rozšírenom súbore genotypov slivky domácej pomocou prajmera IRAP2                 | 65        |
| <b>6.</b> | <b>Genomická variabilita retrotranspozónu Cassandra</b>                                                                       | <b>74</b> |

|           |                                                                                                   |           |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>7.</b> | <b>Identifikácia retrotranspozónu Cassandra v genóme<br/>slivky domácej pomocou real-time PCR</b> | <b>81</b> |
| 7.1       | Zmnoženie oblasti retrotranspozónu Cassandra                                                      | 81        |
| 7.2       | Analýza počtu kópií TRIM elementu Cassandra<br>v genotypoch slivky domácej                        | 84        |
| <b>8.</b> | <b>Záver</b>                                                                                      | <b>91</b> |
| <b>9.</b> | <b>Literatúra</b>                                                                                 | <b>93</b> |

**Súhrn**

**Summary**

## 1. Úvod

Biodiverzita zasahuje do každej oblasti ľudskej činnosti a výrazne ovplyvňuje rozvoj a kvalitu rôznych odvetví poľnohospodárstva, farmácie, priemyslu ako aj krajinotvorbu.

Ochrana agrobiodiverzity sa realizuje jednak pre budúce generácie, ale aj pre súčasné využitie. Poznanie agrobiodiverzity a jej dostupnosť umožňujú riešiť mnohé aktuálne výzvy v šľachtení a poľnohospodárstve. Agrobiodiverzita je rezervoárom genetických znakov pre šľachtenie. Tvorivý proces šľachtenia zároveň dáva vznik novým genotypom, čím obohacuje agrobiodiverzitu. Meniace sa klimatické podmienky prostredia určujú biodiverzitu v určitom regióne, ale klimatické podmienky sú tiež iniciátormi dedičných zmien realizovaných cez nestabilné prvky v genóme, ktoré taktiež rozširujú biodiverzitu. Pomerne rýchle zmeny vonkajšieho prostredia kladú pred poľnohospodárov aj spracovateľov potravín nové výzvy. Poznanie agrobiodiverzity a jej schopnosti adaptovať sa, resp. reagovať na okolité prostredie umožňuje všetkým spomenutým sektorom rýchlo odpovedať na aktuálne požiadavky pestovateľov.

Z podkladov FAO vyplýva, že v ostatnom storočí farmári prestali využívať až 75 % agrobiodiverzity krajových odrôd, zatiaľ čo pestujú prevažne vysokovýkonné odrody. Asi 75 % svetovej produkcie potravy je zabezpečovaných z dvanástich druhov rastlín. Piliermi potravinovej produkcie sú ryža, kukurica a pšenica. Pre tvorbu potravín sa však celkovo využíva 200 druhov rastlín, čo ale predstavuje len 4 % z celkového počtu jedlých druhov rastlín.

Úlohou základného výskum agrobiodiverzity a jej dynamických možností je hľadať spôsoby a metódy využitia čo najširšieho spektra variability, ktoré by šľachtitelia mohli v praxi aplikovať a ponúknuť pestovateľom širokú biodiverzitu ekonomicky zaujímavých odrôd, ktoré potravinársky priemysel spracuje nutrične a výživovo vhodné produkty pre široké spektrum spotrebiteľov.

Agrobiodiverzita slivky domácej (*Prunus domestica*, L.) je po morfolologickej stránke veľmi dobre spracovaná. Molekulárno-genetické štúdium rodu slivka (*Prunus*, L.) sa aktuálne sústreďuje na mapovanie krajových populácií a základný molekulárny výskum agrobiodiverzity tohto ovocného druhu.

Hodnotenie agrobiodiverzity na medzidruhovej a vnútrodruhovej úrovni je často realizované pomocou retrotranspozónových markérov. Ide o spoľahlivé markéry so širokým použitím. Skúmanie rozmanitosti nestabilných pozícií genómu nielenže zvyšuje informačnú úroveň doteraz získaných výsledkov, ale podáva aj nový pohľad na stav agrobiodiverzity, jej spracovanie a možnosti efektívneho využitia. Výsledky analýz agrobiodiverzity je možné hodnotiť nielen z hľadiska fylogénzy druhu ale aj z hľadiska mikroevoľúcie a šľachtenia.

Spracovaná monografia uvádza výsledky experimentálnej práce využitím prístrojovej techniky získanej riešením nasledovných projektov:

- ŠF EÚ – Excelentné centrum ochrany a využívania agrobiodiverzity - Kód ITMS projektu: 26220120015
- ŠF EÚ – Excelentné centrum ochrany a využívania agrobiodiverzity PLUS - Kód ITMS projektu: 26220120032
- ŠF EÚ – Vybudovanie výskumného centra "AgroBioTech" - Kód ITMS projektu: 26220220180

Autori:  
**Žiarovská, Jana - Bežo, Milan - Štefúnová, Veronika -  
Senková, Slavomíra - Bošellová, Danka**

Názov:  
**Hodnotenie variability genetických zdrojov slivky markérováním  
TRIM elementu Cassandra**

Vydavateľ: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Vydanie: prvé

Rok vydania: 2017

Náklad 100 ks

AH-VH: 6,46-6,61

Neprešlo redakčnou úpravou vo Vydavateľstve SPU v Nitre

ISBN 978-80-552-1766-6