

EDYTA PACZOS-GRZEŃDAInstytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Zastosowanie metod RAPD i SSR do oceny podobieństwa genetycznego tetraploidalnych gatunków z rodzaju *Avena* L.

Application of the RAPD and SSR methods to genetic similarity assessment of tetraploid species of the *Avena* L. genus

W pracy analizowano podobieństwo genetyczne i pokrewieństwo tetraploidalnych gatunków z rodzaju *Avena* L.: *A. maroccana*, *A. murphyi* i *A. macrostachya* do gatunków heksaploidalnych *A. sativa* i *A. sterilis* w oparciu o polimorfizm markerów RAPD oraz SSR. Piętnaście starterów RAPD inicjowało syntezę 129 polimorficznych fragmentów DNA, zaś 13 par starterów SSR uczestniczyło w amplifikacji 141 tego typu produktów. Wartości współczynnika informacji o polimorfizmie wahały się od 0,58 do 0,80 dla RAPD i od 0,71 do 0,92 dla SSR. Średnia wartość PIC dla metody RAPD wyniosła 0,67, zaś dla SSR — 0,82. Indeksy podobieństwa genetycznego Dice'a zostały wykorzystane w analizie skupień przeprowadzonej metodą UPGMA. Tetraploidy o składzie genomowym AACC uległy wspólnej klasteryzacji z heksaploidami AACCCD. Jednocześnie tetraploidy AACC: *A. maroccana* i *A. murphyi* utworzyły oddzielne subklastry. Analizowane genotypy autotetraploidalnego gatunku *A. macrostachya* (CCCC) uformowały najbardziej odseparowaną grupę skupień, co wskazuje na ich największą odmienną genetyczną. Topologia obu skonstruowanych dendrogramów była identyczna i zgodna z przyjętą systematyką rodzaju *Avena* L.

Słowa kluczowe: *Avena* L., podobieństwo genetyczne, RAPD, SSR

Tetraploids of the genus *Avena* L.: *A. maroccana*, *A. murphyi* and *A. macrostachya* were evaluated for genetic similarity and relatedness with the hexaploid species *A. sativa* and *A. sterilis* based on RAPD and SSR polymorphism. Fifteen RAPD primers produced 129 polymorphic DNA fragments and 13 SSR primer pairs amplified 141 products of such type. Polymorphism information content (PIC) values ranged from 0.58 to 0.80 for RAPD and from 0.71 to 0.92 for SSR. Mean values of PIC for RAPD was 0.67 and for SSR — 0.82. Dice genetic similarity indices were used for cluster analysis with the UPGMA method. The AACC genome tetraploids clustered together with the AACCCD genome hexaploids. Simultaneously, AACC tetraploids: *A. maroccana* and *A. murphyi* were found to form two separate subclusters. The analyzed genotypes of the CCCC autotetraploid *A. macrostachya* formed an outer branch, indicating a major genomic divergence. Topology of both constructed dendrograms was the same and consistent with the *Avena* L. genus systematics.

Key words: *Avena* L., genetic similarity, RAPD, SSR

WSTĘP

Rodzaj *Avena* L. należy do plemienia *Aveneae* Dumort., rodziny *Poaceae* Barnh. (Frey i Rutkowski, 2002). Obejmuje gatunki diploidalne, tetraploidalne i heksaploidalne, o podstawowej liczbie chromosomów równej 7 (Rajhathy i Thomas, 1974). Gatunki tetraploidalne w obrębie rodzaju *Avena* przyporządkowano do czterech sekcji: *Ethiopica*, *Pachycarpa*, *Avenotrichon* oraz *Tenuicarpa* (Zeller, 1998). Do sekcji *Ethiopica* należą gatunki o składzie genomowym AABB: *A. abyssinica* Hochst i *A. vaviloviana* (Malz.) Mordv. Tetraploidy, których skład genomowy opisano jako AACC: *A. maroccana* Gdgr, *A. murphyi* Ladiz. (dawniej *A. magna* Murphy et Terrell) i *A. insularis* Ladiz. tworzą sekcję *Pachycarpa*. Sekcja *Tenuicarpa* obejmuje dwa gatunki AABB: *A. agadiriana* Baum et Fedak oraz *A. barbata* Pott ex Link. Autotetraploid *A. macrostachya* Bal. ex Coss. et Dur., o składzie genomowym CCCC, jest jedynym gatunkiem w sekcji *Avenotrichon* (Zeller, 1998).

Dziki gatunki z rodzaju *Avena* stanowią dużą pulę różnorodności genetycznej dla owsa zwyczajnego, która może być wykorzystana w programach hodowlanych jako źródło pożądaných genów (Loscutov, 2008). Zmienność tych gatunków nie zawsze w równym stopniu jest dostępna dla hodowców, a możliwości jej wykorzystania zależą od nasilenia barier genetycznych. Przekazywanie genów z tetraploidów o składzie genomowym AACC do heksaploidalnych form uprawnych, w przeciwieństwie do ich przenoszenia z gatunków AABB, jest tylko częściowo ograniczone (Leggett, 1996). W związku z tym gatunki AACC mogą zostać wykorzystane w programach hodowlanych. Pentaploidalne mieszańce F_1 otrzymuje się stosunkowo łatwo, lecz są one samosterylne. Poprzez krzyżowania wsteczne można przywrócić im płodność.

Celem pracy było: 1) przeprowadzenie analizy porównawczej tetraploidalnych gatunków z rodzaju *Avena* za pomocą dwóch systemów oceny podobieństwa genetycznego RAPD i SSR, a także 2) określenie podobieństwa trzech gatunków tetraploidalnych: *A. murphyi* Ladiz., *A. maroccana* Gdgr. i *A. macrostachya* Bal. ex Coss. et Dur. do dwóch gatunków heksaploidalnych: *A. sativa* L. i *A. sterilis* L.

MATERIAŁ I METODY

Przedmiotem badań było 11 form reprezentujących trzy gatunki tetraploidalne: *Avena maroccana* Gdgr. (AVE 2785, AVE 2796, AVE 2847), *A. murphyi* Ladiz. (AVE 2811, AVE 2846, CN 21989) i *A. macrostachya* Bal. ex Coss. et Dur. (IHAR-B₆, IHAR-B₇, IHAR-B_{zw}) oraz dwa gatunki heksaploidalne: *A. sativa* L. (cv. Borowiak) i *A. sterilis* L. (PI 380125). Materiały zostały sprowadzone z banków genów: National Small Grain Collection, Aberdeen w USA, Plant Gene Resources of Canada, Saskatoon w Kanadzie, Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben w Niemczech oraz Krajowego Centrum Roślinnych Zasobów Genowych (KCRZG), IHAR w Radzikowie.

Genomowe DNA wyizolowano metodą Milligana (1992) z koleoptyli kilkudniowych siewek w dwóch powtórzeniach dla każdej formy. Amplifikację produktów RAPD

przeprowadzono metodą Williamsa i wsp. (1990), zaś SSR — metodą Ziętkiewicz i wsp. (1994). Rozdziały elektorforetyczne fragmentów RAPD prowadzono w 2% żelu agarozowym z 0,01% EtBr. Produkty amplifikacji uzyskane metodą SSR rozdzielano w 6% żelu poliakrylamidowym, a następnie barwiono metodą srebrową. Rozdziały analizowano określając obecność lub brak prążków.

Na podstawie zidentyfikowanego polimorfizmu dla obu metod obliczono współczynniki informacji o polimorfizmie — PIC (polymorphism information content) zgodnie z założeniami Nei (1973). Indeks efektywności metody (AEI — Assay Efficiency Index) oszacowano metodą Pejic'a i wsp. (1998). Podobieństwo genetyczne (SI similarity index) pomiędzy parami wszystkich badanych genotypów określono zgodnie z formułą Dice'a (Nei i Li, 1979). Matryce SI uzyskane na podstawie polimorfizmu zidentyfikowanego metodami RAPD i SSR posłużyły do konstrukcji dendrogramów metodą UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic average) przy zastosowaniu programu NTSYS-pc 2.10q (Rohlf, 2001). Obliczono również wartość współczynnika korelacji pomiędzy matrycami SI.

WYNIKI

Do oceny podobieństwa genetycznego 11 form należących do trzech tetra- i dwóch heksaploidalnych gatunków z rodzaju *Avena* L. zastosowano dwa systemy markerowe — RAPD oraz SSR. Obie zastosowane techniki umożliwiły detekcję wysokiego poziomu polimorfizmu (tab. 1). Udział produktów polimorficznych w metodzie RAPD wyniósł 78,7%, zaś w SSR — 83,4%. Efektywność metody wyrażona współczynnikiem AEI, czyli średnią liczbą polimorficznych produktów amplifikowanych przez jeden starter była wyższa w przypadku metody SSR (10,8), aniżeli RAPD (8,6). Wartość współczynnika informacji o polimorfizmie (PIC) określona dla metody RAPD wahała się od 0,58 do 0,80, zaś dla SSR od 0,71 do 0,92. Średnia wartość PIC dla metody SSR była wyższa (0,82), aniżeli dla RAPD (0,67).

Osiem wykorzystanych w badaniach starterów RAPD inicjowało syntezę 9 produktów specyficznych wyłącznie dla pojedynczych genotypów (tab. 1). Z kolei 18 takich fragmentów DNA było amplifikowanych przy udziale 9 par starterów SSR. Obecność 6 specyficznych produktów SSR stwierdzono u *A. sterilis* PI 380125, 5 u *A. sativa* cv. Borowiak, zaś po dwa u *A. maroccana* AVE 2785 oraz AVE 2874. Cztery specyficzne odcinki RAPD uległy amplifikacji u *A. maroccana* 2785, zaś 2 u *A. sterilis* PI 380125. W przeprowadzonych badaniach zidentyfikowano fragment RAPD (G-01¹⁵²⁰) charakterystyczny dla obu badanych tetraploidów o genomach AACC (*A. maroccana* i *A. murphyi*), a także stwierdzono obecność odcinków specyficznych zarówno dla badanych tetraploidów AACC, jak i heksaploidów, które nie były amplifikowane u *A. macrostachya*. Fragmenty A-16²⁰⁵⁰ oraz W-02⁴⁰⁰ uległy amplifikacji u wszystkich analizowanych form *A. macrostachya*. Nie stwierdzono obecności produktów SSR charakterystycznych dla poszczególnych grup genotypów.

Tabela 1

Charakterystyka polimorfizmu identyfikowanego metodami RAPD i SSR
Characteristics of polymorphism identified by the RAPD and SSR methods

Starter RAPD primer	Liczba produktów Products number			PIC	Para starterów SSR SSR primer pairs	Liczba produktów Products number			PIC
	całkowita total	polimorficznych polymorphic	specyficznych specific			całkowita total	polimorficznych polymorphic	specyficznych specific	
A-10	13	8	0	0,62					
A-16	9	8	0	0,62	GDM-33	6	3	0	0,71
D-11	13	9	0	0,64	GDM-93	11	8	2	0,88
G-01	10	8	2	0,65	HVM-40	17	13	2	0,92
G-02	14	12	1	0,80	WMC-27	14	8	3	0,82
M-02	7	5	1	0,74	WMS-129	19	17	4	0,88
M-07	6	5	0	0,69	WMS-191	11	10	1	0,82
P-06	9	6	0	0,68	WMS-234	11	11	0	0,77
T-02	13	10	0	0,69	WMS-512	10	10	2	0,84
T-02B	9	6	1	0,77	WMS-515	17	16	1	0,76
U-295	14	12	0	0,64	WMS-550	9	9	0	0,84
U-534	11	10	1	0,58	WMS-595	9	7	1	0,88
U-535	12	11	1	0,61	WMS-614	16	13	2	0,80
U-600	11	9	1	0,66	WMS-666	18	16	0	0,77
W-02	12	10	1	0,63					
Suma Total	163	129	9	—	Suma Total	168	141	18	—
Średnio na starter Average per primer	10,87	8,6	0,6	0,67	Średnio na starter Average per primer	12,9	10,8	1,4	0,82

Wartości indeksów podobieństwa uzyskane w oparciu o polimorfizm identyfikowany metodą SSR były bardzo zróżnicowane (0,13–0,98), co wynikało głównie z dużej odmienności genotypów reprezentujących gatunek *A. macrostachya* od pozostałych form (tab. 2). Silna separacja tych tetraploidów była widoczna również przy wykorzystaniu metody RAPD. Wartości indeksów podobieństwa genetycznego Dice'a uzyskane w oparciu o polimorfizm identyfikowany metodą RAPD zawierały się jednak w zdecydowanie węższym przedziale (0,60–0,92). Średnie podobieństwo obiektów oszacowane na podstawie wyników uzyskanych tą metodą wyniosło 0,71. Średnia wartość podobieństwa obliczona na podstawie polimorfizmu identyfikowanego metodą SSR była znacznie niższa (0,50) i wskazywała na większą różnorodność analizowanego materiału.

Tabela 2

Wartości indeksów podobieństwa genetycznego Dice'a oszacowane na podstawie polimorfizmu identyfikowanego metodami RAPD i SSR
Values of Dice genetic similarity indices estimated based on polymorphism identified by the RAPD and SSR methods

Metoda Method	Średnia wartość indeksów podobieństwa Mean values of genetic similarity indices	Zakres wartości indeksów podobieństwa genetycznego Range of genetic similarity indices values
RAPD	0,71	0,60–0,92
SSR	0,50	0,13–0,98

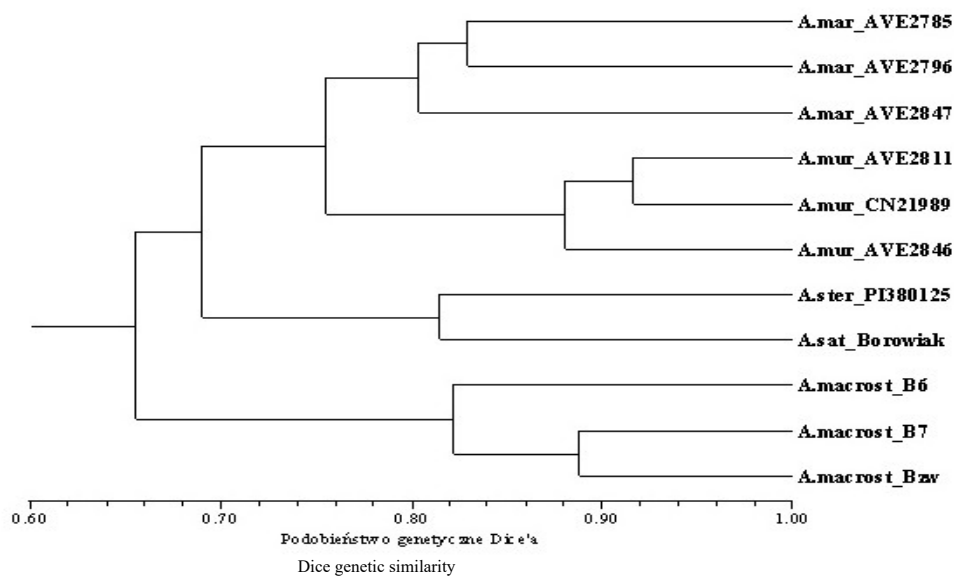
W oparciu o polimorfizm identyfikowany obydwoma metodami określono również średnie podobieństwo wewnątrzgatunkowe analizowanych obiektów (tab. 3). Niezależnie od zastosowanej metody najmniejszym zróżnicowaniem charakteryzowały się formy reprezentujące gatunek *A. murphyi*, zaś największym — *A. maroccana*.

Tabela 3
Średnie wartości wewnątrzgatunkowego i międzygatunkowego podobieństwa genetycznego oszacowane na podstawie polimorfizmu identyfikowanego metodami RAPD i SSR
Mean values of intraspecific and interspecific genetic similarity estimated based on polymorphism identified by the RAPD and SSR methods

Gatunek Species	<i>A. maroccana</i>	<i>A. murphyi</i>	<i>A. macrostachya</i>	<i>A. sativa</i>	<i>A. sterilis</i>
<i>A. maroccana</i>	0,81 ^{RAPD} 0,90 ^{SSR}				
<i>A. murphyi</i>	0,76 ^{RAPD} 0,74 ^{SSR}	0,89 ^{RAPD} 0,98 ^{SSR}			
<i>A. macrostachya</i>	0,65 ^{RAPD} 0,14 ^{SSR}	0,65 ^{RAPD} 0,16 ^{SSR}	0,84 ^{RAPD} 0,92 ^{SSR}		
<i>A. sativa</i>	0,71 ^{RAPD} 0,63 ^{SSR}	0,66 ^{RAPD} 0,71 ^{SSR}	0,67 ^{RAPD} 0,14 ^{SSR}	nb	
<i>A. sterilis</i>	0,70 ^{RAPD} 0,65 ^{SSR}	0,69 ^{RAPD} 0,69 ^{SSR}	0,65 ^{RAPD} 0,13 ^{SSR}	0,81 ^{RAPD} 0,84 ^{SSR}	nb

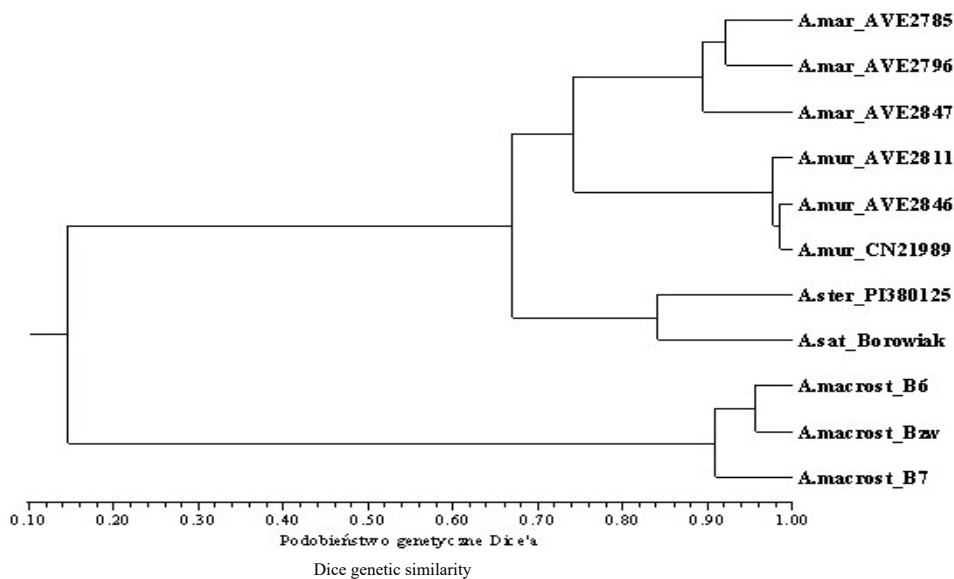
Najwyższe wartości indeksów podobieństwa międzygatunkowego odnotowano pomiędzy heksaploidami *A. sativa* i *A. sterilis* — 0,81 w metodzie RAPD oraz 0,84 w metodzie SSR (tab. 3). Na podstawie wyników uzyskanych metodą RAPD można stwierdzić, że oba heksaploidy charakteryzują się większym podobieństwem genetycznym do *A. maroccana*, aniżeli do *A. murphyi*. Jednakże wyniki analizy sekwencji mikrosatelitarnych wskazują przeciwnie — na większe podobieństwo heksaploidów do *A. murphyi*. Niezależnie od zastosowanej metody oceny polimorfizmu, podobieństwo tetraploidów AACC względem siebie było wyższe, aniżeli względem heksaploidów. Jednakże analizy prowadzone metodą SSR wskazywały na większy dystans pomiędzy tymi gatunkami, aniżeli RAPD. Wyniki uzyskane przy zastosowaniu obu metod wykazały dużą odrębność genotypów *A. macrostachya* od pozostałych gatunków. Podobieństwo między *A. macrostachya* a tetraploidami i heksaploidami zawierało się w przedziałach 0,65–0,67 (RAPD) oraz 0,13–0,16 (SSR).

Stwierdzono wysoką, istotną statystycznie korelację pomiędzy macierzami indeksów podobieństwa genetycznego uzyskanymi w oparciu o polimorfizm identyfikowany za pomocą obu systemów markerowych (0,81). Znalazło to swoje odzwierciedlenie w niemal identycznej topologii dendrogramów (rys. 1 i 2). Na obu dendrogramach formy przynależące do poszczególnych gatunków utworzyły oddzielne subklastry. Wspólnej klasteryzacji uległy tetraploidy AACC, czyli *A. maroccana* i *A. murphyi*. Osobną grupę skupień utworzyły heksaploidy, ale usytuowały się one blisko tetraploidów AACC.



Rys. 1. Dendrogram skonstruowany metodą UPGMA w oparciu o polimorfizm identyfikowany metodą RAPD

Fig. 1. UPGMA dendrogram constructed based on polymorphism identified with the RAPD method



Rys. 2. Dendrogram skonstruowany metodą UPGMA w oparciu o polimorfizm identyfikowany metodą SSR

Fig. 2. UPGMA dendrogram constructed based on polymorphism identified with the SSR method

Formy *A. macrostachya* na obu dendrogramach utworzyły klaster najbardziej odległy od pozostałych genotypów, co odzwierciedla ich niewielkie podobieństwo genetyczne do pozostałych analizowanych gatunków. Topologia uzyskanych dendrogramów jest zgodna z ogólnie przyjętą systematyką gatunków z rodzaju *Avena*.

DYSKUSJA

Większość gatunków w obrębie rodzaju *Avena* L. to formy dzikie, wśród uprawnych największe znaczenie ekonomiczne mają: owies zwyczajny (*Avena sativa* L.), owies czerwony (*Avena byzantina* C. Koch), w mniejszym stopniu owies szorstki (*Avena strigosa* Schreb.). Owies zwyczajny jest klasycznym przykładem gatunku uprawnego o bardzo wąskiej puli genów. Poszerzenie zmienności genetycznej odmian może być uzyskane poprzez wprowadzenie pożądanego genów z pokrewnych, dzikich gatunków (Frey, 1986). Dostępność tej zmienności zależy od stopnia nasilenia barier genetycznych.

Poznanie genetycznego pokrewieństwa pomiędzy poszczególnymi gatunkami na różnych poziomach ploidalności jest podstawowym warunkiem efektywnego dobierania komponentów rodzicielskich do krzyżowań w celu uzyskania płodnych i stabilnych cytologicznie mieszańców międzygatunkowych, które charakteryzowałyby się pożądanymi cechami i mogły stanowić materiał wyjściowy do uzyskania nowych odmian (Stalker, 1980; Frey, 1986). Im większy jest dystans genetyczny pomiędzy krzyżowanymi gatunkami, tym większe trudności w otrzymaniu płodnego mieszańcowego potomstwa (Thomas, 1992). Podobieństwo genetyczne pomiędzy gatunkami lub w ich obrębie może być szacowane przy wykorzystaniu systemów markerów molekularnych identyfikujących polimorfizm DNA (Sztuba-Solińska, 2005).

Do oceny filogenetycznego pokrewieństwa pomiędzy gatunkami o różnym stopniu ploidalności w obrębie rodzaju *Avena* Nocelli i wsp. (1999) oraz Loskutow i Perchuk (2000) wykorzystali metodę RAPD, zaś Li i wsp. (2000) użyli markerów mikrosatelitarnych — SSR (Li i in., 2000). Podobną analizę dla 18 gatunków przeprowadzili Drossou i wsp. (2004) metodami RAPD i AFLP, zaś Fu i wsp. (2008) za pomocą metody AFLP ocenili relacje pokrewieństwa 25 gatunków z rodzaju *Avena*. Benchacho i wsp. (2002) wykorzystując metodę RAPD oraz izoenzymy analizowali zróżnicowanie 12 ekotypów *A. murphyi*. W badaniach własnych ocenę podobieństwa genetycznego wybranych genotypów reprezentujących 3 gatunki tetraploidalne i 2 heksaploidalne przeprowadzono z zastosowaniem dwóch systemów markerowych: RAPD oraz SSR.

Metodę RAPD wielokrotnie wykorzystano do analizy molekularnej gatunków z rodzaju *Avena* (Penner i in., 1993; Ronald i in., 1996; Fennimore i in., 1999; Chrzęstek i in., 2004). Z kolei, zarówno opracowywanie, jak i wykorzystanie markerów SSR u owsa postępuje znacznie wolniej, aniżeli u innych gatunków rolniczych (Li i in., 2000; Holland i in., 2001). Jako pierwsi sekwencje starterów SSR dla owsa opracowali Li i wsp. (2000). Autorzy otrzymali 44 pary starterów, z których 26 (62%) identyfikowało polimorfizm międzygatunkowy, zaś 16 (36%) międzyodmianowy. Pal i wsp. (2002) opracowali kolejne 44 pary starterów mikrosatelitarnych, z których 18 (41%) identyfikowało polimorfizm międzygatunkowy, zaś 6 (14%) polimorfizm międzyodmianowy. Z uwagi na możliwość

wykorzystania do analiz starterów SSR, zaprojektowanych dla spokrewnionych rodzajów (Li i in., 2000), w badaniach własnych zastosowano 13 par starterów SSR opracowanych dla jęczmienia i pszenicy.

Efektywność metody wyrażona współczynnikiem AEI, czyli średnią liczbą polimorficznych produktów amplifikowanych przez jeden starter była wyższa w przypadku metody SSR (10,8) niż RAPD (8,6). Również średnia wartość PIC dla metody SSR była wyższa (0,82), aniżeli dla RAPD (0,67). Wskazuje to, że SSR jest bardziej efektywna w analizie podobieństwa wewnątrz- i międzygatunkowego, aniżeli metoda RAPD i jest zgodne z wynikami innych autorów (Powell i in., 1996; Pejic i in., 1998).

Polimorfizm uzyskany za pomocą technik RAPD oraz SSR posłużył do utworzenia matryc indeksów podobieństwa genetycznego Dice'a. Wartość współczynnika korelacji pomiędzy matrycami była wysoka (0,81) i statystycznie istotna. W oparciu o matryce SI wykonano analizę skupień metodą UPGMA. Na obu dendrogramach można wyodrębnić trzy grupy skupień obejmujące odpowiednio: tetraploidy o genomach AACC, heksaploidy oraz genotypy *A. macrostachya*. Topologia uzyskanych dendrogramów jest zgodna z ogólnie przyjętą systematyką gatunków z rodzaju *Avena* zaproponowaną m.in. przez Zellera (1998). Odrębność gatunku *A. macrostachya* obserwowana niezależnie od zastosowanej metody oceny polimorfizmu, potwierdza obecność wielu różnic między przedstawicielami tego gatunku a pozostałymi gatunkami z rodzaju *Avena* L.

W oparciu o wyniki analiz cytologicznych mieszańców międzygatunkowych *A. sativa* z *A. maroccana*, *A. murphyi* i *A. insularis* Ladizinsky (1999) uważa, że tetraploidy z tej grupy brały udział w ewolucji heksaploidów. Przeprowadzone przez Jellena i wsp. (1993) różnicowe barwienie chromosomów wykazało, że tetraploidy o składzie genomowym AACC brały udział w formowaniu heksaploidów, zaś *A. sterilis* jest przodkiem pozostałych heksaploidów. Wyniki uzyskane w badaniach własnych potwierdziły wysokie podobieństwo genetyczne tetraploidów *A. maroccana* i *A. murphyi* do heksaploidów, nie pozwoliły jednak na jednoznaczne stwierdzenie, który z tetraploidalnych gatunków o genomach AACC jest bliższy heksaploidom. Otrzymane wyniki nie wykazały większego podobieństwa któregokolwiek z tetraploidów do *A. sativa* bądź *A. sterilis*. Nie stwierdzono również większego podobieństwa któregokolwiek z analizowanych gatunków do *A. macrostachya*, a tym samym nie wytypowano najlepszego partnera do krzyżowań.

WNIOSKI

1. Uzyskane wyniki wskazują na duże podobieństwo genetyczne heksaploidów AACDD do tetraploidów AACC. Zróżnicowane wartości indeksów podobieństwa genetycznego oszacowane na podstawie polimorfizmu identyfikowanego metodami RAPD i SSR nie pozwalają jednak na jednoznaczne stwierdzenie, który z tetraploidalnych gatunków o genomach AACC jest bliższy heksaploidom.
2. Niezależnie od zastosowanej metody oceny polimorfizmu DNA najmniejsze podobieństwo do wszystkich pozostałych form wykazały genotypy *A. macrostachya*.
3. Metody RAPD oraz SSR umożliwiły identyfikację wysokiego poziomu polimorfizmu, a wysoka korelacja między matrycami indeksów podobieństwa genetycznego Dice'a

wskazuje, iż mogą być one stosowane niezależnie w analizie podobieństwa genetycznego w obrębie rodzaju *Avena*. Ze względu na większą efektywność metodą z wyboru powinna być SSR.

LITERATURA

- Benchacho M., Guma R., Perez de la Vega M., Garcia P. 2002. The genetic structure of tetraploid *Avena*: a comparison of isozyme and RAPD markers. *Cellular & Molecular Biology Letters*. Vol. 7: 465 — 469.
- Chrząstek M., Paczos-Grzęda E., Miazga D. 2004. Charakterystyka cytologiczna i molekularna niektórych gatunków z rodzaju *Avena* L. Rozprawy i monografie. „Genetyka w ulepszaniu roślin użytkowych”. Poznań: 67 — 74.
- Drossou A., Katsiotsi A., Leggett J. M., Lukas M., Tsakas S. 2004. Genome and species relationships in genus *Avena* based on RAPD and AFLP molecular markers. *Theor. Appl. Genet.* 109: 48 — 54.
- Fennimore S. A., Nyquist W. E., Shaner G. E., Doerge R. W., Foley M. E. 1999. A genetic model and molecular markers for wild oat (*Avena fatua* L.) seed dormancy. *Theor. Appl. Genet.* 99: 711 — 718.
- Frey K. J. 1986. Genetic resources and their use in oat breeding. In: Lawes D. A., Thomas H. (ed.). *Proc. of the 2nd Int. Oat Conf.* 1985, Aberystwyth, UK: 9 — 15.
- Frey L., Rutkowski L. 2002. Wykaz gatunków (suplement 3). W: L. Frey (red.), *Polska księga traw*. Instytut Botaniki im. W. Szafera, Polska Akademia Nauk, Kraków: 87 — 95.
- Fu Y. B., Williams D. J. 2008. AFLP variation in 25 *Avena* species. *Theor. Appl. Genet.* 117: 333 — 342.
- Holland J. B., Helland S. J., Sharopova N., Rhyne D. C. 2001. Polymorphism of PCR — based markers targeting exons, introns, promoter regions, and SSRs in maize and introns and repeat sequences in oat. *Genome* 44: 1065 — 1076.
- Jellen E. N., Phillips R. L. 1993. C-banded cariotypes and polymorphisms in hexaploid oat accessions (*Avena* ssp.) using Wright's stain. *Genome* 36: 1129 — 1137.
- Ladizinsky G. 1999. Cytogenetic relationships between *A. insularis* (2n=28) and both *A. strigosa* (2n=14) and *A. murphyi* (2n=28). *Genet. Res. and Crop Evol.* 46: 501 — 504.
- Leggett J. M. 1996. Using and conserving *Avena* genetic resources. *Proc. of 5th International Oat Conference*: 128 — 132.
- Li C. D., Rossnagel B. G., Scoles G. J. 2000. The development of oat microsatellite markers and their use in identifying relationships among *Avena* species and oat cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 101: 1259 — 1268.
- Loscutov I. G. 2008. On evolutionary pathways of *Avena* species. *Genet Res. Crop Evol.* 55: 211 — 220.
- Loskutov I. G., Perchuk I. N. 2000. Evaluation of interspecific diversity in *Avena* genus by RAPD analysis. *Oat Newslett* 46.
- Milligan B. G. 1992. Plant DNA isolation. In: *Molecular analysis of populations: a practical approach*. IRL Press, Oxford, UK: 59 — 88.
- Nei M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 70: 3321 — 3323.
- Nei M., Li W. H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76: 5269 — 5273.
- Nocelli E., Giovannimi T., Bioni M., Alicchio R. 1999. RFLP- and RAPD-based genetic relationships of seven diploid species of *Avena* with the A genome. *Genome* 42: 950 — 959.
- Pal N., Sandhu J. S., Dormier L. L., Kolb F. L. 2002. Development and characterization of microsatellite and RFLP — derived PCR markers in oat. *Crop Sci.* 42: 912 — 918.
- Pejic I., Ajmone-Marsan P., Morgante M., Kozumplik V., Castiglioni P., Taramino G., Motto M. 1998. Comparative analysis of genetic similarity among maize inbred lines detected by RFLPs, RAPDs, SSRs, and AFLPs. *Theor. Appl. Genet.* 97: 248 — 255.
- Penner G. A., Chong J., Levesque-Lemay M., Molnar S. J., Fedak G. 1993. Identification of RADP marker linked to the oat stem rust gene Pg3. *Theor. Appl. Genet.* 85: 702 — 705.
- Powell W., Morgante M., Andre C., Hanafey M., Vogel J., Tingey S., Rafalski A. 1996. Comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol. Breed.* 2: 225 — 238.

- Rajhathy T., Thomas H. 1974. Cytogenetics of oats (*Avena* L.). Misc. Publ. Genet. Soc., Ottawa, ON.
- Rohlf F. J. 2001. NTSYS — pc numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 5.1. Exeter Publishing Ltd., Setauket, N. Y.
- Ronald P. S., Penner G. A., Brown P. D. 1996. Identification of RAPD markers linked to genetic factors controlling hull content in oat (*Avena sativa* L.). Proc. Of V Int. Oat. Conf. 93: 292 — 294.
- Stalker H. T. 1980. Utilization of wild species for crop improvement. Advances in Agronomy No. 33: 111 — 147.
- Sztuba-Solińska J. 2005. Systemy markerów molekularnych i ich zastosowanie w hodowli roślin. Kosmos 54 (2–3): 227 — 239.
- Thomas H. 1992. Cytogenetics of *Avena*. In: Oat science and technology. Ed.: H. G. Marshall, J. Sorrells. American Society of Agronomy. Agronomy Monograph No. 33, Madison, Wis., USA: 473 — 507.
- Williams J. G. K., Kubelik A. R., Livak K. J., Rafalski J. A., Tingey S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primes are useful as genetic markers. Nucl. Acid. Res. 18: 6531 — 6535.
- Zeller F. J. 1998. Nutzung des genetischen Potentials der *Avena* - Wildarten zur Verbesserung des Saathafers (*Avena sativa* L.). Journal of Applied Botany 72: 180 — 185.
- Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. 1994. Genome fingerprinting by simple-sequence repeat (SSR) — anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics 20: 176 — 183.