

EDYTA PACZOS-GRZĘDA**KATARZYNA KRUK****SYLWIA OKOŃ**

Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin,

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Ocena wewnątrzgatunkowego podobieństwa genetycznego *Avena fatua* L. w oparciu o polimorfizm DNA

Assessment of *Avena fatua* L. intraspecific genetic similarity based on DNA polymorphism

W pracy analizowano poziom polimorfizmu DNA oraz podobieństwo genetyczne polskich i zagranicznych ekotypów *Avena fatua* L. za pomocą metod ISSR i REMAP. Dziewiętnaście starterów ISSR oraz 20 par starterów REMAP zostało wykorzystanych do uzyskania profili DNA, a amplifikacji uległo odpowiednio 238 i 468 fragmentów. Wartość współczynnika informacji o polimorfizmie (PIC) określona dla metody ISSR wahała się od 0,52 do 0,81, zaś dla REMAP od 0,46 do 0,99. Średnia wartość PIC dla obu metod była taka sama i wyniosła 0,65. Podobieństwo genetyczne szacowano wykorzystując algorytm Dice'a, a klasteryzację przeprowadzono metodą UPGMA, niezależnie dla obu technik. Korelacja między matrycami indeksów podobieństwa była relatywnie wysoka i wyniosła 0,69. Pomimo dużego podobieństwa w topologii, na dendrogramach uzyskanych w oparciu o polimorfizm identyfikowany metodami ISSR oraz REMAP obserwowano również pewne różnice. Klasteryzacja nie wykazała zgodności z pochodzeniem geograficznym obiektów. Formy skolekcjonowane w Polsce charakteryzowały się nieznacznie mniejszym zróżnicowaniem, aniżeli formy pochodzące z pozostałych krajów. Wyniki badań wykazały wysokie wewnątrzgatunkowe podobieństwo *Avena fatua*.

Słowa kluczowe: *Avena fatua* L., ISSR, podobieństwo genetyczne, REMAP

The level of DNA polymorphism and genetic similarity of Polish and foreign *Avena fatua* L. ecotypes were studied using the ISSR and REMAP approaches. Nineteen ISSR primers and 20 REMAP primer pairs combinations used for DNA profiling, amplified 238 and 468 fragments, respectively. Polymorphic information content (PIC) values ranged from 0.52 to 0.81 for ISSR and from 0.46 to 0.99 for REMAP. Mean values of PIC for ISSR and REMAP were the same — 0.65. Genetic similarities were estimated using Dice algorithm and cluster analyses were performed using UPGMA method, independently for the two molecular marker techniques. Data obtained with both techniques were relatively high correlated ($r = 0.69$). Despite of high similarity of dendrograms obtained with ISSR and REMAP methods, some clustering differences were observed. Clustering did not display agreement with geographic region or country of origin. Polish ecotypes showed less diversity than forms originating from the other countries. The results of this study have provided evidence of high intra-species genetic similarity of *Avena fatua*.

Key words: *Avena fatua* L., genetic similarity, ISSR, REMAP

WSTĘP

Owies głuchy (*Avena fatua* L.) pochodzi z Azji, jednak bliższe określenie rejonu jego różnicowania nie jest możliwe (Nalewaja, 1977; Kieć, 2000). Gatunek ten jest charakterystyczny dla strefy klimatu umiarkowanego, ale pojawia się także w warunkach klimatu suchego i półsuchego (Sharma i Van den Born, 1978; Morikawa, 1989). Należy do najgroźniejszych chwastów, szczególnie zbóż jarych (Sharma i Van den Born, 1978; Li i in., 2007). Obserwuje się stałe rozprzestrzenianie tego gatunku na świecie, co wskazuje na jego duży potencjał adaptacyjny (Mengistu i in., 2005).

W Polsce *Avena fatua* pojawia się w uprawach na terenie całego kraju, stale rozszerzając zasięg swego występowania (Skrzyczyńska, 1998; Kieć, 2000). Na produkcję swej suchej masy zużywa około 50% więcej wody, niż choćby pszenica jara. Powoduje to znaczącą obniżkę plonów zbóż, którym towarzyszy w uprawie (Sharma i Van Den Born, 1978; Skrzyczyńska, 1998).

Avena fatua odznacza się dużą zmiennością cech morfologicznych (Darmency i Aujas, 1992). Falkowski i wsp. (1982) wyróżniają 4 jego odmiany botaniczne: var. *fatua*, var. *glabrata* Peterm., var. *intermedia* (Lestib.) Lej. Et Cort. i var. *pilosissima* S. F. Gray. Z kolei Kieć (2000), opierając się na zmienności cech morfologicznych i biochemicznych, proponuje wyodrębnienie dwóch podgatunków: subsp. *fatua* i subsp. *brevipilosa*, a w obrębie każdego z nich pięciu odmian botanicznych.

A. fatua postrzegany jako bardzo agresywny i trudny do zwalczania chwast, z hodowlanego punktu widzenia stanowi potencjalny rezerwuar zmienności genetycznej, bardzo pożądanej w hodowli owsa zwyczajnego. Wśród ekotypów *A. fatua* zidentyfikowano geny decydujące o wczesności dojrzewania, odporności na suszę (Rines i in., 1980), szybkim wzroście wegetatywnym (Welch i Leggett, 1997), dorodności ziarniaków, wysokiej zawartości białka i tłuszczu w ziarnie (Frey, 1975), odporności na rdzę koronową i żdźbłową (Frey, 1986), tolerancji na wirus żółtej karłowatości jęczmienia (BYDV) (Comeau, 1984), warunkujących karłowatość (Milach i in., 1998; Morikawa i in., 2007), odporność na herbicydy (Cavan i in., 1998) czy długi okres spoczynku ziarniaków (Fennimore i in., 1999). *A. fatua* dotychczas wykorzystywany był w programach hodowlanych w niewielkim zakresie. Jednym z nielicznych przykładów wprowadzenia materiału genetycznego tego dzikiego gatunku do form uprawnych jest przystosowanie do uprawy na obszarach suchych i wyjątkowa wczesność amerykańskich odmian Sierra, Rapida i Montezuma oraz odporność na rdzę koronową cv. Sierra (McMullen i Patterson, 1992).

Zróżnicowanie morfologiczne, bogactwo wartościowych genów i niespotykana zdolność adaptacyjna *A. fatua* pozwalają przypuszczać, że pula genetyczna tego gatunku jest bogata i heterogeniczna. Analizy molekularne, które przeprowadzono dotychczas dla form amerykańskich, chińskich i pakistańskich nie potwierdziły jednak tej hipotezy (Mengistu i in., 2005; Li i in., 2007; Mirza i in., 2007).

Celem pracy było dokonanie:

- oceny genetycznego podobieństwa wewnątrzgatunkowego *Avena fatua* L. w oparciu o polimorfizm DNA identyfikowany metodami ISSR i REMAP,
- analizy porównawczej ekotypów pochodzących z Polski z formami skolekcjonowanymi w różnych rejonach świata (Japonii, Albanii, Etiopii, Grecji, Libii, Rosji i Rumunii).

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiło 12 ekotypów *Avena fatua* L. (tab. 1) sprowadzonych z banków genów: Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben w Niemczech, Research Institute of Crop Production (RICP), Gene Bank, Praga — Ruzyně w Republice Czeskiej, N. I. Vavilov All- Russian Scientific Institute of Plant Industry (VIR), St. Petersburg w Rosji oraz Krajowego Centrum Roślinnych Zasobów Genowych (KCRZG), Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie.

Tabela 1

**Charakterystyka badanych ekotypów *Avena fatua* L.
Characteristics of the analyzed *Avena fatua* L. ecotypes**

Oznaczenie ekotypu Ecotype description	Bank genów Genebank	Kraj pochodzenia Country of origin
AVE 270	IPK	Albania
AVE 438	IPK	Grecja — Greece
AVE 1322	IPK	Etiopia — Ethiopia
AVE 2407	IPK	Libia — Libya
AVE 2804	IPK	Rumunia — Romania
PI 51631	IHAR	Polska — Poland
PI 51633	IHAR	Polska
PI 52190	IHAR	Polska
PI 51601	IHAR	Polska
PI 51635	IHAR	Polska
03C0701476	RICP	Rosja — Russia
1963 VIR	VIR	Japonia — Japan

IPK — Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben, Germany

IHAR — Krajowe Centrum Roślinnych Zasobów Genowych, IHAR w Radzikowie

RICP — Research Institute of Crop Production, Gene Bank, Ruzyně, Czech Republic

VIR — N. I. Vavilov All- Russian Scientific Institute of Plant Industry, St. Petersburg, Russian

DNA wyizolowano metodą Milligana (1992) z fragmentów 15–20 koleoptyli kilkunastu siewek w dwóch niezależnych powtórzeniach dla każdej formy. Reakcje ISSR przeprowadzono zmodyfikowaną metodą Ziętkiewicz i wsp. (1994), zaś REMAP zmodyfikowaną metodą Kalendara i wsp. (1999) dla każdej formy w dwóch powtórzeniach z jednoczesną kontrolą negatywną. W metodzie ISSR w skład mieszaniny reakcyjnej o objętości 15 µL wchodziły: 1 × bufor do PCR (75 mM Tris-HCl pH 8,8; 20 mM (NH₄)₂SO₄, 0,01% Tween 20) (Fermentas, Litwa); 160 µM każdego dNTP; 5,3 pM startera; 1,3 mM MgCl₂, 0,4 mM spermidyny, 80 ng genomowego DNA; 0,5 U polimerazy DNA *Taq* (Fermentas, Litwa). Stosowano następujący profil termiczny: 95°C 2'30"; 6 × (94°C 45", 58°C < -0.5°C/cykl > 45", 72°C 45"); 32 × (94°C 45", 55°C 45", 72°C 45"); 72°C 10'. W metodzie REMAP mieszanina reakcyjna o objętości 15 µl składała się z: 1 × bufor do PCR

(10 mM Tris pH 8,8; 50 mM KCl; 0,08% Nonidet P40) (Fermentas, Litwa), 200 μ M każdego dNTP, 3 pM startera Forward i Reverse, 2,2 mM MgCl₂, 0,4 mM spermidyny, 60 ng genomowego DNA, 1U polimerazy DNA *Taq* (Fermentas, Litwa). Profil termiczny reakcji amplifikacji był następujący: 95°C 4'; 38 × (94°C 45", 55°C 45", 72°C 45"); 72°C 10'. Elektroforetyczny rozdział produktów PCR prowadzono w 2,5% żelu agarozowym z 0,01% EtBr w buforze TBE przez 2,5 h przy napięciu 120 V. Zdjęcia rozdziałów analizowano określając obecność lub brak prążków.

Na podstawie uzyskanych wyników obliczono współczynnik informacji o polimorfizmie — PIC (polymorphism information content) zgodnie z założeniami Nei (1973). Podobieństwo genetyczne (SI — similarity index) szacowano pomiędzy parami wszystkich badanych obiektów zgodnie z formułą Dice'a (Nei i Li, 1979). Matryce SI uzyskane na podstawie polimorfizmu identyfikowanego metodami ISSR oraz REMAP posłużyły do konstrukcji dendrogramów metodą UPGMA przy zastosowaniu programu NTSYS-pc (Rohlf, 2001). Obliczono współczynnik korelacji pomiędzy matrycami indeksów podobieństwa.

WYNIKI

Reakcje amplifikacji DNA przeprowadzono z 19 starterami ISSR oraz 20 parami starterów REMAP. Całkowita liczba uzyskanych produktów ISSR wyniosła 238, z których 106 (44,5%) było polimorficznych (tab. 2).

Tabela 2

Porównanie polimorfizmu identyfikowanego metodami ISSR i REMAP
Comparison of polymorphism identified by the ISSR and REMAP methods

Porównywany parametr Comparative parameter	ISSR	REMAP
Liczba użytych starterów — Number of primers used	19	20
Całkowita liczba produktów — Total number of products	238	468
Liczba produktów polimorficznych — Number of polymorphic products	106	208
Udział produktów polimorficznych — Contribution of polymorphic products (%)	44,5	44,4
Średnia liczba produktów / starter — Mean number of products per primer	12,5	23,4
Średnia liczba produktów polimorficznych / starter — Mean number of polymorphic products per primer	5,6	10,4
Liczba produktów specyficznych — Number of specific products	13	18
Średnia wartość PIC — Mean PIC value	0,65	0,65
Całkowita liczba profili — Total number of profiles	131	200
Średnia liczba profili / starter — Mean number of profiles per primer	6,9	10,0

Amplifikacji metodą REMAP uległo 468 fragmentów, w tym 208 (44,4%) polimorficznych. Średnio każdy starter ISSR uczestniczył w syntezie 5,6 polimorficznych fragmentów DNA, a para starterów REMAP inicjowała amplifikację 10,4 takich odcinków. Wartość współczynnika informacji o polimorfizmie (PIC) określona dla metody ISSR wahała się od 0,52 do 0,81, zaś dla REMAP od 0,46 do 0,99. Średnia wartość PIC dla obu metod była taka sama i wyniosła 0,65. Zidentyfikowano 10 specyficznych produktów ISSR oraz 20 REMAP. Większość z nich była charakterystyczna dla ekotypu AVE 270.

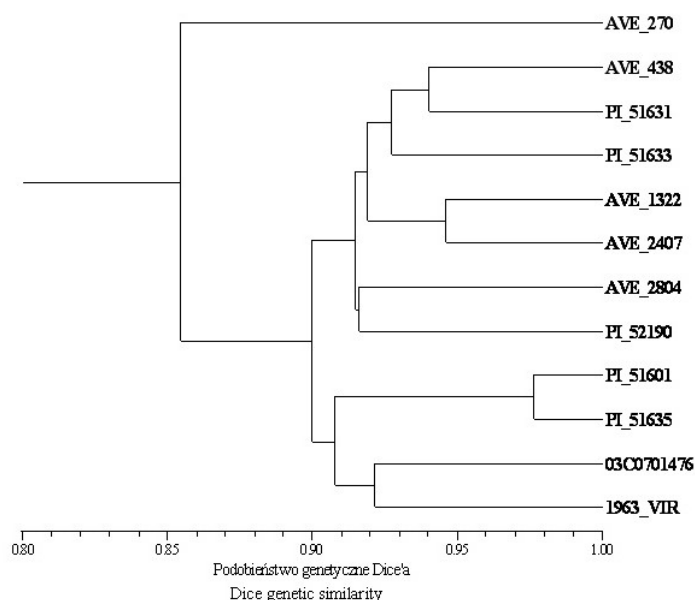
Liczba wszystkich profili prążków, czyli liczba kombinacji fragmentów DNA uzyskiwanych dla poszczególnych obiektów przy udziale starterów ISSR wyniosła 131, zaś REMAP — 200. Uzyskane profile umożliwiły identyfikację wszystkich badanych form.

Wyniki badań polimorfizmu metodami ISSR i REMAP stanowiły podstawę do utworzenia matrycy indeksów podobieństwa genetycznego Dice'a. Wartości indeksów uzyskane dla obu metod były bardzo zbliżone (tab. 3).

Tabela 3

Średnie wartości indeksów podobieństwa genetycznego Dice'a oszacowane na podstawie polimorfizmu identyfikowanego metodami ISSR i REMAP
Mean values of Dice genetic similarity indices estimated based on polymorphism identified by the ISSR and REMAP methods

Metoda Method	Średnia wartość indeksów podobieństwa Dice'a Mean values of Dice genetic similarity indices			Zakres wartości indeksów podobieństwa genetycznego Range of genetic similarity indices values
	Polska — Poland	świat — world	razem — total	
ISSR	0,91	0,89	0,90	0,84–0,98
REMAP	0,91	0,89	0,90	0,85–0,96

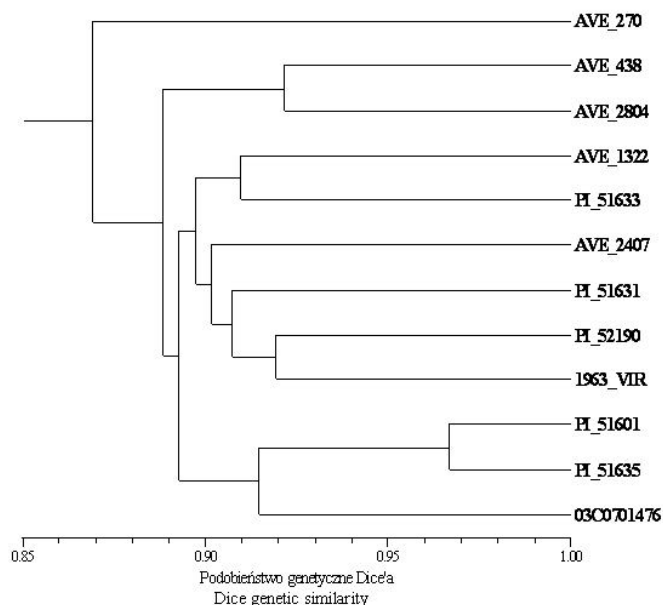


Rys. 1. Dendrogram analizowanych ekotypów *A. fatua* L. uzyskany metodą UPGMA w oparciu o polimorfizm identyfikowany metodą ISSR

Fig. 1. UPGMA dendrogram of the analysed *A. fatua* L. ecotypes based on polymorphism identified by the ISSR method

Wartości indeksów określone na podstawie polimorfizmu identyfikowanego metodą REMAP zawierały się w przedziale 0,85–0,96, zaś metodą ISSR 0,84–0,98, średnio 0,90

niezależnie dla każdej z metod. Współczynnik korelacji macryc indeksów podobieństwa był statystycznie istotny i wyniósł 0,69. Wysokie podobieństwo genetyczne analizowanych form *A. fatua* wskazuje na ich małą różnorodność. Podobieństwo genetyczne obiektów skolekcjonowanych w Polsce było nieznacznie większe, aniżeli form pochodzących z innych rejonów świata. Niezależnie od zastosowanej metody oceny polimorfizmu DNA topologia uzyskanych dendrogramów była podobna (rys. 1 i 2).



Rys. 2. Dendrogram analizowanych ekotypów *A. fatua* L. uzyskany metodą UPGMA w oparciu o polimorfizm identyfikowany metodą REMAP
Fig. 2. UPGMA dendrogram of the analysed *A. fatua* L. ecotypes based on polymorphism identified by the REMAP method

Najmniejszym podobieństwem do wszystkich badanych form charakteryzował się AVE 270 pochodzący z Albanii. Usytuował się on na obrzeżach obu dendrogramów. Pozostałe obiekty uformowały dwa klastry. W obrębie pierwszego z nich znalazły się formy: PI 51601, PI 51635 oraz 03C0701476. W tej grupie skupień na dendrogramie skonstruowanym na podstawie polimorfizmu markerów ISSR znalazł się również 1963 VIR. Pozostałe ekotypy utworzyły na obu dendrogramach odrębny klaster, jednakże zaobserwowano dość duże różnice w obrębie subklastrów.

DYSKUSJA

Avena fatua L. jest jednym z siedmiu heksaploidalnych gatunków w obrębie rodzaju *Avena* L. (Zeller, 1998), a jego skład genomowy, podobnie jak u pozostałych heksaploidów opisano jako AACDD (Rajhtahy i Thomas, 1974). Spadek zróżnicowania genetycznego

odmian *A. sativa* skłania do poszukiwania zmienności w gatunkach pokrewnych. Najprostszym i budzącym najmniej kontrowersji sposobem poszerzenia zmienności odmian jest wprowadzenie pożądaných genów z gatunków dzikich poprzez krzyżowanie. W obrębie rodzaju *Avena* nie stwierdzono występowania barier krzyżowalności na heksaploidalnym poziomie ploidalności (Leggett, 1992). Uzyskiwane mieszańce są płodne i stabilne cytogenetycznie, a więc możliwy jest transfer genów z gatunków dzikich do form uprawnych (Leggett, 1992; Chrzastek i in., 2003).

A. fatua był zaledwie kilkakrotnie obiektem analiz molekularnych. Cavan i wsp. (1998) wykorzystując metodę RAPD stwierdzili możliwość spontanicznego powstawania mieszańców międzygatunkowych *A. sterilis* × *A. fatua* i wyjaśnili zjawisko rozprzestrzeniania się odporności na herbicydy. Fennimore i wsp. (1999) zidentyfikowali markery RAPD sprzężone z genami warunkującymi długi okres spoczynku ziarniaków u *A. fatua*. Chrzastek i wsp. (2003) stosując tę samą metodę potwierdzili mieszańcowy charakter kombinacji *A. sativa* × *A. fatua*.

Analiza polimorfizmu DNA pozwala na bezpośrednie oszacowanie zróżnicowania genetycznego (Sztuba-Solińska, 2005). Ocenę zmienności genetycznej w obrębie *A. fatua* przeprowadzili Mengistu i wsp. (2005) wykorzystując polimorfizm identyfikowany metodami RAPD i ISSR, zaś Li i wsp. (2007) — metodą SSR. Mengistu i wsp. (2005) analizowali 36 amerykańskich populacji *A. fatua*, skolekcjonowanych w Północnej Dakocie, odpornych i wrażliwych na herbicydy. Średni dystans genetyczny pomiędzy badanymi przez autorów formami wyniósł zaledwie 0,08. Populacje tego gatunku pochodzące z USA oraz sześciu prowincji Chin oceniali Li i wsp. (2007). Uzyskane przez autorów wyniki również wykazały duże podobieństwo badanych form — indeksy podobieństwa przyjmowały wartości od 0,87 do 0,99. W niniejszej pracy w celu określenia zróżnicowania genetycznego *A. fatua* zastosowano metody ISSR i REMAP. Wartości indeksów podobieństwa genetycznego, obliczone niezależnie, na podstawie polimorfizmu identyfikowanego za pomocą obu technik, były zbliżone do uzyskanych w badaniach Mengitsu i wsp. (2005) oraz Li i wsp. (2007). Zarówno wyniki badań własnych, jak i cytowanych wyżej autorów wykazały niewielkie zróżnicowanie genetyczne *A. fatua* na poziomie DNA, co wskazuje na małą różnorodność tego gatunku. Jednocześnie wysokie wewnątrzgatunkowe podobieństwo genetyczne nie odzwierciedla dużych zdolności adaptacyjnych owsa głuchego.

Wartość współczynnika informacji o polimorfizmie (PIC) dla poszczególnych starterów ISSR wynosiła od 0,21 do 0,81, zaś dla par starterów REMAP wahała się od 0,47 do 0,99. Średnia wartość tego indeksu obliczona niezależnie dla każdej z metod była identyczna i wyniosła 0,65. Li i wsp. (2000) stosując zaprojektowane dla owsa startery SSR dla 12 gatunków z rodzaju *Avena* uzyskali średnią wartość PIC 0,57 (0,28–0,79), zaś dla 20 odmian *Avena sativa* 0,51 (0,10–0,85). Metoda analizy polimorfizmu długości sekwencji mikrosatelitarnych (SSR) jest postrzegana jako najbardziej efektywna w detekcji polimorfizmu (Powell i in., 1996). Wyniki uzyskane w badaniach własnych wskazują, że metody ISSR i REAMP identyfikują podobny poziom polimorfizmu, porównywalny z uzyskiwanym w metodzie SSR, jednakże z uwagi na większą wydajność, metodą z wyboru do analizy podobieństwa genetycznego w obrębie *A. fatua* powinna być REMAP.

Na podstawie polimorfizmu DNA identyfikowanego metodami ISSR i REMAP przeprowadzono analizę skupień metodą UPGMA. Skonstruowane dendrogramy różniły się od siebie w niewielkim stopniu. Nie stwierdzono jednakże wspólnej klasteryzacji form pochodzących z podobnych rejonów świata, bądź skolekcjonowanych w jednym banku genów. Mengistu i wsp. (2005) badając zróżnicowanie form owsa głuchego odpornych i wrażliwych na herbicydy wyodrębnili na dendrogramie 10 grup, przy czym 27 z 36 obiektów formowało cztery grupy główne. W trzech klastrach skupiły się formy charakteryzujące się podobnym pochodzeniem i identyczną odpornością na herbicydy. Li i wsp. (2007) analizując podobieństwo genetyczne 7 populacji owsa głuchego pochodzących z Chin i ze Stanów Zjednoczonych, w przeciwieństwie do wyników uzyskanych w niniejszej pracy, obserwowali na dendrogramie formowanie skupień odpowiadających pochodzeniu badanych form. Autorzy stwierdzili jednak, że obiekty pochodzące z obszarów Chin położonych bliżej siebie wcale nie ulegały silniejszej klasteryzacji, aniżeli formy pochodzące z odległych rejonów kraju.

WNIOSKI

1. Analiza polimorfizmu DNA z zastosowaniem metod ISSR i REMAP wykazała wysokie podobieństwo genetyczne analizowanych form *Avena fatua* L. Formy skolekcjonowane w Polsce charakteryzowały się mniejszym zróżnicowaniem genetycznym, aniżeli pochodzące z innych rejonów świata.
2. Efektywność metody REMAP w detekcji polimorfizmu była niemal dwukrotnie wyższa aniżeli metody ISSR, w związku z tym byłaby ona metodą polecaną do dalszych badań zróżnicowania tego gatunku.

LITERATURA

- Cavan G., Biss P., Moss S. R. 1998. Herbicide resistance and gene flow in wild oats (*Avena fatua* and *Avena sterilis* ssp. *ludoviciana*). Ann. Appl. Biol. 133: 207 — 217.
- Chrzastek M., Paczos-Grzęda E. 2003. Analiza molekularna i cytologiczna oraz ocena niektórych cech ilościowych mieszańców międzygatunkowych *Avena sativa* L. × *A. fatua* L. Biul. IHAR 230: 387 — 397.
- Comeau A. 1984. Barley yellow dwarf virus resistance in the genus *Avena*. Euphytica 33: 49 — 55.
- Darmency H., Aujas C. 1992. Genetic diversity for competitive and reproductive ability in wild oats (*Avena fatua*). Weed Science 40: 215 — 219.
- Falkowski M., Filipek J., Filipek M., Grzyb S., Kozłowski S., Kukułka I., Rudnicka-Sterna W., Rutkowska B., Sulimowski S. 1982. Trawy polskie. Falkowski M (red.). Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne. Warszawa: 131 — 134.
- 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. 1975. Heritability of groat-protein percentage of hexaploid oats. Crop Sci. 15: 227 — 228.
- Frey K. J. 1986. Genetic resources and their use in oat breeding. Proc. of II. Int. Oat Conf. Aberystwyth. Dordrecht: 7 — 15.
- Kalendar R., Grob T., Souiniemi A., Schulman A. H. 1999. IRAP and REMAP: two new retrotransposons based DNA fingerprinting techniques. Theor. Appl. Genet. 98: 740 — 711.
- Kieć J. 2000. Zróżnicowanie morfologiczne, ekologiczne i enzymatyczne gatunku *Avena fatua* L. występującego na polach Polski południowo-wschodniej. Rozprawa habilitacyjna. Zesz. Nauk. AR. im. Hugona Kołłątaja w Krakowie.

- Leggett J. M. 1992. Oat science and technology. Agronomy monograph no. 33. American Society of Agron. Crop Sci. Soc. of Amer.: 29 — 52.
- 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.
- Li R., Wang S., Duan L., Li Z., Christoffers M. J., Mengistu L. W. 2007. Genetic diversity of wild oat (*Avena fatua*) populations from China and the United States. Weed Sci. 55: 95 — 101.
- McMullen M. S., Patterson F. L. 1992. Oat cultivar development in the USA and Canada. In oat science and technology. Edited by H.G. Marshall and Sorrells. American Society of Agronomy. Agronomy Monograph No. 33, Madison, Wis., USA, 573 — 612.
- Mengistu L. W., Messersmith C. G., Christoffers M. J. 2005. Genetic diversity of herbicide - resistant and susceptible *Avena fatua* populations in North Dakota and Minnesota. Weed Res. 45: 413 — 423.
- Milach S. C. K., Rines H. W., Philips R. L., Stuthman D. D., Morikawa T. 1998. Inheritance of a new dwarfing gene in oat. Crop Sci. 38: 356 — 360.
- Milligan B. G. 1992. Plant DNA isolation. In: Molecular analysis of populations: a practical approach. IRL Press, Oxford, UK, 59 — 88.
- Mirza B., Mohammad S., Ahmad M., Fu Y. B. 2007. Genetic diversity in Pakistani populations of *Avena fatua* revealed by seed storage protein polymorphism. Comm. Biomet. and Crop Sci. 2: 41 — 48.
- Morikawa T. 1989. Genetic analysis on dwarfiness of wild oats, *Avena fatua*. Jap. J. Genet. 64: 363 — 371.
- Morikawa T., Sumiya M., Kuriyama S. 2007. Transfer of new dwarfing genes from the weed species *Avena fatua* into cultivated oat *A. byzantina*. Plant Breed. 126: 30 — 35.
- Nalewaja J. D. 1977. Wild oats: global gloom. Proc. West. Soc. of Weed Science. Vol. 30: 21 — 32.
- Nei M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 70: 3321 — 3323.
- Nei M., Li H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 76: 5269 — 5273.
- Powell W., Machray G., Provan J. 1996. Polymorphism revealed by simple sequence repeats. Trends in Plant Science. 1: 215 — 222.
- Rajhathy T., Thomas H. 1974. Cytogenetics of oats (*Avena* L.). Misc. Publ. Genet. Soc., No. 2. Ottawa, Ontario, Kanada: 5 — 90.
- Rines H. W., Stuthman D. D., Briggles L. W., Youngs V. L., Jedlinski H., Smith D. H., Webster J. A., Rothman P. R. 1980. Collection and evaluation of *Avena fatua* for use in oat improvement. Crop Sci. 20: 63 — 68.
- Rohlf F. J. 2001. NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 5.1. Exeter Publishing Ltd., Setauket, N.Y.
- Sharma M. D., Van Den Born W. H. 1978. The biology of Canadian weeds. *Avena fatua* L. Can. J. Plant Sci. 58: 141 — 157.
- Skrzyczyńska J., Pawlonka Z. 1998. Ekspansja owsa głuchego. Now. Rol. 5 (6): 13 — 14.
- Sztuba-Solińska J. 2005. Systemy markerów molekularnych i ich zastosowanie w hodowli roślin. Kosmos 54: 227 — 239.
- Welch R. W., Leggett J. M. 1997. Nitrogen content, oil content and oil composition of oat cultivars (*Avena sativa*) and wild *Avena* species in relation to nitrogen fertility, yield and partitioning of assimilates. J. Cereal Sci. 26: 105 — 120.
- Zeller F. J. 1998. Nutzung des genetischen Potenzials der *Avena* — Wildarten zur Verbesserung des Saathafers (*Avena sativa* L.). J. Appl. Genet. 72: 180 — 185.
- Ziętkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) — anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics 20: 176 — 183.