

Obsah

1 Úvod do problematiky.....	11
1.1 Raž siata (<i>Secale cereale</i> L.).....	11
1.1.1 Botanická charakteristika raže.....	11
1.1.2 Genetická charakteristika raže.....	12
1.1.3 Nutričná kvalita zrna raže.....	13
1.1.4 Technologická kvalita zrna raže.....	18
1.2 Tritikale (<i>X Triticosecale</i> Witt.).....	19
1.2.1 Botanická a genetická charakteristika tritikale.....	19
1.2.2 Chemické zloženie zrna tritikale.....	21
1.3 Zásobné bielkoviny ako molekulárne markery raže a tritikale.....	23
1.3.1 Bielkovinové markery.....	23
1.3.2 Zásobné bielkoviny semena raže.....	23
1.3.3 Identifikácia ražných sekalínov.....	26
1.3.4 Charakteristika génov kódujúcich sekalíny.....	27
1.3.5 Zásobné bielkoviny semena tritikale.....	29
1.4 DNA markery kvality zrna raže a tritikale.....	30
1.4.1 DNA markery detekcie genetického polymorfizmu.....	33
1.4.2 SSR markery raže, tritikale.....	35
1.4.3 Retrotranspozóny ako molekulárne markery.....	42
2 Materiál a metódy.....	46
2.1 Chemikálie a enzýmy.....	46
2.2 Použitý biologický materiál.....	46
2.3 Biochemické metódy.....	46
2.3.1 Stanovenie celkového dusíka podľa Kjeldahla.....	46
2.3.2 Stanovenie frakčnej skladby bielkovín podľa Golenkova (ICC metóda)...	48
2.3.3 Stanovenie bielkovinového dusíka podľa Barsteina.....	48
2.4 Extrakcia a elektroforetické delenie bielkovín zrna v SDS-PAGE.....	49
2.4.1 Extrakcia glutenínov.....	50
2.4.2 Pracovný postup SDS-PAGE.....	51
2.4.3 Farbenie gélov a vizualizácia bielkovín.....	52
2.5 Extrakcia a elektroforetické delenie bielkovín zrna v A-PAGE.....	52
2.5.1 Extrakcia sekalínov a gliadínov.....	53

2.5.2	Pracovný postup A-PAGE.....	54
2.5.3	Farbenie gélu a vizualizácia sekalínov a gliadínov	54
2.6	Analýza polymorfizmu genotypov raže siatej a tritikale pomocou mikrosatelitných markerov	54
2.6.1	Izolácia genomickej DNA	54
2.6.2	PCR amplifikácia a elektroforetická separácia v PAGE géloch.....	56
2.6.3	Vizualizácia a dokumentácia DNA fragmentov	60
2.6.4	Analýza záznamov elektroforeogramov	61
2.6.5	Výpočet genetickej podobnosti a zhluková analýza.....	62
2.7	Analýza polymorfizmu pomocou RAPD (náhodne zmnoženej DNA).....	62
2.7.1	Extrakcia genomickej DNA.....	62
2.7.2	RAPD amplifikácia a gélová elektroforéza	63
2.7.3	Analýza dát	64
2.8	Stanovenie genetickeho polymorfizmu pomocou retrotranspozómových markerov	65
2.8.1	Izolácia DNA	65
2.8.2	Analýza polymorfizmu pomocou retrotranspozónových markerov	66
3	Výsledky a diskusia	68
3.1	Biochemická charakteristika zrna tritikale.....	68
3.2	Identifikácia a charakteristika zásobných bielkovín genotypov raže siatej v SDS-PAGE.....	77
3.3	Identifikácia a charakteristika zásobných bielkovín genotypov tritikale v SDS-PAGE	83
3.4	Elektroforetická separácia bielkovín zrna raže pomocou A-PAGE.....	87
3.5	Elektroforetická separácia bielkovín genotypov tritikale pomocou A-PAGE...	90
3.6	Analýza genetickej variability genotypov raže siatej pomocou SSR	94
3.6.1	Analýza stupňa polymorfizmu pomocou SSR markerov	107
3.6.2	Analýza genetickej diverzity raže siatej pomocou zhlukovej analýzy	109
3.7	Stanovenie polymorfizmu v genotypoch tritikale pomocou mikrosatelitných markerov	112
3.7.1	STMS technika ako markerovací systém	125
3.7.2	Genetická diverzita v súbore genotypov tritikale na základe STMS markerov.....	127
3.8	Analýza genetickej variability genotypov raže siatej pomocou RAPD.....	130
3.8.1	Analýza stupňa polymorfizmu pomocou RAPD markerov.....	140

3.8.2	Analýza RAPD genetickej diverzity raže siatej na základe zhlukovej analýzy	142
3.9	Hodnotenie genetického polymorfizmu tritikale retrotranspozónovými markermi	145
3.9.1	Charakteristika použitých IRAP markerov	145
3.9.2	Genetická diverzita genotypov tritikale na základe retrotranspozónov....	148
4	Návrh na využitie poznatkov pre ďalší rozvoj vedy	152
5	Závery	153
6	Zoznam použitej literatúry	158