

JAN BOCIANOWSKI <sup>1</sup>

ALINA LIERSCH <sup>2</sup>

IWONA BARTKOWIAK-BRODA <sup>2</sup>

WIESŁAWA POPLAWSKA <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Katedra Metod Matematycznych i Statystycznych, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

<sup>2</sup> Zakład Genetyki i Hodowli Roślin Oleistych IHAR w Poznaniu

## Charakterystyka samosiewów rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.) za pomocą markerów RAPD\*

### Characteristics of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) volunteers with the use of RAPD markers

Celem pracy była ocena podobieństwa genetycznego (GS) pomiędzy samosiewami oraz odmianami rzepaku i rzepiku, a także określenie związku markerów molekularnych z cechami fenotypowymi i genotypem. Badania obejmowały potomstwo 31 samosiewów pobranych z plantacji rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego w sezonie 2005/2006 w trzech województwach Polski północnej. Jako wzorce wybrano odmiany rzepaku uprawiane na plantacjach, z których pobrano samosiewy: Californium, Castille, Lisek i Rasmus oraz odmianę rzepiku ozimego (*B. campestris*) Ludowy. Charakterystykę samosiewów rzepaku wykonano za pomocą 431 markerów molekularnych typu RAPD. Dendrogram utworzony w oparciu o miarę GS Nei i Li (1979) rozdzielił badane genotypy na dwie zasadnicze grupy: samosiewy o morfotypie rzepaku i odmiany wzorcowe rzepaku oraz grupę obejmującą rośliny o morfotypie rzepiku i odmianę rzepiku Ludowy. Stwierdzono także istotny związek pomiędzy grupami markerów RAPD a cechami fenotypowymi i poziomem ploidalności. Otrzymano 21 markerów RAPD występujących wyłącznie w roślinach rzepikopodobnych o podwyższonej zawartości kwasu erukowego oraz 59 markerów charakterystycznych dla roślin w typie rzepaku o niskiej zawartości kwasu erukowego.

**Słowa kluczowe:** markery molekularne RAPD, polimorfizm DNA, rzepak ozimy (*Brassica napus* L.), samosiewy

This study aimed to estimate genetic similarity (GS) and relationships between molecular markers and phenotypic traits and between molecular markers and genotype. The investigations included progenies of 31 volunteers collected from winter oilseed rape fields in the growing season 2005/2006. The plantations were selected in three Voivodships in northern Poland. Winter oilseed rape cultivars Californium, Castille, Lisek, Rasmus, cultivated in the fields of origin of volunteers, and winter turnip

\* Badania wykonano w ramach projektu badawczego w 6. Programie Ramowym UE „Sustainable introduction of GMOs into European agriculture”, nr kontraktu SSPE-CT-2004-501986 oraz umowy nr 1/POZ z Zakładami Tłuszczowymi „Kruszwica” S.A. – „Badanie prób nasion rzepaku oraz nasion z roślin rzepakopodobnych”.

rape (*B. campestris*) Ludowy were chosen as standards. The volunteers of winter oilseed rape have been investigated through 431 RAPD markers. Dendrogram based on Nei and Li (1979) coefficient grouped genotypes in two clusters. The first one was represented by oilseed rape-like plants and standard oilseed rape cultivars; the second group consisted of turnip rape-like plants and turnip rape cultivar Ludowy. Significant associations between molecular markers, phenotypic traits and genotypes were found. Twenty-one of the molecular markers were specific for the turnip rape-like plants with high erucic acid content, and 59 markers were specific for oilseed rape-like plants with low erucic acid content.

**Key words:** molecular marker RAPD, polymorphism DNA, winter oilseed rape (*Brassica napus* L.), volunteers

## WSTĘP

Markery DNA są szeroko stosowane w programach badawczych i hodowlanych roślin z rodzaju *Brassica*. Do najczęściej stosowanych markerów należą markery typu RFLP (ang. restriction fragment length polymorphism), AFLP (ang. amplified fragments length polymorphisms), RAPD (ang. random amplified polymorphic DNA) czy ostatnio SSR (ang. simple-sequence repeats) i SNPs (ang. single nucleotide polymorphism) (Snowdon i Friedt, 2004). Markery molekularne wykorzystuje się do charakterystyki zmienności genetycznej materiałów kolekcyjnych i identyfikacji odmian (Becker i in., 1995; Hasan i in., 2006; Wu i in., 2007), poszukiwania sprzężeń markerów z cechami jakościowymi i ilościowymi i mapowania: genów cech jakościowych (Uzunowa i in., 1995; Ecke i in., 1995; Javidfar i in., 2006; Friedt i in., 2007; Mikołajczyk i in., 2007; Rahman i in., 2007), odporności na choroby (Delourme i in., 2004; Yu i in., 2007), stresy (Pilet i in., 2001; Kole i in., 2002), cechy morfologiczne (Foisset i in., 1995; Barret i in., 1998; Sommers i in., 2001; Lu i in., 2008), cechy męskiej sterility (Delourme i in., 1998). Stosuje się je także w tworzeniu map genetycznych i fizycznych genów: Song i wsp. (1991), Foisset i wsp. (1996), Lombard i Delourme (2001), Babula i wsp. (2003), do badania zależności efektu heterozji od dystansu genetycznego (Liu i in., 2002; Yu i in., 2005).

Celem pracy była: ocena zróżnicowania genetycznego samosiewów pobranych z plantacji rzepaku ozimego i weryfikacja za pomocą markerów molekularnych typu RAPD wcześniej dokonanego podziału samosiewów na podstawie cech fenotypowych i poziomu ploidalności, a także określenie związku pomiędzy poszczególnymi markerami molekularnymi a cechami fenotypowymi.

## MATERIAŁ I METODY

Obiektami badań były nasiona zebrane z roślin pobranych wiosną 2006 roku jako samosiewy na plantacjach rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego w województwach: Zachodniopomorskim, Pomorskim oraz Warmińsko-Mazurskim. Na podstawie cech fenotypowych oraz względnej zawartości jądrowego DNA do badań zmienności za pomocą markerów typu RAPD wybrano potomstwa 31 samosiewów, spośród wcześniej zbadanych 122 (tab. 1). Ponadto do badań włączono odmiany rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego uprawiane na plantacjach, z których pobrano samosiewy: Californium, Castille, Lisek i Rasmus oraz odmianę rzepiku ozimego Ludowy. Samosiewy te zostały

sklasyfikowane do grupy roślin w typie rzepaku bądź w typie rzepiku na podstawie cech morfologicznych, jakościowych (zawartość kwasu erukowego i glukozynolanów) oraz względnej zawartości DNA jądrowego (Liersch i in., 2008).

Tabela 1

**Charakterystyka badanych samosiewów rzepaku ozimego na podstawie cech fenotypowych**  
**Characteristics of investigated winter oilseed rape volunteers according to phenotype traits**

Samosiew Volunteer	Plantacja pochodzenia samosiewu Plantation of volunteers origin	Typ morfologiczny Morphological type	Względna zawartość jądrowego DNA Relative DNA content of nuclei	Kwas erukowy Erucic acid (%)	Całkowita zawartość glukozynolanów Total glucosinolate content ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ -nasion)
Z06-2/9	Californium	rzepikopodobna <sup>1</sup>	48,2	41,5	95,4
Z06-3/6	Rasmus	rzepikopodobna	48,3	42,7	107,8
Z06-6/10	Lisek	rzepikopodobna	49,3	38,3	104,5
Z06-8/1	Rasmus	rzepikopodobna	47,3	39,5	101,1
P06-14/3	Carousel	rzepikopodobna	48,1	39,4	111,4
Z06-10/31	Rasmus	typ rzepaku <sup>2</sup>	48,3	37,2	79,5
P06-16/15	Lisek	rzepikopodobna	48,1	33,6	94,0
P06-18/1	Lisek	rzepikopodobna	47,3	34,3	103,2
W06-23/9	Lisek	rzepikopodobna	48,0	0,0	135,4
Z06-3/10	Rasmus	rzepikopodobna	119,1	26,6	58,1
Z06-1/2	Rasmus	typ rzepaku	115,9	10,2	92,2
Z06-4/21	Lisek	typ rzepaku	121,3	0,0	90,3
Z06-4/61	Californium	typ rzepaku	117,2	49,8	102,8
Z06-5/46	Rasmus	typ rzepaku	117,1	0,0	86,5
Z06-6/27	Lisek	typ rzepaku	115,6	28,9	75,7
Z06-8/5	Lisek	typ rzepaku	117,3	0,0	68,9
Z06-9/47	Lirajet	typ rzepaku	112,0	0,0	92,5
Z06-10/21	Rasmus	typ rzepaku	117,4	21,5	11,4
Z06-11/8	Rasmus	typ rzepaku	121,3	11,7	47,5
Z06-12/6	Lisek	typ rzepaku	119,1	28,8	85,2
P06-14/16	Carousel	typ rzepaku	118,2	19,7	82,4
P06-14/38	Castille	typ rzepaku	119,7	0,0	73,1
P06-15/4	Kaszub	typ rzepaku	119,7	0,0	100,2
P06-16/46	Lisek	typ rzepaku	116,3	10,4	65,0
P06-17/25	Rafaella	typ rzepaku	112,6	26,1	89,6
P06-18/30	Lisek	typ rzepaku	117,2	0,1	69,0
P06-19/28	Castille	typ rzepaku	113,9	42,0	108,8
P06-19/60	Rasmus	typ rzepaku	115,8	40,9	73,6
W06-23/14	Lisek	typ rzepaku	118,9	0,0	50,1
W06-26/26	Californium	typ rzepaku	120,8	13,0	66,1
W06-26/31	Californium	typ rzepaku	119,6	0,0	75,4
Wzorzec — Standard					
Californium	<i>B. napus</i>	rzepak	118,4	0,0	14,8
Castille	<i>B. napus</i>	rzepak	116,9	0,0	12,4
Lisek	<i>B. napus</i>	rzepak	115,6	0,0	9,9
Rasmus	<i>B. napus</i>	rzepak	114,3	0,0	9,9
Ludowy	<i>B. campestris</i>	rzepik	49,4	39,5	44,3

1 — Roślina rzepikopodobna; Turnip rape like plant

2 — Typ rzepaku; Oilseed rape like plant

Dla określenia podobieństwa genetycznego i związku poszczególnych markerów molekularnych z uprzednio zbadanymi cechami wykonano badania za pomocą markerów RAPD.

DNA do analiz molekularnych izolowano z liścieni sześciodniowych siewek rzepaku ozimego według zmodyfikowanej metody opisanej przez Doyle'a i Doyle'a (1990). Jakość wyizolowanego DNA oceniano na 0,8% żelu agarozowym w buforze TBE, stosując jako wzorzec fag  $\lambda$  (MBI Fermentas).

DNA amplifikowano metodą PCR z zastosowaniem 30 starterów RAPD firmy Operon Technologies (Williams i in., 1990). Każdy genotyp badany był w dwóch powtórzeniach. Zastosowano następujące startery: OPA-07, OPA-08, OPA-14, OPC-02, OPC-09, OPC-18, OPD-08, OPF-01, OPF-04, OPF-14, OPG-03, OPG-04, OPG-05, OPL-12, OPN-18, OPN-20, OPP-03, OPP-05, OPP-07, OPP-11, OPP-14, OPW-05, OPW-09, OPY-01, OPY-02, OPY-04, OPY-05, OPY-10, OPY-13, OPY-15.

Podobieństwo genetyczne (GS) badanych linii rzepaku ozimego oszacowano stosując miarę Nei i Li (1979) wyliczając współczynniki według wzoru:  $GS_{AB} = 2N_{AB}/(N_A + N_B)$ , gdzie  $N_{AB}$  oznacza liczbę alleli obecnych zarówno u linii  $A$ , jak i u linii  $B$ ,  $N_A$  — liczbę alleli obecnych u linii  $A$ ,  $N_B$  — liczbę alleli obecnych u linii  $B$ . Współczynniki te posłużyły do hierarchicznego grupowania linii metodą średnich połączeń. Wyniki przeprowadzonego grupowania przedstawiono w formie dendrogramu. Wszystkie obliczenia wykonano korzystając z pakietu statystycznego Genstat (Genstat 5 Committee, 1993).

W celu określenia związku obserwacji markerowych z poszczególnymi cechami fenotypowymi zastosowano analizę regresji (Hastie i Tibshirani, 1990). Obserwacje markerów molekularnych były traktowane jako zmienne niezależne i rozpatrywane indywidualnie w modelach. Statystyczną istotność testowano na poziomie  $\alpha = 0,001$ .

## WYNIKI I DYSKUSJA

Wszystkie zastosowane startery RAPD wykazały polimorfizm między badanymi obiektami. Uzyskano łącznie 467 produktów amplifikacji w tym 431 różnicujących. Liczba polimorficznych markerów dla pojedynczego startera wyniosła od 6 do 27. Najwięcej polimorficznych produktów amplifikacji otrzymano w reakcji ze starterami OPL-12 (27), OPF-04 (24), OPG-05 (21), a najmniej ze starterami OPP-05 (6) oraz OPA-08 (7). Jeden starter generował średnio 14,4 polimorficzne markery.

Na podstawie analiz molekularnych RAPD obliczono podobieństwo genetyczne między badanymi genotypami.

Najniższą wartość podobieństwa genetycznego stwierdzono dla pary roślin Z06-6/10 o zawartości DNA charakterystycznej dla rzepiku, wysokiej zawartości kwasu erukowego i glukozynolanów oraz Z06-1/2 o zawartości DNA charakterystycznej dla rzepaku, ale podwyższonej zawartości kwasu erukowego i glukozynolanów (tab. 2). Najwyższą wartość podobieństwa genetycznego otrzymano dla pary: odmiana podwójnie ulepszona Californium oraz roślina Z06-4/21 uznana za samosiew, o zawartości DNA typowej dla rzepaku, bezerukowa ale o podwyższonej zawartości glukozynolanów (tab. 2). Te skrajne wartości pokazują prawidłowe rozróżnienie samosiewów za pomocą markerów RAPD.

Najbardziej oddalone są od siebie rośliny rzepaku i rzepiku, a najbardziej podobne odmiana podwójnie ulepszona i jedyny samosiew podobny fenotypowo — bezerukowy, choć o wysokiej zawartości glukozyolanów.

Tabela 2

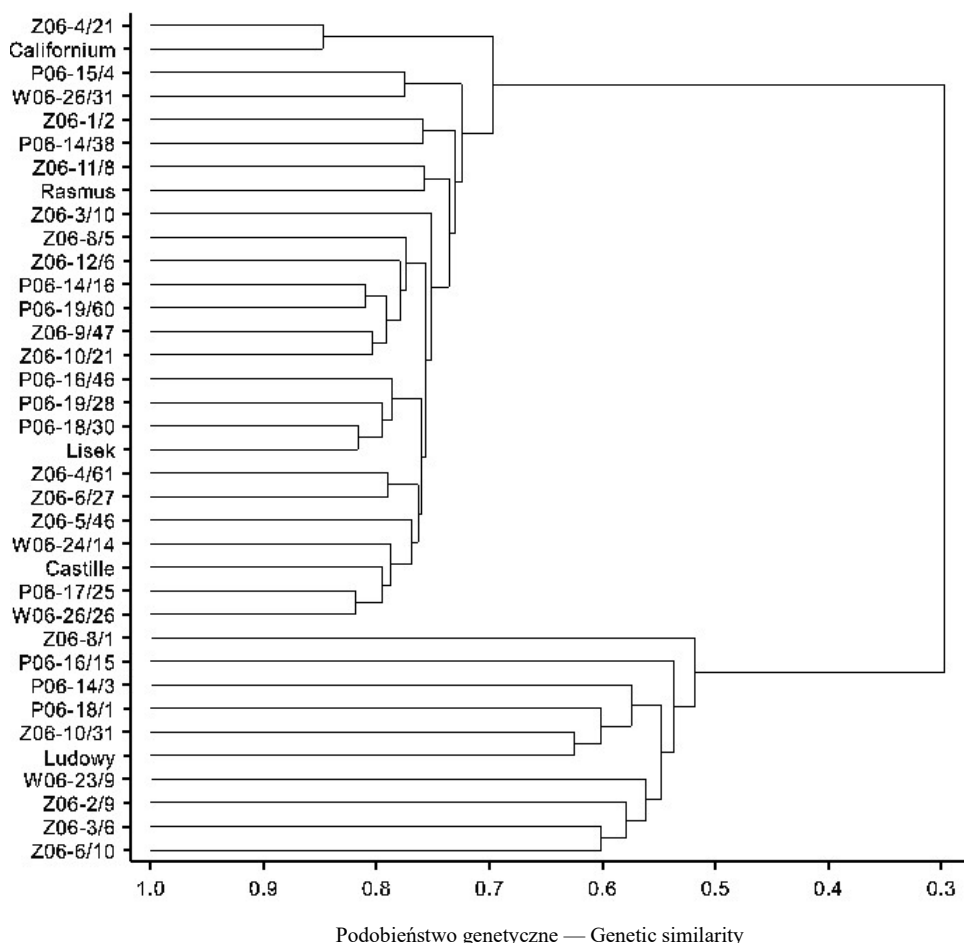
**Najmniejsze i największe wartości podobieństwa genetycznego obliczone za pomocą miary podobieństwa genetycznego Nei i Li (1979)**  
**Minimum and maximum genetic similarity values calculated using measure of genetic similarity Nei and Li (1979)**

Wartości najmniejszego podobieństwa genetycznego Minimum genetic similarity values		
Z06-6/10	Z06-1/2	0,2119
W06-23/9	Z06-3/10	0,2222
Z06-6/27	Z06-6/10	0,2373
W06-23/9	Z06-11/8	0,2374
Z06-6/10	Z06-5/46	0,2375
W06-23/9	Z06-4/21	0,2376
Wartości największego podobieństwa genetycznego Maximum genetic similarity values		
P06-17/25	Z06-5/46	0,8076
P06-19/60	P06-14/16	0,8099
P06-19/28	P06-18/30	0,8132
LISEK	P06-18/30	0,8161
W06-26/26	P06-17/25	0,8189
Californium	Z06-4/21	0,8474

Dendrogram utworzony w oparciu o współczynniki podobieństwa genetycznego ukazuje przyporządkowanie badanych obiektów do dwóch grup. W grupie pierwszej znajdują się wszystkie odmiany rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego — Californium, Castille, Lisek, Rasmus i 22 rośliny o budowie morfologicznej charakterystycznej dla roślin rzepaku oraz poziomie ploidalności odpowiadającym allotetraploidalnemu rzepakowi. Przy czym wśród roślin o morfotypie rzepaku znajdują się samosiewy rzepaku o zróżnicowanej zawartości kwasu erukowego i glukozyolanów. Natomiast w drugiej grupie znajduje się odmiana rzepiku Ludowy oraz 9 obiektów o morfotypie rzepiku (rys. 1). Uzyskany na podstawie badań metodą RAPD podział badanych obiektów potwierdził klasyfikację tych roślin opartą na obserwacjach budowy morfologicznej (z jednym wyjątkiem) oraz analizie względnej zawartości DNA jądrowego (tab. 1). Pomimo, że technika RAPD uważana jest za najmniej powtarzalną, dzięki otrzymaniu wielu — 431 różnicujących produktów amplifikacji metoda ta pozwoliła na prawidłowe określenie podobieństwa genetycznego samosiewów występujących na plantacjach rzepaku, na co wskazuje zbieżność z oceną innymi metodami (Liersch i in., 2008).

Podobny wynik uzyskali Aleksandrak i Broda (2004). Za pomocą 25 starterów typu RAPD zbadali zróżnicowanie genetyczne pomiędzy roślinami określanymi jako rzepakochwasty oraz rzepakiem i rzepikiem. Autorzy wyróżnili dwie podstawowe grupy: pierwszą, w której znajdowały się rzepik i rzepakochwasty o morfotypie zbliżonym do rzepiku oraz drugą grupę, do której zakwalifikowano rzepak i rzepakochwasty o morfotypie rzepaku. Podział rzepakochwastów na podstawie polimorfizmu DNA także

odpowiadał wstępnemu podziałowi wykonanemu na podstawie budowy morfologicznej roślin. Zatem można uznać, że uzyskano dostateczną liczbę markerów dla rozróżnienia obu typów samosiewów.



**Rys. 1. Dendrogram 31 samosiewów rzepaku ozimego utworzony na podstawie 431 markerów RAPD**  
**Fig. 1. Dendrogram of 31 winter oilseed rape volunteers based on 431 RAPD markers**

Jakkolwiek uważa się, że markery typu RAPD są mało powtarzalne, to jednak ze względu na łatwość wykonania i stosunkowo niski koszt, przy dużej liczbie polimorficznych produktów amplifikacji mogą być przydatne do określenia zróżnicowania genetycznego. Świadczą o tym wyniki uzyskane przez różnych badaczy dla gorczycy (*B. juncea*) (Jain i in., 1994), rzepaku (*B. napus*) (Mailer i in., 1994; Yu i in., 2005), czy kapusty (*B. oleracea*) (Santos i in., 1994).

Ponadto na podstawie wyników uzyskanych za pomocą 30 starterów typu RAPD określono związek poszczególnych grup markerów z cechami fenotypowymi i poziomem ploidalności. Istotny statystycznie (na poziomie istotności  $\alpha = 0,001$ ) związek z budową morfologiczną roślin wykazywało 138 markerów, które uzyskano za pomocą 28 starterów zastosowanych w badaniach. Związku z tą cechą nie wykazywały tylko markery uzyskane za pomocą starterów OPA-14 i OPP-05. 89 markerów wskazywało na rośliny, których budowa morfologiczna była typowa dla roślin rzepaku. Ta grupa markerów wyjaśniała od 26,1 do 73,5% zmienności tej cechy (tab. 3). Natomiast czterdzieści dziewięć markerów wskazywało na budowę morfologiczną typową dla roślin rzepikopodobnych. Procent zmienności cechy fenotypowej wyjaśnianej przez markery RAPD wynosił od 26,1 do 86,3%.

Tabela 3

**Liczba markerów istotnie (na poziomie  $\alpha = 0,001$ ) związanych z poszczególnymi cechami**  
**Number of markers significantly (at the level  $\alpha = 0.001$ ) associated with particular traits**

	Cecha — Trait			
	typ morfologiczny morphologic type	względna zawartość dna jądrowego relative nuclei DNA content	zawartość kwasu erukowego erucic acid content (%)	zawartość sumy glukozynolanów total glucosinolate content ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ nasion)
	[1]	[2]	[3]	[4]
Ogólna liczba markerów polimorficznych Total number of polymorphic markers	138	167	86	3
Liczba wspólnych markerów dla cech Number of common markers for traits		[1+2] 133	[1+2+3] 80	[1+2+3+4] 1
Typ rzepaku Oilseed rape like plant	89	101	62	3
Liczba wspólnych markerów Number of common markers	—	[1+2] 85	[1+2+3] 59	[1+2+3+4] 1
Procent zmienności wyjaśnianej przez markery Percentage variation accounted by markers	26,1 — 73,5%	26,1 — 99,5%	25,7 — 48,0%	25,8 — 33,9%
Roślina rzepikopodobna Turnip rape like plant	49	66	24	—
Liczba wspólnych markerów Number of common markers	—	[1+2] 48	[1+2+3] 21	—
Procent zmienności wyjaśnianej przez markery Percentage variation accounted by markers	26,1 — 86,3%	25,6 — 99,5%	24,5 — 48,0%	—

Analizując względną zawartość jądrowego DNA, jedynie dla startera OPA 14 nie otrzymano markerów, które w istotny statystycznie sposób (na poziomie  $\alpha = 0,001$ ) były związane z tą cechą. Za pomocą 29 starterów wygenerowano 167 markerów związanych z poziomem ploidalności badanych roślin w sposób statystycznie istotny (na poziomie  $\alpha = 0,001$ ). Sto jeden markerów wykazywało istotny związek z roślinami o zawartości jądrowego DNA, typowej dla roślin rzepaku, a pozostałe 66 z zawartością DNA charakterystyczną dla roślin rzepikopodobnych oraz odmiany *B. campestris* Ludowy (tab. 3).

Spośród tych markerów wykazujących istotny statystycznie związek z fenotypem roślin rzepikopodobnych oraz z niższą względną zawartością jądrowego DNA, 48 markerów molekularnych typu RAPD jest wspólnych dla obu tych cech. W przypadku roślin rzepakopodobnych i wyższej zawartości DNA w jądrze takich wspólnych markerów było 85.

Wykazano również związek markerów molekularnych ze składem chemicznym nasion badanych genotypów. Na 431 otrzymanych różnicujących produktów amplifikacji, 62 markery związane były z niską zawartością kwasu erukowego w nasionach, a 24 markery z wysoką zawartością tego związku (tab. 3). Na 24 markery ściśle związane z podwyższeniem zawartości kwasu erukowego w nasionach, 21 markerów występowało w roślinach rzepikopodobnych o zawartości jądrowego DNA odpowiadającej odmianie wzorcowej rzepiku Ludowy. Były to markery otrzymane przy użyciu następujących starterów: OPD 08 (2 – liczba markerów generowanych przez starter i związanych z daną cechą), OPF 01 (3), OPG 03 (3), OPG 05 (2), OPL 12 (1), OPN 18 (1), OPP 03 (1), OPP 14 (1), OPY 04 (1), OPY 05 (4), OPY 10 (1), OPY 15 (1). W grupie markerów molekularnych związanych z niższą zawartością kwasu erukowego, 59 markerów stwierdzono w DNA roślin rzepakopodobnych [startery: OPA 07 (1), OPA 08 (2), OPC 02 (1), OPC 09 (1), OPC 18 (2), OPD 08 (5), OPF 01 (3), OPF 04 (1), OPF 14 (2), OPG 03 (4), OPG 04 (3), OPG 05 (3), OPL 12 (4), OPN 18 (1), OPN 20 (2), OPP 03 (1), OPP 07 (2), OPP 11 (1), OPP 14 (4), OPW 09 (2), OPY 01 (3), OPY 02 (1), OPY 04 (1), OPY 05 (3), OPY 10 (1), OPY 13 (2), OPY 15 (3)].

Jedynie trzy markery RAPD (OPF 04~900, OPG 03~1050 oraz OPW 09~2500) wykazywały istotny statystycznie (na poziomie istotności  $\alpha = 0,001$ ) związek z zawartością glukozynolanów w nasionach badanych samosiewów rzepaku (tab. 3). Procenty zmienności tej cechy wyjaśnianej przez powyższe markery wynosiły, odpowiednio: 33,9, 29,3 oraz 25,8%. Na uwagę zasługuje fakt, iż wszystkie trzy markery związane były z niższą zawartością glukozynolanów. Marker OPW 09 ~2500 był związany także ze wszystkimi pozostałymi cechami roślin w typie rzepaku.

#### PODSUMOWANIE

Analiza molekularna podzieliła samosiewy roślin rzepako- i rzepikopodobnych na dwie grupy, w pełni potwierdzając prawidłowość podziału badanych roślin na podstawie względnej zawartości DNA jądrowego i skorygowała podział roślin na podstawie budowy morfologicznej (1 roślina nieprawidłowo sklasyfikowana).

Stwierdzono istotny związek określonych grup markerów RAPD z budową morfologiczną, składem chemicznym nasion i ploidalnością roślin. Wyodrębniono 21 markerów RAPD występujących wyłącznie w roślinach rzepikopodobnych o podwyższonej zawartości kwasu erukowego oraz 59 markerów związanych wyłącznie z niską zawartością kwasu erukowego, charakterystycznych dla roślin w typie rzepaku.

Markery molekularne wykazujące istotny związek z cechami fenotypowymi i poziomem ploidalności mogą okazać się przydatne w diagnozowaniu samosiewów coraz



liczniej występujących na plantacjach rzepaku. Ponadto markery związane z określonymi cechami mogą zostać wykorzystane do mapowania genów determinujących te cechy.

## LITERATURA

- Aleksandrak Ł., Broda Z. 2004. Badanie polimorfizmu „rzepakochwastów” za pomocą markerów RAPD. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops XXV* (1): 61 — 66.
- Babula D., Kaczmarek M., Barakat A., Delseny M., Quiros C.F., Sadowski J. 2003. Chromosomal mapping of *Brassica oleracea* based on ESTs from *Arabidopsis thaliana*: complexity of the comparative map. *Mol. Genet. Genomics* 268: 656 — 665.
- Barret P., Delourme R., Foisset N., Renard M. 1998. Development of a SCAR (sequence characterised amplified region) marker for molecular tagging of the dwarf BREIZH (Bzh) gene in *Brassica napus* L. *Theor. Appl. Genet.* 97: 828 — 833.
- Becker J., Engqvist G.M., Karlsson B. 1995. Comparison of rapeseed cultivars and resynthesized line based on allozyme and RFLP markers. *Theor. Appl. Genet.* 91: 62 — 67.
- Delourme R., Foisset N., Horvais R., Barret P., Champagne G., Cheung W.Y., Landry B.S., Renard M. 1998. Characterisation of the radish introgression carrying the Rfo restorer gene for the Ogu-INRA cytoplasmic male sterility in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Theor. Appl. Genet.* 97: 129 — 134.
- Delourme R., Pilet-Nayel M.L., Archipiano M., Horvais R., Tanguy X., Rouxel T., Brun H., Renard M., Balesdent M.H. 2004. A cluster of major specific resistance genes to *Leptosphaeria maculans* in *Brassica napus*. *Phytopathology* 94: 578 — 583.
- Doyle J. J., Doyle J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13 — 15.
- Ecke W., Uzunova M., Weißleder K. 1995. Mapping the genome of rapeseed (*Brassica napus* L.). II. Localization of genes controlling erucic acid synthesis and seed oil content. *Theor. Appl. Genet.* 91: 972 — 977.
- Foisset N., Delourme R., Barret P., Renard M. 1995. Molecular tagging of the dwarf BREIZH (Bzh) gene in *Brassica napus*. *Theor. Appl. Genet.* 91: 756 — 761.
- Foisset N., Delourme R., Barret P., Hubert N., Landry B.S., Renard M. 1996. Molecular-mapping analysis in *Brassica napus* using isozyme, RAPD and RFLP markers on a doubled-haploid progeny. *Theor. Appl. Genet.* 93: 1017 — 1025.
- Friedt W., Stoll C., Raclau M., Zarhloul M.K., Lühs W. 2007. Molecular breeding of oilseed rape (*Brassica napus*) with modified oil quality for nutritional and non-food purposes. *Proceedings 12<sup>th</sup> International Rapeseed Congress, 26-30 March 2007, Wuhan, China, vol. II: 237 — 240.*
- Genstat 5 Committee 1993. *Genstat 5 Release 3 Reference Manual*. Clarendon Press, Oxford.
- Hasan M., Seyis F., Badani A.G., Pons-Kühnemann J. 2006. Analysis of genetic diversity in the *Brassica napus* L. gene pool using SSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53 (4): 793 — 802.
- Hastie T. J., Tibshirani R. J. 1990. *Generalized additive models*. Chapman and Hall, London.
- Jain A., Bhatia S., Banga S.S., Prakash S., Lakshmikumaran M. 1994. Potential use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique to study the genetic diversity in Indian mustard (*Brassica juncea*) and its relationship to heterosis. *Theor. Appl. Genet.* 88: 116 — 122.
- Javidfar F., Ripley V.L., Roslinsky V., Zeinali H., Abdmishani C. 2006. Identification of molecular markers associated with oleic and linolenic acid in spring oilseed rape (*Brassica napus*). *Plant Breeding* 125: 65 — 71.
- Kole C., Thormann C.E., Karlsson B. H., Palta J. P., Gaffney P., Yandell B., Osborn T. C. 2002. Comparative mapping of loci controlling winter survival and related traits in oilseed *Brassica rapa* and *B. napus*. *Mol. Breeding* 9: 201 — 210.
- Liersch A., Popławska W., Ogrodowczyk M., Bartkowiak-Broda I., Bocianowski J. 2008. Charakterystyka fenotypowa samosiewów rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.) występujących w północnych regionach Polski. *Biuletyn IHAR*, w druku.
- Liu R., Qian W., Meng J. 2002. Association of RFLP markers and biomass heterosis in trigonomic hybrids of oilseed rape (*Brassica napus* × *B. campestris*). *Theor. Appl. Genet.* 105: 1050 — 1057.

- Lombard V., Delourme R. 2001. A consensus linkage map for rapeseed (*Brassica napus* L.): construction and integration of three individual maps from DH populations. *Theor. Appl. Genet.* 103: 491 — 507.
- Lu G., Cao J., Yu X., Xiang X., Chen H. 2008. Mapping QTLs for root morphological traits in *Brassica rapa* L. based on AFLP and RAPD markers. *J. Appl. Genet.* 49(1): 23 — 31.
- Mailer R. J., Scarth R., Fristensky B. 1994. Discrimination among cultivars of rapeseed (*Brassica napus* L.) using DNA polymorphisms amplified from arbitrary primers. *Theor. Appl. Genet.* 87: 697 — 704.
- Mikolajczyk K., Dabert M., Karlowski W., Spasibonek S., Cegielska-Taras K., Bartkowiak-Broda I. 2007. Development of allele-specific SNP markers for the new low-linolenic mutant of winter oilseed rape. Proceedings 12<sup>th</sup> International Rapeseed Congress, 26–30 March 2007, Wuhan, China, vol. II: 282 — 284.
- Nei M., Li W. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76: 5269 — 5273.
- Pilet M., Duplan L.G., Archipiano H., Barret P., Baron C., Horvais R., Tanguy X., Lucas M.O., Renard M., Delourme R. 2001. Stability of QTL for field resistance to blackleg across two genetic backgrounds in oilseed rape. *Crop. Sci.* 41: 197 — 205.
- Rahman M., McVetty P. B. E., Li G. 2007. Inheritance of seed coat color genes of *Brassica napus* (L.) and tagging the genes using SRAP molecular markers. Proceedings 12th International Rapeseed Congress, 26–30 March 2007, Wuhan, China, vol. II: 310 — 313.
- Santos dos J.B., Nienhuis J., Skroch P., Tivang J., Slocum M. K. 1994. Comparison of RAPD and RFLP genetic markers in determining genetic similarity among *Brassica oleracea* L. genotypes. *Theor. Appl. Genet.* 87: 909 — 915.
- Snowdon R. J., Friedt W. 2004. Molecular markers in Brassica oilseed breeding: current status and future possibilities. *Plant Breeding* 123: 1 — 8.
- Sommers D. J., Rakow G., Prabhu V. K., Friesen K. R. D. 2001. Identification of a major gene and RAPD markers for yellow seed coat colour in *Brassica napus*. *Genome* 44: 1077 — 1082.
- Song K.M., Suzuki J.Y., Slocum M.K., Williams P.H., Osborn T.C. 1991. A linkage map of *Brassica rapa* (syn. *campestris*) based on restriction fragment length polymorphisms. *Theor. Appl. Genet.* 82: 296 — 304.
- Uzunova M., Ecke W., Wießleder K. and Röbbelen G. 1995. Mapping the genome of rapeseed (*Brassica napus* L.). I. Construction of an RFLP linkage map and localization of QTLs for seed glucosinolate content. *Theor. Appl. Genet.* 90: 194 — 204.
- Williams J. G. K., Kubelik A. R., Livak K. J., Rafalski J. A., Tingey S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.* 18: 6531 — 6535.
- Wu X., Zhang D., Chen B., Lu G., Liu F. 2007. SSR and AFLP fingerprinting of 89 newly bred winter rapeseed cultivars in China. Proceedings 12<sup>th</sup> International Rapeseed Congress, 26–30 March 2007, Wuhan, China, vol. II: 330 — 332.
- Yu C. Y., Hu S. W., Zhao H. X., Guo A. G., Sun G. L. 2005. Genetic distance revealed by morphological characters, isozymes, proteins and RAPD markers and their relationships with hybrid performance in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Theor. Appl. Genet.* 110: 511 — 518.
- Yu F., Lydiate D. J., Hahn K., Kuzmicz S., Hammond Ch., Rimmer S. R. 2007. Identification and mapping of a novel blackleg resistance locus LepR4 in the progenies from *Brassica napus* × *Brassica rapa* subsp. *sylvestris*. Proceedings 12<sup>th</sup> International Rapeseed Congress, 26–30 March 2007, Wuhan, China, vol. II: 317 — 32.