

**JANETTA NIEMANN**

**MAŁGORZATA JĘDRYCZKA**

**JOANNA MAJKA**

**MAREK MRÓWCZYŃSKI**

**JOANNA KACZMAREK**

**DOROTA WEIGT**

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Genetyki i Hodowli Roślin

Kierownik Tematu: dr inż. Janetta Niemann Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Genetyki i Hodowli Roślin, ul. Dojazd 11, 60-632 Poznań, tel. 61-8487758, e-mail: niemann@up.poznan.pl

*Prace zostały wykonane w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi nr HOR.hn.802.16.2018, Zadanie 54.*

## Introdukcja genów odporności na choroby i owady oraz męskiej sterylności z pokrewnych gatunków rodzaju *Brassica* do rzepaku (*Brassica napus* L.)

### Introduction of disease and pest resistance genes and male sterility from *Brassica* relatives to rapeseed (*Brassica napus* L.)

**Słowa kluczowe:** fluorescencyjna hybrydyzacja in situ (FISH), geny odporności, krzyżowanie, markery ISSR, mieszańce *Brassica*, rzepak

Realizowane zadanie badawcze dotyczy poszerzenia zakresu zmienności cech istotnych z punktu widzenia użytkowego wykorzystania rzepaku ozimego. Szczególne znaczenie mają cechy decydujące o odporności rzepaku na stesy biotyczne (choroby grzybowe — sucha zgnilizna kapustnych i mączniak, odporność na owady — śmietka kapuściana, mszyce i pchełka ziemna) oraz męska sterylność, jako niezmiernie istotna przy wytwarzaniu odmian mieszańcowych. W związku z powyższym celem prowadzonych badań w roku 2018 było otrzymanie pokolenia  $F_2BC_2$  z krzyżowań wykonanych w poprzednim roku badań, oszacowanie odporności na szkodniki i choroby grzybowe komponentów rodzicielskich i mieszańców pokolenia  $F_3$  i  $F_4$ , potwierdzenie mieszańcowego charakteru roślin pokolenia  $F_2$  przy pomocy techniki FISH oraz określenie

zróznicowania genetycznego mieszańców metodą ISSR, a także identyfikacja sekwencji odpowiadających wybranym genom zaangażowanym w odporność na choroby i szkodniki z roślin metodami analizy obliczeniowej i molekularnej. W ramach zadania 54 w roku 2018 zrealizowano 4 tematy badawcze.

**Celem tematu pierwszego** było otrzymanie pokolenia  $F_2BC_2$ . Łącznie w 6 kombinacjach krzyżowania wstecznego zapyłono 144 kwiaty, w wyniku czego otrzymano 59 łuszczyń i 62 nasiona. Płodność (% stosunek zawiązanych łuszczyń do zapyłonych kwiatów) oszacowana łącznie dla wszystkich kombinacji wyniosła 41%, przy czym najwyższą płodność (59,2%) obserwowano w przypadku zapylenia potomstwa (*B. napus* cv. Jet Neuf × *B. rapa* ssp. *pekinensis*) pyłkiem pochodzącym z *B. napus* cv. Jet Neuf. Natomiast najniższą liczbę zawiązanych łuszczyń w stosunku do zapyłonych kwiatów odnotowano dla kombinacji (*B. napus* cv. Lisek × *B. tournefortii*) × *B. napus* cv. Lisek (25,0%). Generalnie współczynnik efektywności krzyżowania wstecznego wynosił 43%. Ze względu na niski procent wiązania łuszczyń lub pojawianie się łuszczyń pustych w większości kombinacji krzyżowań wstecznych otrzymano małą liczbę prawidłowo rozwiniętych nasion.

**Celem drugiego tematu badawczego** było określenie odporności form mieszańcowych pokolenia  $F_3$  i  $F_4$  i odmian rzepaku na porażenie przez *Leptosphaeria maculans* (sucha zgnilizna kapustnych) i *Hyaloperonospora parasitica* (mączniak rzekomy kapustnych) w warunkach polowych oraz w komorze klimatycznej, a także określenie zakresu zmienności istniejącej wśród odmian rzepaku ozimego oraz kombinacji mieszańcowych dotyczącej odporności na szkodniki takie jak: śmietka, pchełka i mszyca. Materiał badawczy stanowiło 46 odmian rzepaku ozimego oraz 25 kombinacji mieszańcowych pokoleń  $F_3$  i  $F_4$  pochodzące z kolekcji KGiHR. Jesienią 2018 roku, sporadycznie odnotowywano na liściach rzepaku obecność objawów powodowanych przez mączniak rzekomy. Stwierdzono je jedynie na 4 odmianach, a porażenie wynosiło nie więcej niż 2%. Aby oby ocenić odporność/podatność form mieszańcowych na *H. parasitica* przeprowadzono doświadczenie w kontrolowanych warunkach. W tym przypadku na wszystkich mieszańcach odnotowano objawy mączniaka rzekomego. Najsilniej porażone były rośliny mieszańcowe *B. napus* cv. *Lisek* × *B. tournefortii*, a najsłabiej mieszańce otrzymane ze skrzyżowania *B. napus* z *B. rapa* ssp. *pekinensis*. Odsetek roślin porażonych przez grzyby z rodzaju *Leptosphaeria* był także niewielki i wahał się od 0 do 12,33%. Nie stwierdzono symptomów suchej zgnilizny kapustnych na odmianie Andromeda, Arsenal i Graf, natomiast najsilniej porażona była odmiana Jupiter (12,33%). Niewielkie porażenie stwierdzono także na formach mieszańcowych (0% do 8,33%). Nie stwierdzono objawów powodowanych przez grzyby z rodzaju *Leptosphaeria* wśród mieszańców *B. napus* × *B. fruticulosa*, *B. napus* × *B. carinata* i *B. napus* × *B. rapa* ssp. *trilocularis*. Natomiast najsilniej porażone były mieszańce *B. napus* cv. *Californium* × *B. rapa* ssp. *chinensis* i *B. napus* cv. *Skrzeszowicki* × *B. rapa* ssp. *pekinensis* 08006169. Wśród mieszańców pokolenia  $F_4$  nadal obiecującym materiałem pod względem odporności na suchą zgniliznę kapustnych wydają się być mieszańce otrzymane w wyniku krzyżowania rzepaku z *B. carinata* i *B. fruticulosa*. Obserwacje wykonane na doświadczeniach kolekcyjnych KGiHR odnośnie występo-

wania szkodników wykazały różne nasilenie ich występowania pomiędzy analizowanymi genotypami roślin. W Dłoni, jeden spośród trzech ocenianych szkodników, tj. śmietka kapuściana wystąpił w największym nasileniu. Natomiast sporadycznie obserwowano mszycę, a pchełki nie odnotowano wcale ani na testowanych odmianach ani na roślinach z pokoleń mieszańcowych.

**Celem trzeciego tematu badawczego** była cytogenetyczna analiza roślin mieszańcowych *Brassica*, z wykorzystaniem techniki fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH) oraz określenie stopnia zróżnicowania genetycznego mieszańców z rodzaju *Brassica* na podstawie markerów ISSR. W 2018 roku przeanalizowano pięć kombinacji mieszańcowych *Brassica* (30 genotypów), w których formą mateczną był allotetraploidalny gatunek *B. napus*. Zastosowanie sekwencji rDNA (5S i 35S rDNA) pozwoliło na identyfikację chromosomów markerowych u form mieszańcowych *Brassica* pochodzących z genomów rodzicielskich — genom AA (*B. rapa*), genom CC (*B. oleracea*) oraz genom BB (*B. nigra*). Zastosowanie metody FISH pozwoliło na identyfikację chromosomów genomu B u mieszańców otrzymanych w wyniku krzyżowania *B. napus* × *B. carinata*. Ponadto, przeprowadzone zostały analizy molekularne (ISSR) z zastosowaniem 30 starterów reakcji — 15 o potwierdzonej wysokiej polimorficzności (wybrane na podstawie wyników badań prowadzonych w 2017 r.) oraz 15 wybranych z literatury. Otrzymane wyniki wykazały małe zróżnicowanie genetyczne badanych genotypów mieszańcowych.

**Temat badawczy nr 4** dotyczył identyfikacji sekwencji dla znanych genów odporności na choroby i owady u wybranych roślin rodzicielskich i mieszańców *Brassica* z wykorzystaniem zaawansowanych technik molekularnych. W oparciu o dostępne dane literaturowe i analizy bioinformatyczne przeprowadzone w roku 2017 z wykorzystaniem meta-serwera ORCAN, zdefiniowany został zestaw 30 genów ortologicznych, których funkcja jest związana z procesami odporności roślin na choroby i patogeny. W bieżącym roku wybrano sześć genów ortologicznych, których poszukiwano w analizowanym materiale roślinnym. Geny te stanowiły punkt wyjścia do identyfikacji odpowiadających im genów homologicznych lub genów najbardziej do nich zbliżonych pod względem podobieństwa sekwencji i/lub kompozycji i struktury domen białkowych. Poszukiwanie sekwencji genów ortologicznych stwarza poważny problem zwłaszcza dla gatunków z rodzaju *Brassica*, w tym rzepaku (*B. napus*) u których występuje znaczna homologia pomiędzy genomami rodzicielskimi. W związku z powyższym, na podstawie przeprowadzonych do tej pory analiz nie udało się w sposób jednoznaczny dokonać porównania sekwencji wybranych genów odporności u odpornego dawcy *B. rapa* i nieodpornych odmian rzepaku.

