

**STANISŁAW SPASIBIONEK**  
**KATARZYNA MIKOŁAJCZYK**  
**MARCIN MATUSZCZAK**  
**MAGDALENA WALKOWIAK**  
**JOANNA NOWAKOWSKA**

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy, Radzików, Oddział w Poznaniu  
Zakład Genetyki i Hodowli Roślin Oleistych, Pracownia Genetyki i Hodowli Jakościowej  
Kierownik Tematu: dr hab. Stanisław Spasibionek Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy  
Instytut Badawczy, Radzików, Oddział w Poznaniu, ul. Strzeszyńska 36, 60-479 Poznań, tel. 61 8464220,  
e-mail: sspas@nico.ihar.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.802.19.2018, Zadanie 53.*

## Wykorzystanie nowej puli genowej dla uzyskania form rzepaku ozimego o zmienionych cechach jakościowych

**The use of a new gene pool for obtaining forms of winter oilseed rape with changed quality characteristics**

**Słowa kluczowe:** rzepak ozimy, kwasy tłuszczowe, markery genetyczne, glukozytolany, zawartość tłuszczu

### CEL BADAŃ

Otrzymanie genotypów o pożądanym cechach jakościowych (zróżnicowanej zawartości 18-węglowych kwasów tłuszczowych jedno- i wielonienasyconych, podwyższonej zawartości tłuszczu i ekstremalnie niskiej zawartości glukozytolanów) oraz o wysokiej wartości agronomicznej. Wybór najlepszych linii do dalszych badań związanych z przeprowadzeniem szczegółowej analizy genetycznej w odniesieniu do ekspresji cech fenotypowych, decydujących o wartości gospodarczej danego genotypu. Ponadto do badań włączono markery genetyczne monitorujące występowanie niezmutowanych i zmutowanych alleli genów desaturaz *FAD2* i *FAD3* w liniach obejmujących rekombinanty typu HO, LL, HOLL oraz ich formy rodzicielskie.

ZADANIE REALIZOWANO W CZTERECH TEMATACH BADAWCZYCH

1. Fenotypowanie roślin pod względem cech agronomicznych i biochemicznych.
2. Określenie determinacji genetycznej cech jakościowych.
3. Ocena genotypów w doświadczeniach porównawczych.
4. Genotypowanie roślin.

WYNIKI I WNIOSKI

**Zadanie 1**

W badaniach uczestniczyło 201 genotypów pokoleń F5–F11 typu HO o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (do 83,1%), typu HOLL o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (do 84,0%) i obniżonej zawartości kwasu linolenowego (do 1,0%), oraz linie o niskiej zawartości glukozyznanów alkenowych (do  $0,8 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$  nasion) i wysokiej zawartości tłuszczu (do 49,5%). Z przeprowadzonych 892 izolacji roślin uzyskano genotypy typu HOLL wykazujące wzrost zawartości kwasu oleinowego w oleju nasion (do 83,1%) oraz obniżenie zawartości kwasu linolenowego do 1,8%). Rekombinanty typu HOLL charakteryzowały się również podwyższoną zawartością tłuszczu (do 48,5%), obniżoną zawartością sumy glukozyznanów (do  $3,7 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$  nasion) i glukozyznanów alkenowych (do  $1,6 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$  nasion). Wytworzono linie typu HO charakteryzujące się bardzo wysoką zawartością kwasu oleinowego w oleju nasion (do 81,4%), genotypy z wysoką zawartością tłuszczu (do 50%) oraz niską zawartością glukozyznanów alkenowych (od  $0,5$ – $3,3 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$  nasion) i sumy glukozyznanów (od  $1,8$ – $9,2 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$  nasion).

Przeprowadzone badania poszerzyły pulę genową w postaci wyselekcjonowanych linii rekombinacyjnych typu HO i HOLL łączących cechy wysokiej zawartości tłuszczu i niskiej zawartości glukozyznanów alkenowych oraz wysoką wartość agronomiczną.

**Zadanie 2**

Dla określenie determinacji genetycznej cech jakościowych przeprowadzono krzyżowania w układzie diallelicznym pełnym w celu połączenia sześciu linii z wysoką zawartością kwasu oleinowego i niską zawartością kwasu linolenowego, wysoką zawartością tłuszczu i niską zawartością glukozyznanów alkenowych. Uzyskano 30 mieszańców  $F_1$ .

Analiza wariancji diallelicznego układu krzyżowań dla zawartości kwasu oleinowego, linolowego i linolenowego oraz dla zawartości glukozyznanów wykazała istotne różnicowanie efektów GCA dla wszystkich badanych cech. Istotne różnicowanie specyficznej zdolności kombinacyjnej SCA stwierdzono dla zawartości kwasu linolowego, linolenowego i dla zawartości sumy wszystkich glukozyznanów oraz sumy glukozyznanów alkenowych.

Linie rodzicielskie (565 typ NGLS, 537 typ WT, Polka typ HO, 342/6i typ HOLL) o wysokiej dodatniej wartości GCA dla kwasu oleinowego i ujemnej wartości GCA dla kwasu linolowego odpowiednio zwiększały zawartość kwasu oleinowego i obniżały zawartość kwasu linolowego w oleju z nasion mieszańców. Natomiast mutant (M681 typ LL) oraz linie (342/6i typ HOLL, 537 typ WT) o wysokiej ujemnej wartości GCA

dla kwasu linolenowego wpływały na znaczne obniżenie zawartości tego kwasu. Na podkreślenie zasługuje również linia rodzicielska (565 typ NGLS) o wysokiej ujemnej wartości GCA dla zawartości sumy wszystkich glukozyznanów oraz sumy glukozyznanów alkenowych, która decydowała o znacznym obniżeniu tych związków.

Analiza wariancji wg Haymana oraz ocena parametrów genetycznych dla zawartości kwasów: oleinowego, linolowego i linolenowego oraz dla zawartości glukozyznanów alkenowych i sumy glukozyznanów wg Mathera i Jinksa wykazały, że addytywne działanie genów było istotne dla wszystkich cech. Świadczy to o przewadze addytywnego działania genów w determinowaniu badanych cech.

Wysokie współczynniki odziedziczalności w szerszym i w węższym sensie analizowanych cech wskazują zarówno na duży udział zmienności genetycznej w zmienności fenotypowej dla zawartości kwasów tłuszczowych i glukozyznanów, jak i na znaczące addytywne działanie genów w dziedziczeniu tych cech. Wysokie współczynniki odziedziczalności wskazują również na możliwość uzyskania postępu w selekcji pod względem zmiany proporcji badanych kwasów tłuszczowych oraz glukozyznanów w nasionach rzepaku

### Zadanie 3

Wiosną 2018 roku kontynuowano (założone jesienią 2017 roku) II serię doświadczeń dla określenia determinacji genetycznej ważnych cech fenotypowych oraz ocena genotypów pod względem interakcji ze środowiskiem (36 obiektów doświadczalnych w 4 powtórzeniach w 3 lokalizacjach) założone w Oddziałach Hodowli Roślin: Borowo i Małyszyn „Spółka Hodowli Roślin Strzelce” oraz w Oddziale Łagiewniki „Spółka Hodowli Roślin Smolice” w układzie bloków losowanych.

Sporządzona synteza wyników dla 36 obiektów wykazała, że plon nasion istotnie różnicował badane genotypy. Żadna linia nie przekroczyła poziomu plonowania odmiany wzorcowej Monolit (42,8 dt/h). Należy podkreślić, że 3 kombinacje z wysokoplenną odmianą Monolit charakteryzowały się najwyższym plonowaniem (35,8–36,9 dt/ha).

Istotnie najwyższą zawartością kwasu oleinowego (pożądaną ze względu na korzystne parametry dietetyczne) w stosunku do wysokooleinowej odmiany Polka i linii rodzicielskiej 342/6i (typ HOLL) odnotowano u 11 mieszańców (78,5–82,3%). Odmiana Polka typ HO i linia 342/6i typ HOLL decydowały o wzroście zawartości kwasu oleinowego u wszystkich mieszańców. Natomiast najniższą zawartość kwasu linolenowego (wskazana ze względu na wolniejszy proces oksydacji oleju) stwierdzono u 19 mieszańców (2,0–4,7%) zawierających zmutowany gen desaturazy FAD3 pochodzący od mutanta M681 i linii 342/6i. Linia rodzicielska 565 o najniższej zawartości sumy glukozyznanów i glukozyznanów alkenowych istotnie wpływała na obniżenie tych związków. Najniższą zawartość sumy glukozyznanów ( $6,5\text{--}9,3 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$  nasion) glukozyznanów alkenowych ( $2,9\text{--}4,8 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$  nasion) stwierdzono u 8 mieszańców.

Obliczono współczynniki korelacji pomiędzy plonem nasion mieszańców i linii rodzicielskich a składnikami plonu. Z przeprowadzonych badań wynika że istotnie największy wpływ na plon linii rekombinacyjnych miała długość łuszczyń (0,673) i liczba nasion w łuszczyń (0,890). Oznacza to, że tylko dwie cechy w sposób istotny wpływały na poziom plonowania badanych genotypów.

Analiza doświadczeń z liniami rodzicielskimi oraz mieszańcami uwzględniająca badanie interakcji genotypowo-środowiskowej, umożliwiła wytypowanie najlepszych z punktu widzenia hodowlanego mieszańców, a także pozwoliła uzyskać informacje o ich stabilności w różnych środowiskach pod względem zawartości kwasów tłuszczowych i glukozydów w nasionach.

#### **Zadanie 4**

Na rekombinantach typu HOLL o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (od 71,4–83,1%) oraz o obniżonej zawartości kwasu linolenowego (od 1,8–5,6%) wykonano łącznie 525 prób genomowego DNA metodą ekstrakcji buforem z CTAB według Doyle'a. Analizy przeprowadzono za pomocą markera CAPS specyficznego dla alleli genu desaturazy *FAD2* oraz allelo-specyficznych markerów dla genów desaturazy *FAD3*.

Zastosowana analiza z wykorzystaniem markerów genetycznych pozwoliła precyzyjnie wyselekcjonować pożądane genotypy zmutowanych alleli genów desaturaz *FAD2* i *FAD3*.

Zastosowanie markerów genetycznych w hodowli zwiększa efektywność i skuteczność selekcji. Na podstawie zastosowanych metod z wykorzystaniem do selekcji markerów typu CAPS i SNP wyodrębniono 12 homozygotycznych prób o zmutowanym genotypie typu HOR4 (HOR4/HOR4) oraz 8 prób wykazujących genotyp heterozygotyczny typu HOR4 (HOR4 / Dziki). Zidentyfikowano 70 genotypów zmutowanych i homozygotycznych w obu *loci* w genomach A i C *B. napus* (typ genotypu aacc). Genotypy te wyselekcjonowano w powiązaniu z najlepszymi cechami agronomicznymi.

#### LITERATURA

- Hayman B. I. 1954. The theory and analysis of diallel crosses. *Genetics* 39: 789 — 809.  
Mather K., Jinks J. L. 1982. *Biometrical Genetics* (3<sup>rd</sup> edn.). Chapman and Hall, London.