

PIOTR KAMIŃSKI

MAŁGORZATA PODWYSZYŃSKA

AGNIESZKA MARASEK-CIOŁAKOWSKA

MICHAŁ STARZYCKI

ELŻBIETA STARZYCKA-KORBAS

Instytut Ogrodnictwa, ul Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice, Polska

Kierownik Tematu: dr Piotr Kamiński Instytut Ogrodnictwa, Zakład Hodowli Roślin Ogrodniczych,

Pracownia Genetyki i Hodowli Roślin Warzywnych, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice,

tel. 46 8334193, tel. bezpośr. 46 8346652, e-mail: piotr.kaminski@inhort.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.802.20.2018, Zadanie 67.

Otrzymanie nowej zmienności genetycznej warzyw kapustowatych przy wykorzystaniu krzyżowań oddalonych w rodzaju *Brassica*

Development of the new genetic diversity of vegetable brassicas by the use of distant hybridization

Słowa kluczowe: *Brassica* sp., krzyżowania oddalone, embryo-rescue, FCM, FISH, cechy morfologiczne

CEL BADAŃ

Celem podjętego tematu jest 1) wygenerowanie nowej zmienności genetycznej w wyniku prowadzenia krzyżowań pomiędzy uprawnymi formami z rodzaju *Brassica oleracea* oraz *Brassica rapa* a genotypami oddalonymi i dzikimi w obrębie gatunków z rodzaju *Brassica*, 2) analiza nowo wytworzonych form mieszańcowych z uwzględnieniem cech anatomicznych, cytogenetycznych i morfologicznych oraz ich rozmnożenie generatywne 3) ocena przydatności kolejnych pokoleń generatywnych form hybrydowych jako źródła cennych gospodarczo cech jakościowych oraz odporności na stropy biotyczne i abiotyczne dla hodowli warzyw kapustowatych.

Celem badań prowadzonych w roku 2018 było wytworzenie nowych form mieszańcowych pokolenia BC₁ oraz BC₂ pomiędzy uprawnymi gatunkami oraz genotypami oddalonymi i dzikimi z rodzaju *Brassica oleracea*, *Brassica napus* i *Brassica rapa* w wyniku zastosowania technik *in vitro* izolowanych zarodków oraz krzyżowań

klasycznych, ocena nowo wytworzonych mieszańców pod względem cech anatomicznych, morfologicznych, cytologicznych cytogenetycznych oraz pod względem zdolności do rozmnażania generatywnego, a także ocena przydatności nowych form użytkowych jako źródła cennych gospodarczo cech jakościowych oraz odporności.

WYNIKI

Dla dwunastu mieszańców międzygatunkowych *B. oleracea* × *B. napus* pokolenia R₁ wykonano 25 krzyżowań wstecznych na około 1041 kwiatach i pąkach kwiatowych, następnie dokonano izolacji 8 prawidłowo wykształconych zarodków mieszańcowych oraz przeprowadzono klonowanie *in vitro* oraz *in vivo* (w kulturach hydroponicznych) roślin pokolenia BC₂ oraz BC₁ × F₁ mieszańców międzygatunkowych otrzymując 35 roślin. Zastosowana technika adaptacji w kulturach hydroponicznych pozwoliła na regenerację i otrzymanie zdrowych, ukorzenionych form mieszańcowych charakteryzujących się dobrą zdrowotnością, wigorem oraz brakiem anomalii rozwojowych. Krzyżowania wsteczne metodami hodowli tradycyjnej prowadzono dla dwunastu genotypów (*B. napus* × *B. oleracea*) pokolenia BC₂ otrzymanych techniką izolowanych zarodków, czterech męskosterylnych linii wsobnych kapusty głowiastej białej (*B. oleracea* var. *capitata*), oraz pięciu alloplazmatycznych mieszańców pokolenia F₁.

Dla 70. krzyżowań i zapyleń wsobnych mieszańców (*B. napus* × *B. oleracea*) wykonanych na 1565 kwiatach i pąkach kwiatowych uzyskano łącznie 1157 nasion. Dla 28 zapyleń uzyskano od 1 do 142 nasion. Dla 42 krzyżowań i zapyleń wsobnych nasion nie otrzymano, co może świadczyć o występowaniu silnych barier niezgodności krzyżowej pomiędzy tymi gatunkami.

Nowo wytworzone mieszańce międzygatunkowe *B. oleracea* × *B. napus* zostały ocenione pod względem cech anatomicznych, morfologicznych i cytogenetycznych. Zgodnie z harmonogramem, dokonano oceny zawartości jądrowego DNA (wielkość genomu) mieszańców *B. oleracea* × *B. napus* metodą cytometrii przepływowej (30 genotypów). Przeprowadzono także cytogenetyczną identyfikację mieszańców *Brassica oleracea* × *Brassica napus* oraz form rodzicielskich (24 genotypy) oraz analizę pokolenia F₂, F₃, BC₁ i BC₂ form mieszańcowych *Brassica oleracea* × *Brassica napus* w warunkach szklarniowych w fazie wegetatywnej i generatywnej (17 genotypów). Dla oceny cech morfologicznych, wartości użytkowej oraz poziomu odporności międzygatunkowych mieszańców z rodzaju *Brassica* w warunkach uprawy polowej przeznaczono 20 eksperymentalnych mieszańców międzygatunkowych otrzymanych w roku 2017 w wyniku otwartego zapylenia (OP) pomiędzy oddalonymi gatunkami z rodzaju *Brassica*. Oceniana populacja mieszańców była pokoleniem silnie segregującym i odznaczała się dużą zmiennością badanych cech.

WNIOSKI

1. Technika izolowanych zarodków pozwoliła na otrzymanie nowych 35 roślin mieszańcowych pokolenia BC₁ (*B. napus* × *B. oleracea*) × *B. oleracea*.

2. Potwierdzono występowanie wysokiej śmiertelności zarodków pokolenia BC₁ (*B. napus* × *B. oleracea*) × *B. oleracea*, która była spowodowana zanikiem chlorofilu w trakcie regeneracji.
3. Przeprowadzenie adaptacji w kulturach hydroponicznych pozwoliło na regenerację roślin mieszańców międzygatunkowych i przygotowanie ich do jarowizacji w warunkach szklarniowych.
4. W wyniku swobodnego zapylenia otrzymano prawidłowo wykształcone nasiona mieszańców pokolenia F₁, F₂ oraz pojedyncze nasiona międzygatunkowych mieszańców pokolenia BC₁ oraz BC₁ × F₁ *B. napus* × *B. oleracea*
5. Mieszańce międzygatunkowe *B. oleracea* × *B. napus* pokolenia F₁, F₂, BC₁, BC₁ × (F₁ × F₂) wykazywały duże zróżnicowanie pod względem wielkości genomu jądrowego.
6. Zastosowanie fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* z sondami rDNA pozwoliło na identyfikację chromosomów markerowych w formach rodzicielskich oraz w analizowanych formach mieszańcowych.
7. Różnice w liczbie i wzorze *loci* rDNA w analizowanych mieszańcach wskazują na liczne reorganizacje zachodzące w genomach poliploidalnych (wynikające z nie równomiernego crossing-over oraz rearanżacji chromosomowych).
8. Mieszańce międzygatunkowe *B. napus* × *B. oleracea* pokolenia BC₁, BC₁ × F₁/F₂ i F₁ × F₂ charakteryzowały się wyraźnym zróżnicowaniem cech anatomiczno-morfologicznych zarówno w fazie wegetatywnej jak i generatywnej. Trzy mieszańce pokolenia BC₁ × F₁/F₂ wytwarzały kwiaty męskopłodne.
9. Oceniana populacja była silnie zróżnicowana zarówno pod względem cech anatomiczno-morfologicznych, użytkowych, zdrowotności i wyrównania. W wyniku prowadzonych badań otrzymano bogatą kolekcję genotypów, która może zostać wykorzystana do tworzenia nowych form użytkowych.

LITERATURA

- Dickson G. R. 2006. Vegetable *Brassic*as and related crucifers. In: Crop Production Science in Horticulture 14. CAB International ed. Dickson M.H. & Kyle M. 1987.
- Harsh G., Banga S., Bansal P., Chnaya A., Banga S. 2007. Hybridizing *Brassica rapa* with wild crucifers *Diplotaxis eruroides* and *Brassica maurorum*. Euphytica 156: 417 — 424. DOI: 10.1007/st10681-007-9391-9.
- Hasterok R., Wolny E., Hosiawa M., Kowalczyk M., Kulak-Książczyk S., Kaneko Y., Bang S. W., Matuzawa Y. 2009. Distant Hybridization. in: Biology and breeding of crucifers. Gupta ed. CRC Press: 207 — 247.
- Kaneko Y., Bang S. W., Matsuzawa Y. 2009. Distant hybridization. In: Gupta SK (ed.) Biology and breeding of crucifers. CRC Press, Boca Raton, London, New York: 207 — 247.
- Książczyk T., Heneen W.K., Maluszynska J. 2006. Comparative Analysis of rDNA distribution in chromosomes of various species of Brassicaceae. Annals of Botany 97: 205 — 216.
- Xiong Z., Pires J. C. 2011. Karyotype and identification of all homoeologous chromosomes of allopolyploid *Brassica napus* and its diploid progenitors. Genetics 187: 37 — 49.

