

ALINA LIERSCH¹**JAN BOCIANOWSKI**²**IWONA BARTKOWIAK-BRODA**¹¹ Zakład Genetyki i Hodowli Roślin Oleistych, IHAR — PIB Poznań² Katedra Metod Matematycznych i Statystycznych, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Poszukiwanie markerów molekularnych związanych z przebiegiem kwitnienia linii rodzicielskich mieszańców F₁ CMS *ogura* rzepaku ozimego (*B. napus* L.)*

Search for molecular markers linked to the flowering time and length of parental lines of F₁ CMS *ogura* hybrids of winter oilseed rape (*B. napus* L.)

Wiele przeprowadzonych dotąd badań wykazało, że istnieje pozytywny związek plonu nasion rzepaku z wczesnością i długością kwitnienia. Ze względu na ukierunkowanie w ostatnich latach hodowli rzepaku przede wszystkim na tworzenie odmian mieszańcowych F₁ podjęto badania mające na celu znalezienie markerów molekularnych związanych z początkiem i długością kwitnienia komponentów rodzicielskich mieszańców F₁ CMS *ogura*. Początek i długość kwitnienia 18 linii rodzicielskich oceniono w doświadczeniach polowych w dwóch kolejnych sezonach wegetacyjnych, w dwóch środowiskach. Badania genomowego DNA tych linii wykonano metodą PCR — RAPD i AFLP, a ponadto w badaniach wykorzystano także markery izoenzymatyczne. Stwierdzono istotny statystycznie związek pomiędzy markerami molekularnymi a początkiem terminu kwitnienia (16 markerów) oraz długością okresu kwitnienia (32 markery). Nie stwierdzono takiej zależności z markerami izoenzymatycznymi.

Słowa kluczowe: rzepak ozimy (*B. napus* L.), mieszańce F₁, CMS *ogura*, markery molekularne, wczesność i długość kwitnienia

Many investigations displayed the positive relationship between seed yield of oilseed rape and earliness as well as the length of flowering period. The last years' oilseed rape breeding is directed first of all to development of F₁ hybrid cultivars. Taking it into the consideration, investigations aiming at finding molecular markers linked to the beginning and length of flowering of parental lines of F₁ hybrids have been initiated. Beginning and length of flowering of 18 parental lines were evaluated in field trials during two crop seasons in two environments. Genomic DNA of these lines was analyzed using PCR - RAPD and AFLP methods. Moreover, the isozyme markers were also used in the study. The obtained results revealed statistically significant relationship between molecular markers and

*Badania zostały częściowo sfinansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, projekt nr 3 P06A 027 25

flowering time. 16 molecular markers were associated with beginning of flowering period and 32 markers with the length of flowering. The isozyme markers were not correlated with these traits.

Key words: beginning and length of flowering, CMS *ogura*, F₁ hybrids, molecular markers, oilseed rape (*B. napus* L.)

WSTĘP

W ciągu ostatnich 30 lat dzięki hodowli jakościowej rzepak stał się bardzo ważną rośliną uprawną o wzrastającym znaczeniu na rynku międzynarodowym. Obecnie produkcja nasion rzepaku zajmuje drugie miejsce wśród roślin oleistych w świecie po nasionach soi i w sezonie 2009/2010 wyniosła 59,8 mln ton co stanowi 13,9% całkowitej produkcji nasion oleistych (soja 60,3%). Natomiast w produkcji globalnej oleju roślinnego zajmuje trzecie miejsce (15,3%) po oleju palmowym (34,9%) i sojowym (27,3%) — (Oil World 17/2010). Ponadto pozostałości po wytłoczeniu i ekstrakcji oleju wytłoki/śruta poekstrakcyjna są źródłem wartościowego białka paszowego. W Unii Europejskiej rzepak ozimy jest najważniejszą rośliną oleistą, a nasiona rzepaku przerabia się nie tylko na cele spożywcze i paszowe ale także wykorzystuje do produkcji biopaliw, w związku z tym zapotrzebowanie na nie ciągle rośnie. Zwiększoną produkcję nasion rzepaku można uzyskać poprzez hodowlę i wdrożenie do uprawy odmian mieszańcowych plonujących nawet o ponad 20% wyżej niż odmiany populacyjne.

Współczesna hodowla roślin obok klasycznych metod hodowli stosuje coraz częściej selekcję z wykorzystaniem różnych typów markerów molekularnych — MAS (ang. marker-assisted selection). Liczne publikacje naukowe dowodzą, że markery molekularne będące nowoczesnym narzędziem badań ułatwiają i przyspieszają proces hodowli roślin. Lande i Thompson (1990) wskazują, że skuteczność selekcji w oparciu o MAS jest wyższa w porównaniu z klasycznymi metodami opartymi na selekcji fenotypowej, zwłaszcza dla cech o niskim poziomie odziedziczalności, takich jak plon nasion. Snowdon i Friedt (2004) wykazali możliwość zastosowania markerów molekularnych w hodowli rzepaku. Różne typy markerów molekularnych posłużyły do opracowania map genetycznych, mapowania porównawczego, asocjacyjnego, lokalizacji *loci* cech ilościowych (QTL), a także poszukiwania związku pomiędzy poszczególnymi markerami a zmiennością fenotypową licznych gatunków roślin (Joudren i in., 1996; Somers i in., 2001; Irzykowska i Bocianowski, 2008; Zhao i in., 2008; Bocianowski, 2012; Irzykowska i in., 2012).

Celem podjętych prac było określenie związku pomiędzy różnymi typami markerów a początkiem i długością okresu kwitnienia linii rodzicielskich mieszańców pokolenia F₁ rzepaku ozimego, cechami mającymi silny wpływ na plon nasion.

MATERIAŁ I METODY

Obiektami badań było osiemnaście linii rodzicielskich mieszańców F₁ CMS *ogura* rzepaku ozimego (osiem linii CMS *ogura* i 10 linii ojcowskich: sześć linii restorerów oraz cztery linie bez genu restorera). Początek kwitnienia (licząc dni od początku roku kalendarzowego do momentu zakwitnięcia około 10% roślin na poletku) oraz długość kwitnienia (liczba dni od początku kwitnienia do momentu gdy 90% roślin zakończyło

kwitnienie na poletku) badanych linii oceniono w doświadczeniach polowych przeprowadzonych w sezonach wegetacyjnych 2002/2003 i 2003/2004 w układzie bloków kompletnie zrandomizowanych w czterech powtórzeniach, każdego roku w dwóch środowiskach. Szczegółowy opis materiału roślinnego, metodyki doświadczeń polowych oraz analiz molekularnych przedstawiono w pracach Bocianowski i in. (2010, 2011). Dla określenia związku różnych typów markerów z początkiem kwitnienia oraz długością kwitnienia wykonano badania za pomocą markerów typu RAPD, AFLP i izoenzymów.

Całkowity DNA dla każdej linii wyizolowano z liści dziesięciodniowych siewek rzepaku według metody Doyle i Doyle (1990). Polimorfizm genomowego DNA określono stosując: 57 starterów RAPD (Operon Technologies, Alameda USA) zgodnie z metodyką opisaną przez Williamsa i in. (1990). Analizę metodą AFLP wykonano przy użyciu 23 par selektywnych starterów AFLP typu *EcoRI* (E-5'-GACTGCGTACC AATTC NNN-3') i *MseI* (M-5'-GATTGAGTCCTGAG TAA NNN-3')(Gibco BRL Primer Kit, Invitrogen) według metody opracowanej przez Vosa i in. (1995). Do badań izoenzymatycznych zastosowano pięć systemów izoenzymatycznych: IDH (EC 1.1.1.42) — dehydrogenaza izocytrynianowa, MDH (EC 1.1.1.37) — dehydrogenaza malonowa, 6PGD (EC 1.1.1.44) — dehydrogenaza 6-fosfoglukonowa, LAP (EC 3.4.11.1) — aminopeptydaza leucyny, PGI (EC 5.3.1.9) — fosfoglucoizomeraza, zgodnie z metodyką opracowaną przez Schieldsa i in. (1983) oraz Vallejosa (1983).

W celu określenia związku obserwowanych produktów amplifikacji z początkiem kwitnienia oraz długością kwitnienia zastosowano analizę regresji (Hastie i Tibshirani, 1990). Obserwacje markerów molekularnych były traktowane jako zmienne niezależne i rozpatrywane indywidualnie w modelach (Bocianowski i Seidler-Łożykowska, 2012) na poziomie istotności $\alpha = 0,01$, będącym wynikiem poprawki Bonferroniego przy testowaniu jednoczesnym. W obrębie badanych cech przeprowadzono klasteryzację markerów metodą nieważonych średnich połączeń, w celu oszacowania liczby QTL determinujących poszczególne cechy. Do jednego klastera klasyfikowano markery, których podobieństwo wynosiło co najmniej 80%. Wszystkie obliczenia w zakresie analizy statystycznej wykonano korzystając z pakietu statystycznego GenStat v. 10.1 (GenStat, 2007).

WYNIKI I DYSKUSJA

Badane linie charakteryzowały się zróżnicowanym początkiem kwitnienia (tab. 1, rys. 1 a) oraz długością okresu kwitnienia (tab. 1, rys. 1 b). Najwcześniej ze wszystkich linii rodzicielskich zakwitła linia mateczna Samourai, która charakteryzowała się także najdłuższym okresem kwitnienia spośród badanych obiektów. Pozostałe linie mateczne i ojcowskie rozpoczynały okres kwitnienia średnio 2–5 dni później. Najpóźniej w okres kwitnienia wchodziły linie ojcowskie z genem restorerem (*Rf0*) (rys. 1a).

Pięćset dziewięćdziesiąt siedem (597) markerów posłużyło do określenia związku trzech typów markerów z początkiem i długością okresu kwitnienia. Najwięcej polimorficznych markerów otrzymano metodą AFLP — 354, następnie 225 polimorficznych markerów typu RAPD oraz 18 fenotypów elektroforetycznych. W tabeli 2 przedstawiono

markery istotnie statystycznie związane z początkiem kwitnienia linii rodzicielskich mieszańców F₁, a w tabeli 3 z długością kwitnienia.

Tabela 1

Początek i długość kwitnienia linii rodzicielskich mieszańców F₁ CMS *ogura* — wartości średnie z doświadczeń w czterech środowiskach
Beginning and length of flowering of parental lines of F₁ CMS *ogura* hybrids of winter oilseed rape — mean values from experiments in four environments

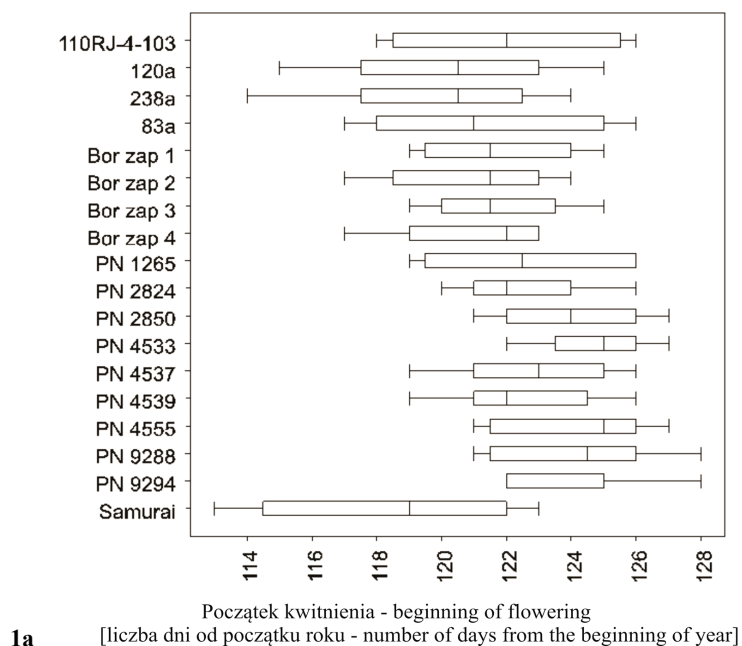
Genotyp Genotype	Początek kwitnienia Beginning of flowering	Długość kwitnienia Length of flowering
110RJ-4-103♂ (<i>Rfo</i>)*	122,1	17,81
120a♀	120,2	17,56
238a♀	119,8	18,06
83a♀	121,4	18,38
Bor zap 1♂	121,8	17,75
Bor zap 2♂	120,9	19,00
Bor zap 3♂	121,7	17,88
Bor zap 4♂	121,1	18,81
PN 1265♂ (<i>Rfo</i>)	122,6	17,56
PN 2824♀	122,6	18,69
PN 2850♀	123,9	17,94
PN 4533♂ (<i>Rfo</i>)	124,8	17,38
PN 4537♂ (<i>Rfo</i>)	122,9	17,75
PN 4539♂ (<i>Rfo</i>)	122,5	18,56
PN 4555♂ (<i>Rfo</i>)	124,1	18,13
PN 9288♀	124,1	17,19
PN 9294♀	123,6	17,31
Samourai♀	119,1	20,75

* Linie ojcowskie z genem restorerem (*Rfo*)

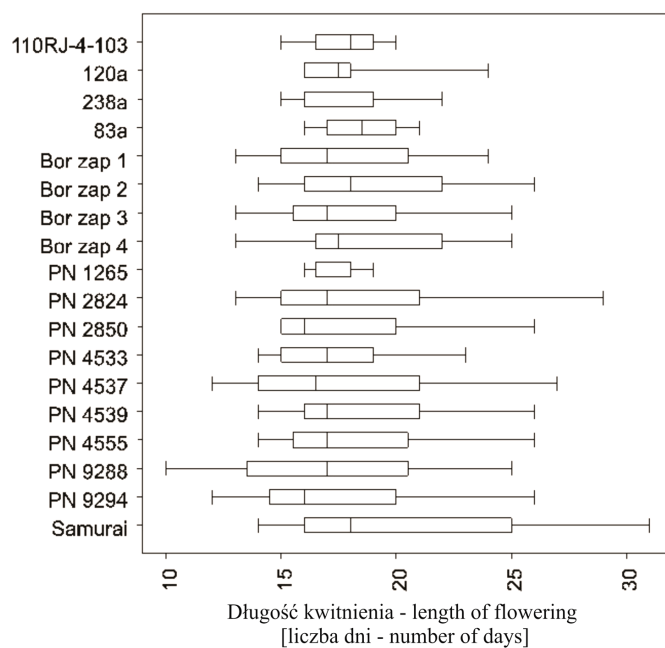
* Paternal lines with restorer gene (*Rfo*)

Szesnaście markerów RAPD (8) i AFLP (8) było związanych z początkiem kwitnienia linii rodzicielskich mieszańców. Pięć markerów RAPD i pięć AFLP związane było z wcześniejszym kwitnieniem, natomiast pozostałe z późniejszą datą rozpoczęcia terminu kwitnienia (tab. 2). Procent całkowitej zmienności fenotypowej początku kwitnienia wyjaśnianej przez poszczególne markery wynosił od 31,4% dla markera SA 8~1660 E-AGG:M-CAC do 63,4% dla markera SA15~810 E-ACC:M-CTC. Przeprowadzona klasteryzacja 16 powyższych markerów umożliwiła wyodrębnienie ośmiu grup (tab. 2), co sugeruje iż początek kwitnienia rzepaku ozimego determinowany jest przez osiem QTL.

Analizując długość kwitnienia stwierdzono, że 32 markery, w tym 10 markerów RAPD i 22 markery AFLP, były związane z tą cechą (tab. 3). Jedyne sześć markerów było związanych ze skróceniem okresu kwitnienia (jeden marker RAPD i pięć markerów AFLP), natomiast pozostałe były związane z podwyższeniem wartości tej cechy, czyli dłuższym okresem kwitnieniem. Procent całkowitej zmienności wyjaśnianej przez markery molekularne wyniósł od 31,5% (OPY-10~1200) do 51,3% (dla 13 markerów RAPD i AFLP) (tab. 3).



1a



1b

Rys. 1a, 1b. Boxplot początku i długości kwitnienia linii rodzicielskich mieszańców F₁ CMS *ogura* rzepaku ozimego ocenionych w doświadczeniach polowych
Fig. 1a, 1b. Boxplot of beginning and length of flowering of parental lines of CMS *ogura* F₁ hybrids of winter oilseed rape evaluated in field trials

Związek markerów molekularnych RAPD i AFLP z początkiem kwitnienia linii rodzicielskich mieszańców F₁ CMS *ogura*
Relationship between RAPD and AFLP markers and the beginning of flowering of CMS *ogura* F₁ hybrids parental lines

Symbol markera Marker symbol	Klaster Cluster ^s	Wartość estymatora Estimates of regression coefficients	Wartość p p-value	Procent całkowitej zmienności fenotypowej wyjaśnianej przez marker The proportion of total phenotypic variance explained by markers	Standardowy błąd obserwacji Standard error of observations
SA15~810 E-ACC:M-CTC	F	-2,639	<0,001	63,4	1,01
SA 6~600 E-ACC:M-CAC	A	2,576	<0,001	57,6	1,09
SA16~804 E-ACA:M-CTT	F	-2,503	<0,001	54,0	1,13
OPF-01~560	C	-2,879	<0,001	51,8	1,16
SA 7~420 E-ACC:M-CAG	F	-2,330	<0,001	48,0	1,20
OPG-04~890	A	2,278	0,001	46,3	1,22
OPY-10~1200	A	2,375	0,001	44,5	1,24
OPF-01~830	A	2,240	0,002	42,0	1,27
SA 14~240 E-AAG:M-CTT	G	-2,435	0,002	41,9	1,27
OPP-07~1900	I	-2,281	0,003	40,6	1,29
SA 3~700 E-AGG:M-CAG	E	-2,172	0,005	36,2	1,33
OPW-09~890	F	-2,058	0,005	36,1	1,33
OPY-01~1054	E	-2,094	0,007	33,2	1,36
SA 21~234 E-AGG:M-CAT	B	3,120	0,008	32,6	1,37
OPA-07~1100	D	-3,120	0,008	32,6	1,37
SA 8~1660 E-AGG:M-CAC	B	1,977	0,009	31,4	1,38

^s Markery oznaczone tą samą literą należą do jednego klastra

^s Markers indicated by the same letter belong to one cluster

Markery izoenzymatyczne były nieprzydatne do tego typu badań. Żaden spośród wygenerowanych 18 fenotypów elektroforetycznych nie był związany ani z początkiem, ani z długością kwitnienia badanych linii. Przeprowadzona klasteryzacja powyższych 32 markerów umożliwiła wyodrębnienie sześciu grup (tab. 3). Stąd wniosek, iż na długość kwitnienia rzepaku ozimego determinujący wpływ ma sześć QTL.

Federico i Federico (2011) w publikacji dotyczące genetyki *B. napus* wykazali, że od 1991 roku opracowano i opublikowano ponad 30 map genetycznych dla różnych populacji mapujących rzepaku. Obok poszukiwania *loci* cech ilościowych odpowiedzialnych za tak istotne z punktu widzenia rolniczego cechy jak plon nasion, jego składniki, zawartość oleju w nasionach i skład kwasów tłuszczowych podjęto także badania mające na celu wyjaśnienie mechanizmów kontroli genetycznej kwitnienia rzepaku. Prowadzone są zarówno badania dotyczące procesu wernalizacji, poszukiwania alleli determinujących zarówno wczesność jak i opóźnienie terminu kwitnienia, długość okresu kwitnienia, a także badania nad związkiem czasu kwitnienia i plennością rzepaku oraz innych roślin kapustnych (Lagercrantz, 1998; Osborn i Lukens, 2003; Raman i in. 2011). Prace te są pierwszym rozpoznaniem cechy długości i wczesności kwitnienia. Badania wykonane przez Ramana i in. (2011) wykazały, że okres kwitnienia jest cechą kompleksową kontrolowaną przez co najmniej 38 *loci* zlokalizowanych zarówno w genomie A i genomie C. Każdemu z tych *loci* przypisano równy procent zmienności. Long i in. (2007), badając populację linii DH w 11 miejscowościach, wykazali obecność 36 głównych i 6 pośrednich

QTL we wszystkich testowanych środowiskach. Federico i Federico (2011) stwierdzili, że liczba wykrytych *loci* cech ilościowych (QTL) związanych z terminem kwitnienia wahała się od 4 do 9 w zależności od badanej populacji roślin. Uzyskane przez różnych autorów wyniki wskazują, że QTL dla terminu kwitnienia, fotoperiodu i okresu wernalizacji są zlokalizowane w różnych regionach genomu w zależności od badanej populacji. Cai i in. (2008) stwierdzili, lokalizację QTL w grupie sprzężeń C8, która w wysokim procencie wyjaśniała zmienność fenotypową populacji mapującej rzepaku jarego dla terminu kwitnienia i fotoperiodu. Mei i in. (2009) opisali QTL zlokalizowany w grupie sprzężeń C3 odpowiedzialny za kwitnienie populacji F₂ rzepaku. Ponadto badania wskazują, że kwitnienie należy do cech o wysokim stopniu dziedziczalności, jednakże wykazujących silną interakcję z warunkami środowiskowymi Osborn i in. (1997).

Tabela 3

Związek markerów molekularnych RAPD i AFLP z długością kwitnienia linii rodzicielskich mieszańców F₁ CMS *ogura*
Relationship between RAPD and AFLP markers and the length of flowering of CMS *ogura* F₁ hybrids parental lines

Symbol markera Marker symbol	Klaster Cluster ^s	Wartość estymatora Estimates of regression coefficients	Wartość p p-value	Procent całkowitej zmienności fenotypowej wyjaśnianej przez marker The proportion of total phenotypic variance explained by markers	Standardowy błąd obserwacji Standard error of observations
SA 7~1140 E-ACC:M-CAG, SA 9~450 E-AAC:M-CAT, SA 17~1150 E-ACT:M-CAT, SA 22~1400 E-AGG:M-CTA, SA 22~265 E-AGG:M-CTA, SA 23~1650 E-AGG:M-CTC, OPP-14~1830, OPN-02~2000, OPA-18~1830, OPA-15~1480, OPA-15~890, OPG-04~1260, OPK-08~1260	C	2,421	<0,001	51,3	0,542
SA 6~1140 E-AGG:M-CAG, SA 6~840 E-AGG:M-CAG, SA 23~1215 E-AGG:M-CTC, SA 23~820 E-AGG:M-CTC, SA 23~145 E-AGG:M-CTC	D	-2,421	<0,001	51,3	0,542
SA 7~240 E-ACC:M-CAG, SA 22~565 E-AGG:M-CTA, SA 22~175 E-AGG:M-CTA, SA 23~1100 E-AGG:M-CTC, SA 23~850 E-AGG:M-CTC, SA 23~800 E-AGG:M-CTC	A	1,676	0,001	45,6	0,572
SA 7~170 E-ACC:M-CAG, SA 23~90 E-AGG:M-CTC	D	-1,676	0,001	45,6	0,572
OPW-02~2500	E	1,029	0,002	42,6	0,587
SA 10~1450 E-AAG:M-CAT	E	1,009	0,003	39,0	0,606
SA 22~190 E-AGG:M-CTA	B	1,535	0,004	37,3	0,614
OPA-11~1600	F	1,054	0,005	35,5	0,623
SA 18~800 E-ACT:M-CTC	F	1,037	0,006	34,1	0,630
OPY-10~1200	D	-0,953	0,009	31,5	0,642

^s Markery oznaczone tą samą literą należą do jednego klastera

^s Markers indicated by the same letter belong to one cluster

Wyniki wcześniej przeprowadzonych badań wykazały, że na plon nasion, obok cech struktury plonu, w istotny sposób może wpływać wczesność kwitnienia i/lub długość

kwitnienia. Pozytywny związek plenności różnych rodów rzepaku w ośmiu środowiskach z początkiem i długością kwitnienia wykazali Spasibonek i Ogrodowczyk (1994). Również Ogrodowczyk i in. (2003) wykazali istotną zależność wielkości uzyskanego plonu nasion przez odmiany populacyjne i mieszańcowe od długości okresu kwitnienia. Natomiast Bocianowski i in. (2010) analizując mieszańce złożone i zrestorowane rzepaku ozimego przy zastosowaniu analizy regresji wielokrotnej stwierdzili istotność związku wczesności kwitnienia i długości okresu kwitnienia z wysokością uzyskanego plonu przez te odmiany w wybranych środowiskach.

W przypadku wyboru linii rodzicielskich mieszańców F_1 konieczna jest selekcja linii wykazujących dobrą synchronizację terminu kwitnienia, co umożliwi ekonomicznie uzasadnioną produkcję materiału siewnego wysokoplennych mieszańców pokolenia F_1 . Markery molekularne związane z wczesnością i długością terminu kwitnienia mogą stanowić cenne uzupełnienie klasycznych metod selekcji form rodzicielskich mieszańców F_1 CMS *ogura* rzepaku ozimego.

WNIOSKI

1. Uzyskane wyniki wskazują, że możliwe jest wyodrębnienie markerów molekularnych typu AFLP i RAPD silnie związanych zarówno z wczesnością jak i długością okresu kwitnienia.
2. Na podstawie klasteryzacji markerów stwierdzono, że początek kwitnienia rzepaku ozimego jest uwarunkowany przez osiem QTL, natomiast długość kwitnienia w badanym materiale determinowana jest przez sześć QTL.
3. W celu potwierdzenia związku poszczególnych markerów z wczesnością i długością kwitnienia rzepaku badania powinny być kontynuowane na szerszym materiale roślinnym.

LITERATURA

- Bocianowski J. 2012. Analytical and numerical comparisons of two methods of estimation of additive \times additive interaction of QTL effects. *Scientia Agricola* 69 (4): 240 — 246.
- Bocianowski J., Liersch A., Bartkowiak-Broda I. 2010. Zależność plonu nasion mieszańców F_1 CMS *ogura* rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.) od wybranych cech fenotypowych roślin oceniona przy zastosowaniu analizy regresji wielokrotnej. *Rośliny Oleiste — Oilseed Crops*, XXXVI (2): 373 — 389.
- Bocianowski J., Kozak M., Liersch A., Bartkowiak-Broda I. 2011. A heuristic method of searching for interesting markers in terms of quantitative traits. *Euphytica* 181: 89 — 100.
- Bocianowski J., Seidler-Łożykowska K. 2012. The relationship between RAPD markers and quantitative traits of caraway (*Carum carvi* L.). *Industrial Crops and Products* 36: 135 — 139.
- Cai C. C., Tu J., Fu T. D., Chen B. Y. 2008. The genetic basis of flowering time and photoperiod sensitivity in rapeseed *Brassica napus* L. *Russ. J. Genet* 44: 326 — 333.
- Doyle J. J., Doyle J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13—15.
- Federico L. I. L., Federico, M. L. 2011. The genetics of *Brassica napus*. In: *Genetics and genomics of the Brassicaceae*, plant genetics and genomics: Crops and Models 9 (eds.) R. Schmidt, I. Bancroft. Springer Science +Business Media, LLC 2011. DOI 10.1007/978-1-4419-7118-0_10: 291 — 312.
- GenStat. 2007. GenStat Release 10 Reference Manual. Lawes Agricultural Trust, Rothamsted, UK.
- Hastie T. J., Tibshirani R. J. 1990. *Generalized additive models*. Chapman and Hall, London.

- Irzykowska, L., Bocianowski, J. 2008. Genetic variation, pathogenicity and mycelial growth rate differentiation between *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* isolates derived from winter and spring wheat. *Annals of Applied Biology* 152: 369 — 375.
- Irzykowska L., Bocianowski J., Waškiewicz A., Weber Z., Karolewski Z., Goliński P., Kostecki M., Irzykowski W. 2012. Genetic variation of *Fusarium oxysporum* isolates forming fumonisin B₁ and moniliformin. *Journal of Applied Genetics* 53: 237 — 247.
- Jourdren C., Barret P., Brunel D., Delourme R., Renard M. 1996. Specific molecular marker of the genes controlling linolenic acid content in rapeseed. *Theor. Appl. Genet.* 93: 512 — 518.
- Lagercrantz U. 1998. Comparative mapping between *Arabidopsis thaliana* and *Brassica nigra* indicates that *Brassica* genomes have evolved through extensive genome replication accompanied by chromosomes fusions and frequent rearrangements. *Genetics* 150: 1217 — 1228.
- Lande R., Thompson R. 1990. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics* 124: 743 — 756.
- Long Y., Shi J., Qiu D., Li R., Zhang C., Wang J., Hou J., Zhao J., Shi L., Park B-S., Choi S.R., Lim Y.P., Meng J. 2007. Flowering time quantitative trait loci analysis of oilseed brassica in multiple environments and genome wide alignment with *Arabidopsis*. *Genetics* 177: 2433 — 2444.
- Mei D. S., Wang H. Z., Hu Q., Li Y. D., Xu Y.S., Li Y. C. 2009. QTL analysis on plant height and flowering time in *Brassica napus*. *Plant Breeding* 128: 458 — 465.
- Ogrodowczyk M., Liersch A., Bartkowiak-Broda I. 2003. Badanie zależności plonu nasion od cech biometrycznych u odmian mieszańcowych i populacyjnych rzepaku ozimego. *Biul. IHAR* 226/227/2: 415 — 424.
- Oil World 17/2010. Za Rynek Rzepaku Stan i Perspektywy. 2010. Instytut Ekonomiki Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej PIB, Agencja Rynku Rolnego, MRiRW. ISSN 1231-269X.
- Osborn T. C., Kole C., Parkin I. A. P., Sharpe A. G., Kuiper M., Lydiate D. J., Trick M. 1997. Comparison of flowering time genes in *Brassica rapa*, *B. napus* and *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* 146: 1123 — 1129.
- Osborn T.C., Lukens L. 2003. The molecular genetic basis of flowering time variation in *Brassica* species. In: Nagata T., Tabata S. (eds.) *Biotechnology in agriculture and forestry. Brassica and legumes: from gene structure to breeding*. Springer Verlag, Berlin, 69 — 86.
- Raman H., Pragnell R., Eckermann P., Edwards D., Batley J., Coombers N., Taylor B., Wratten N., Luckett D., Dennis L. 2011. Genetic dissection of natural variation for flowering time in rapeseeds 13th International Rapeseed Congress, June 05-09.2011, Prague, Czech Republic, CD-ROM: 67 — 70, www.irc2011.org.
- Shields C. R., Orton C. J., Stuber C. W. 1983. Isozymes in plants genetics and breeding. In: Tanksley S. D. and Orton T. J. (Eds). Part A, Elsevier Sciences Publishers, B.V., Amsterdam: 443 — 458.
- Snowdon R.J., Friedt W. 2004. Molecular markers in *Brassica* oilseed breeding: current status and future possibilities. *Plant Breeding* 123: 1 — 8.
- Somers 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.
- Spasibionek S., Ogrodowczyk M. 1994. Badania nad nowymi rodami rzepaku ozimego w doświadczeniach wstępnych w sezonie 1992/93. *Rośliny Oleiste — Oilseed Crops*, XV: 341 — 358.
- Vallejos C. E. 1983. Enzyme activity staining. In: Tanksley S. D. and Orton T. J. (Eds). *Isozymes in plants genetics and breeding*. Part A, Elsevier Sciences Publishers, B.V., Amsterdam: 469 — 516.
- Vos P., Hogers R., Sleeker M., Reijans M., Lee T., Homes M., Freiters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M., Zabeau M. 1995. AFLP: a new concept for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.* 23: 4404 — 4414.
- 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.
- Zhao H., Shi L., Duan X., Xu F., Wang Y., Jinling Meng J. 2008. Mapping and validation of chromosome regions conferring a new boron-efficient locus in *Brassica napus*. *Mol. Breed.* 22: 495 — 506.