

Rozprawa doktorska pt.:
**„Rozszerzanie puli genowej *Brassica napus* L. poprzez resynteze
rzepaku ozimego”**

o nadanie stopnia doktora nauk rolniczych w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplina agronomia

„Extending the *Brassica napus* L. gene pool with resynthesis of winter oilseed rape”

Katarzyna Sosnowska

*IHAR-PIB Oddział w Poznaniu, Zakład Genetyki i Hodowli Roślin Oleistych,
Pracownia Kultur Tkankowych*

STRESZCZENIE

Rzepak (*Brassica napus* L.) jest rośliną, która występuje tylko w uprawie i nie istnieją jej dzikie formy, a w związku z tym brak jest naturalnych zasobów zmienności, która mogłaby być wykorzystana do zwiększenia różnorodności genowej tej rośliny. Intensywna selekcja w kierunku uzyskania odmian podwójnie ulepszonych tzw. „00” (zeroerukowych i niskoglukozynolanowych) spowodowała znaczne zawężenie zarówno zmienności genetycznej, jak i fenotypowej rzepaku. Możliwość poszerzenia puli genowej gatunku *B. napus*, niezbędnej do tworzenia wysokoplonujących odmian o pożądanej jakości i odporności na stesy biotyczne i abiotyczne, daje jednak jego pochodzenie. Jako amfidiploid rzepak jest spokrewniony z innymi zróżnicowanymi gatunkami z rodzaju *Brassica*, co pozwala na wzbogacenie genomu *B. napus* o różne wartościowe allele. Resynteza rzepaku poprzez hybrydyzację międzygatunkową polimorficznych gatunków podstawowych *B. oleracea* oraz *B. rapa* umożliwia zwiększenie zróżnicowania genetycznego tego gatunku i rozwój nowych pul genowych, odmiennych od obecnie wykorzystywanych w hodowli.

Opracowano system uzyskiwania rzepaku resyntetyzowanego (RS) z różnych podgatunków *B. oleracea* i *B. rapa* począwszy od zapyłania *in vivo* i *in vitro*, przez kultury zarodków mieszańcowych we wczesnym stadium rozwoju, po regenerację roślin w kulturze *in vitro*.

Uzyskane linie RS nie mogą być włączone bezpośrednio do hodowli rzepaku. Przede wszystkim charakteryzują się niską płodnością i plennością oraz niosą gorsze wartości użytkowe, takie jak np. wysoka zawartość kwasu erukowego czy glukozynolanów, cechy pochodzące od jednego bądź obu form rodzicielskich. Introgresja korzystnych alleli rzepaku RS do rzepaku naturalnego może się dokonać poprzez tworzenie linii semi-resyntetyzowanych (semi-RS). Otrzymane linie z resyntezy wykorzystano jako formy ojcowskie w krzyżowaniu z różnymi podwójnie ulepszonymi liniami restorerami zawierającymi gen *Rfo* w systemie kontrolowanego zapyłania CMS *ogura*. Z uzyskanych mieszańców F₁ przeprowadzona została androgeniza *in vitro* w kulturze izolowanych mikrospor. Z populacji podwojonych haploidów (DH) możliwe było wyselekcjonowanie linii semi-RS z genem restorerem o jakości rzepaku podwójnie ulepszanego.

Pierwsze wyniki uzyskane w doświadczeniu polowym, przeprowadzonym w dwóch środowiskach wykazały, że dwa mieszańce F₁ otrzymane z udziałem tej samej linii matecznej CMS *ogura* (PN 40), ale z dwoma różnymi restorerami – naturalnym (PN 38) i linią semi-RS-S1 (PN 50), plonowały na podobnym poziomie. Jednakże efekt heterozji w porównaniu do średniej plonu linii rodzicielskich, osiągnięty przez mieszańca F₁, powstałego na bazie linii semi-RS, wyniósł 124,7%, a dla mieszańca F₁, z naturalną linią restorującą rzepaku, wyniósł 112,2%.

Zróźnicowanie genetyczne badanych 100 genotypów *Brassica* ssp. oceniono na podstawie polimorfizmu DNA metodą AFLP. Analiza ta potwierdziła, że linie RS i linie semi-RS o jakości 00 i zawierające gen *Rfo* wykazują znaczną odległość genetyczną od rzepaku naturalnego, obecnie hodowanego i uprawianego.

Wyniki badań zostały opublikowane w trzech czasopismach o zasięgu międzynarodowym o współczynnikach wpływu: 0.981, 1.792, 1.626.

ABSTRACT

Oilseed rape (*Brassica napus*) is a crop that does not have naturally occurring wild forms, and therefore has no natural resources of variability that could be used to increase the genetic diversity of this plant. Intensive breeding for zero erucic acid and low glucosinolate content in seed (so-called 00, double low quality), led to significant reduction of genetic and phenotypic diversity of this species. The origin of this species gives possibility to expand the *B. napus* gene pool necessary for creation of high-yielding varieties with desirable quality and resistance to biotic and abiotic stress. As amphidiploid, oilseed rape is related to other diverse species of the genus *Brassica*, which allows for the enrichment of the *B. napus* genome by various valuable alleles. Resynthesis of oilseed rape through interspecific hybridization between polymorphic diploid parents (*B. rapa* and *B. oleracea*) has offered the possibility to increase genetic variation and to develop new gene pools different from current ones used in breeding.

System for the production of resynthesized (RS) oilseed rape by crossing different subspecies of *B. oleracea* and *B. rapa* using *in vivo* and *in vitro* pollination, embryos culture in early stage of development and after plant regeneration was elaborated.

However, RS genotypes usually display low seed quality traits such as low seed oil content, high levels of erucic acid in the oil and high glucosinolate content in seed meal, as well as other undesirable agronomic traits derived from one or both of the progenitors. In order to be able to use the RS lines with negative traits in breeding programs, additional work is necessary before introducing the RS *B. napus* to breeding practice. Introgression of favorable alleles of RS *B. napus* to natural oilseed rape can be achievement by development of semi-RS lines. Therefore resynthesized oilseed rape lines were crossed with double-low winter oilseed rape containing *Rfo* gene for CMS *ogura* system. Population of androgenic plants were developed from F₁ hybrids by the use of microspores *in vitro* culture method. Among the populations of the semi-RS DH genotypes with 00-quality and with *Rfo* gene were selected.

The first results obtained from field experiments carried out in two environments showed that two F₁ hybrids obtained with the same CMS *ogura* parental line (PN 40) but with two different restorers - natural (PN 38) and semi-RS-S1 (PN 50), yielded in a similar level. However, the heterosis effect of seed yield, in relation to the average values of the parents, achieved by the F₁ hybrid with semi-RS restorer line was 124.7% and for F₁ hybrid with natural oilseed rape restorer line, it was 112.2%.

Genetic diversity of RS oilseed rape on the basis on DNA polymorphism using AFLP method was assessed. This analysis confirmed that RS lines and the double-low quality semi-RS lines are distinct from cultivars of natural oilseed rape which are bred and cultivated.

The results obtained in the study were published in three international journals with impact factors: 0.981, 1.792, 1.626.

Poznań, 9 lutego 2018 r.

Mgr Katarzyna Sosnowska