

# MOŻLIWOŚCI DALSZEGO OBNIŻANIA ZAWARTOŚCI GLUKOZYNOLANÓW W NASIONACH RZEPAKU PODWÓJNIE ULEPSZONEGO (*BRASSICA NAPUS* L.)

## THE POSSIBILITIES FOR FURTHER REDUCING THE GLUCOSINOLATE CONTENTS IN SEEDS OF DOUBLE LOW RAPESEED (*BRASSICA NAPUS* L.)



Stanisław Spasibionek, Tersa Piętka, Krystyna Krótka, Krzymański Jan  
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin—Państwowy Instytut Badawczy  
60—479 Poznań, ul Strzeszyńska 36



### WSTĘP

Prace badawcze i hodowlane prowadzone nad rzepakiem przyniosły na przestrzeni pół wieku ogromny postęp. Rzepak z gatunku marginalnego, uprawianego niechętnie stał się najważniejszą rośliną oleistą w Polsce i jedną z czołowych na świecie. W wyniku długoletnich prac hodowlanych z wykorzystaniem naturalnej zmienności genetycznej bez uciekania się do korzystania z modyfikacji genetycznych (GMO) rzepak został pozbawiony dwóch cech, które obniżały wartość gospodarczą odmian tradycyjnych. Ze składu kwasów tłuszczowych wyeliminowano kwas erukowy (C22:1), niepożądany ze względu na jego złą wartość żywieniową. Ponadto został zredukowany znacznie poziom glukozynolanów w nasionach. Glukozynolany i produkty ich rozpadu zawarte w paszy powodują zaburzenia metabolizmu jodu w organizmie. W rzepakach podwójnie ulepszonych nastąpiła znaczna redukcja zawartości glukozynolanów alkenowych szczególnie najbardziej szkodliwej progoitryny, przy zachowaniu pożądanych glukozynolanów indolowych, którym przypisuje się właściwości zapobiegania chorobom nowotworowym. Dzięki tak poważnemu obniżeniu zawartości glukozynolanów, nasiona jak i pozyskiwane z nich po odolejeniu śruty lub wytloki mogą być wykorzystywane jako wartościowe pasze wysokobiałkowe. Na podstawie licznych polskich badań nad żywieniem zwierząt paszą zawierającą śrutę poekstrakcyjną lub wytlók została ustalona Polska Norma dla rzepaku podwójnie ulepszanego. Norma ta dla zawartości glukozynolanów jest najniższa na świecie i wynosi 15 mikromoli na gram nasion (około 0,4%) (Polskie Normy PN-90/R-66151 i PN-EN ISO 9167-1:1999). Dotyczą one sumy glukozynolanów alkenowych i indolowych. Zagadnienie glukozynolanów w nasionach rzepaku pomimo tak niskiej ich zawartości jest wciąż aktualnym problemem hodowlanym. Zawartość glukozynolanów na poziomie normy zapewnią dobre przystość wagowe i reprodukcję zwierząt, ale nadal powoduje powiększanie tarczycy. W związku z tym, celowe i konieczne jest kontynuowanie prac w kierunku dalszego obniżania zawartości glukozynolanów w nasionach oraz promowanie śruty rzepakowej o ekstremalnie niskiej zawartości glukozynolanów jako konkurencyjnej dla śruty sojowej.

Celem prezentowanych badań było wyselekcjonowanie linii rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego o ekstremalnie obniżonej zawartości glukozynolanów alkenowych, poniżej 5µM g<sup>-1</sup> nasion, spośród populacji linii rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego o podwyższonej zawartości kwasu oleinowego (C18:1, ≥75%) w oleju nasion.

### MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły 23 linie wsobne pochodzące z dwóch programów badawczych IHAR-PIB Poznań. Do pierwszej grupy obejmującej 16 linii wybrano genotypy o zawartości kwasu oleinowego powyżej 80% oraz zmniejszonej zawartości kwasów linolowego (do 6%) i linolenowego (do 6%) w oleju nasion, spośród 165 linii rekombinantów otrzymanych w wyniku krzyżowania dwóch mutantów wysokooleinowych, M10453 i M10464, z rodami hodowlanymi oraz odmianami populacyjnymi o wysokiej wartości rolniczej. Druga grupa zawierała 7 linii wybranych na drodze hodowli rekombinacyjnej, w której wykorzystano zmienność naturalną. Celem tej hodowli było uzyskanie form rzepaku o maksymalnie obniżonej zawartości glukozynolanów w nasionach i o podwyższonej zawartości kwasu oleinowego w oleju nasion. Linie uzyskano metodą selekcji cyklicznej z segregujących populacji 37 mieszańców międzyliniowych i liniowo-odmianowych. Badane linie cechują się bardzo niską zawartością glukozynolanów (<5µM g<sup>-1</sup> nasion) i podwyższoną zawartością kwasu oleinowego (>70%).

Zestaw wybranych linii oceniono na doświadczeniu polowym w sezonie wegetacyjnym 2013/2014 porównując je do dwóch odmian wzorcowych Monolit i Chagall.

### WYNIKI

Analiza wariancji wykazała, że plon nasion istotnie różnicował badane genotypy. Wykazano, że linia wysokooleinowa PN1-2006 (48,68 dt ha<sup>-1</sup>) plonowała powyżej odmian wzorcowych Monolit (47,11 dt/ha) i Chagall (43,57 dt/ha). Natomiast dwie linie PN19-256 (44,51 dt/ha), PN17-246 (44,22 dt/ha), o bardzo niskiej zawartości glukozynolanów plonowały powyżej odmiany wzorcowej Chagall (43,57 dt/ha). Pod względem zawartości tłuszczu 6 linii (46,63–49,05%) przewyższało odmiany wzorcowe Chagall i Monolit (średnia wzorców 46,52%). Stwierdzono wysoką istotność zróżnicowania genotypów pod względem składu kwasów tłuszczowych w oleju nasion. Badane linie typu HO utrzymały istotnie wysoką zawartość kwasu oleinowego w przedziale: 73,20–77,93%. Stwierdzono również wysoką istotność zróżnicowania genotypów pod względem zawartości sumy glukozynolanów oraz sumy glukozynolanów alkenowych. W stosunku do odmian wzorcowych Chagall (13,65µM g<sup>-1</sup> nasion; 9,10µM g<sup>-1</sup> nasion) i Monolit (10,83µM g<sup>-1</sup> nasion; 6,45µM g<sup>-1</sup> nasion) 7 linii charakteryzowało się znacznie niższą, pożądaną zawartością sumy glukozynolanów (5,59µM g<sup>-1</sup> nasion – 8,18µM g<sup>-1</sup> nasion) oraz glukozynolanów alkenowych (1,88µM g<sup>-1</sup> nasion – 3,25µM g<sup>-1</sup> nasion) (Tab 1).

Uzyskane linie hodowlane o podwyższonej zawartości kwasu oleinowego oraz linie o obniżonej zawartości glukozynolanów w nasionach osiągnęły poziom plonowania zbliżony do uprawianych obecnie odmian populacyjnych. Różnice w zawartości kwasów tłuszczowych i glukozynolanów w nasionach tych linii nie są już skorelowane z plonem nasion oraz z masą 1000 nasion tak więc, dalsze obniżanie zawartości glukozynolanów i różnicowanie kwasów tłuszczowych nie powinno wpływać niekorzystnie na plennosć nowych linii hodowlanych.

Stwierdzona istotnie ujemna korelacja pomiędzy zawartością oleju w nasionach a zawartością glukozynolanów alkenowych stwarza możliwości dalszego ich obniżania bez ujemnego wpływu na zawartość oleju w nasionach nowych genotypów.

Brak korelacji pomiędzy zawartością glukozynolanów w nasionach a zawartością kwasów tłuszczowych wielonienasyconych (oleinowego, linolowego, linolenowego) wskazuje, że nie powinno być trudności w pracach hodowlanych nad równoczesną zmianą zawartości obu grup związków.

Stwierdzono natomiast wysoce istotną statystycznie ujemną korelację pomiędzy zawartością kwasu oleinowego a zawartościami kwasów linolowego i linolenowego. Krzyżowanie linii hodowlanych obu grup może być wykorzystane w dalszych pracach nad jeszcze większym różnicowaniem składu kwasów tłuszczowych oleju nasion rzepaku oraz dalszym obniżaniem zawartości glukozynolanów alkenowych (Tab 2).

Tabela 1. Analiza wariancji dla poszczególnych cech nasion z doświadczenia polowego / *Variance of analyses for each of the characteristics of seeds from the field trial*

Linie	1	2	3	Glukozynolany — <i>Glucosinolates</i> [µmol·g <sup>-1</sup> ]									Kwasy tłuszczowe — <i>Fatty acid</i> [%]			
				4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
PN1-2001	41,15	5,42	46,03	2,60	0,95	4,68	0,10	0,10	4,78	13,21	7,85	4,90	3,60	76,03	8,68	8,50
PN2-2002	39,36	5,92	44,95	3,33	1,03	7,15	0,10	0,10	4,98	16,69	11,80	5,08	3,68	75,33	8,53	9,25
PN3-2003	43,02	4,68	46,63	1,80	0,63	3,23	0,10	0,10	4,58	10,44	6,03	4,70	3,68	76,35	8,50	8,45
PN4-2004	41,81	4,78	45,18	2,35	0,55	4,95	0,10	0,20	4,70	12,85	8,30	4,88	3,73	75,80	8,28	9,15
PN5-2006	48,68	5,10	46,30	3,75	0,73	6,08	0,10	0,10	4,70	15,45	10,13	4,83	4,08	73,20	10,80	8,88
PN6-2009	34,01	4,70	47,63	3,30	0,95	8,20	0,13	0,08	4,58	17,24	12,15	4,73	3,73	77,25	8,48	7,05
PN7-2010	37,39	4,66	46,30	1,93	1,10	2,58	0,10	0,08	5,08	10,84	5,93	5,25	3,80	76,85	8,13	8,05
PN8-2012	37,56	5,01	43,50	4,38	1,63	7,90	0,20	0,00	3,93	18,03	13,45	4,00	3,85	74,65	8,75	9,65
PN9-2013	37,39	5,49	48,50	2,38	0,78	3,15	0,03	0,13	4,75	11,24	6,53	4,85	3,83	73,88	9,93	9,40
PN10-2015	37,16	5,35	45,68	4,45	0,73	8,55	0,13	0,08	4,30	18,23	13,45	4,38	3,15	75,20	9,90	8,45
PN11-2036	33,52	5,31	45,63	2,65	0,70	4,35	0,00	0,30	5,20	13,18	7,60	5,40	3,73	76,18	8,48	8,45
PN12-2038	31,28	4,93	44,43	2,43	0,58	4,20	0,03	0,28	4,45	11,99	7,13	4,48	3,75	75,35	9,25	8,45
PN13-2050	40,84	6,02	46,20	2,68	0,93	3,68	0,08	0,38	5,53	13,28	7,10	5,75	3,78	77,93	7,45	7,98
PN14-2075	39,07	4,78	46,45	2,25	1,10	3,60	0,10	0,10	4,88	12,03	7,90	4,98	3,83	77,03	8,28	7,65
PN15-2081	40,60	4,31	43,78	2,20	0,70	3,73	0,10	0,10	3,90	10,73	6,90	4,10	3,93	75,25	8,80	8,78
PN16-2082	40,24	4,61	43,85	2,83	0,83	5,68	0,13	0,03	3,90	13,40	9,35	4,00	3,90	74,90	8,78	9,35
<b>Średnia grupa I</b>	<b>38,94</b>	<b>5,07</b>	<b>45,69</b>	<b>2,83</b>	<b>0,87</b>	<b>5,10</b>	<b>0,09</b>	<b>0,13</b>	<b>4,64</b>	<b>13,67</b>	<b>8,85</b>	<b>4,77</b>	<b>3,75</b>	<b>75,70</b>	<b>8,81</b>	<b>8,59</b>
PN17-246	44,22	5,13	46,45	0,88	0,13	1,03	0,00	0,10	3,75	5,89	2,73	3,88	4,03	74,18	9,40	9,23
PN18-253	38,90	5,58	45,90	1,65	0,30	1,48	0,00	0,33	4,43	8,18	3,25	4,65	4,05	74,80	9,68	8,25
PN19-256	44,51	4,75	49,90	1,00	0,23	1,18	0,00	0,20	4,30	6,91	2,70	4,45	4,03	76,00	9,53	7,38
PN20-259	43,11	4,93	46,25	0,90	0,13	0,83	0,00	0,00	3,73	5,59	1,88	3,83	4,10	74,73	8,98	8,95
PN21-3	39,67	5,21	45,45	1,15	0,53	1,38	0,00	0,15	4,40	7,60	2,90	4,63	3,78	77,53	7,65	7,78
PN22-22	36,59	6,05	47,23	0,85	0,13	0,95	0,00	0,10	3,60	5,64	1,88	3,73	3,85	74,75	9,70	8,53
PN23-30	31,84	4,86	49,05	0,93	0,18	1,25	0,00	0,20	3,95	6,49	2,78	4,08	4,28	74,70	9,35	8,65
<b>Średnia grupa II</b>	<b>39,83</b>	<b>5,22</b>	<b>47,18</b>	<b>1,05</b>	<b>0,23</b>	<b>1,15</b>	0,00	<b>0,15</b>	<b>4,02</b>	<b>6,61</b>	<b>2,59</b>	<b>4,18</b>	<b>4,01</b>	<b>75,24</b>	<b>9,18</b>	<b>8,39</b>
PN24-Chagall	43,57	5,30	46,63	3,03	0,65	5,48	0,10	0,20	4,23	13,65	9,10	4,48	4,75	62,78	19,78	9,85
PN25-Monolit	47,11	5,02	46,40	1,75	0,58	4,00	0,18	0,10	4,23	10,83	6,45	4,33	5,00	64,00	19,25	8,75
<b>Średnia wzorca</b>	<b>45,34</b>	<b>5,16</b>	<b>46,52</b>	<b>2,39</b>	<b>0,61</b>	<b>4,74</b>	<b>0,14</b>	<b>0,15</b>	<b>4,23</b>	<b>12,24</b>	<b>7,78</b>	<b>4,40</b>	<b>4,88</b>	<b>63,39</b>	<b>19,51</b>	<b>9,30</b>
<b>Średnia ogólna</b>	<b>39,70</b>	<b>5,12</b>	<b>46,17</b>	<b>2,30</b>	<b>0,67</b>	<b>3,97</b>	<b>0,07</b>	<b>0,14</b>	<b>4,43</b>	<b>11,58</b>	<b>7,01</b>	<b>4,57</b>	<b>3,91</b>	<b>74,58</b>	<b>9,77</b>	<b>8,59</b>
NIR 0,05 LSD 0,05	5,45	0,21	0,81	0,42	0,15	0,89	0,04	0,04	0,88	1,85	1,54	0,93	0,11	1,15	0,90	0,40
NIR 0,01 LSD 0,01	7,23	0,28	1,07	0,55	0,19	1,16	0,05	0,06	1,15	2,41	2,01	1,21	0,14	1,50	1,18	0,52
F obl.	5,15	37,15	28,79	49,38	48,52	56,98	20,95	41,36	2,55	34,99	41,49	2,47	89,67	76,84	89,72	24,58

Postęp genetyczny w wyniku selekcji / *Genetic progress by selection*

p	4,99E-08	2,34E-30	1,34E-27	4,62E-33	1,42E-33	4,98E-36	4,37E-22	4,12E-30	9,33E-04	9,58E-30	6,33E-36	4,96E-05	2,10E-27	1,50E-12	1,87E-11	3,67E-23
h2	0,814	0,976	0,970	0,980	0,981	0,984	0,953	0,975	0,632	0,975	0,984	0,711	0,970	0,889	0,876	0,957
s ob.	4,189	0,471	1,598	1,078	0,381	2,455	0,059	0,101	0,515	4,008	3,83	0,578	0,222	1,218	0,827	0,675
dS	4,859	0,546	1,854	1,250	0,442	2,848	0,068	0,117	0,597	4,649	4,443	0,670	0,258	1,413	0,959	0,783
dG	3,955	0,533	1,798	1,225	0,434	2,802	0,065	0,114	0,378	4,533	4,372	0,477	0,250	1,256	0,840	0,749

p      prawdopodobieństwo, że różnice pomiędzy badanymi obiektami są nieistotne / the probability that differences between examined objects are not significant.

h2     odziedziczalność / heritability

s ob.   odchylenie średniej obiektowej / deviation in mean object

dS     różnica selekcyjna / selection difference

dG     postęp genetyczny / genetic progress

Tabela 2. Współczynniki korelacji pomiędzy plonem nasion (dt/ha), masą 1000 nasion (g), zawartością oleju w nasionach (% s.m.), zawartością glukozynolanów (µM/g nasion) oraz zawartością kwasów: palmitynowego, oleinowego, linolowego linolenowego w oleju z nasion (%) / *Correlation coefficients between seed yield (dt/ha), 1000 seeds weight (g), the oil content of the seeds (% d.m.), the content of individual and totals of glucosinolates (µM/g seeds) and contents of palmitic, oleic, linoleic and linolenic acids in the seed oil (%)*

Cecha / <i>Trait</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1 Plon nasion / <i>Seed yield</i> [dt/ha]	1,000															
2 Masa 1000 nasion / <i>1000 seed weight</i> [g]	-0,069	1,000														
3 Zawartość tłuszczu / <i>Oil content</i> [%]	0,011	0,085	1,000													
4 Glukonapina / <i>Gluconapin</i>	-0,077	0,061	<b>-0,466</b>	1,000												
5 Glukobrassicanapina / <i>Glucobrassicanapin</i>	-0,126	-0,060	<b>-0,451</b>	<b>0,766</b>	1,000											
6 Progoitryna / <i>Progoitrin</i>	-0,131	-0,031	<b>-0,438</b>	<b>0,955</b>	<b>0,716</b>	1,000										
7 Napoleiferyna / <i>Napoleiferin</i>	0,093	-0,258	<b>-0,493</b>	<b>0,794</b>	<b>0,831</b>	<b>0,815</b>	1,000									
8 Brassicyna / <i>Brassicin</i>	-0,237	0,350	0,156	-0,182	-0,248	-0,269	<b>-0,471</b>	1,000								
9 4OHbrassicyna / <i>4OHbrassicin</i>	-0,044	0,257	0,045	0,333	<b>0,470</b>	0,256	0,163	<b>0,488</b>	1,000							
Suma wszystkich glukozynolanów / <i>Total of glucosinolate</i>	-0,123	0,030	<b>-0,434</b>	<b>0,976</b>	<b>0,806</b>	<b>0,975</b>	<b>0,815</b>	-0,157	0,434	1,000						
Suma glukozynolanów alkenowych / <i>Total of alkenyl glucosinolate</i>	-0,115	-0,041	<b>-0,455</b>	<b>0,969</b>	<b>0,791</b>	<b>0,989</b>	<b>0,850</b>	-0,265	0,317	<b>0,988</b>	1,000					
Suma glukozynolanów indolowych / <i>Total of indol glucosinolate</i>	-0,026	0,257	0,051	0,291	<b>0,439</b>	0,214	0,132	<b>0,519</b>	<b>0,996</b>	0,393	0,273	1,000				
C <sub>16:0</sub> kwas palmitynowy / <i>Palmitic acid</i> [%]	0,193	-0,211	0,294	<b>-0,568</b>	<b>-0,426</b>	<b>-0,597</b>	<b>-0,441</b>	0,073	-0,365	<b>-0,611</b>	<b>-0,591</b>	-0,336	1,000			
C <sub>18:1</sub> kwas oleinowy / <i>Oleic acid</i> [%]	-0,190	-0,055	0,018	-0,057	0,282	0,011	0,109	0,286	<b>0,536</b>	0,095	0,027	<b>0,562</b>	-0,360	1,000		
C <sub>18:2</sub> kwas linolowy / <i>Linoleic acid</i> [%]	0,155	0,084	0,289	0,059	-0,378	-0,014	-0,203	-0,137	-0,412	-0,087	-0,047	<b>-0,438</b>	0,224	<b>-0,847</b>	1,000	
C <sub>18:3</sub> kwas linolenowy / <i>Linolenic acid</i> [%]	0,150	0,102	<b>-0,436</b>	0,203	0,073	0,148	0,176	-0,315	-0,321	0,106	0,169	-0,347	0,109	<b>-0,723</b>	0,287	1,000