Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: **53.**

Tytuł zadania: **Wykorzystanie nowej puli genowej dla uzyskania form rzepaku ozimego o zmienionych cechach jakościowych.**

Kierownik zadania: dr hab. S. Spasibionek

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin ― PIB, Oddział w Poznaniu, Zakład Genetyki i Hodowli Roślin Oleistych, Pracownia Genetyki i Hodowli Jakościowej

ul. Strzeszyńska 36, 60-479 Poznań, telefon: 61 846 42 20, e-mail [sspas@nico.ihar.poznan.pl](mailto:sspas@nico.ihar.poznan.pl)

Cel badań: Otrzymanie genotypów o pożądanych cechach biochemicznych (zróżnicowanej zawartości kwasów tłuszczowych jedno- i wielonienasyconych, wysokiej zawartości tłuszczu i ekstremalnie niskiej zawartości glukozynolanów) oraz o wysokiej wartości agronomicznej. Wybór genotypów do dalszych badań związanych z przeprowadzeniem szczegółowej analizy genetycznej w odniesieniu do ekspresji cech fenotypowych, decydujących o wartości gospodarczej danego genotypu. Oszacowanie wartości kombinacyjnych oraz wpływu różnych środowisk na cechy ilościowe i jakościowe genotypów. Do badań włączono markery genetyczne monitorujące występowanie niezmutowanych i zmutowanych alleli genów desaturaz *FAD2* i *FAD3* w liniach typu HO, LL, HOLL.

Zadanie realizowano w ramach czterech tematów badawczych:

**Fenotypowanie roślin pod względem cech agronomicznych i biochemicznych.**

W badaniach uczestniczyło 129 genotypów, w tym: 72 genotypy pokoleń F8-F4 typu HO o wysokiej zawartości kwasu oleinowego w oleju nasion (do 83,1%) i typu HOLL o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (do 81,9%) i obniżonej zawartości kwasu linolenowego (do 1,8%) oraz 57 linii typu HO&LGLS pokoleń F10-F5 o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (do 81,1%) i niskiej zawartości glukozynolanów alkenowych (do 0,5µM g-1nasion). Spośród 645 zaizolowanych roślin do dalszych badań wybrano populację 126 rekombinantów pokoleń F9-F4 (z krzyżowań mutantów wysokooleinowych-HO i niskolinolenowych-LL) typu HOLL wykazujących wzrost zawartości kwasu oleinowego w oleju nasion (od 79,2-85,6%) i obniżenie zawartości kwasu linolenowego (od 1,4-4,2%) oraz typu HOLP wykazujących wzrost zawartości kwasu oleinowego w oleju nasion (od 79,6-84,4%) i obniżenie zawartości sumy kwasów wielonienasyconych (linolowego i linolenowego) (od 8,5-13,4%). Rekombinanty typu HOLL i HOLP charakteryzowały się zawartością tłuszczu na poziomie (35,5-49,3%) natomiast zawartość sumy glukozynolanów wynosiła (od 4,3-15,1µM g-1nasion), a glukozynolanów alkenowych (od 0,4-11,0µM g-1nasion).

Do badań wykorzystano również kolekcję własną (uzyskaną w wyniku krzyżowań w obrębie gatunku *Brassica napus* L.) genotypów wysokooleinowych (HO) i niskoglukozynolanowych (LGLS). Z wyselekcjonowanych izolowanych pojedynczych roślin typu wysokotłuszczowego i niskoglukozynolanowego do dalszych badań wybrano 119 genotypów pokoleń F12-F5 o podwyższonej zawartości tłuszczu (do 48,9%) oraz o ustabilizowanej bardzo niskiej zawartości glukozynolanów alkenowych (od 0,1-2,8µM g-1nasion) i sumy glukozynolanów (od 0,6-9,1µM g-1nasion). Zawartość kwasu oleinowego w badanych genotypach wahała się (od 73,2-84,2%).

Przeprowadzone badania poszerzyły pulę genową w postaci wyselekcjonowanych linii rekombinacyjnych typu HOLL, HOLP oraz HO&LGLS łączących cechy wysokiej zawartości kwasu oleinowego i niskiej zawartości kwasów wielonienasyconych (linolowego i linolenowego) oraz niskiej zawartości glukozynolanów.

**Określenie determinacji genetycznej cech jakościowych**

W ramach tego zadania przeprowadzono krzyżowania w układzie linia × tester. Jako formy mateczne użytych zostało 7 linii rekombinacyjnych typu HOLL z wysoką zawartością kwasu oleinowego (od 77,4-82,8%) i niską zawartością kwasu linolenowego (od 2,0-3,8%) oraz 4 linie typu HO o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (od 78,4-80,6%) i o ekstremalnie niskiej zawartości sumy glukozynolanów alkenowych (0,5-0,9µM g-1nasion). Testerami ojcowskimi były 4 wysokoplenne linie rekombinacyjne typu HOLL o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (od 80,3-80,8%) i niskiej zawartości kwasu linolenowego (od 2,0-5,3%).

Uzyskane 44 kombinacje krzyżowań F1 (linia x tester), 11 linii i 4 testery wysiano na poletkach w IHAR-PIB w Poznaniu w celu oszacowania ogólnej i specyficznej zdolności kombinacyjnej. Na tej podstawie wytypowane zostaną pary rodzicielskie, które rokują otrzymanie potomstwa o szczególnie pożądanym, ze względów różnych cech tj. wartości agronomicznej, składu kwasów tłuszczowych oleju, głównie o podwyższonej zawartości kwasu oleinowego i obniżonej zawartości kwasu linolenowego oraz o obniżonej zawartości związków antyżywieniowych.

**Ocena genotypów w doświadczeniach porównawczych**

Wiosną 2019 roku kontynuowano (założone jesienią 2018 roku) I serię doświadczeń przedwstępnych PN1 dla określenia wartości rolniczej rodów (25 genotypów o zmienionym składzie kwasów tłuszczowych typu HO, HOLL) o wysokiej zawartości tłuszczu oraz o ekstremalnie niskich zawartościach sumy glukozynolanów i glukozynolanów alkenowych w 3 powtórzeniach w 3 lokalizacjach: Stacja Hodowli Roślin: Borowo i Małyszyn „Spółka Hodowli Roślin Strzelce” i Łagiewniki „Spółka Hodowli Roślin Smolice”) w układzie bloków losowanych.

Z spośród badanej populacji najbardziej interesujące były genotypy dla których plon wzrósł powyżej średniej ogólnej. Do najlepiej plonujących w przedziale (31,3-24,6 dt/ha) zaliczono 14 genotypów. O niższej niż w latach poprzednich zawartości tłuszczu zadecydowały niekorzystne warunki pogodowe objawiające się długotrwałą suszą podczas dojrzewania nasion. Pod względem zawartości tłuszczu 5 genotypów (42,9-45,1%) istotnie przewyższyły odmianę Ilona (42,2%). Badane linie typu HO&LGLS utrzymały istotnie wysoką ustabilizowaną zawartość kwasu oleinowego w przedziale (79,3-80,5%), natomiast linie typu HOLL wysoką zawartość kwasu oleinowego na poziomie (77,7-81,4%) i obniżoną zawartość kwasu linolenowego na poziomie (2,7-4,9%) natomiast linie typu HOLP wysoką zawartość kwasu oleinowego na poziomie (79,1-80,1%) i obniżoną zawartość sumy kwasów wielonienasyconych (linolowego i linolenowego) na poziomie (12,6-13,9%). Stwierdzono również wysoką istotność zróżnicowania genotypów pod względem zawartości związków antyżywieniowych: sumy glukozynolanów i glukozynolanów alkenowych. W stosunku do odmiany wzorcowej Ilona (15,6µM g-1 nasion; 10,0µM g-1 nasion) niższą zawartością sumy glukozynolanów i glukozynolanów alkenowych charakteryzowały się wszystkie 24 badane genotypy odpowiednio (5,9-13,3µM g-1 nasion) i (1,8-9,1µM g-1 nasion).

Przeprowadzono analizę wariancji dla plonu nasion, zawartości tłuszczu, kwasów: oleinowego, linolenowego, glukozynolanów alkenowych i sumy wszystkich glukozynolanów. Stwierdzono istotne różnice u wszystkich badanych cech pomiędzy środowiskami. Wystąpiła również istotna interakcja genotypów ze środowiskami pod względem plonu, zawartości tłuszczu, kwasu oleinowego, zawartości glukozynolanów alkenowych i sumy glukozynolanów. Przeprowadzona dla plonu nasion analiza współdziałania poszczególnych genotypów ze środowiskami wskazuje, że 10 genotypów wykazała istotną interakcję z warunkami środowiska. Stabilnymi genotypami okazały się rody (429-2i+3i+4i/18 HO, 433/1i+2i/18 HOLL, 437/1i+7i/18 HOLL, 439/1i+2i/18 HOLL, 440/1i+3i/18 HOLL, 441/1i+2i/18 HOLL, 446/1i+2i+3i/18 HOLL, 465/2i+3i+4i/18 HOLL, 488/1i+2i/18 HOLP, 490/1i+2i+3i/18 HOLP, 521/1i+2i+3i/18 HOLL, 525/1i+2i/18 HOLL). Dla zawartości kwasu oleinowego 2 genotypy, dla zawartości kwasu linolenowego jeden genotyp, 7 genotypów dla zawartości tłuszczu, po 8 genotypów dla zawartości glukozynolanów alkenowych i sumy glukozynolanów wykazały istotną interakcję z warunkami środowiska.

**Genotypowanie roślin**

Genotypy o wysokiej wartości agronomicznej charakteryzujące się wysoką zawartością kwasu oleinowego i niską linolenowego poddano analizie DNA. Do tych badań włączono 72 genotypy typu HOLL oraz HOLP pokoleń F9-F4 uzyskanych z krzyżowań mutantów typu HO i LL. Wykonano 216 analiz DNA.

W analizie przeprowadzonej metodą CAPS dla alleli genu *BnaA.FAD2* desaturazy FAD2wśród badanych genotypów wykazano 112 homozygotycznych prób o zmutowanym genotypie typu HOR4 (HOR4/HOR4) oraz 41 prób wykazujących genotyp heterozygotyczny typu HOR4 (HOR4/Dziki). W pozostałych próbach wykazano genotyp homozygotyczny typu dzikiego (Dziki/Dziki). Natomiast przeprowadzone metodą SNaPshot analizy na obecność zmutowanych alleli desaturazy *FAD3* w genomach A i C *B. napus* zidentyfikowały 42 genotypy zmutowane i homozygotyczne w obu loci (genotyp aacc) oraz różne formy heterozygotyczne: 7 fom heterozygotycznych (genotyp aaCC), 4 formy (genotyp aaCc), 5 form (genotyp AaCC), 1 formę (genotyp AaCc) w których stwierdzono obecność zmutowanych alleli w genomie A *B. napus,* 10 fom heterozygotycznych (genotyp Aacc), 78 fom heterozygotycznych (genotyp AAcc), 8 form (genotyp AACc), 1 formę (genotyp AaCc) w których stwierdzono obecność zmutowanych alleli w genomie C *B. napus*. W pozostałych formach typu dzikiego (genotyp AACC) nie stwierdzono obecności zmutowanych alleli zarówno w genomie A i C *B. napus*.

Przeprowadzona analiza z wykorzystaniem markerów genetycznych pozwoliła precyzyjnie wyselekcjonować pożądane genotypy zmutowanych alleli genów desaturaz *FAD2* i *FAD3* wyrażających się fenotypem typu HO o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (od 81,0-81,3%), fenotypem typu HOLL o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (od 75,9-85,7%) i obniżonej zawartości kwasu linolenowego (od 1,1-4,3%) oraz fenotypem typu HOLP o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (od 78,6-81,8%) i obniżonej zawartości sumy kwasów wielonienasyconych (linolowego i linolenowego) (od 11,2-13,0%).