

Analiza genetycznego uwarunkowania cech ilościowych i jakościowych genotypów rzepaku ozimego



Magdalena Walkowiak, Stanisław Spasibonek, Krystyna Krótka, Teresa Piętka, Krzysztof Michalski
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy, Oddział w Poznaniu



WSTĘP I CEL PRACY

Dla ulepszenia wartości gospodarczej otrzymanych linii o pożądanych cechach tj. podwyższonej zawartości kwasu oleinowego i obniżonej zawartości kwasu linolowego i linolenowego, obniżonej zawartości glukozyzolanów oraz podwyższonej zawartości tłuszczu w nasionach konieczna jest wiedza na temat ekspresji genów cech ilościowych. Aby precyzyjnie określić determinację genetyczną do badań wybrano linie rzepaku ozimego o znacznym zróżnicowaniu tych cech.

MATERIAŁ I METODY

Do krzyżowań przemiennech w szklarni włączonych zostało 6 genotypów o zmienionym składzie kwasów tłuszczowych 18-węglowych jedno- i wielonienasyconych, o wysokiej zawartości tłuszczu i niskiej zawartości glukozyzolanów alkenowych: linia mutanta M681 (typ LL) ze znacznie obniżoną zawartością kwasu linolenowego (2,4%), odmiana Polka (typ HO) z wysoką zawartością kwasu oleinowego (80,0%), linia 342/6i (typ HOLL) z wysoką zawartością kwasu oleinowego (79,6%) i niską zawartością kwasu linolenowego (2,8%), odmiana Monolit o typowym dla odmian rzepaku ozimego składzie kwasów tłuszczowych tj. zawartość kwasu oleinowego (66,2%), linolowego (17,3%), linolenowego (8,6%), tłuszczu (44,6%) i glukozyzolanów alkenowych (5,4µM g⁻¹nasion), linia 537 (typ WT) o wysokiej zawartości tłuszczu (53,6%), linia 565 (typ NGLS) o ekstremalnie niskiej zawartości sumy glukozyzolanów alkenowych (0,2µM g⁻¹nasion). Z wykonanych 108 krzyżowań w układzie 6x6 uzyskano 30 mieszańców F₁. W 2017 roku przeprowadzono doświadczenie polowe z 30 rekombinantami pokolenia F₁ oraz 6 liniami rodzicielskimi celem dokonania szczegółowej charakterystyki genetycznej (tab.1).

Tabela 1. Zawartość tłuszczu, skład kwasów tłuszczowych i glukozyzolanów w nasionach linii rodzicielskich i mieszańców w pokoleniu F₂ – doświadczenie polowe PN2 IHAR-PIB Poznań.

P—Rodzice H—Mieszańce	%T	Kwasy tłuszczowe (%)						Glukozyzolany (µM g ⁻¹ nasion)	
		C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:1	Suma	Suma alkenowych
P—M681 (typ LL)	42,2	4,4	2,5	69,1	20,3	2,2	1,4	12,4	7,3
H—LL x HO	38,9	3,8	2,1	76,8	11,9	4,0	1,4	13,4	6,7
LL x HOLL	39,0	4,3	2,3	74,0	15,6	2,5	1,3	10,0	4,3
LL x MONOLIT	40,5	4,4	2,3	71,2	17,1	3,7	1,3	12,2	6,2
LL x WT	42,8	4,2	2,2	75,3	14,2	2,8	1,4	14,4	6,8
LL x NGLS	41,8	4,3	2,1	74,2	13,9	4,1	1,5	8,1	3,3
P—POLKA (typ HO)	41,6	3,7	1,9	80,6	6,4	6,0	1,4	13,5	8,0
H—HO x LL	40,9	3,6	2,0	77,3	11,7	3,8	1,6	11,5	5,2
HO x HOLL	44,2	3,7	1,8	81,7	7,1	4,3	1,4	11,2	4,8
HO x MONOLIT	42,2	4,2	2,0	75,0	11,0	6,7	1,2	11,8	6,2
HO x WT	45,1	4,0	1,8	80,3	7,4	5,1	1,4	13,5	7,7
HO x NGLS	44,5	3,9	1,8	80,0	7,0	5,9	1,4	8,1	3,3
P—342/6i (typ HOLL)	44,7	3,8	1,9	81,8	8,9	2,3	1,4	15,3	9,0
H—HOLL x LL	40,6	4,1	2,2	75,4	14,7	2,1	1,5	17,6	10,4
HOLL x HO	39,4	3,8	1,9	81,5	7,2	4,3	1,4	13,2	7,0
HOLL x MONOLIT	43,0	4,6	1,9	73,3	14,1	4,9	1,3	12,4	6,8
HOLL x WT	45,4	3,9	1,7	79,3	10,1	3,5	1,4	18,2	12,4
HOLL x NGLS	43,4	4,0	1,7	79,0	9,0	4,7	1,5	9,0	4,3
P—MONOLIT (typ OO)	44,4	5,3	2,0	65,0	19,0	7,7	1,0	14,0	9,7
H—MONOLIT x LL	45,1	4,4	2,4	69,6	18,4	3,9	1,2	13,9	7,8
MONOLIT x HO	43,4	4,3	2,0	74,5	11,4	6,5	1,2	12,5	6,8
MONOLIT x HOLL	44,7	4,5	1,9	73,8	13,9	4,7	1,2	12,5	6,9
MONOLIT x WT	43,9	4,7	1,9	72,4	14,3	5,5	1,2	14,1	8,4
MONOLIT x NGLS	42,8	4,3	2,0	73,1	13,7	5,7	1,3	11,4	5,9
P—537 (typ WT)	46,4	4,6	1,7	75,7	13,3	3,2	1,5	11,0	5,0
H—WT x LL	46,4	4,1	2,2	74,9	14,9	2,6	1,4	15,3	8,4
WT x HO	46,7	4,0	1,7	80,0	7,3	5,5	1,4	11,2	4,9
WT x HOLL	44,5	4,0	1,8	79,4	9,9	3,4	1,5	14,8	9,3
WT x MONOLIT	45,2	4,8	2,0	71,8	14,7	5,5	1,2	12,5	6,6
WT x NGLS	45,1	4,2	1,7	77,3	9,7	5,7	1,5	8,0	3,3
P—565 (typ NGLS)	45,2	4,2	1,8	78,0	7,8	6,5	1,7	4,0	1,8
H—NGLS x LL	42,2	4,1	2,2	73,9	14,2	4,2	1,5	8,7	4,1
NGLS x HO	43,8	3,9	1,8	79,1	7,2	6,4	1,4	7,3	3,5
NGLS x HOLL	41,4	4,2	1,9	78,3	9,4	4,8	1,4	8,8	3,8
NGLS x MONOLIT	42,9	4,5	1,8	70,9	14,1	7,4	1,3	8,2	4,4
NGLS x WT	45,1	4,3	2,0	77,8	8,3	6,2	1,4	6,4	2,4
F _{obj}	-	-	-	52,71**	76,09**	63,83**	-	13,69**	10,89**

Tabela 2. Analiza wariancji genetycznej dla zawartości kwasów tłuszczowych oraz glukozyzolanów mieszańców pokolenia F₂ – typ diallelu I – wg Griffinga.

Źródło zmienności	Stopnie swobody	Suma kwadratów	Średni kwadrat	Statystyka F
Kwas oleinowy C _{18:1} (%)				
Blok	3	17,01	5,67	–
Mieszańce	35	1753,98	50,11	8,39**
GCA	5	1630,20	326,04	54,57**
SCA	15	39,26	2,62	0,96
Efekt odwrotny	15	85,03	5,67	0,51
Błąd	105	627,33	5,97	–
Razem	143	2398,31	–	–
Kwas linolowy C _{18:2} (%)				
Blok	3	17,02	5,67	–
Mieszańce	35	1570,68	44,88	9,04**
GCA	5	1494,19	298,84	60,17**
SCA	15	24,50	1,63	0,33
Efekt odwrotny	15	50,12	3,34	0,67
Błąd	105	521,52	4,97	–
Razem	143	2109,22	–	–
Kwas linolenowy C _{18:3} (%)				
Blok	3	1,50	0,49	–
Mieszańce	35	257,66	7,36	8,38**
GCA	5	229,92	45,99	52,35**
SCA	15	15,71	1,05	1,19
Efekt odwrotny	15	11,40	0,76	0,87
Błąd	105	92,23	0,88	–
Razem	143	351,40	–	–
Glukozyzolany suma (µM g ⁻¹ nasion)				
Blok	1	0,07	0,07	–
Mieszańce	35	1022,89	29,22	17,11**
GCA	5	785,19	157,04	91,94**
SCA	15	143,53	9,57	5,60**
Efekt odwrotny	15	94,18	6,28	3,68**
Błąd	35	59,78	1,71	–
Razem	71	1082,74	–	–
Glukozyzolany alkenowe (µM g ⁻¹ nasion)				
Blok	1	0,0006	0,0006	–
Mieszańce	35	623,86	17,82	13,55**
GCA	5	410,18	82,04	62,37**
SCA	15	139,98	9,33	7,10**
Efekt odwrotny	15	73,70	4,91	3,74**
Błąd	35	46,03	1,31	–
Razem	71	669,90	–	–

Badania finansowane przez MRiRW w ramach: Postęp Biologiczny w Produkcji Roślinnej, Zadanie 53:
„Wykorzystanie nowej puli genowej dla uzyskania form rzepaku ozimego o zmienionych cechach jakościowych”

Tabela 3. Efekty ogólnej zdolności kombinacyjnej (GCA) dla zawartości kwasu oleinowego C_{18:1}, linolowego C_{18:2} i linolenowego C_{18:3} oraz dla zawartości glukozyzolanów linii rodzicielskich pokolenia F₂.

Linia rodzicielska	C _{18:1} (%)	C _{18:2} (%)	C _{18:3} (%)	Glukozyzolany suma (µM g ⁻¹ nasion)	Glukozyzolany alkenowe (µM g ⁻¹ nasion)
M681 (typ LL)	-2,18**	3,26**	-1,33**	1,48**	1,01**
POLKA (typ HO)	2,80**	-2,92**	0,47**	-0,10	-0,27
342/6i (typ HOLL)	2,26**	-1,26**	-0,84**	1,96**	1,45**
MONOLIT (typ OO)	-3,90**	2,64**	1,03**	0,18	0,43
537 (typ WT)	0,41	-0,17	-0,24	1,45**	0,97**
565 (typ NGLS)	0,61	-1,54**	0,92**	-4,96**	-3,58**

Tabela 4. Efekty specyficznej zdolności kombinacyjnej (SCA) dla zawartości kwasu oleinowego C_{18:1}, linolowego C_{18:2} i linolenowego C_{18:3} oraz dla zawartości glukozyzolanów mieszańców pokolenia F₂.

Linia rodzicielska	C _{18:1} (%)	C _{18:2} (%)	C _{18:3} (%)	Glukozyzolany suma (µM g ⁻¹ nasion)	Glukozyzolany alkenowe (µM g ⁻¹ nasion)
LL x LL	-0,43	0,07	0,27	-2,57**	-1,10
LL x HO	0,80	-0,83	0,31	0,09	-0,09
LL x HOLL	-0,94	0,57	0,19	1,84**	1,82**
LL x MONOLIT	0,46	-0,26	-0,27	0,46	0,41
LL x WT	0,43	-0,06	-0,24	0,67	-0,25
LL x NGLS	-0,32	0,50	-0,25	-0,49	-0,79
HO x HO	-0,31	0,01	0,27	2,93**	2,94**
HO x HOLL	-0,29	0,59	-0,38	-2,49**	-2,20**
HO x MONOLIT	0,04	0,08	-0,10	-0,18	-0,39
HO x WT	-0,07	-0,24	0,18	-0,86	-0,82
HO x NGLS	-0,17	0,38	-0,27	0,50	0,56
HOLL x HOLL	0,77	-0,53	-0,18	0,35	0,15
HOLL x MONOLIT	0,14	-0,15	0,07	-1,61**	-1,69**
HOLL x WT	0,15	-0,39	0,33	2,64**	2,90**
HOLL x NGLS	0,17	-0,09	-0,03	-0,73	-1,01*
MONOLITxMONOLIT	-0,35	0,47	0,59	0,99	1,61*
MONOLIT x WT	0,58	-0,23	-0,34	-0,92	-1,07*
MONOLIT x NGLS	0,13	0,09	0,05	1,25*	1,11*
WT x WT	-0,33	0,98	-0,71	0,20	0,78
WT x NGLS	-0,76	-0,07	0,78**	-1,73**	-1,53**
NGLS x NGLS	0,95	-0,81	-0,27	1,20	1,67*

Tabela 5. Analiza wariancji dla zawartości kwasu oleinowego C_{18:1}, linolowego C_{18:2} i linolenowego C_{18:3} oraz dla zawartości glukozyzolanów pokolenia F₂ – wg Haymana.

Źródło zmienności	Stopnie swobody	Suma kwadratów	Średni kwadrat	Statystyka F
Kwas oleinowy C _{18:1} (%)				
Dominowanie	15	9,99	0,67	0,45
Jeden kierunek	1	0,10	0,10	0,07
Asymetria	5	5,46	1,09	0,74
Reszta	9	4,44	–	–
Addytywność	5	402,06	80,41	54,57**
Kwas linolowy C _{18:2} (%)				
Dominowanie	15	6,37	0,42	0,35
Jeden kierunek	1	0,01	0,01	0,01
Asymetria	5	3,15	0,63	0,53
Reszta	9	3,21	–	–
Addytywność	5	361,48	72,30	60,17**
Kwas linolenowy C _{18:3} (%)				
Dominowanie	15	3,94	0,26	1,23
Jeden kierunek	1	0,0002	0,0002	0,001
Asymetria	5	1,65	0,33	1,54
Reszta	9	2,29	–	–
Addytywność	5	55,92	11,18	52,5**
Glukozyzolany suma (µM g ⁻¹ nasion)				
Dominowanie	15	71,76	4,78	5,60**
Jeden kierunek	1	1,92	1,92	2,24
Asymetria	5	24,29	4,86	5,69**
Reszta	9	45,56	–	–
Addytywność	5	392,59	78,52	91,94**
Glukozyzolany alkenowe (µM g ⁻¹ nasion)				
Dominowanie	15	69,99	4,67	7,10**
Jeden kierunek	1	7,32	7,32	11,13**
Asymetria	5	14,63	2,93	4,45**
Reszta	9	48,04	–	–
Addytywność	5	205,09	41,01	62,37**

PODSUMOWANIE

➤ Wykonana według metody Griffinga analiza wariancji diallelicznego układu krzyżowań dla zawartości kwasu oleinowego, linolowego i linolenowego oraz dla zawartości glukozyzolanów wykazała istotne zróżnicowanie efektów ogólnej zdolności kombinacyjnej (GCA) dla mieszańców pokolenia F₂ dla wszystkich badanych cech. Istotne zróżnicowanie specyficznej zdolności kombinacyjnej (SCA) oraz istotne efekty dla krzyżowań odwrotnych stwierdzono tylko dla zawartości sumy wszystkich glukozyzolanów oraz sumy glukozyzolanów alkenowych (tab. 2).
➤ Linie rodzicielskie (Polka typ HO, 342/6i typ HOLL) o wysokiej dodatniej wartości GCA dla kwasu oleinowego i ujemnej wartości GCA dla kwasu linolowego odpowiednio zwiększały zawartość kwasu oleinowego i obniżały zawartość kwasu linolowego w oleju z nasion mieszańców. Natomiast mutant (M681 typu LL) oraz linia (342/6i typ HOLL) o wysokiej ujemnej wartości GCA dla kwasu linolenowego wpływały na znaczne obniżenie zawartości tego kwasu. Na podkreślenie zasługuje również linia rodzicielska (565 typ NGLS) o wysokiej ujemnej wartości GCA dla zawartości sumy wszystkich glukozyzolanów oraz sumy glukozyzolanów alkenowych, która decydowała o znacznym obniżeniu tych związków (tab. 3).
➤ Tylko nieliczne mieszańce wykazywały istotne efekty SCA. Korzystne ujemne efekty dla cechy niskiej zawartości glukozyzolanów (pożądane ze względu na szersze wykorzystanie nasion jak i pozyskiwane z nich po odolejeniu śruty lub wytoków jako wartościowej paszy wysokobiałkowej) odnotowano w czterech kombinacjach krzyżowań. W pozostałych przypadkach wartości SCA były nieistotne statystycznie (tab. 4).
➤ Analiza wariancji dla zawartości kwasów: oleinowego, linolowego i linolenowego oraz dla zawartości sumy wszystkich glukozyzolanów oraz sumy glukozyzolanów alkenowych wykazała, że addytywne działanie genów było istotne dla wszystkich badanych cech. Wykazano również, że istotna dominacja genów wystąpiła tylko dla sumy wszystkich glukozyzolanów oraz sumy glukozyzolanów alkenowych. Potwierdzono istotność asymetrii w rozkładzie alleli genów determinujących zawartość glukozyzolanów (tab. 5).