

Zadanie 53: Wykorzystanie nowej puli genowej dla uzyskania form rzepaku ozimego o zmienionych cechach jakościowych

Okres realizacji 2014-2020



Zespół wykonawców projektu

Dr hab. Katarzyna Mikołajczyk

Dr Marcin Matuszczak

Mgr Magdalena Walkowiak

Mgr Joanna Nowakowska

Danuta Gawlak

Beata Żyto

Sławomir Hoffa

Jacek Kwiatek

Kierownik: Dr hab. Stanisław Spasibonek

Pracownia Genetyki i Hodowli Jakościowej IHAR-PIB Oddział Poznań

e-mail sspas@nico.ihar.poznan.pl



Temat badawczy 1

Fenotypowanie roślin pod względem cech agronomicznych i biochemicznych

Cel: Poszukiwanie nowych źródeł zmienności o pożądanych parametrach agronomicznych oraz biochemicznych do dalszych badań związanych z przeprowadzeniem szczegółowej analizy genetycznej w odniesieniu do ekspresji cech fenotypowych, decydujących o wartości gospodarczej danego genotypu.

Temat badawczy 2

Określenie determinacji genetycznej cech jakościowych

Cel: Wyprowadzenie drogą krzyżowań nowych form rzepaku o zróżnicowanej zawartości 18-to węglowych kwasów tłuszczowych jedno- i wielonienasyconych, o podwyższonej zawartości tłuszczu i ekstremalnie niskiej zawartości glukozynolanów dla określenia efektów ogólnej i specyficznej zdolności kombinacyjnej ważnych cech fenotypowych.

Temat badawczy 3

Ocena genotypów w doświadczeniach porównawczych

Cel: Ocena nowych genotypów w doświadczeniach porównawczych pod względem cech jakościowych i agronomicznych oraz oszacowanie wpływu różnych środowisk na cechy ilościowe i jakościowe wybranych genotypów.

Temat badawczy 4

Genotypowanie roślin

Cel: Poszukiwanie różnych form allelicznych oraz monitorowanie występowania niezmutowanych i zmutowanych alleli genów desaturaz *FAD2* i *FAD3* w populacjach obejmujących rekombinanty typu HO, LL, HOLL oraz ich formy rodzicielskie z wykorzystaniem markerów genetycznych.



Materiały i metody

Liczba i charakterystyka badanych genotypów w latach 2014-2020

Liczba genotypów	Typ genotypu	Kwas oleinowy C18:1 [%]	Kwas linolenowy C18:3 [%]	Tłuszcz [%]	Glukozynolany alkenowe $\mu\text{M g}^{-1}$ nasion
2	mutanty—typ HO (wysoka zaw. C18:1)	78,6—79,5			
1	mutanty—typ LL (niska zaw. C18:3)		1,5		
269	rekombinanty—typ HO	79,3—82,2			
517	rekombinanty—typ HOLL	75,0—85,6	1,0—4,5		
593	rekombinanty—typ wysokotłuszczowy&LGLS (niska zaw. Glukozynolanów)			49,2—53,6	0,2—0,9

-Izolowanie roślin przed obcozapyleciem,

-Fenotypowanie :

Ocena polowa: szkółki selekcyjne, doświadczenia porównawcze.

Obserwacje i pomiary: wschody, stan roślin przed zimą, przezimowanie (skala 1-9⁰), pomiar zawartości chlorofilu w liściach jesienią i wiosną, wczesność (liczba dni od początku roku), długość kwitnienia (liczba dni), wysokość roślin, wyleganie (skala 1-9⁰).

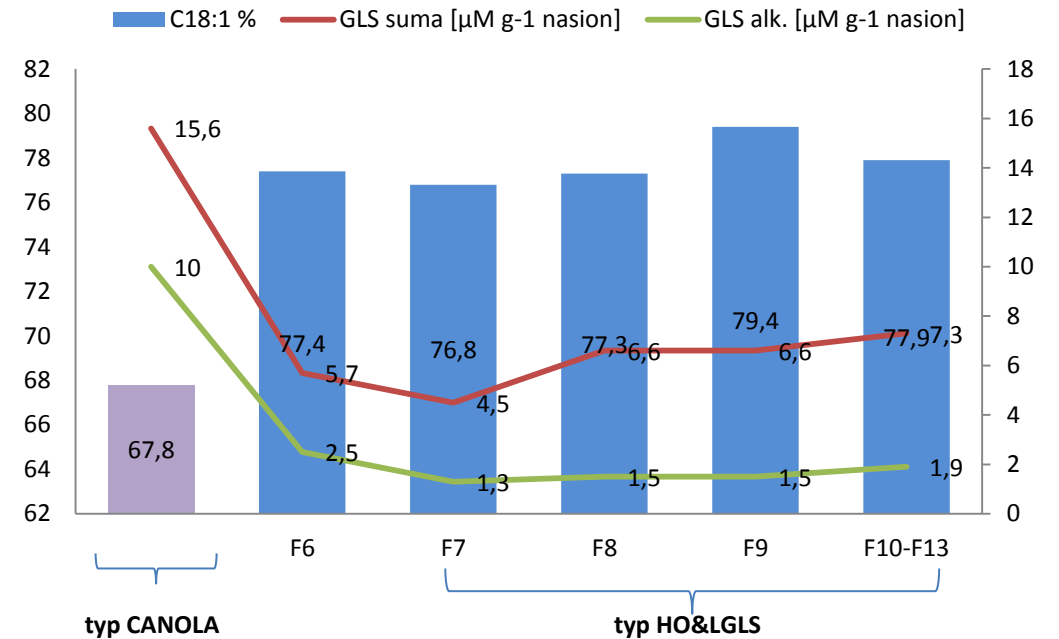
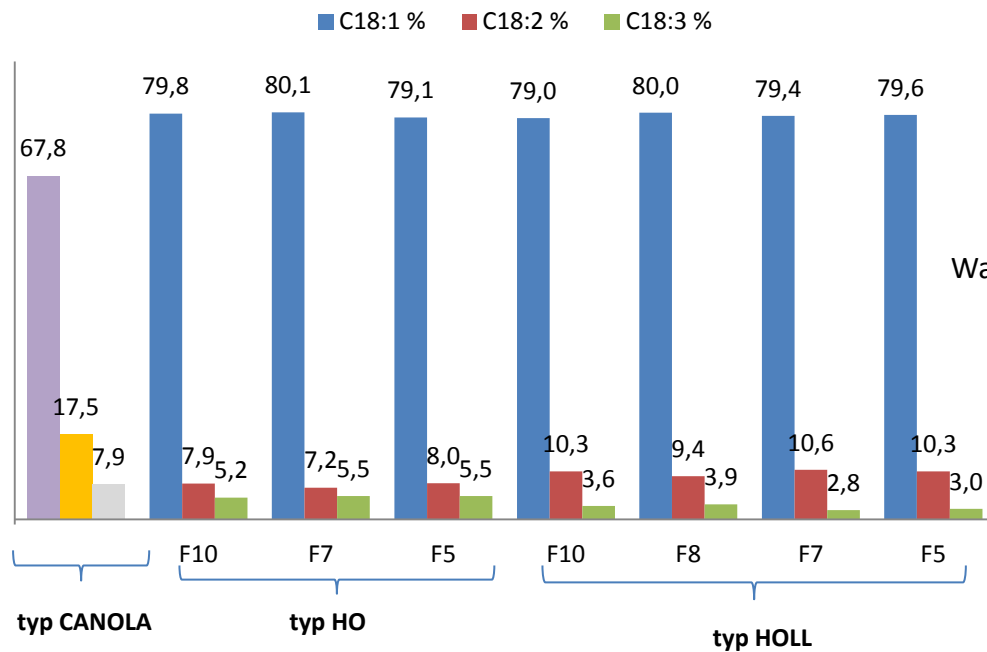
Analiza struktury plonu: liczba rozgałęzień, liczba tłuszczyn na roślinie, długość tłuszczyn, liczba nasion w tłuszczynie, masa 1000 nasion, plon nasion.

Ocena biochemiczna: zawartość kwasów tłuszczowych: palmitynowego, stearynowego, oleinowego, linolowego, linolenowego, eikozenowego i erukowego; zawartość sumy glukozynolanów i glukozynolanów alkenowych (*metodą chromatografii gazowej*), zawartość tłuszczu w nasionach (*wykonana szerokopasmowym analizatorem magnetycznym (NMR) firmy Newport Instruments Ltd*).

-Genotypowanie:

Analiza DNA rekombinantów rzepaku typu HO i HOLL z wykorzystaniem markera typu CAPS dla wykrywania mutacji HOR3 i HOR4 w genie *BnaA.FAD2*.

Analiza DNA rekombinantów rzepaku typu LL i HOLL z wykorzystaniem markera typu SNP identyfikującego zmutowane geny *BnaA.FAD3*, *BnaC.FAD3*.



Zastosowane metody hodowli rekombinacyjnej z wykorzystaniem zmienności naturalnej oraz zmienności uzyskanej w wyniku mutagenезy w selekcji linii wsobnych, chociaż pracochłonne i długotrwałe, okazały się skuteczne.

- ✓ Z wykorzystaniem mutantów (typu HO, LL) wytworzono 71 ustabilizowanych linii pokoleń F10-F5 typu HO o bardzo wysokiej zawartości kwasu oleinowego w oleju nasion (79,1—80,1%) oraz uzyskano 260 genotypów typu HOLL o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (79,0—80,0%) i o obniżonej zawartości kwasu linolenowego (2,8—3,9%).
- ✓ Z wykorzystaniem zmienności naturalnej uzyskano 228 ustabilizowanych genotypów typu HO&LGLS pokoleń F13-F6 z wysoką zawartością kwasu oleinowego (77,3—79,4%) oraz z niską zawartością glukozynolanów alkenowych (1,3—2,5 $\mu\text{M g}^{-1}$ nasion) i sumy glukozynolanów (4,5—7,3 $\mu\text{M g}^{-1}$ nasion).
- ✓ Przeprowadzone badania poszerzą pulę genową w postaci wyselekcjonowanych linii rekombinacyjnych typu HO i HOLL oraz HO&LGLS łączących dobrą wartość agronomiczną z cechami wysokiej zawartości tłuszczu i niskiej zawartości glukozynolanów.



Temat badawczy 2

Określenie determinacji genetycznej cech jakościowych

Badania przeprowadzono w oparciu o krzyżowania dialleliczne 6 genotypów o zmienionym składzie kwasów tłuszczowych typu HO, LL, HOLL, niskiej zawartości glukozyolanów typ LGLS oraz w typie CANOLA.

Tab. 1. Analiza wariancji genetycznej dla zawartości kwasów tłuszczowych oraz glukozyolanów mieszańców pokolenia F₂ - typ diallelu I wg Griffinga

Źródło zmienności	stopnie swobody	średni kwadrat				
		Kwas oleinowy C _{18:1} (%)	Kwas linolowy C _{18:2} (%)	Kwas linolenowy C _{18:3} (%)	Glukozyolany suma (μM g ⁻¹ nasion)	Glukozyolany alkenowe (μM g ⁻¹ nasion)
Mieszańce	35	44,35**	42,62**	4,89**	45,04**	38,98**
GCA	5	293,77**	275,09**	28,19**	211,39**	209,22**
SCA	15	2,98	4,12**	1,18*	28,83**	15,69**
Błąd	70	2,28	1,50	0,65	7,80	4,60

Analiza wariancji wg Griffinga wykazała istotne zróżnicowanie efektów GCA dla wszystkich badanych cech. Istotne zróżnicowanie SCA stwierdzono dla zawartości kwasu linolowego, linolenowego i dla zawartości sumy wszystkich glukozyolanów oraz sumy glukozyolanów alkenowych (Tab. 1).

Tab. 2. Efekty ogólnej zdolności kombinacyjnej GCA linii rodzicielskich pokolenia F₂.

Linia rodzicielska	C _{18:1} (%)	C _{18:2} (%)	C _{18:3} (%)	G. suma (μM g ⁻¹ nasion)	G. alkenowe (μM g ⁻¹ nasion)
565 (typ LGLS)	1,29**	-2,00**	0,82**	-3,84**	-3,50**
537 (typ LGLS)	0,79**	-0,37	-0,50**	2,10**	1,71**
MONOLIT (typ CANOLA)	-3,68**	2,58**	1,02**	-0,61	-0,84*
M681 (typ LL)	-3,40**	3,97**	-0,90**	1,47**	1,62**
342/6i (typ HOLL)	1,80**	-0,88**	-0,94**	2,35**	2,75**
POLKA (typ HO)	3,20**	-3,30**	0,50**	-1,47**	-1,73**

* różnice istotne na poziomie $\alpha \leq 0,05$; ** $\alpha \leq 0,01$

Linie rodzicielskie (565, 537 typ LGLS, 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 mieszańcach. Mutant (M681 typu LL) oraz linie (342/6i typ HOLL) o wysokiej ujemnej wartości GCA dla kwasu linolenowego wpływały na znaczne obniżenie zawartości tego kwasu. Linia rodzicielska (565 typ LGLS) o wysokiej ujemnej wartości GCA dla zawartości sumy wszystkich glukozyolanów oraz sumy glukozyolanów alkenowych decydowała o znacznym obniżeniu tych związków (Tab. 2).

Tab. 3. Analiza wariancji – wg Haymana

Źródło zmienności	stopnie swobody	średni kwadrat				
		C _{18:1} (%)	C _{18:2} (%)	C _{18:3} (%)	G. suma (μM g ⁻¹ nasion)	G. alkenowe (μM g ⁻¹ nasion)
Dominowanie	15	0,99	1,37**	0,39*	6,61**	5,23**
Asymetria	5	0,75	1,49*	0,54*	10,14**	2,83
Addytywność	5	97,93**	61,70**	9,40**	70,46**	69,74**

Tab. 4. Ocena parametrów genetycznych wg Mathera i Jinksa

Parametr	C _{18:1} (%)	C _{18:2} (%)	C _{18:3} (%)	G. suma (μM g ⁻¹ nasion)	G. alkenowe (μM g ⁻¹ nasion)
<i>h²NS</i>	0,95	0,94	0,83	0,65	0,77
<i>h²BS</i>	0,96	0,97	0,88	0,85	0,90

Analiza wariancji wg Haymana oraz ocena parametrów genetycznych wg Mathera i Jinksa wykazały, że addytywne działanie genów było istotne dla wszystkich badanych cech. Świadczy to o przewadze addytywnego działania genów w determinowaniu badanych cech (Tab. 3 i 4). Wysokie współczynniki odziedziczalności w szerokim (*h²BS*) i w wąskim (*h²NS*) sensie wskazują zarówno na duży udział zmienności genetycznej w zmienności fenotypowej dla zawartości kwasów tłuszczowych i glukozyolanów jak i na znaczące addytywne działanie genów w dziedziczeniu tych cech.

Wysokie współczynniki odziedziczalności wskazują również na możliwość uzyskania postępu w selekcji pod względem zmiany proporcji badanych kwasów tłuszczowych oraz glukozyolanów w nasionach rzepaku.



Temat badawczy 3

Ocena genotypów w doświadczeniach porównawczych



Ustabilizowane pod względem cech biochemicznych genotypy typu HO, HOLL i HO&LGLS oceniano w doświadczeniach przedwstępnych (porównawczych) dla określenia wartości rolniczej rodów 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.

Uzyskane linie hodowlane o wysokiej zawartości kwasu oleinowego i obniżonej zawartości kwasu linolenowego osiągnęły poziom plonowania zbliżony do uprawianych obecnie odmian populacyjnych. Wyselekcjonowano cztery genotypy (**1732/14-HO**, **880/15-HOLL**, **593/15-HO**, **440/15-HOLL**), które plonowały istotnie lepiej od wzorcowej odmiany Monolit (Tab. 1).

Tab. 1. Plonowanie najlepszych genotypów w latach badań

Obiekty	2014	Obiekty	2015	Obiekty	2016	Obiekty	2017	Obiekty	2019
Monolit wz.	52,4 dt/ha	Monolit wz.	52,0 dt/ha	Monolit wz.	31,1 dt/ha	Monolit wz.	38,7 dt/ha	Ilona wz.	33,5 dt/ha
2006/13-HO	49,9	1732/14-HO	53,7	880/15-HOLL	32,0	1186/16-HO	34,1	491/18-HOLL	31,3
2003/13-HO	49,0	246/14-HO	51,7	593/15-HO	31,4	1160/16-HO	33,5	897/18-HO&LGLS	28,2
246/13-HO	48,5	255/14-HO	50,3	440/15-HOLL	31,2	67/16-HOLL	33,2	444/18-HOLL	27,9

Tab. 2. Analiza wariancji dla cech

Źródło zmienności	Stopnie swobody	Średnie kwadraty					
		Plon [dt/ha]	Tłuszcz [%]	C18:1 [%]	C18:3 [%]	G. alkenowe [$\mu\text{M g}^{-1}$ nasion]	G. suma [$\mu\text{M g}^{-1}$ nasion]
Środowiska (lata \times miejscowości)	2	2554,82**	154,38**	60,27**	6,92**	17,41**	32,11**
Genotypy	24	63,39	4,12	19,60	3,96	12,96	13,44
Genotypy \times Środowiska	48	13,39**	0,47**	0,91*	0,08	0,53**	0,80**
Regresja względem środowiska	24	11,73	0,61	1,56	0,12	0,79	1,02
Odchylenie od regresji	24	15,06**	0,32*	0,26	0,03	0,27*	0,57*
Błąd doświadczeń	144	3,69	0,19	0,62	0,06	0,16	0,35

Na podstawie przeprowadzonej analizy wariancji stwierdzono istotne różnice u wszystkich badanych cech pomiędzy środowiskami (Tab. 2). Wystąpiła również istotna interakcja genotypów ze środowiskami pod względem plonu, zawartości tłuszczu, kwasu oleinowego i glukozyolanów. Istotne odchylenia od regresji dla plonu nasion, zawartości tłuszczu oraz glukozyolanów wskazują na małą zależność regresyjną efektów interakcji (G \times E) od przeciętnej zawartości tych związków w danych środowiskach.

Analiza doświadczeń z genotypami uwzględniająca badanie interakcji genotypowo-środowiskowej, umożliwiła wytypowanie najlepszych z punktu widzenia hodowlanego form, a także pozwoliła uzyskać informacje o ich stabilności w różnych środowiskach pod względem plonu, zawartości tłuszczu, kwasów tłuszczowych i glukozyolanów w nasionach.

Temat badawczy 4

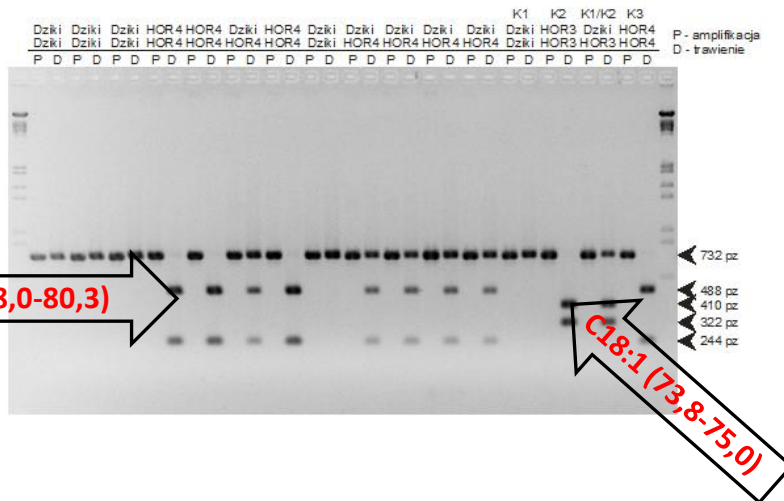
Genotypowanie roślin

Selekcja genotypów typu HO i HOLL wspierana była analizami molekularnymi z zastosowaniem markerów CAPS dla FAD2 (HOR3 i HOR4) (niezmutowane i zmutowane allele genów desaturaz FAD2 w genomie A rzepaku) i markerów typu SNP dla FAD3 (niezmutowane i zmutowane allele genów desaturaz FAD3 w genomach A i C rzepaku) (Rys. 1, 2).

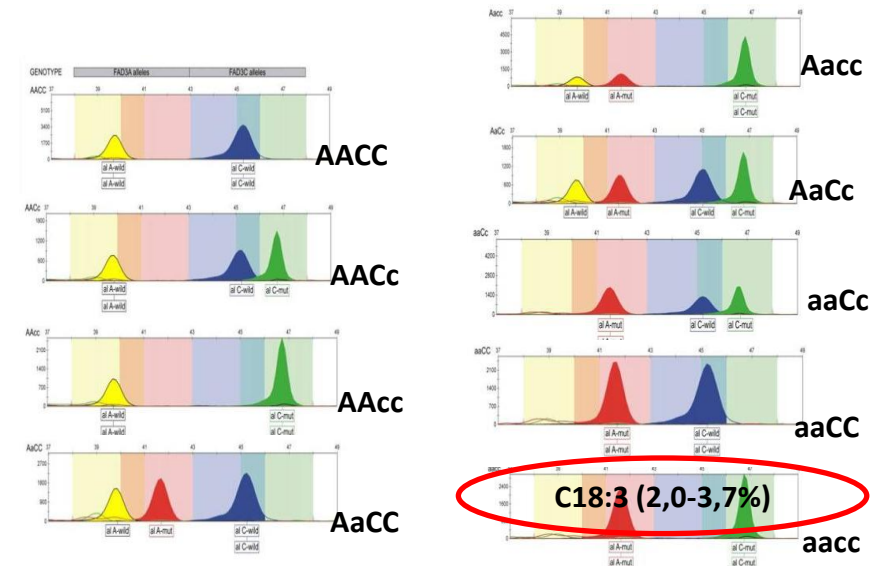
łącznie (2014-2020) przeprowadzono 1547 analiz DNA.

Wyodrębniono 344 homozygotycznych prób o zmutowanym genotypie **typu HOR3 (HOR3/HOR3)** i **HOR4 (HOR4/HOR4)** oraz zidentyfikowano 312 genotypów zmutowanych i homozygotycznych w obu loci w genomach A i C *B. napus* (**typ genotypu aacc**). Genotypy wyselekcjonowano w powiązaniu z najlepszymi cechami agronomicznymi.

Rys. 1. Analiza DNA rekombinantów typu HO i HOLL przy pomocy markera typu CAPS dla wykrywania mutacji HOR3 i HOR4 w genie *BnaA.FAD2*



Rys. 2. Analiza DNA form allelicznych genów desaturazy FAD3 w genomach A i C rekombinantów - typ HOLL metodą SNaPshot



Zastosowana analiza z wykorzystaniem markerów genetycznych pozwoliła precyzyjnie wyselekcjonować pożądane genotypy zmutowanych allele genów desaturaz *FAD2* i *FAD3* wyrażających się fenotypem typu HO o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (73,8%-80,3%) oraz fenotypem typu HOLL o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (78-80,3%) i obniżonej zawartości kwasu linolenowego (2,0-3,7%).



Najważniejsze osiągnięcia

- ❑ W wyniku przeprowadzonych krzyżowań linii mutantów z rodami hodowlanymi i z najlepszymi odmianami poszerzono pulę genową w postaci wyselekcjonowanych linii rekombinacyjnych typu HO, LL i HOLL o wysokiej zawartości tłuszczu i niskiej zawartości glukozyolanów .
- ❑ Wyselekcjonowane stabilne linie hodowlane: plenne, wysokotłuszczowe o zmienionych kwasach tłuszczowych i o obniżonej zawartości związków antyżywniowych (glukozyolanów) zostaną wykorzystane do hodowli nowych odmian populacyjnych i mieszańcowych rzepaku.
- ❑ Wdrożono patent do selekcji genotypów typu HO i HOLL pt. „Sekwencje nukleotydowe fragmentów niezmutowanych i zmutowanych alleli loci A i C genu desaturazy fad3 form – podwójnie ulepszonej (00) oraz niskolinolenowego mutantu (LLMut) roślin rzepaku ozimego, sekwencje nukleotydowe par starterów do amplifikacji loci A i C genu desaturazy fad3 (...)”, na który został udzielony Instytutowi Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Radzików, Polska przez Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej - Patent nr PAT.211126, dnia 11.05.2012 r.; twórcy wynalazku: Katarzyna Mikołajczyk, Iwona Bartkowiak-Broda, Mirosława Dabert, Wojciech M. Karłowski, Stanisław Spasibionek.
- ❑ Zastosowanie markerów genetycznych w hodowli zwiększyło efektywność i skuteczność selekcji. Stanowią one dogodne narzędzie selekcyjne, wspomagające i uzupełniające tradycyjne metody w oparciu o czaso- i pracochłonną analizę cech morfologicznych, fenologicznych i fenotypowych, których ekspresja ulega często modyfikującemu wpływowi środowiska.
- ❑ Uzyskane dotychczas wyniki z przeprowadzonych badań biochemicznych, molekularnych i doświadczeń polowych dały podstawę do kontynuowania badań ukierunkowanych na wytworzenie krajowej odmiany populacyjnej rzepaku ozimego o wysokiej zawartości tłuszczu i zmienionych proporcjach kwasów tłuszczowych przy jednocześnie odpowiedniej wartości rolniczej warunkującej jej praktyczną popularyzację w uprawie. 50 genotypów typu HOLL zostało włączonych do dalszych badań w ramach Badania Naukowego NR 3/2020/PSP0 (lata 2020-2023) „**Wytworzenie odmiany populacyjnej rzepaku ozimego o wysokiej zawartości tłuszczu i zmienionych proporcjach kwasów tłuszczowych**”, finansowanego przez Polskie Stowarzyszenie Producentów Oleju i Krajowy Ośrodek Wsparcia Rolnictwa.



Działalność naukowa

Wystąpienia ustne:

- Spasibionek S., Mikołajczyk K., Matuszczak M., Teresa Piętka. **Postęp w badaniach nad uzyskaniem odmian rzepaku ozimego o zmienionym składzie kwasów tłuszczowych w oleju.** XIII Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Nauka dla hodowli i nasiennictwa roślin uprawnych” Zakopane 31.01.-03.02.2017. Streszczenia str. 68-69.
- Mikołajczyk K., Spasibionek S., Cegielska-Taras T., Bartkowiak-Broda I.. **Development of HOLL winter rapeseed genotypes accompanied by MAS.** GCIRC Technical Meeting Alnarp, Sweden, 08–11.05.2017.
- Spasibionek S., Piętka T., Krótka K., Walkowiak M. **Analiza wartości hodowlanej i zróżnicowania genetycznego mutantów i rekombinantów rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.).** XI Międzynarodowe Sympozjum „Genetyka Ilościowa Roślin Uprawnych”, Świeradów Zdrój 07-09.06.2017 r. Streszczenia str. 51.
- Spasibionek S., Mikołajczyk K., Walkowiak M., Nowakowska J., Matuszczak M., Piętka T., Krótka K. **Postęp w badaniach nad uzyskaniem odmian rzepaku ozimego o nowej jakości oleju.** XXXIV Konferencja Naukowa „Rośliny Oleiste - Postępy w Genetyce, Hodowli, Technologii i Analityce Lipidów” Poznań 10-11. IV. 2018 r.
- S. Spasibionek, M. Walkowiak, K. Mikołajczyk, M. Matuszczak, T. Piętka. **Modyfikacje składu kwasów tłuszczowych w olejach nasion rzepaku, gorczycy białej i Inu oleistego.** XIV Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Nauka dla hodowli i nasiennictwa roślin uprawnych” Zakopane 05-08.02.2019 r. Biuletyn IHAR, Nr 285/2019. Streszczenie 117-119.

Prezentowane postery:

- S. Spasibionek, K. Mikołajczyk, T. Piętka, M. Matuszczak, I. Bartkowiak-Broda. **The use of a new gene pool for obtaining winter oilseed rape (*Brassica napus*L.) breeding lines with changed quality characteristics.** 14th IRC Saskatoon, Canada, 5-9.07.2015.
- S. Spasibionek, T. Piętka, K. Krótka, J. Krzymański. **Możliwości dalszego obniżania zawartości glukozyolanów w nasionach rzepaku podwójnie ulepszanego (*Brassica napus* L.)** XXXIII Konferencja Naukowa „Rośliny Oleiste - Postępy w Genetyce, Hodowli, Technologii i Analityce Lipidów” Poznań 5-6. 04.2016.
- K. Mikołajczyk, M. Dabert, S. Spasibionek, J. Bocianowski, J. Nowakowska, T. Cegielska-Taras, I. Bartkowiak-Broda. 2016. **Marker assisted breeding of new winter oilseed rape lines (*Brassica napus* L.) with changed seed oil fatty acid composition,** poster, 20th General Eucarpia General Congress, Zurich, Szwajcaria, 29.08. – 1.09.2016.
- Spasibionek S., Walkowiak M., Piętka T. **Zmienność zawartości glukozyolanów alifatycznych w nasionach nowych genotypów rzepaku ozimego.** XIII Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Nauka dla hodowli i nasiennictwa roślin uprawnych” Zakopane 31.01.-03.02.2017. Streszczenia str. 248.
- M. Matuszczak, S. Spasibionek, I. Tokarczuk, J. Nowakowska, K. Gacek, K. Mikołajczyk, I. Bartkowiak-Broda. **The use of CAPS marker to study the influence of mutated alleles of the *BnaA.FAD2* gene on the oleic acid content in seeds of winter rapeseed.** 15th International Rapeseed Congress, Berlin. 16 – 19.06.2019 r. Book of Abstracts, str. 266.
- M. Walkowiak, S. Spasibionek, K. Krótka, T. Piętka, K. Michalski. **Analiza genetycznego uwarunkowania cech ilościowych i jakościowych genotypów rzepaku ozimego.** XIV Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Nauka dla hodowli i nasiennictwa roślin uprawnych” Zakopane 05-08.02.2019 r. Biuletyn IHAR, Nr 285/2019. Streszczenie 347-348.



Publikacje naukowe

- SPASIBIONEK, S., WALKOWIAK, M., PIĘTKA, T., MICHALSKI, K., MIKOŁAJCZYK, K., & MATUSZCZAK, M. (2019). Modyfikacje składu kwasów tłuszczowych w olejach nasion rzepaku, gorczycy białej i lnu oleistego. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin*, (285), 117-119. <http://ojs.ihar.edu.pl/index.php/biul/article> (MEiN - 20pkt)
- Spasibionek, S., Mikołajczyk, K., Matuszczak, M., Walkowiak, M., & Nowakowska, J. (2019). Wykorzystanie nowej puli genowej dla uzyskania form rzepaku ozimego o zmienionych cechach jakościowych. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin*, (286), 203-206. <https://doi.org/10.37317/biul-2019-0046> (MEiN - 20pkt)
- Spasibionek S, Mikołajczyk K, Ćwiek–Kupczyńska H, Piętka T, Krótka K, Matuszczak M, Nowakowska J, Michalski K, Bartkowiak-Broda I. (2020) Marker assisted selection of new high oleic and low linolenic winter oilseed rape (*Brassica napus L.*) inbred lines revealing good agricultural value. *PLoS ONE* 15(6): e0233959. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233959>, IF 2.776 (MEiN – 100pkt.)
- Matuszczak M, Spasibionek S, Gacek K, Bartkowiak-Broda I. 2020. Cleaved amplified polymorphic sequences (CAPS) marker for identification of two mutant alleles of the rapeseed *BnaA.FAD2* gene. *Mol Biol Rep* 47: 7607–7621, <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05828-2>, IF 1.402 (MEiN – 70pkt.)