

## SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE

z realizacji zadania na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w 2015 roku

1. Tytuł zadania: **Badanie genomu rzepaku ozimego przy wykorzystaniu markerów molekularnych**

2. Kierownik zadania: prof. dr hab. Iwona Bartkowiak-Broda

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin PIB – Oddział w Poznaniu

Zakład Genetyki i Hodowli Roślin Oleistych

tel. 61 823 37 21; e-mail: [ibart@nico.ihar.poznan.pl](mailto:ibart@nico.ihar.poznan.pl)

3. Cele zadania

- charakterystyka molekularna kolekcji genotypów rzepaku ozimego IHAR-PIB, Oddz. Poznań z zastosowaniem markerów typu STR oraz markerów SCAR

- określenie dystansu genetycznego w oparciu o analizę genomów form rodzicielskich mieszańców F1 rzepaku pochodzących ze Spółki HR Strzelce, z zastosowaniem markerów typu AFLP oraz wdrażanie do tego typu analizy markerów STR

- charakterystyka fenotypowa badanych genotypów z kolekcji IHAR-PIB, Oddz. Poznań w doświadczeniach polowych

**3.1. Temat badawczy 1 Charakterystyka molekularna kolekcji genotypów rzepaku ozimego IHAR-PIB, Oddz. Poznań**

**Cel tematu badawczego 1**

Celem tego tematu było zbadanie struktury kolekcji genotypów rzepaku poprzez określenie podobieństwa genetycznego i wyznaczenie markerów molekularnych charakterystycznych dla badanych genotypów z kolekcji IHAR-PIB, Oddz. Poznań

**Material i metody**

Materiał roślinny obejmował 25 genotypów rzepaku ozimego zebranych w kolekcji PB16 i obejmujących polskie i zagraniczne odmiany populacyjne, genotypy rzepaku wytworzone w IHAR-PIB, Oddz. Poznań w wyniku wieloletnich prac badawczych i hodowlanych, jak również zarejestrowane polskie i zagraniczne odmiany populacyjne i mieszańcowe zgromadzone w kolekcji IHAR-PIB, Oddz. Poznań.

Genomowy DNA wyizolowano metodą ekstrakcji buforem CTAB według Doyle'a (1990); stężenie prób zostało ujednolicone do ok. 50-100 ng/ µl. Obecność męsko-sterylnej cytoplazmy typu *ogura* (CMS *ogura*), genu restorera *Rfo* oraz form allelicznych genów desaturaz FAD3 i FAD2 monitorowano, odpowiednio: markerami typu SCAR oraz metodą SNaPshot w systemie 'multipleks fluorescencyjny' (Mikołajczyk i in., 2011), jak również kodominującymi markerami typu CAPS (Falentin i in., 2007).

Wybrano 25 loci mikrosatelitarnych (Li i in., 2013), innych niż analizowane w roku poprzednim. Analizę prowadzono metodą amplifikacji PCR z zastosowaniem par specyficznych starterów w systemie 'M13-tailing'. Produkty amplifikacji rozdzielano metodą elektroforezy kapilarnej z zastosowaniem ABI Prism 3130XL GeneticAnalyser firmy Applied Biosystems w systemie wielokrotnym i odczytywano przy użyciu oprogramowania PeakScanner, a następnie zapisano w systemie binarnym i analizowano z zastosowaniem oprogramowania GenStat.

**Wyniki**

Scharakteryzowano poszczególne genotypy badanej kolekcji PB16 ze względu na występowanie męsko-sterylnej cytoplazmy CMS *ogura*, genu restorera *Rfo* oraz niezmutowanych (odpowiednio 'A' i 'C') i zmutowanych ('a' i 'c') alleli genów desaturazy FAD3 w genomach A i C rzepaku, a także form allelicznych genów desaturazy FAD2 w genomie A rzepaku. W oparciu o analizy z zastosowaniem markerów mikrosatelitarnych (STR) wyznaczono wartości podobieństwa genetycznego pomiędzy badanymi obiektami, które wyrażono graficznie w formie dendrogramu.

Po zbiorze i ocenie materiału siewnego wybrano kolejnych 25 genotypów (kolekcja PB17) do doświadczeń polowych w następnym sezonie wegetacyjnym, 2016/ 17. W celu sprawdzenia czystości wybranych genotypów, wyizolowano genomowy DNA oraz przeprowadzono analizy na obecność CMS *ogura*, genu restorera *Rfo* oraz form allelicznych genów desaturaz FAD2 i FAD3.

## Dyskusja

Markery mikrosatelitarne stanowią dogodne narzędzie analizy genotypów, szczególnie w badaniach mapowania QTL (Piquemal i in.; 2005; Delourme i in.; 2006; Basunanda i in., 2010) i asocjacyjnego (Hasan i in., 2006; Basunanda i in., 2007). Stosowane są w wielu ośrodkach do badań podobieństwa i zróżnicowania genetycznego w obrębie kolekcji genotypów (Hasan i in., 2008), co umożliwia badanie struktury populacji, a także optymalny dobór form rodzicielskich do dalszych krzyżowań (Zhao i in., 2007; Mikołajczyk, 2007; Snowden i in., 2009). Ponadto, są szczególnie istotne do charakterystyki nowych genotypów wytworzonych na drodze resyntezy z gatunków podstawowych (Yang i in., 2016). Analizy markerami mikrosatelitarnymi stanowią istotne uzupełnienie nowych, wysokowydajnych metod analizy genomu i fenomu. Ze względu na ich uniwersalny charakter, mikrosatelity umożliwiają zestawianie wyników analiz genotypów różnych populacji i kolekcji (Mikołajczyk, 2007; 2008; Olejniczak i Mikołajczyk, 2013; Nurasanah i Ecke., 2016). W toku realizowanych prac otrzymano powtarzalne i jednoznaczne wyniki genotypowania w postaci produktów amplifikacji poszczególnych loci o zdefiniowanych długościach, zgodnych z danymi literaturowymi. Dotąd, w tego typu badaniach prowadzonych w IHAR-PIB, Oddział w Poznaniu, stosowano markery RAPD (Bartkowiak-Broda i in., 2003; Nowakowska i in., 2004; Bocianowski i in., 2014), oraz AFLP (Liersch i in., 2016). Obecne badania mają na celu wdrożenie analiz markerami mikrosatelitarnymi i zastosowanie ich do określania struktury populacji, wzorów prążkowych genotypów rzepaku, a także badań asocjacyjnych.

## Wnioski

Dotąd, w wyniku badań z zastosowaniem markerów loci STR w Temacie badawczym 1., zdefiniowano pulę 50 loci mikrosatelitarnych dogodnych do badań podobieństwa i zróżnicowania genetycznego pomiędzy różnymi genotypami form hodowlanych rzepaku. W roku ubiegłym - 25, i kolejne 25 - w bieżącym. Znaczna większość tych markerów wykazywała polimorfizm w obrębie badanych genotypów i cechowała się powtarzalnością. Znajdą one zastosowanie do analiz kolejnej puli 25 nowych genotypów w nowej serii doświadczeń polowych i genetycznych. Ponadto, zostaną wykorzystane do planowanych badań zróżnicowania genetycznego w obrębie badanej kolekcji genotypów rzepaku w perspektywie analiz asocjacyjnych z cechami fenotypowymi związanymi ze strukturą plonu oraz cechami jakościowymi, wpływającymi na wartość agronomiczną poszczególnych genotypów. Jednak konieczne jest dalsze poszerzanie stosowanej puli loci STR, ponieważ zwiększa to precyzyjność i wiarygodność stosowanej metody. W dalszej realizacji projektu planowane jest zastosowanie kolejnych markerów loci STR.

## 3.2. Określenie dystansu genetycznego w oparciu o analizę genomów linii rodzicielskich mieszańców F<sub>1</sub> rzepaku ozimego odmian rzepaku w hodowli heterozyjnej Spółki HR Strzelce, Oddział Borowo.

### Cel tematu badawczego 2

Celem tematu było poznanie na poziomie molekularnym zróżnicowania genetycznego populacji linii rodzicielskich mieszańców F<sub>1</sub> z męsko-sterylną cytoplazmą typu *ogura* oraz z genem restorerem *Rfo*, a także linii dopełniających, pochodzących z materiałów hodowlanych Spółki HR Strzelce - Grupa IHAR.

### Material i metody

Materiał roślinny stanowiło 30 nowych linii wykorzystywanych w hodowli odmian mieszańcowych F1 z wykorzystaniem systemu męskiej sterility typu *ogura*, znajdujące się w kolekcji Spółki HR Strzelce - Grupa IHAR. Kolekcja ta obejmowała: linie CMS *ogura*, linie z genem restorerem (*Rfo*), a także linie dopełniające dla CMS *ogura* i hodowlane.

Genomowy DNA wyizolowano z sześciodniowych liścieni lub młodych liści rzepaku metodą ekstrakcji buforem CTAB (Doyle i Doyle 1990). Jakość i stężenie otrzymanych prób DNA oceniano stosując elektroforezę w 0.8% żelu agarozowym wybarwianym Roti® - GelStain (Carl Roth GmbH +Co. KG Karlsruhe, Germany), a także metodą analizy spektrofotometrycznej przy długościach fal 260, 280 i 234 nm (NanoDrop 2000, ThermoFisher Scientific).

Obecność męsko-sterylnej cytoplazmy typu *ogura* oraz genu restorera *Rfo* badano przy użyciu specyficznych markerów SCAR w systemie multiplex (Mikołajczyk i in., 2010).

Analizę markerami AFLP (Vos i in., 1995) prowadzono z zastosowaniem kombinacji 10 starterów AFLP znakowanych fluorescencyjnie, opartych na enzymach restrykcyjnych *EcoRI* i *MseI*, przy czym reakcję preamplifikacji weryfikowano stosując elektroforezę w 1,5% żelu agarozowym. Otrzymane produkty analizowano metodą elektroforezy kapilarnej w systemie ABI PRISM 3130XL, w kapilarach o długości 36 cm, polimerze POP7, stosując filtr G5 i standardowy moduł elektroforezy FragmentAnalysis\_36\_POP7, a następnie odczytywano przy użyciu oprogramowania PeakScanner1.0.

Do badań z zastosowaniem markerów mikrosatelitarnych wykorzystano przetestowane w ubiegłym roku pary starterów specyficznych dla 25 loci, według metody opisanej w temacie badawczym nr 1.

## Wyniki

Na podstawie analizy molekularnej typu AFLP 30 genotypów rzepaku ozimego z zastosowaniem 10 kombinacji starterów AFLP otrzymano 441 produktów amplifikacji w tym 241 polimorficznych. Jeden starter generował średnio 44,1 markera. Liczba polimorficznych fragmentów DNA dla pojedynczego startera wahała się od 5 do 47. W reakcji ze starterem E-AGG JOE : M-CAT otrzymano największą liczbę polimorficznych fragmentów DNA —47. Najwyższy poziom polimorfizmu – 82,5% otrzymano dla kombinacji starterów E-ACC NED : M-CTC. Poziom polimorfizmu dla poszczególnych kombinacji starterów wahał się od 9,8% do 82,5%. Wszystkie kombinacje starterów różnicowały badane genotypy rzepaku ozimego. Zmienność genetyczną badanych obiektów oszacowano stosując miarę Nei i Li (1979), która posłużyła do hierarchicznego grupowania 30 genotypów metodą średnich połączeń. Dendrogram utworzony na podstawie markerów AFLP dzieli badane genotypy na trzy zasadnicze grupy. W grupie pierwszej znajduje się 17 genotypów, w tym 8 linii z genem restorerem (*Rfo*), dwie odmiany Alister i Kuga oraz 7 linii hodowlanych. Drugą, najmniej liczną grupę, 7 genotypów, stanowią linie z męsko-sterylną cytoplazmą typu *ogura*. Trzeci kłaster tworzą linie dopełniające dla systemu CMS *ogura* oraz dwie odmiany i linie hodowlane rzepaku ozimego.

W oparciu o analizy markerami mikrosatelitarnymi wyznaczono wartości podobieństw genetycznych pomiędzy badanymi obiektami oraz wyrażono graficznie w formie dendrogramu. Na tej podstawie można wyróżnić dwie zasadnicze grupy podobieństw. Jedna z nich obejmuje część badanych genotypów linii hodowlanych, a druga – linie z męsko-sterylną cytoplazmą CMS *ogura*, a także linie dopełniające i pozostałe odmiany hodowlane oraz linie z genem *Rfo*. Ponadto, linie CMS dzielą się na dwie kategorie, z których jedna stanowi odrębną grupę, druga natomiast wykazuje podobieństwo do linii dopełniających oraz pozostałych odmian hodowlanych.

Ponadto, w badanych liniach rzepaku zweryfikowano i potwierdzono występowanie męsko-sterylnej cytoplazmy CMS *ogura* oraz genu restorera *Rfo*.

## Dyskusja

Warunkiem koniecznym do osiągnięcia postępu biologicznego w rolnictwie jest wykorzystanie w programach hodowlanych metod biometrycznych i nowoczesnych technik biotechnologicznych opartych na najnowszej wiedzy z zakresu biologii i genetyki (Święcicki i in. 2011; Jarska i in. 2015; Świtoński i Malepszy 2012). W procesie hodowlanym odmian mieszańcowych rzepaku ozimego poszukuje się metod, które pozwoliłyby na wczesną selekcję komponentów rodzicielskich

mieszańców F1. Na podstawie badań wykonanych w różnych gatunkach roślin uprawnych wykazano, że jednym z elementów pozwalających na uzyskanie wysokiego efektu heterozji w plonie nasion jest dystans genetyczny form rodzicielskich wykorzystywanych do tworzenia mieszańca F1 (Fu i in. 2014). Efektem prac z zastosowaniem markerów molekularnych jest wykazanie zróżnicowania genetycznego materiałów hodowlanych pozwalających na selekcję komponentów rodzicielskich do tworzenia odmian mieszańcowych, czego przykładem jest odmiana mieszańcowa zrestorowana Poznaniak utworzona w oparciu o system CMS *ogura*, której komponenty rodzicielskie (MS 83 x BR26) wyselekcjonowano z odrębnych klastrow (Liersch i in. 2012). Uzyskane wyniki badań zarówno w 2015 roku jak i bieżącym roku wskazują na możliwość wykorzystania markerów molekularnych AFLP oraz STR do oceny zmienności genetycznej linii rodzicielskich mieszańców. Potwierdzają to także wyniki badań uzyskanych na różnych kolekcjach genotypów rzepaku analizowanych za pomocą markerów molekularnych typu AFLP (Faltusová i in. 2011; Li i in. 2011; Liersch i in. 2016; Szała i in. 2016), a także STR (Nurasanah i Ecke 2016).

## **Wnioski**

Analiza molekularna linii rodzicielskich mieszańców F1 rzepaku ozimego pozwoliła na oszacowanie dystansu genetycznego między nimi i pogrupowała je zgodnie z pochodzeniem. Zatem otrzymane markery molekularne typu AFLP i STR znajdują zastosowanie w analizach asocjacyjnych oraz poszukiwaniu związku pomiędzy poszczególnymi markerami a zmiennością fenotypową genotypów rzepaku ozimego.

### **3.3. Temat badawczy 3: Charakterystyka fenotypowa badanych genotypów z kolekcji IHAR-PIB Oddz. Poznań**

#### **Cel tematu badawczego 3**

Celem tematu była ocena zmienności fenotypowej kolekcji PB16 obejmującej 25 genotypów rzepaku w wielopowtórzeniowych doświadczeniach polowych z uwzględnieniem warunków środowiskowych oraz rozmnożenie kolejnych 25 genotypów (kolekcja PB17) w celu otrzymania nasion do dalszych badań.

#### **Materiał i metody**

Materiał roślinny stanowiło 25 linii rzepaku kolekcji PB16, będącej obiektem badań w Temacie 1., obejmującej genotypy wytworzone i znajdujące się w kolekcji IHAR-PIB, Oddz. Poznań: linie CMS *ogura* i linie restorery *Rfo*, linie podwojonych haploidów o zmienionym składzie kwasów tłuszczowych w oleju nasion, linie DH o żółtej barwie nasion, polskie i zagraniczne odmiany populacyjne, a także linie rzepaku otrzymane w wyniku resyntezy z gatunków podstawowych.

Doświadczenia polowe prowadzono na polach doświadczalnych HR Smolice Oddział Łagiewniki i HR Strzelce Oddział w Borowie. W sezonie wegetacyjnym 2016, w okresie od marca do zbioru wykonano zabiegi uprawowe i pielęgnacyjne zgodnie z obowiązującą metodyką.

Obserwacje fenotypowe i fenologiczne obejmowały: bonitację przezimowania, obsadę roślin po zimie, pomiar zawartości chlorofilu w liściach, oznaczenie daty początku i końca kwitnienia, pomiar wysokości roślin oraz bonitację wylegania. Ocena cech struktury plonu obejmowała: liczbę rozgałęzień, liczbę łuszczyń na roślinie, długość łuszczyń, liczbę nasion w łuszczyńce oraz masę 1000 nasion. Po zbiorze oceniono plon nasion z całych poletek (przeliczony na jednostkę  $dt \cdot ha^{-1}$ ), a w zebranych nasionach zbadano cechy biochemiczne: zawartość tłuszczu (NMR), skład kwasów tłuszczowych (chromatografia gazowa), zawartość i skład glukozydów (chromatografia gazowa), a zawartość włókna pokarmowego frakcji ADF i NDF, białka i tłuszczu metodą bliskiej podczerwieni (NIRS).

Na poletkach doświadczalnych IHAR w Poznaniu rozmnożono kolejne genotypy (kolekcja PB17), w celu założenia nowej serii doświadczeń na polach doświadczalnych HR Smolice Oddział Łagiewniki i HR Strzelce Oddział w Borowie. Przed siewem zbadano cechy biochemiczne nasion. Ponadto, zweryfikowano obecność genu restorera *Rfo* i męsko-sterylnej cytoplazmy typu *ogura*, jak również określono formy alleliczne genów desaturaz FAD2 i FAD3, z zastosowaniem odpowiednich markerów genetycznych; analizy kolekcji PB17 markerami genetycznymi przedstawiono w Temacie 1.

Doświadczenia polowe wysiano w układzie bloków kompletnie zrandomizowanych, w czterech powtórzeniach. Na polu doświadczalnym HR Smolice Oddział Łagiewniki obiekty wysiano 29.08.2016, a HR Strzelce – Grupa IHAR, Oddział Borowo 27.08.2016. W doświadczeniach polowych w obu miejscowościach wykonano: ocenę punktową wschodów i stanu przed zimą w skali 1-9 na wszystkich obiektach doświadczenia, określono obsadę roślin przed zimą oraz zawartość chlorofilu w roślinach. Pomiar zawartości chlorofilu w liściach wykonano przy użyciu chlorometru N tester SPAD-502 (Soil Plant Analysis Development).

## Wyniki

Wszystkie badane genotypy kolekcji PB16 wykazywały istotne różnice pod względem plonu nasion, cech struktury plonu oraz innych cech fenotypowych. Najniżej plonowała linia PN43 o wysokiej zawartości kwasu oleinowego, a najwyżej odmiana rzepaku ozimego PN 52 Sherlock.

Analiza chemiczna składu kwasów tłuszczowych nasion uwidoczniła również dużą zmienność zawartości kwasów tłuszczowych: oleinowego (od 59,68 do 76,10%), linolowego (od 9,05 do 22,80%), linolenowego (od 4,90 do 11,28%) oraz tłuszczu w nasionach (od 42,01 do 47,27%). Duże zróżnicowanie badane obiekty wykazały także w zawartości sumy glukozydów (od 5,63 do 18,25  $\mu\text{mol g}^{-1}$ ) oraz glukozydów alkenowych (od 2,70 do 12,75  $\mu\text{mol g}^{-1}$ ).

Analizy nasion wykonane metodą bliskiej podczerwieni potwierdziły zróżnicowanie jakościowe badanych genotypów pod względem zawartości białka i włókna (ADF, NDF). Zawartość neutralnej frakcji włókna (NDF) wahała się od 20,29% dla linii CMS PN40 do 27,00% dla odmiany Starter PN 33, a kwaśnej frakcji (ADF) od 16,66% dla genotypu o żółtej barwie okrywy nasiennej PN 36 – Z114 do 21,90% dla genotypu o czarnej barwie okrywy nasiennej PN 52 – odmiana Sherlock. Zawartość białka wahała się od 20,08% dla PN 31- odmiana Monolit do 23,24% dla PN 50- linia resyntetyczna rzepaku S1.

Wykonana przed siewem doświadczeń ocena biochemiczna nasion rzepaku 25 badanych obiektów (PB17) wykazała ich zróżnicowanie pod względem: procentowej zawartości tłuszczu w nasionach w zakresie od 36,4 do 49,8%, zawartości włókna NDF do 19,6 do 29,7%, zawartości włókna ADF do 11,6 do 22,7% oraz zawartości białka ogólnego w zakresie od 20,6 do 25,2%.

Analiza biochemiczna składu kwasów tłuszczowych nasion w obrębie kolekcji PB17 uwidoczniła również dużą zmienność zawartości: kwasu oleinowego (56,2 - 79,3%), kwasu linolowego (7,5 - 25,3%), kwasu linolenowego (3,5 - 12,2%). Duże zróżnicowanie badane obiekty wykazały także pod względem zawartości sumy glukozydów (3,1 - 25,5  $\mu\text{mol g}^{-1}$ ) oraz glukozydów alkenowych (1,3 - 21,7  $\mu\text{mol g}^{-1}$ ).

Istotne zróżnicowanie obiektów stwierdzono w stanie roślin przed zimą na poletkach doświadczalnych oraz w zawartości chlorofilu w liściach badanych obiektów, która kształtowała się w zakresie od 40,7 do 48,8 jedn. SPAD.

W celu określenia związku obserwowanych polimorficznych markerów AFLP z cechami fenotypowymi rzepaku kolekcji PB16, zidentyfikowanych w roku 2015, zastosowano analizę regresji (Hastie i Tibshirani 1990). Badane genotypy różniły się poziomem plonowania oraz składem chemicznym nasion. Do określenia związku markerów z wybranymi cechami fenotypowymi wykorzystano 362 markery. Procent całkowitej zmienności fenotypowej wyjaśnianej przez poszczególne markery wynosił: dla plonu nasion od 20,1 do 45,7%, procentowej zawartości oleju w nasionach od 16,0 do 30,1%, zawartości kwasu oleinowego od 18,5 do 36%, kwasu linolowego od 18,5 do 47,8%, kwasu linolenowego od 18,1 do 42,1%, sumy glukozydów od 16,0 do 44,8%, a glukozydów alkenowych od 13,2 do 43,8%. Analizując plon nasion stwierdzono, że 5 markerów było związanych z wyższym plonowaniem genotypów rzepaku. Czternaście markerów było związanych z zawartością tłuszczu w nasionach rzepaku, z czego tylko jeden z jego niższą zawartością. Dla najważniejszych kwasów tłuszczowych: oleinowego C18:1 - siedem markerów było związanych z wyższą zawartością tego kwasu; dla linolowego C18:2 wszystkie markery miały wartość ujemną co oznaczało niższą zawartość tego kwasu w oleju nasion, a dla linolenowego C18:3 - 5 markerów związanych było z podwyższeniem wartości tej cechy, a trzy z jej obniżeniem. Dziewięć markerów było związanych z zawartością glukozydów, a dziesięć z zawartością glukozydów

alkenowych w nasionach. Blisko połowa markerów była związana z obniżeniem zawartości tych związków w nasionach rzepaku.

## **Dyskusja**

W przeprowadzonych doświadczeniach polowych kolekcji PB16 stwierdzono istotne zróżnicowanie pod względem większości badanych cech. Wyniki otrzymane w doświadczeniu są zgodne z wcześniej uzyskanymi przez Wójtowicza i Muśnickiego (2001), Szałę (2012) oraz Nowosad i in. (2016). Istotne zróżnicowanie analizowanych w doświadczeniach genotypów odnotowano dla plonu, zawartości tłuszczu, białka i włókna oraz składu kwasów tłuszczowych i zawartości glukozydów. Cechy te są modyfikowane także przez zmienne warunki środowiska w okresie dojrzewania nasion (Friedt i Snowden 2009; Liersch i in. 2013; Spasibionek 2013).

W przeprowadzonych w projekcie badaniach 25 genotypów rzepaku uzyskano 8 markerów AFLP związanych z zawartością tych związków w nasionach. Szczególną wartość będą miały markery molekularne zasocjowane z obniżeniem zawartości związków antyżywnościowych. Ponadto stwierdzono związek markerów molekularnych z zawartością tłuszczu w nasionach oraz kwasami tłuszczowymi: oleinowym, linolowym i linolenowym. Dla procentowej zawartości tłuszczu w nasionach oraz kwasu oleinowego były to markery związane z wyższą zawartością, a dla kwasu linolowego z obniżoną zawartością tego kwasu w oleju z nasion rzepaku. Jeżeli otrzymane wyniki się potwierdzą w dalszych badaniach to niektóre z tych markerów będą mogły być pomocne w selekcji na poszczególne cechy.

## **Wnioski**

Badany materiał roślinny wykazuje duże zróżnicowanie fenotypowe niezbędne do analiz fenotypowania i genotypowania. Wyniki uzyskane na podstawie badań w czterech środowiskach pozwoliły na wstępne wyselekcjonowanie markerów związanych z wybranymi cechami fenotypowymi. W celu potwierdzenia związku poszczególnych markerów z plonem nasion i pozostałymi cechami fenotypowymi rzepaku badania będą kontynuowane w kolejnym sezonie.