

Streszczenie 2018

RZEPAK- Zadanie 51

Prof. dr hab. Teresa Cegielska-Taras, dr Katarzyna Sosnowska, dr Laurencja Szała

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin PIB, Radzików, 05-870 Błonie, Oddział w Poznaniu, Zakład Genetyki i Hodowli Roślin Oleistych, Pracownia Kultur Tkankowych

Tytuł zadania: Wprowadzanie nowych alleli z pul genowych różnych gatunków z rodzaju *Brassica* do bazy genowej rzepaku ozimego

Temat 1 Badania nad naturą samoniezgodności wybranych linii semi-RS

Celem zadania były badania nad zdolnością do wytwarzania nasion przez każdą roślinę uzyskaną z krzyżowań rzepaku resyntetyzowanego (RS) oraz rzepaku naturalnego podwójnie ulepszanego (00) poprzez analizę prawidłowego wykształcania pyłku i badanie zdolności do samozapylenia roślin semi-resyntetyzowanych (semi-RS).

Żywotność ziaren pyłku czterech podwójnie ulepszonych (00) linii rzepaku semi-RS: S1, S2, S3, S4 określano barwiąc je 1% acetokarminem, a następnie licząc przy użyciu mikroskopu świetlnego ziarna żywotne i nieżywotne w 10 polach widzenia. U trzech linii semi-RS: S1, S2, S4 stwierdzono żywotność pyłku od 72,3% do 87,0%, a u linii S3 – 49,3%.

Po kilkakrotnym ręcznym wspomaganiu zapylenia genotypów własnym pyłkiem o niskiej żywotności ziaren są duże szanse na uzyskanie niewielkiej liczby nasion.

Temat 2

Badania nad krzyżowaniem roślin rzepaku RS z rzepakiem naturalnym 00

Celem badań jest uzyskanie mieszańców F1 z krzyżowań rzepaku RS i rzepaku naturalnego (00), wysokopiennego, obecnie uprawianego.

Do krzyżowań wybrano 2 linie rzepaku RS: RS-61 i RS-68 oraz dwie odmiany rzepaku naturalnego: tolerancyjną na kiłę kapusty odm. Platinium i charakteryzującą się dużą zdolnością plonotwórczą odm. Architect. W wyniku krzyżowania odm. Platinium z linią RS-68 uzyskano zadawalającą liczbę nasion. Natomiast z kombinacji krzyżówkowej odm. Architect i linią RS-61 otrzymano zaledwie kilka nasion.

W mieszańcach rzepaku RS z odmianami rzepaku 00 mogą występować zaburzenia w prawidłowym rozwoju nasion. Linie RS niosą bowiem geny blokujące samozapylenie. Jednakże barierę tę można czasami pokonać poprzez krzyżowanie ręczne w zamkniętym pąku kwiatowym.

Temat 3

Androgeniza *in vitro* mieszańców F1 oraz uzyskanie populacji linii DH semi-RS

Celem badań było uzyskanie populacji androgenicznych roślin rzepaku semi-RS.

Dwie populacje linii podwojonych haploidów rzepaku semi-RS: D-28 i D-29 uzyskano metodą androgenyzy *in vitro* w kulturze izolowanych mikrospor z dwóch mieszańców F1. Mieszańce F1 powstałe z krzyżowania linii RS-63 i RS-68 z rzepakiem ozimym (00) o symbolach R2 i R3. Populacja D-29 obejmowała 75 androgenicznych roślin. Analiza cytometryczna wykazała, że ok. 50% uzyskanych roślin była haploidalnych. Populacja D-28 składała się z 64 roślin, spośród których 54 były podwojonymi haploidami (84,5%).

Wydajność androgenyzy *in vitro* w kulturze izolowanych mikrospor roślin uzyskanych z udziałem rzepaku RS była niższa od wydajności androgenyzy *in vitro* prowadzonej z mikrospor rzepaku naturalnego.

Temat 4

Analiza biochemiczna nasion linii DH rzepaku semi-RS

Celem badań była analiza biochemiczna zawartości glukozyolanów w śrucie i kwasu erukowego w oleju nasion oraz selekcja linii DH rzepaku semi-RS podwójnie ulepszanego zeroerukowych i o niskiej zawartości glukozyolanów

Z populacji D-25 uzyskanej z mieszańca F1 otrzymanego z krzyżowania odm. Lohana i linią RS-69 zebrano nasiona w ilości wystarczającej na wykonanie analiz biochemicznych z 30 linii DH semi-RS. Natomiast z populacji D-23 otrzymanej z mieszańca F1 z krzyżowania odm. Arot i i linii RS 69

zebrano nasiona w odpowiedniej ilości tylko z 20 linii DH semi-RS. W analizowanym materiale roślinnym zawartość kwasu erukowego wahała się od 0,0 do 51,9%, a zawartość glukozyolanów od 4,7 do 112,6 $\mu\text{mol/g}$ nasion. W badanym materiale 10 linii semi-RS pozbawionych było kwasu erukowego, a 6 linii posiadało dopuszczalną zawartość glukozyolanów, ale tylko jedna linia semi-RS (D25/25) spełniała kryteria rzepaku podwójnie ulepszanego.

Populacje androgenicznych roślin pochodzące z krzyżowania rzepaku naturalnego i linii rzepaku resyntetyzowanego powinny być liczne z uwagi na wysoką częstotliwość występowania genów samoniezgodności wpływających na zawiązywanie nasion, a także genów warunkujących wysokie zawartości kwasu erukowego i glukozyolanów w nasionach.

Temat 5

Genotypowanie uzyskanego „nowego” genetycznie rzepaku poprzez sekwencjonowanie nowej generacji (NGS)

Celem badań było przygotowanie do sekwencjonowania wybranych roślin rzepaku RS, ich linii rodzicielskich oraz rzepaku naturalnego.

Wybrano 24 genotypy: 7 linii rzepaku RS i 10 ich form rodzicielskich oraz 7 genotypów rzepaku naturalnego. Izolację DNA wykonano zmodyfikowaną metodą z ciekłym azotem oraz buforem CTAB (Doyle i Doyle 1990). DNA wytrącano za pomocą izopropanolu, a następnie płukano w 70% etanolu i rozpuszczano w buforze TE.

W 2018 roku przedstawiono uzyskane wyniki w programie PB51 na następujących konferencjach:

1/ 21st Crucifer Genetics Conference –Brassica 2018, 1-4 lipca 2018 r., Saint Malo, Francja

Abstract - https://colloque.inra.fr/brassica2018/content/download/3856/39661/version/1/file/abstract_book_poster.pdf

Introduction of resynthesized *B. napus* for breeding of winter oilseed rape.

Szała L., Cegielska-Taras, Sosnowska K., Liersch A., Popławska W.- plakat P-109, str.11

2/ XV Ogólnopolska Konferencja *In Vitro* i Biotechnologii Roślin, 17-20 września 2018 r., Rogów

Abstrakt - BioTechnologia, vol. 99 (3), str. 290 - plakat 20

In vitro and in vivo induction of chromosome doubling of *Brassica napus* L. haploids

Szała L., Sosnowska K.

3/ 34 Konferencja Rośliny Oleiste, 10-11 kwietnia 2018 r., Poznań-wykład

Abstrakt - Rośliny Oleiste str. 17-18

Development a new gene pool for the restorer lines based on resynthesized oilseed rape

Szała L., Cegielska-Taras T., Sosnowska K., Popławska W., Liersch A., Majchrzak E., Stefanowicz M., Biliński Z., Szymański T., Bocianowski J., Jajor E., Perek A., Korbas M., Adamska E., Kaczmarek Z.