

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

Kierownik tematu: prof. dr hab. Teresa Cegielska-Taras, Zakład Genetyki Hodowli Roślin Oleistych IHAR-PIB Oddział w Poznaniu

Temat badawczy 1

Otrzymanie roślin mieszańcowych z krzyżowań gatunków diploidalnych: *Brassica rapa* i *Brassica oleracea*

Celem badań było uzyskanie nowych roślin rzepaku resyntetyzowanego

Materiałem do krzyżowania oddalonego były podgatunki: *Brassica rapa*: rzepik ozimy Cr 3389, Cr 1600 i kapusta pekińska odm. Kilakin oraz *Brassica oleracea*: jarmuż, między którymi występują bariery krzyżowalności.

Do zapylenia w warunkach *in vivo* wybierano pąki kwiatowe *B. rapa* w stadium tuż przed otwarciem kwiatu. W każdej kombinacji *Brassica rapa* była forma mateczna, a *Brassica oleracea* formą ojcowską, zapylano po 20 słupków. Po 10-15 dniach od zapylenia izolowano jedynie powiększone zalążki, które wykładano na pożywkę MS z dodatkiem wody kokosowej. Po następnych kilku dniach wyizolowano trzy zarodki i przeniesiono je na świeżą pożywkę. Po kolejnych pasażach uzyskano z nich prawidłowo wykształcone pędy, które ukorzeniano na pożywce z IBA. W jednej kombinacji krzyżówkowej z wyłożonych zalążków nie rozwinął się żaden zarodek. Uzyskana wydajność otrzymania trzech wykształconych roślin z wyłożonych 20 zalążków jest zadawalająca.

Opracowane metody kultur *in vitro* umożliwiły uzyskanie nowych genotypów *B. napus* w procesie resyntezy rzepaku z polimorficznych gatunków rodzicielskich *B. rapa* i *B. oleracea*.

Temat badawczy 2

Uzyskanie roślin mieszańcowych z krzyżowań gatunków diploidalnych: *Brassica rapa* i *Brassica oleracea*

Celem badawczym było oszacowanie zdolności wytwarzania nasion przez każdą roślinę uzyskaną z krzyżowania międzygatunkowego poprzez analizę prawidłowego wykształcenia pyłku i badanie zdolności do samozapylenia roślin mieszańcowych.

Rośliny uzyskane z krzyżowania międzygatunkowego po okresie jarowizacji poddano badaniu zawartości jądrowego DNA za pomocą cytometru przepływowego. Analiza cytometryczna wykazała, że badane rośliny otrzymane w wyniku krzyżowania międzygatunkowego były mieszańcami - rzepakiem resyntetyzowanym (RS). Rośliny rzepaku RS wykazywały często nieprawidłową budowę kwiatu oraz samoniezgodność powoduje to zaburzenia w rozwoju nasion i jest przyczyną nie uzyskania nasion z każdej mieszańcowej rośliny. Jednym ze wskaźników trudności w samozapyleniu jest analiza żywotności ziaren pyłku. Analiza żywotności ziaren pyłku wykazała bardzo zróżnicowane wartości od 52,9% do 84,8%, a rośliny odmiany kontrolnej charakteryzowały się wartością 96,2%. Nie zawsze funkcjonalne ziarna pyłku doprowadzały do pozytywnego zapylenia i wytworzenia nasion. Zaobserwowano częste występowanie zjawiska samoniezgodności – braku zawiązywania nasion mimo prawidłowo wykształconych kwiatów i wysokiej żywotności pyłku. Obserwowano także występowanie przedślupności, a także wykształcenie zredukowanych pylników lub słaby rozwój zarówno słupków jak i pylników.

Nieprawidłowa budowa kwiatu oraz samoniezgodność mogą powodować zaburzenia w rozwoju nasion i być przyczyną nie uzyskania nasion z każdej mieszańcowej rośliny. Jednym ze wskaźników przyczyny trudności w samozapyleniu jest analiza żywotności ziaren pyłku.

Temat badawczy 3

Krzyżowanie roślin rzepaku resyntetyzowanego z rzepakiem naturalnym, podwójnie ulepszonym

Celem badań było uzyskanie nasion z mieszańca F_1 otrzymanego z krzyżowań rzepaku resyntetyzowanego i rzepaku naturalnego podwójnie ulepszanego o korzystnych cechach użytkowych.

Bezpośrednie użycie w hodowli genotypów rzepaku resyntetyzowanego jest niemożliwe, ponieważ może powodować wprowadzenie niepożądanych alleli. Nasiona rzepaku resyntetyzowanego charakteryzują się niską zawartością oleju oraz wysoką zawartością, zarówno kwasu erukowego w oleju jak i wysoką zawartością glukozyzolanów w śrucie, a także niskim plonem nasion. Te cechy uniemożliwiają bezpośrednie włączenie rzepaku RS do tworzenia nowych kreacji hodowlanych. Natomiast tworzenie linii semi-RS poprzez krzyżowanie rzepaku RS z rzepakiem naturalnym podwójnie ulepszonym może przynieść pozytywne efekty. Wykonano obukierunkowe krzyżowania między dwoma liniami rzepaku RS: RS-68, RS-69 a dwoma odmianami naturalnego rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego Platinium i Tosca. Prawidłowo wykształcone nasiona zebrano z trzech mieszańców F_1 : RS 68 x odm. Platinium, RS69 x odm. Platinium, odm. Tosca x RS68. Z mieszańca RS x Tosca uzyskano niewiele nasion nieprawidłowo wykształconych.

Jedną z wielu możliwości wprowadzania rzepaku resyntetyzowanego do hodowli twórczej jest krzyżowanie linii RS z rzepakiem naturalnym podwójnie ulepszonym.

Temat badawczy 4

Badania nad przygotowaniem roślin dawców mikrospor oraz androgena *in vitro*

Celem badań było przygotowanie roślin dawców mikrospor do przeprowadzenia androgenezy *in vitro* i uzyskania populacji linii DH semi-RS, spośród których będzie można wyselekcjonować linie DH semi-RS podwójnie ulepszone.

Jako dawców mikrospor w procesie androgenezy *in vitro* wybrano dwa mieszańce F_1 : odm. Lohana x RS63 oraz odm. Arot x RS68. Materiał do izolacji mikrospor pobierano z 10 roślin każdego z dawców-mieszańców. Androgenę *in vitro* mieszańców F_1 przeprowadzono według metody Cegielska-Taras i in. 2002. Z mieszańca F_1 : Lohana x RS 63 uzyskano 186 androgenicznych roślin (semi-RS), z mieszańca odm. Arot x RS 69 – 156 roślin. U większości podwojonych haploidów występowały trudności z zawiązywaniem nasion. Spowodowane to było przede wszystkim obecnością genów samoniezgodności przenoszonych przez linie RS. Znaczna część linii została zapyłana ręcznie.

Populacje androgenicznych roślin z krzyżowania odmiany rzepaku naturalnego z linią rzepaku resyntetyzowanego powinny być liczne z uwagi częstość występowania genów samoniezgodności wpływające trudności zawiązywania nasion.

Temat badawczy 5

Analiza biochemiczna nasion linii DH rzepaku semi-RS

Celem realizacji badań była analiza biochemiczna nasion rzepaku semi-RS pod względem zawartości glukozyzolanów i składu kwasów tłuszczowych.

Badano linie semi-RS uzyskane w Zadaniu Badawczym 4 z których zebrano wystarczającą liczbą nasion do wykonania analiz biochemicznych. Uzyskane nasiona z linii DH semi-RS analizowane biochemicznie metodą chromatografii gazowej, analizowano skład ilościowy kwasów tłuszczowych oleju oraz zawartość glukozyzolanów w śrucie. Do wykonania analiz biochemicznych wymagane jest co najmniej 0,5 g prawidłowo wykształconych nasion. W analizowanych liniach semi-RS zawartość kwasu erukowego wynosiła od 0,0 do 33,3%, a glukozyzolanów od 7,2 do 73,3 $\mu\text{mol g}^{-1}$ nasion. Z pośród 50 linii DH semi-RS wyselekcjonowano jedną linię, które spełniała kryteria rzepaku podwójnie ulepszanego, tj. zawartość kwasu erukowego wynosiła poniżej 1% w oleju, a glukozyzolanów poniżej 15 $\mu\text{mol g}^{-1}$ nasion. Była to **linia DH 40 zeroerukowa o zawartości glukozyzolanów 11,8 $\mu\text{mol g}^{-1}$ nasion.**

Opracowany schemat postępowania wraz z wykorzystaniem androgenezy *in vitro* umożliwia wyselekcjonowanie pożądaných linii semi-RS spełniających kryteria rzepaku podwójnie ulepszanego.

Uzyskane wyniki prezentowane były na dwóch konferencjach: a/ Międzynarodowym Sympozjum – Genetyka Ilościowa Roślin Uprawnych, Świeradów Zdrój – wykład – załącznik 1 oraz GCIRC Technical Meeting Alnarp, Szwecja –plakat- załącznik 2; opublikowano również artykuł w czasopiśmie Euphytica 2017, 213: 212,1-12.

Załączniki¹:

1. Streszczenie – Prezentacji- Międzynarodowe Sympozjum – Genetyka Ilościowa Roślin Uprawnych, Świeradów Zdrój

2 Streszczenie - Prezentacji -GCIRC Technical Meeting Alnarp, Szwecja Załączniki²:

¹ Podać listę oraz dołączyć do sprawozdania kopie posterów/wyciągi z materiałów konferencyjnych/publikacje etc. W nawiasie podać, na której stronie sprawozdania znajdują się prezentowane wyniki.

² Podać listę oraz dołączyć do sprawozdania kopie posterów/wyciągi z materiałów konferencyjnych/publikacje etc. W nawiasie podać, na której stronie sprawozdania znajdują się prezentowane wyniki.