

Wykorzystanie resyntetyzowanych linii DH w hodowli mieszańcowej rzepaku ozimego

Laurencja Szala¹, Katarzyna Sosnowska¹, Wiesława Popławska¹, Alina Liersch¹,
Jan Bocianowski², Iwona Bartkowiak-Broda¹, Teresa Cegielska-Taras¹

¹ Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – PIB, Oddział w Poznaniu; ² Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu; lszala@nico.ihar.poznan.pl

Rzepak (*B. napus* L.; $2n=38$, genom AACC) uważany jest za gatunek stosunkowo młody. Jako roślina uprawna pojawił się w Europie zaledwie 500 lat temu. Chociaż jego pochodzenie nie jest jeszcze dokładnie wyjaśnione przypuszcza się, że powstał w wyniku wielokrotnej spontanicznej i niezależnej hybrydyzacji rzepiku (*B. rapa* L.; $2n=20$, genom AA) i kapusty lub jarmużu (*B. oleracea* L.; $2n=18$, genom CC) w rejonie basenu Morza Śródziemnego, gdzie rosły oba diploidalne gatunki rodzicielskie. Są też doniesienia, że ojczyzną brukwi (*Brassica napus* L. var. *napobrassica*) jest północna Europa – Skandynawia lub Rosja. Genetycznie jest więc rzepak allopoliploidem, podobnie jak szereg innych ważnych gatunków uprawnych takich jak pszenica zwyczajna i twarda, owies, bawełna, banan, tytoń i kawa, które wyewoluowały z międzygatunkowych, a nawet międzyrodzajowych mieszańców.

Krótką historią udomowienia, brak bezpośrednich dzikich przodków, ograniczony zasięg geograficzny uprawy i przede wszystkim intensywne prace hodowlane doprowadziły do zawężenia bazy genetycznej rzepaku. Jednocześnie nastąpił wzrost znaczenia gospodarczego tego gatunku i rzepak stał się drugą w świecie, po soi, rośliną oleistą pod względem powierzchni uprawy. Obserwowany wzrost zainteresowania rzepakami wiąże się z możliwością szerokiego wykorzystania oleju rzepakowego w różnych gałęziach gospodarki. Obecnie rzepak stanowi bowiem nie tylko źródło wysokiej jakości oleju konsumpcyjnego o zbilansowanym składzie kwasów tłuszczowych i wysokobiałkowej paszy dla zwierząt monogastrycznych – świń i drobiu oraz przeżuwaczy, ale także jest cenionym surowcem do produkcji biopaliw i dla przemysłu chemicznego, zwłaszcza do produkcji farb, lakierów, środków piorących itp.

Dalszy rozwój hodowli rzepaku zależy w dużej mierze od pozyskiwania nowych źródeł zmienności i poszerzania puli genetycznej tego gatunku. Obecnie wykorzystuje się przede wszystkim naturalną zmienność występują-

ca w obrębie gatunku, gdyż brak jest dzikich form, będących zazwyczaj naturalnym rezerwuarem zmienności wykorzystywanym do zwiększenia zróżnicowania genetycznego roślin uprawnych. W związku z tym duże nadzieje wiąże się z krzyżowaniami oddalonymi, które umożliwiają transfer genów z innych gatunków uprawnych z rodzaju *Brassica* lub z licznych gatunków dzikich. Specyficznym krzyżowaniem oddalonym jest resynteza rzepaku czyli odtworzenie go na nowo. W przeciwieństwie do rzepaku, oba diploidalne gatunki rodzicielskie, *B. rapa* i *B. oleracea*, są wysoce polimorficzne. Należy do nich wiele warzyw, roślin oleistych i pastewnych, a także dzikich gatunków. Biorąc pod uwagę liczbę zgromadzonych przedstawicieli obu gatunków rodzicielskich w bankach genów, możliwości jakie daje resynteza rzepaku, wydają się nieograniczone. Na całym świecie zgromadzono ponad 20 000 genotypów należących do *B. oleracea* i ponad 18 000 należących do *B. rapa*.

Początki badań nad resyntezą rzepaku sięgają lat 30-tych ubiegłego wieku, ale dopiero rozwój metod biotechnologicznych, takich jak zapylenie *in vitro* i hodowla zarodków we wczesnym stadium rozwoju, spowodował ich rozkwit w wielu ośrodkach na całym świecie. Resynteza rzepaku ma na celu przede wszystkim uzyskanie nowej zmienności i poszerzenie bazy genetycznej, wprowadzenie wartościowych cech użytkowych oraz tworzenie odrębnych pul genetycznych do hodowli mieszańcowej w oparciu o dystans genetyczny. Do tej pory na drodze resyntezy wprowadzono takie cechy jak: wysoka zawartość kwasu erukowego, żółta barwa nasion, odporność na pękanie łuszczyń, wczesność oraz odporność na szereg chorób, w tym kiłę kapusty, suchą zgniliznę kapustnych, werciliozę rzepaku, wirusa żółtaczk rzepy, *TuYV* czy wirusa mozaiki rzepy, *TMV*.

W hodowli odmian mieszańcowych szczególną uwagę przywiązuje się do doboru komponentów rodzicielskich do krzyżowań. Według teorii heterozji im bardziej oddalone od siebie pod względem genetycznym formy, tym większy efekt heterozji u otrzymanych mieszańców. Na podstawie oszacowań odległości genetycznej linii rodzicielskich wyróżniono trzy kategorie heterozji: 1) wewnątrzgatunkowa, występująca w wyniku krzyżowania w obrębie jednego gatunku, 2) międzypodgatunkowa, wynikająca z krzyżowania osobników z różnych podgatunków i 3) szeroka hybrydyzacja, wynikająca z krzyżowania osobników z różnych gatunków lub rodzajów. W wielu przypadkach istnieje pozytywna korelacja pomiędzy zróżnicowaniem genetycznym form rodzicielskich a efektem heterozji, chociaż ta zależność nie jest regułą. Niemniej, można ogólnie stwierdzić, że zróżnicowanie genetyczne i prawdopodobieństwo wystąpienia wysokiego poziomu heterozji, wzrasta stopniowo od kategorii 1 do 3.

W Zakładzie Genetyki i Hodowli Roślin Oleistych IHAR-PIB w Poznaniu badania nad resyntezą rzepaku prowadzone są od kilku lat. Do tej pory uzyskano 74 linie resyntetyzowanego rzepaku (RS), będące efektem kombinacji krzyżówkowych trzech podgatunków *B. rapa* - rzepik, kapusta chińska i pekińska, i dwóch podgatunków *B. oleracea* - jarmuż i kapusta wa-

rzywna brukselska. Linie pochodzące z resyntezy nie nadają się jednak do bezpośredniego wykorzystania w hodowli. Obok niewątpliwych zalet, takich jak wysokie zróżnicowanie i odrębność genetyczna, niosą ze sobą wady, przede wszystkim wysoką zawartość kwasu erukowego i glukozynolanów, a niską tłuszczu oraz niski plon. Dlatego Linie RS muszą być krzyżowane z wartościowymi gospodarczo odmianami lub rodami w celu uzyskania genotypów podwójnie ulepszonych o wartościowych cechach agronomicznych.

Resyntetyzowany rzepak wprowadzano sukcesywnie do linii restorerów w systemie cytoplazmatycznej męskiej sterility CMS ogura. Wykonano 50 krzyżowań pomiędzy liniami restorerów i liniami resyntetyzowanego rzepaku wykorzystując 27 linii DH rzepaku ozimego, podwójnie ulepszanego z genem *Rfo* przywracającym płodność linii męskosterylnej w systemie CMS ogura i 14 linii RS o zróżnicowanym pochodzeniu.

Pierwsze resyntetyzowane Linie rzepaku (*Brassica napus* L.) otrzymano w wyniku krzyżowania kapusty chińskiej typu pak choy (*B. rapa* ssp. *Chinensis* var. *Chinensis*) z jarmużem (*B. oleracea* ssp. *acephala* var. *sabellica*). Skrzyżowano je z wyselekcjonowanymi, dobrze plonującymi liniami restorerów. Następnie z wybranych mieszańców F_1 otrzymano metodą kultur izolowanych mikrospor trzy populacje androgenicznych roślin semi-RS, oznaczone jako 12r, 17r i 29r, liczące odpowiednio 406, 395 i 242 rośliny. Pierwszym krokiem w selekcji podwojonych haploidów było przeprowadzenie analizy, mającej na celu identyfikację roślin posiadających gen restorer *Rfo*. Łącznie roślin z genem restorerem było 356, a częstotliwość występowania genu *Rfo* wahała się od 30% do 40 % w zależności od populacji. Zebrane nasiona linii DH semi-RS analizowano biochemicznie na zawartość kwasu erukowego i glukozynolanów. Zawartość kwasu erukowego wynosiła od 0,0 – 58,3%, a glukozynolanów od 3,1 – 117,5 $\mu\text{mol} \times \text{g}^{-1}$ nasion. Cztery Linie, jedna z populacji 12r (S3) i trzy z populacji 17r (S1, S2, S4), spełniały kryteria rzepaku podwójnie ulepszanego. Badania podobieństwa genetycznego kilku linii RS oraz semi-RS: S1 i S2, wykazały ich odrębność od obecnie hodowanych i uprawianych genotypów tej rośliny.

Linie DH semi-RS podwójnie ulepszone z genem *Rfo* zostały wykorzystane jako komponenty w hodowli mieszańcowej rzepaku ozimego. Nasiona pierwszego mieszańca testowego pokolenia F_1 - PN 54/2014, uzyskanego w warunkach szklarniowych w wyniku krzyżowania linii DH semi-RS S2 jako komponenta ojcowskiego z linią mateczną CMS ogura, wysiano jesienią 2014 r. jako obiekt w czteropowtórzeniowym doświadczeniu w dwóch miejscowościach (Borowo i Łagiewniki) w celu oceny jego plenności. Jesienią 2014 r. trzy Linie DH semi-RS podwójnie ulepszone z genem *Rfo* wykorzystano jako komponenty ojcowskie i wysiano w układach z 5 męskosterylnymi liniami CMS ogura, w celu wytworzenia nasion 15 mieszańców testowych pokolenia F_1 w ilości pozwalającej na założenie doświadczenia polowego i kontynuowanie badań dotyczących zjawiska heterozji dla genotypów o zróżnicowanym pochodzeniu.