

Barbara Barcikowska

Instytut Genetyki Roślin w Poznaniu

Żółte zabarwienie okrywy nasiennej u rodzaju *Brassica* — oczekiwania, rezultaty i niespodzianki

Yellow seed coat in *Brassica* genus — expectations, results and surprises

W obrębie rodzaju *Brassica* istnieją, jak wiadomo, gatunki oraz formy o ciemnym i żółtym zabarwieniu okrywy nasiennej. Żółte nasiona form uprawnych charakteryzują się zwiększoną zawartością tłuszczu i białka oraz obniżoną zawartością włókna. Jest przeto pożądane, aby rzepak (*Brassica napus* L.), stanowiący jedną z najważniejszych form uprawnych, miał żółte nasiona. Dotychczas nie udało się uzyskać rzepaku ozimego o ustabilizowanej żółtej nasienności. Główną przeszkodę stanowi uwarunkowanie tej cechy wieloma czynnikami, zarówno genetycznymi, jak i fizjologicznymi, co w znacznym stopniu utrudnia ustalenie sposobu jej dziedziczenia. Przedstawiono wyniki badań własnych związane z dziedziczeniem zabarwienia okrywy nasiennej oraz hipotezy, jak również szereg czynników dotyczących wyjaśnienia tego zagadnienia.

There exist dark and yellow seed coat forms in *Brassica* genus. Yellow seeded forms are characterized by higher oil and protein content and by lower fibre content. Therefore it would be profitable to get rapeseed (*Brassica napus* L.) yellow seeded, because of its great importance in practical plant breeding. Until now there exist no winter rapeseed with stabilized yellow seed coat. The main obstacle is the multifactorial dependence of this character, which in great degree makes difficult the elucidation of the way of its inheritance. Own results, hypothesis and several factors, dealing with yellow seed coat inheritance are presented.

Wstęp

W obrębie rodzaju *Brassica* najważniejszą rośliną oleistą w Polsce jest jak wiadomo, rzepak (*Brassica napus* L.). Na przestrzeni wielu już lat trwają nieustannie prace badawcze i hodowlane, aby roślinę tę jak najlepiej przystosować do wymagań żywieniowych ludzi i zwierząt. Jedną z cech o dużym znaczeniu w dziedzinie żywienia jest zabarwienie okrywy nasiennej. Pożądane byłoby, aby rzepak zamiast nasion ciemnych charakteryzował się żółtym ich kolorem. Jest to bowiem u rodzaju *Brassica* cecha plejotropowa, łącząca się z podwyższoną

zawartością białka i tłuszczu oraz obniżoną zawartością włókna (Jönsson i Bengtsson 1970, Stringam i in. 1974).

Z cytogenetycznego punktu widzenia rzepak jest allodiploidem o konstytucji genomowej AACC, składającym się z dwóch gatunków podstawowych: *Brassica campestris* L. — AA oraz *B. oleracea* — CC. Byłoby przeto najprościej zsyntetyzować oba gatunki podstawowe, charakteryzujące się żółtą okrywą nasienną, aby w ten sposób otrzymać *B. napus* o żółtych nasionach. Jak wiadomo, w obrębie gatunku *B. campestris* istnieje forma żółtonasienna. Jest nią *B. campestris* L. ssp. *trilocularis* (Roxb.) Olsson yellow sarson. Natomiast *B. oleracea* nie ma przedstawiciela o żółtym zabarwieniu okrywy nasiennej. Zdawać by się przeto mogło, iż jedyna trudność polega na tym, iż nie możemy skrzyżować obu gatunków podstawowych o żółtych nasionach, w celu otrzymania *B. napus* o żółtej okrywie nasiennej. Jednakże, jak wynika z badań własnych, a także innych autorów, dziedziczenie żółtego zabarwienia nasion jest znacznie bardziej skomplikowane, aniżeli się to na pozór wydaje. Przeprowadzone dotychczas krzyżowania międzygatunkowe pomiędzy żółtonasiennymi przedstawicielami rodzaju *Brassica* ujawniły nieoczekiwaną ekspresję fenotypową tej cechy. Zaskakujące rezultaty otrzymywano już w pokoleniu F₁ *B. juncea* x *B. carinata*, które charakteryzowało się brązowymi nasionami, jak również w wyniku krzyżowań wzajemnych żółtonasiennych form *B. carinata* i *B. campestris* L. ssp. *trilocularis* yellow sarson (Barcikowska i in. 1997), w wyniku których także pokolenie F₁ nie miało nasion żółtych, a jedynie ciemne.

Celem niniejszego opracowania jest przedstawienie obecnego poglądu na czynniki powodujące tak nieoczekiwany sposób dziedziczenia zabarwienia okrywy nasiennej, jak również próba interpretacji tych zjawisk.

Material i metody

Formę *B. campestris* L. ssp. *trilocularis* yellow sarson otrzymano z ośrodka Research Station, Agriculture Canada, Saskatoon, Saskatchewan, natomiast żółtonasienne formy *B. juncea* i *B. carinata* otrzymano z Instytutu Hodowli Roślin w Svalöv (Szwecja), obecnie Svalöf-Weibull AB. Krzyżowania wykonywano metodą konwencjonalną, w warunkach szklarniowych. Żywotność pyłku badano w płynie Bellinga. Somatyczną liczbę chromosomów określano w stożkach wzrostu korzeni. Korzonki pobierano do lodowatej wody na 24 godziny, po czym przechowywano w utrwalaczu Carnoy'a (3:1 absolutny alkohol etylowy : lodowaty kwas octowy) przez 48 godzin. Preparaty przygotowywano techniką rozmazową, barwiąc acetokarminem. Do analiz mejozy pobierano młode pąki kwiatowe i umieszczano je na 48 godzin w utrwalaczu Carnoy'a z dodatkiem chlorku żelaza. W pokoleniu F₁ mieszańców uzyskanych w wyniku krzyżowań wzajemnych

B. carinata x *B. campestris* ssp. *trilocularis* yellow sarson oraz mieszańców *B. juncea* x *B. carinata* przeprowadzono ponadto pomiary łuszczyn, obserwacje liczby nasion w łuszczynie oraz określono zabarwienie okrywy nasiennej. W potomstwie F₂ *B. juncea* x *B. carinata* oprócz cech wyżej wspomnianych przeprowadzono obserwacje cech morfologicznych organów wegetatywnych i generatywnych.

Wyniki i dyskusja

Pokolenie F₁ krzyżowań wzajemnych *Brassica carinata* Braun (BBCC, 2n=34) x *B. campestris* L. ssp. *trilocularis* (Roxb.) Olsson (AA, 2n=20) yellow sarson

Charakterystykę wybranych cech wyżej wymienionych mieszańców przedstawia tabela „Charakterystyka wybranych cech mieszańców wzajemnych form żółtonasiennych *Brassica carinata* Braun (2n=34) x *B. campestris* L. ssp. *trilocularis* (Roxb.) Olsson (2n=20) yellow sarson, pokolenie F₁” (Barcikowska i in. 1997). Jak wynika z danych w niej zamieszczonych szerokość łuszczyn w kombinacji krzyżowań *B. carinata* x *B. campestris* yellow sarson jest większa, aniżeli w kombinacji odwrotnej. Odpowiednio dane wynoszą bowiem 0,5 i 0,3 cm. Natomiast dane dotyczące długości łuszczyny kształtują się odwrotnie, wynosząc 5,5 cm dla kombinacji *B. carinata* x *B. campestris* yellow sarson oraz 6,7 cm dla odwrotnej kombinacji. Można przypuszczać, iż zaistniało tutaj dziedziczenie cytoplazmatyczne. *Brassica carinata* bowiem charakteryzuje się szerokimi i stosunkowo krótkimi łuszczynami, podczas gdy łuszczyny *B. campestris* yellow sarson są długie i wąskie. Średnia liczba wykształconych nasion w łuszczynie była jednakowa w obu kombinacjach form rodzicielskich i wynosiła 3,3. Należy podkreślić fakt, iż w obu kombinacjach krzyżowań nie zaobserwowano nasion o żółtym zabarwieniu okrywy nasiennej, pomimo tego, iż cecha ta charakteryzowała obydwie formy rodzicielskie. Być może stanowi to rezultat współdziałania genomów A, B i C, które zaistniały wspólnie w nowym środowisku, tworząc konstitucję genomową roślin pokolenia F₁ i w wyniku heterogenetycznej rekombinacji genomowej wystąpił zanik ekspresji czynników hamujących powstawanie barwnika.

Pokolenie F₁ i F₂ mieszańców *Brassica juncea* (AABB, 2n=36) x *B. carinata* Braun (BBCC, 2n=34)

Pokolenie F₁

W obrębie pokolenia F₁ powyższych mieszańców do dalszego rozmnażania przeznaczono 4 rośliny (790/66, 67, 68 i 71) o sprawdzonej mieszańcowości

($2n=35$). Przeprowadzono pomiary ich łuszczyn oraz obserwacje liczby wykształconych i niewykształconych nasion w łuszczynie, a ponadto określono zabarwienie okrywy nasiennej nasion z poszczególnych łuszczyn. Ogółem obserwacjami objęto 390 łuszczyn. Dominującą barwą nasion był kolor ciemnobrązowy. Żółte zabarwienie okrywy nasiennej nie wystąpiło. Można przypuszczać, iż stało się tak z przyczyn podobnych, jak w poprzednio rozpatrywanej kombinacji krzyżowań wzajemnych *B. carinata* x *B. campestris*, to jest w wyniku współdziałania genomów rodzicielskich ABBC zrekombinowanych w nowym środowisku potomstwa F_1 .

Pokolenie F_2

Obserwacje fenotypowe oraz pomiary cech morfologicznych pokolenia F_2 rośliny 790/67 wysianego w warunkach szklarniowych w liczbie 217 osobników, wykazały znaczny stopień zróżnicowania. Dane dotyczące tych roślin przedstawiono w pracy „Pigmentacja okrywy nasiennej — F_2 żółtonasiennych form *Brassica juncea* Coss. x *B. carinata* Braun” (Barcikowska, Maćkowiak 1997). Zróżnicowanie okrywy nasiennej przedstawione tamże, nasunęło konieczność dalszego rozpatrywania tej cechy u omawianych mieszańców. Oczekiwany stosunek segregantów w pokoleniu F_2 4AABB : 4AABC : 4ABBB : 10ABBC : 4ABCC : 1AACC : 1BBBB : 4BBBC : 4BBCC mógłby sugerować, iż należy oczekiwać 9 grup zabarwienia okrywy nasiennej, uwarunkowanych dziewięcioma różnymi konstytucjami genomowymi. Jak już wspomniano, kolor nasion określano dla poszczególnych łuszczyn, w obrębie każdej z badanych roślin. Obserwacje obejmowały 135 roślin oraz 5486 łuszczyn. W tabeli 1 przedstawiono liczbę roślin w obrębie określonego koloru nasion. Okazało się, iż można było wyodrębnić 13 grup zabarwienia, przy czym w przypadku grupy dwukolorowej pierwsza z wymienionych barw stanowiła bardzo znaczną przewagę w stosunku do drugiej, która w większości przypadków była reprezentowana jedynie przez kilka łuszczyn w obrębie danej rośliny. Z przedstawionych danych wynika przeto, iż sposób dziedziczenia cechy zabarwienia okrywy nasiennej nie jest zgodny z segregacją mendelowską, co potwierdzają badania innych autorów (Wang i in. 1990). W omawianym przypadku najwięcej trudności sprawia interpretacja koloru nasion grupy 13 o zabarwieniu zróżnicowanym. Występuje tam bowiem szereg roślin charakteryzujących się zróżnicowanym zabarwieniem nasion w obrębie poszczególnych łuszczyn. Biorąc pod uwagę stosunki segregacji genomowej pokolenia F_2 (4 AABB : 4 AABC : 4 ABBB : 10 ABBC : 4 ABCC : 1 AACC : 1 BBBB : 4 BBBC : 4 BBCC) zróżnicowanie zabarwienia okrywy nasiennej poszczególnych łuszczyn danej rośliny można wytłumaczyć zmiennością wywołaną na skutek łączenia się różnych gamet, zakładając występowanie zjawiska ksenii oraz wpływ gamety ojcowskiej. Zabarcwienie okrywy nasiennej u rodzaju *Brassica* jest uwarunkowane skondensowanymi polifenolami (Leung i in. 1979) występującymi w warstwach palisadowej i częściowo parenchymatycznej. Zjawisko ksenii mogło

być uwarunkowane dyfuzją prekursorów barwnych polifenoli bądź enzymów z zarodka do okrywy nasiennej, w której mogą być następnie syntetyzowane barwne polifenole (Schwetka 1982), ujawniające się pod wpływem współdziałania genomów A, B i C form rodzicielskich. Wpływ organizmu ojcowskiego może się ujawnić dzięki jego uczestniczeniu w tworzeniu się integumentu wewnętrznego. Wiadomo bowiem, że zewnętrzne warstwy okrywy nasiennej, z warstwą palisadową włącznie, powstają z integumentu zewnętrznego zalążka, który powstaje z organizmu matecznego, podczas gdy integument wewnętrzny daje początek wewnętrznej warstwie parenchymatycznej (Berg 1865, Brandza 1891, Guignard 1892, Netolitzky 1926, Thompson 1933, Klykhen 1937). W związku z tym barwniki syntetyzowane w warstwie palisadowej byłyby uzależnione od genotypu matecznego, natomiast substancje barwne tworzące się w warstwie parenchymatycznej — od genotypu ojcowskiego (Barcikowska i in. 1997). Załączony rysunek ilustruje powstawanie okrywy nasiennej z zalążka.

Tabela 1

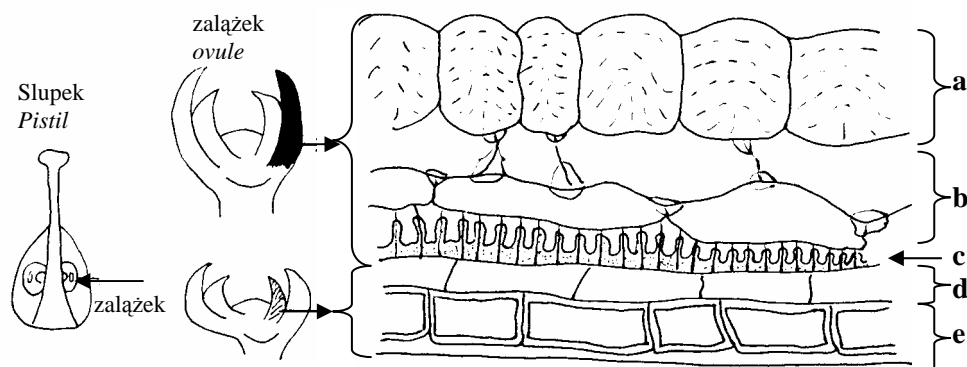
Zabarwienie okrywy nasiennej pokolenia F_2 *Brassica juncea* x *B. carinata*
Seed coat colour — F_2 *Brassica juncea* x *B. carinata*

Lp. No.	Zabarwienie okrywy nasiennej <i>Seed coat colour</i>	Liczba roślin <i>Number of plants</i>
1.	żółte — <i>yellow</i>	1
2.	żółte – ciemnożółte — <i>yellow – dark yellow*</i>	3
3.	ciemnożółte – żółte — <i>dark yellow – yellow</i>	2
4.	brązowe — <i>brown</i>	38
5.	jasnobrązowe — <i>light brown</i>	4
6.	ciemnobrązowe — <i>dark brown</i>	2
7.	brązowe – ciemnożółte — <i>brown – dark yellow</i>	1
8.	brązowe – jasnobrązowe — <i>brown – light brown</i>	23
9.	brązowe – ciemnobrązowe — <i>brown – dark brown</i>	7
10.	jasnobrązowe — ciemnożółte — <i>light brown – dark yellow</i>	1
11.	jasnobrązowe – brązowe — <i>light brown – brown</i>	3
12.	czarne – brązowe — <i>black – brown</i>	1
13.	zabarwienie zróżnicowane — <i>different colours</i>	36

* — w przypadku dwóch barw, barwa podana jako pierwsza występuje w przeważającym procencie
in case of two colours, the first one is represented predominantly

Podsumowując omawiane badania należy stwierdzić, iż pomysł kojarzenia żółtonasiennych form *Brasica juncea* (AABB) i *B. carinata* (BBCC) dla otrzymania rzepaku (*B. napus*, AACC) o żółtych nasionach nie okazał się szczęśliwy. Chociaż bowiem teoretycznie należało oczekiwać w pokoleniu F_2 2,7% roślin

o konstytucji genomowej AACC ($2n=38$), to jednak w rzeczywistości okazało się, że np. mieszańce $2n=38$ zawierał chromosomy pochodzące z trzech różnych genomów A, B i C (Maćkowiak 1997). Zdaniem tej Autorki, biorąc pod uwagę stopień pokrewieństwa między genomami A, B i C, zjawisko separacji genomów rodzicielskich oraz naturalną tendencję do przeżywalności zbalansowanych gamet zawierających prawie kompletne genomy rodzicielskie, można wnioskować, że istniała niewielka szansa na to, aby w pokoleniu F_2 *B. juncea* x *B. carinata* wysegregowała forma o konstytucji genomowej AACC.



- a — epiderma — *epidermal layer*
- b — warstwa subepidermalna — *subepidermal layer*
- c — warstwa palisadowa — *palisade layer*
- d — parenchyma
- e — warstwa aleuronowa — *aleurone layer*

Rys. 1. Okrywa nasiennej *Sinapis alba* (Cruciferae) — *Testa of Sinapis alba* (Cruciferae)

Wnioski

Biorąc pod uwagę całość dotychczasowych badań, dotyczących sposobu dziedziczenia zabarwienia okrywy nasiennej należy stwierdzić, że jest to zagadnienie trudne i nad wyraz skomplikowane z powodu niezwykle obfitego nagromadzenia różnych zjawisk, mogących wpływać na tę cechę. I tak spośród wielu czynników mogących warunkować kolor nasion u rodzaju *Brassica* należałoby wymienić:

- niekompletną dominację barwy czarnej lub brązowej,
- epistazę,
- szereg genów względnie alleli,

- geny główne i podporządkowane,
- wpływ organizmu matecznego i ojcowskiego,
- środowisko,
- pochodzenie geograficzne,
- ksenię,
- transpozony — tj. ruchome elementy DNA, charakteryzujące się transpozycją z jednego miejsca na inne.

Literatura

- Barcikowska B., Kałasa-Janowska M., Maćkowiak M., Zwierzykowska E. 1997. Charakterystyka mieszańców międzygatunkowych żółtonasiennych form *Brassica carinata* i *B. campestris*. Prace Komisji Nauk Rolniczych i Komisji Nauk Leśnych PTPN 83: 17-24.
- Barcikowska B., Maćkowiak M. 1997. Pigmentacja okrywy nasiennej — F₂ żółtonasiennych form *Brassica juncea* Coss. x *B. carinata* Braun. Rośliny Oleiste XVIII: 37-40.
- Berg O. 1865. Anatomischer Atlas zur pharmazeutischen Warenkunde. Berlin. Cyt. za Vaughan J.G. i in. 1976. The Biology and Chemistry of the *Cruciferae*. Academic Press, London 162.
- Brandza M. 1891. Revue G n. Bot. 3: 1-32, 71-84, 105-126, 229-240. Cyt. za Vaughan J.G. i in. 1976. The Biology and Chemistry of the *Cruciferae*. Academic Press, London 162.
- Guignard L. 1892. Bull. Soc. Bot. Fr. 39: 392-395. Cyt. za Vaughan J.G. i in. 1976. The Biology and Chemistry of the *Cruciferae*. Academic Press, London 162.
- Jönsson R., Bengtsson L. 1970. Gulfröighet i raps och rybs. I. Inverkan av förädling för gulfröighet p odlingsoch kvalitets-egenskaper. Sveriges Utsädesf. Tidskr. 80: 149-155.
- Klykhen P. 1937. Nytt. Mag. Naturvid. 77: 201-215. Cyt. za Vaughan J.G. i in. 1976. The Biology and Chemistry of the *Cruciferae*. Academic Press, London 162.
- Leung J., Fenton T.W., Muller M.M., Clandinin D.R. 1979. J. Food Sci. 44: 1313-1316.
- Liu H.L., Han J.X., Hu X.J. 1991. Studies on the inheritance of seedcoat color and other related characters of yellow-seeded *Brassica napus*. GCIRC 1991 Congres, Abstracts: 194.
- Maćkowiak M. 1997. Charakterystyka cytogenetyczna wybranych mieszańców z rodzaju *Brassica*. Praca doktorska wykonana w Instytucie Genetyki Roślin PAN w Poznaniu. Publikacja w toku.
- Netolitzky F. 1926. Anatomie der Angiospermen – Samen. Handbuch der Pflanzenanatomie. Wyd. K. Linsbauer, v. IX, 1-360. Cyt. za Vaughan J.G. i in. 1976. The Biology and Chemistry of the *Cruciferae*. Academic Press, London 162.
- Schwetka A. 1982. Inheritance of seed color in turnip rape (*Brassica campestris* L.). Theor. Appl. Genet. 62: 161-169.
- Stringam G.R., McGregor D.I., Pawlowski S.H. 1974. Chemical and morphological characteristics associated with seed color. Proc. 4-th Int. Rapeseed Conf. 99-108.
- Thompson H.C. 1933. J. Agric. Res. 47: 215-232.
- Vaughan J.G., MacLeod A.J. ed. 1976. The Biology and Chemistry of the *Cruciferae*. Academic Press, London 124.
- Wang H. 1990. Studies on variability and instability of seed color in rapeseed. Ph. D. Thesis, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Chiny.