

Stanisław Spasibionek

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Oddział w Poznaniu

## Postępy w badaniach nad genetyką i hodowlą rzepaku (*Brassica napus* L.)

### Recent progress in research on genetics and breeding of oilseed rape (*Brassica napus* L.)

Słowa kluczowe: rzepak, mieszańce, heterozja, plon, barwa nasion, krzyżowanie międzygatunkowe, kwasy tłuszczowe, glukozytolany, odziedziczalność, pęknięcie łuszczyzn, osypywanie nasion, odporność

Najlepszą okazją do prześledzenia najnowszych osiągnięć w zakresie badań nad genetyką i hodowlą rzepaku był 12 Międzynarodowy Kongres Rzepakowy, który odbył się w Wuhan, w Chinach, w dniach 26–30 marca 2007 roku.

W sesji dotyczącej genetyki i hodowli rzepaku (*Brassica napus* L.) zaprezentowano 29 wykładów i ponad 80 posterów poruszających osiągnięcia światowe w tej dziedzinie. Scharakteryzowano możliwe źródła genetyczne pożądanych cech i różne sposoby otrzymywania materiałów do dalszej hodowli rzepaku o ulepszonych cechach. Analizowano w jaki sposób dziedziczenie i ekspresja cechy wpływa na wybór metody hodowlanej. Przystawiono nowe metody oceny materiałów hodowlanych pod względem ulepszonej cechy. Omówiono perspektywy hodowli nowych odmian mieszańcowych z wykorzystaniem metod biotechnologicznych.

Key words: oilseed rape, rapeseed, *Brassica napus*, hybrids, heterosis, yield, seed colour, interspecific crossing, fatty acid composition, glucosinolate, heritability, pod cracking, seed shedding, resistance.

The best possibility to review the most recent achievements in research on the genetics and breeding of oilseed rape (*Brassica napus*) was the 12th International Rapeseed Congress held in Wuhan in China.

In the field of genetics and breeding in rapeseed (*Brassica napus* L.) 29 oral presentations and over 80 posters were presented. Desired directions of oilseed rape improvement were described and then the elements and steps of breeding were discussed. Possible sources of genetically desired traits and various ways of achieving materials for further breeding of rape with improved traits were characterized. It was shown how the manner of inheritance and expression of a character influences the choice of breeding method. Prospects of breeding new hybrid varieties using the biotechnological methods were evaluated.

China is the country with the largest rapeseed planting area, which is about 7 million hectares, with 13 million tons of production annually, of which 85% are produced in Yangtze River Basin. Rapeseed yield in China accounts for 30% of the world's total production. Hubei, located in the middle of the Yangtze River Basin, is the largest rapeseed production province. Two major rapeseed research institutes in China, Huazhong Agricultural University and the Oil Crop Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences are located in Wuhan.

## Wstęp

---

Na skutek coraz bardziej rosnącego popytu na oleje roślinne dla celów spożywczych, paszowych i szczególnie technicznych, światowa produkcja nasion rzepaku wzrasta od kilku lat. Poza krajami Unii Europejskiej i Kanady najbardziej dynamiczny rozwój uprawy rzepaku jest widoczny w Chinach i Australii. Wzrost ten jest stymulowany głównie przez rozwój nowych ulepszonych odmian oraz opracowywanie metod uprawy dostosowanych do warunków agroklimatycznych panujących w różnych rejonach świata gdzie uprawia się tę roślinę.

Najlepszą okazją do prześledzenia najnowszych osiągnięć w zakresie badań nad genetyką i hodowlą rzepaku był 12 Międzynarodowy Kongres Rzepakowy, który odbył się w Wuhan, w Chinach, w dniach 26–30 marca 2007 roku. Na Kongresie zostały zaprezentowane najnowsze osiągnięcia naukowe w zakresie roślin oleistych z rodzaju *Brassica*. W sesji Kongresu dotyczącej genetyki i hodowli rzepaku przedstawiono 29 wykładów i ponad 80 posterów poruszających zagadnienia wykorzystania efektu heterozji, hodowli jakościowej oraz odpornościowej rzepaku.

## Metody hodowlane z wykorzystaniem efektu heterozji

---

Jedną z możliwości podniesienia opłacalności uprawy rzepaku oraz pozyskiwania produktów z tej rośliny jest znaczne podniesienie plenności odmian. Wykorzystując efekt heterozji można uzyskać znacznie wyższy plon nasion rzepaku w porównaniu do plonowania najlepszych odmian populacyjnych. Jak wynika z prezentowanych prac, hodowla odmian mieszańcowych rzepaku jest oparta na trzech systemach genetycznych kontrolujących zapylenie krzyżowe: genowo-cytoplazmatycznej męskiej sterylności CMS *ogura* (wykorzystywanej w Europie), genowo-cytoplazmatycznej męskiej sterylności CMS *pol* (wykorzystywanej głównie w hodowli mieszańcowej rzepaku w Chinach, Indiach i Kanadzie), genetycznej męskiej sterylności MSL NPZ Lembke (wykorzystywany głównie w Niemczech) (Frauen i in. 2007). Czynnikiem ograniczającym możliwość pełniejszego wykorzystania genowo-cytoplazmatycznej męskiej sterylności CMS *pol* do produkcji nasion mieszańcowych jest niestabilność ekspresji męskiej niepłodności (Wu i in. 2007). Z przeprowadzonych badań przez chińskich naukowców wynika, że na ekspresję męskiej niepłodności u CMS *pol* bardzo duży wpływ ma temperatura (Dong i in. 2007, Wu i in. 2007). W 2002 roku została znaleziona w rzepaku nowa genowo-cytoplazmatyczna męska niepłodność typu YZA – CMS. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono wysoką stabilność tej cechy w linii CMS – YZA, niezależnie od zmian temperatury (Li i in. 2007a). Nowym systemem stabilnej cytoplazmatycznej męskiej sterylności jest system *hau* CMS znaleziony

w gatunku *Brassica juncea*. Genetycznej klasyfikacji i porównania nowego systemu z już istniejącymi dokonano poprzez wykorzystanie markerów molekularnych typu RFLP (Wan i in. 2007).

W badaniach dotyczących metod hodowli odmian mieszańcowych rzepaku wykazano, że największy postęp w hodowli linii restorerów dla CMS *ogura* można osiągnąć poprzez włączenie do cyklu hodowlanego linii podwojonych haploidów. Ponadto wykazano związek dystansu genetycznego linii rodzicielskich mieszańców, określonego za pomocą markerów molekularnych, z plennością mieszańców (Liersch i in. 2007).

## Metody genetyczne dla ulepszania jakości

---

Tworzenie nowych odmian opiera się w głównej mierze na korzystaniu z szeroko rozumianej genetycznej zmienności cech. W przypadku rzepaku (*Brassica napus* L.) krzyżowania wewnątrzgatunkowe nie wystarczają, aby stworzyć genotyp o pożądanej cesze, lepszy od tego który znajduje się już w uprawie. Z tego powodu w wielu prezentowanych pracach zaobserwowano zainteresowanie uzyskaniem mieszańców oddalonych, będących cennym materiałem dla hodowli roślin.

Od wielu lat prowadzone są intensywne badania nad uzyskaniem stabilnych, żółtonasiennych form rzepaku. Cecha żółtej nasienności łączy się z podwyższoną zawartością białka i tłuszczu w nasionach oraz obniżoną zawartością włókna. W ramach prac nad otrzymaniem rzepaku żółtonasiennego poddano analizie mieszańce pokolenia  $F_1$  uzyskane w wyniku kontrolowanego zapylenia męskosterylnego rzepaku ozimego (MS) *Brassica napus* var. *oleifera* ( $2n = AACCC = 38$ ) z czterema gatunkami *Brassica* o żółtej i brązowej barwie okrywy nasiennej: *B. campestris* ssp. *trilocularis* (żółtonasienny rzepak jary,  $2n = AA = 20$ ), *B. campestris* ssp. *pekinensis* (kapusta pekińska o brązowej barwie okrywy nasiennej,  $2n = AA = 20$ ), *B. hirta* (gorczyca biała,  $2n = SS = 24$ ) i *B. carinata* (gorczyca etiopska,  $2n = BBCC = 34$ ). Na podstawie obserwacji kiełkowania ziaren pyłku i wzrostu łagiewek pyłkowych oraz wiązania nasion w warunkach *in vivo* i regeneracji zarodków hodowanych w warunkach *in vitro* uzyskano zgodność krzyżową w trzech kombinacjach krzyżowań. Całkowicie nieefektywne okazało się krzyżowanie linii MS rzepaku ozimego z gorczycą białą. Większość nasion uzyskanych z krzyżowań oddalonych miała czarną lub brązową barwę okrywy nasiennej (Wojciechowski i in. 2007).

Zakres zmienności cech można zwiększyć poprzez hodowlę rekombinacyjną (krzyżowania), ale również wykorzystując mutagenezę. Uważa się, że geny odpowiedzialne za żółte zabarwienie okrywy nasiennej są zlokalizowane w genomach A i C. W wyniku długoletnich badań prowadzonych w Chinach, polegających na krzyżowaniu *Brassica napus* z formami oddalonymi *B. campestris*, *B. oleracea*,

*B. juncea* (AABB) i *B. carinata* (BBCC) oraz wykorzystaniu indukowanej mutacji (napromieniowanie nasion rzepaku) uzyskano dwie odmiany żółtonasienne Yuhuang No. 1 i Yuhuang No. 2, zarejestrowane w Chinach odpowiednio w 2003 i 2004 roku (Li i in. 2007e).

Wartość nasion rzepaku na cele spożywcze, paszowe i niespożywcze (biopaliwa, cele techniczne, przemysł chemiczny, kosmetyczny, farmaceutyczny) jest w dalszym ciągu ulepszana poprzez zwiększanie zawartości oleju oraz substancji czynnych, takich jak tokoferole, zmianę składu i proporcji kwasów tłuszczowych oraz redukcję związków antyżywnościowych w nasionach (Amar i in. 2007, Hauska i in. 2007, Li i in. 2007f, Tavakkol i in. 2007).

Dużo uwagi poświęcono ulepszaniu składu kwasów tłuszczowych w nasionach rzepaku. W celu uzyskania naturalnie stabilnego oleju z nasion rzepaku, tj. o podwyższonej zawartości kwasu oleinowego i obniżonej zawartości kwasu linolenowego tzw. typu „HOLL” (ang. *high oleic and low linolenic*), wykorzystano do krzyżowania linie hodowlane oraz mutanta o zmienionym składzie kwasów tłuszczowych (Jang i in. 2007). W wyniku selekcji w szklarni (wykorzystując metodę połówek nasion), a następnie selekcji w warunkach polowych uzyskano 14 linii pokoleń F<sub>5</sub> i F<sub>6</sub> o podwyższonej zawartości kwasu oleinowego w przedziale od 70 do 80% oraz o obniżonej zawartości kwasu linolenowego w przedziale od 0,8 do 2,3% (Raney i in. 2007).

W wyniku mutagenезy fizycznej z zastosowaniem promieniowania jonizującego na nasiona rzepaku uzyskano mutanty o bardzo wysokiej zawartości kwasu oleinowego (od 81,8 do 93,5%). Dalsze badania wykazały, że zawartość kwasu oleinowego w oleju nasion mutantów jest sprzężona z genem *Fad 2* kodującym tworzenie się desaturazy  $\Delta 12$  warunkującej desaturację kwasu oleinowego do kwasu linolenowego. Zostały opracowane specyficzne markery DNA umożliwiające wykrywanie mutacji w tych genach, a tym samym identyfikację form o wysokiej zawartości kwasu oleinowego. (Guan i in. 2007).

W ostatnim czasie wyraźnie wzrosło zainteresowanie olejem o wysokiej zawartości kwasu erukowego. Kwas erukowy wchodzący w skład nasion tradycyjnych odmian rzepaku, stanowiący od 40 do 50% sumy kwasów tłuszczowych, wykorzystywany jest przede wszystkim do celów technicznych (stosowany między innymi w produkcji detergentów i środków antypieniących). Jednym ze sposobów pozyskania genotypów o wysokiej, powyżej 50% zawartości kwasu erukowego są transformacje genetyczne. W Niemczech prowadzone są badania w celu uzyskania jeszcze większej zmienności w zakresie tego kwasu poprzez krzyżowanie form wysokoerukowych (60%) rzepaku genetycznie zmodyfikowanego (GMO) z genotypami tradycyjnego rzepaku. W wyniku skrzyżowania tych form uzyskano populację roślin F<sub>2</sub>, u których zawartość kwasu erukowego w nasionach wzrosła do 72% (Nath i in. 2007).

Szereg prac dotyczyło badań nad genetycznym uwarunkowaniem zawartości glukozyolanów w nasionach rzepaku ozimego (Koprna i in. 2007). Przedstawione wyniki dotyczyły badań wykonanych metodą krzyżowań diallelicznych pomiędzy liniami podwojonych haploidów o zróżnicowanej zawartości glukozyolanów. Umożliwiło to wykonanie bardziej precyzyjnej analizy genetycznej dla zawartości poszczególnych glukozyolanów. Obliczono ogólną (GCA) i specyficzną (SCA) zdolność kombinacyjną, heterozję i odziedziczalność zawartości glukozyolanów w nasionach. Porównano różne oszacowania odziedziczalności zawartości glukozyolanów w nasionach (Piętka i in. 2007).

### Ocena odporności na stropy biotyczne i abiotyczne

---

Odporność roślin na różnego rodzaju patogeny oraz na ekstremalne warunki środowiskowe to cechy bardzo pożądane w genotypach rzepaku. W wielu ośrodkach naukowych prowadzone są szczegółowe badania nad mechanizmami odporności i reakcji na czynniki stresowe, a także nad specyficznymi zależnościami między rośliną i patogenami. Wskazywano na duże możliwości, jakie niosą w tej dziedzinie nowe metody biologii molekularnej i biotechnologii. Rośliny rosnące w warunkach polowych są z reguły narażone na jednoczesne oddziaływanie kilku czynników stresowych. Najczęściej są to zmiany od niskiej do wysokiej temperatury połączone z dużymi niedoborami bądź nadmiarem wody, co powoduje występowanie zjawiska pęknięcia łuszczyń. W pracy przedstawiono metodę symulującą naturalny sposób pęknięcia łuszczyń w polu. Zastosowano w niej test zgniatania łuszczyzny. Pomiaru wykonywane są dynamometrem przystosowanym do oceny podatności łuszczyń na pęknięcie, a umożliwiającym wyznaczenie i komputerową rejestrację siły powodującej pęknięcie łuszczyzny rzepaku zarówno w polu, jak i w laboratorium. Badania przeprowadzone na ośmiu odmianach rzepaku wskazują, że odporność łuszczyń na pęknięcie związana jest również w znacznym stopniu z cechami odmianowymi (Tys i in. 2007).

Podczas sesji poświęconej hodowli odpornościowej prezentowano liczne prace dotyczące poszukiwań nowych źródeł odporności na patogeny. Starzycki i in. (2007) przedstawili wyniki dotyczące odporności wybranych rodów i odmian rzepaku ozimego na *Fusarium* spp. oceniane in vitro. Spośród badanych odmian i rodów rzepaku ozimego najodporniejsze na porażenie przez *F. oxysporum* były: Extreme, Idol, DH-1, Pomorzanie, Amor oraz Bojan, który wyróżnił się najwyższym stopniem odporności. Najsilniej porażane były: Kronos, Californium, ród żółtonasienny — 310ż oraz odmiana Spencer, która okazała się najbardziej podatna na porażenie przez patogena. Stosując w badaniach te same obiekty wykonano testy odpornościowe rzepaku na *F. culmorum*. Najodporniejsze były: Spencer,

Bosman, Californium, Idol, Bojan, Cizek. Nieodporne okazały się dwa rody: DH-2 i żółtonasienny 305ż, oraz odmiany: Lisek, Kronos, Pomorzanin. Przedstawiono również próby przeniesienia odporności na *Sclerotinia sclerotiorum* z *Capsella bursa-pastoris* ( $2n = 32$ ) na drodze krzyżowań do *B. napus* ( $2n = 38$ ) i *B. rapa*, ( $2n = 20$ ). Przy użyciu markerów molekularnych typu AFLP otrzymano polimorficzne prążki u roślin pokolenia  $F_1$ , charakterystyczne dla *Capsella bursa-pastoris* (Li i in. 2007b). Jednym z ważniejszych patogenów grzybowych wywołujących bardzo duże szkody jest *Leptosphaeria maculans* (Li i in. 2007d). W wielu ośrodkach naukowych prowadzone są badania nad jego genomem w celu znalezienia genów patogeniczności i genów odpowiedzialnych za wytwarzanie metabolitów grzyba (Li i in. 2007c, 2007d).

## Literatura

---

### **Proceedings of the 12th International Rapeseed Congress, Vol. I. Genetics and Breeding, Wuhan, Chiny, 26-30.03.2007:**

- Afshari R.T., Ehsanfar S., Sanavy A.M. 2007. Effects of osmopriming on fatty acid content in three canola (*Brassica napus*) cultivars: 170-172.
- Amar S., Ecker W., Becker H. C., Möllers Ch. 2007. QTL analysis of phytosterol content in rapeseed (*Brassica napus* L.): 247-250.
- Dong Y., Chen W., Zhang G., Fu M., Wang J., Li G. 2007. Breeding of a thermo-insensitive polima cytoplasmic male sterile line YN04252A (*Brassica napus* L.): 77-78.
- Frauen M., Noack J., Girke A., Paulmann W. 2007. Ten years experience of development and cultivation of winter oilseed rape hybrids in Europe based on the MSL system: 39-41.
- Guan Ch., Liu Ch., Chen S., Pen Q., Li X., Guan M. 2007. High oleic acid content breeding materials of *Brassica napus* produced by  $^{60}\text{Co}$  radiation: 155-158.
- Hauska D., Oertel C., Alpmann L., Stelling D., Busch H. 2007. Breeding progress towards high oil content in oilseed rape (*Brassica napus* L.) – essential innovations to meet current and future market: 159-162.
- Jang Y.S., Kim Ch.W., Choi I.H., Bang J.K. 2007. Breeding for improved fatty acid composition in rapeseed (*Brassica napus* L.): 185-187.
- Koprna R., Klíma M. 2007. Production of improved self-incompatible lines of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) with convenient seed quality for hybrid breeding using of microspore culture technique: 48-51.
- Li A., Zhang Y., Hui F., Zhou R. 2007a. The discovery of a new kind of cytoplasmic male sterility accession in *Brassica napus* L.: 93-95.
- Li C., Li H., Sivasithamparam K., Fu T., Li Y., Liu S., Barbetti M. 2007b. Sources of resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in *Brassica napus* and *B. juncea* germplasm for China and Australia: 424-426.
- Li H., Sivasithamparam K., Barbetti M. 2007c. Blackleg disease (*Leptosphaeria maculans*) on oilseed rape evidence for it being a polycyclic disease in Australia and implications for disease management: 416-419.

- Li H., Stone V., Dean N., Sivasithamparam K., Barbetti M. 2007d. Histological barriers breached by the race of *Leptosphaeria maculans* that overcomes a single dominant gene-based resistance in *Brassica napus*: 427-429.
- Li J., Chen L., Wang R., Duan Y. 2007e. A strategy for breeding of the yellow-seeded hybrid in *Brassica napus* L.: 11-13.
- Li J., Li G., Zhang G., Chen W., Dong Y., Zhang M., Wang J. 2007f. Research on creating new germplasm of high oil content in *B. napus*: 152-154.
- Liersch A., Bartkowiak-Broda I. 2007. Relationship of yielding ability and heterosis effect of winter rapeseed F<sub>1</sub> hybrids with genetic distance of parental lines: 285-288.
- Nath U.K., Becker H.C., Möllers Ch. 2007. Increasing erucic acid content in rapeseed (*Brassica napus* L.): 173-176.
- Piętka T., Krótka K., Krzymański J., Cegielska-Taras T. 2007. Heritability, combining ability and heterosis in glucosinolate content in seed of winter rape (*Brassica napus* L.) estimated with diallel crossing between double haploids lines: 73-76.
- Raney J.P., Olson T.V., Relf-Eckstein Jo-Anne, Rode D., Rakow G. 2007. High stability oil *Brassica napus* from a cross low linoleic acid and low linolenic acid mutants: agronomic improvement through backcrossing to elite canola germplasm and reselection of extreme fatty acid profiles: 148-151.
- Starzycki M., Starzycka E., Pszczola J., Solecka D. 2007. Evaluation of chosen winter rapeseed genotypes resistance to *Fusarium* spp. using in vitro methods. Vol. IV : 165-166.
- Tys J., Stasiak H., Borychowski A., Rybacki R. 2007. Crack resistance of pods in some varieties of winter rapeseed: 420-423.
- Wan Z., Fu T., Tu J., Ma Ch., Shen J., Yi B. 2007. Genetic classification of a newly identified cytoplasmic male sterility hau CMS system in *Brassica napus* L.: 18-24.
- Wojciechowski A., Springer B., Olejniczak J. 2007. Breeding of yellow seeded *Brassica napus* L. var. *oleifera* via wide crosses in in vivo and in vitro conditions: 191-193.
- Wu X., Guan Ch., Ning Z., Huang F., Xiao G. 2007. The genetic base of establishing stable ms lines by means of improving Pol cms line in *Brassica napus* L.: 118-122.
- Wu X., Xi D., Ning Z., Guan Ch. 2007. Breeding of a stable CMS line without trace-pollen by means of improving Pol CMS line in *Brassica napus* L.: 123-127.