

Iwona Bartkowiak-Broda, Alina Liersch, Maria Ogrodowczyk, Wiesława Popławska
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Zakład Roślin Oleistych w Poznaniu

Zawartość glukozynolanów w nasionach siewnych i konsumpcyjnych odmian mieszańcowych rzepaku ozimego z cytoplazmą CMS *ogura*

Glucosinolate content in sowing and consumption seeds of hybrid varieties of winter oilseed rape with CMS *ogura* cytoplasm

Słowa kluczowe: rzepak ozimy, *Brassica napus*, *Raphanus sativus*, CMS *ogura*, glukozynolany, odmiany mieszańcowe, nasiona konsumpcyjne

Key words: winter rapeseed, *Brassica napus*, *Raphanus sativus*, CMS *ogura*, glucosinolates, hybrid varieties, consumption seeds

Zaletą systemu genowo-cytoplazmatycznej męskiej niepłodności CMS *ogura* jest całkowita stabilność ekspresji męskiej sterility. Brak w obrębie gatunku *Brassica napus* genotypów posiadających geny restorery dla CMS *ogura* uniemożliwił hodowlę odmian mieszańcowych zrestorowanych. Wprowadzony do rzepaku gen restorer pochodzący od rzodkwi (*Raphanus sativus*) był ściśle sprzężony z genami determinującymi wysoką zawartość glukozynolanów. W wyniku krzyżowań z liniami CMS *ogura* o niskiej zawartości glukozynolanów i selekcji w rozszczepiających się pokoleniach uzyskano linie restorery o zróżnicowanej zawartości glukozynolanów. Celem przeprowadzonych badań z 66 mieszańcami doświadczalnymi pokolenia F₁ było określenie wpływu zawartości glukozynolanów w liniach restorerach na zawartość tych związków w nasionach mieszańcowych pokolenia F₁ oraz w nasionach konsumpcyjnych. Uzyskane wyniki pokazały, że zawartość glukozynolanów w nasionach mieszańcowych pokolenia F₁ nie zależy od zawartości glukozynolanów w ojcowskiej linii restorującej, natomiast zależność ta występuje w pokoleniu F₂, a więc w nasionach konsumpcyjnych. Zatem dla uzyskania nasion konsumpcyjnych rzepaku spełniających polską normę konieczna jest hodowla linii restorerów o niskiej zawartości glukozynolanów.

Complete stable expression of male sterility in CMS *ogura* is an advantage to this system. However, the lack of genotypes possessing restorer genes for CMS *ogura* in *Brassica napus* species made the breeding of restored hybrid varieties impossible. The restorer gene originating from radish (*Raphanus sativus*) introduced into the winter rapeseed genotype was tightly linked with genes determining high glucosinolate content. As a result of crosses with low glucosinolate CMS *ogura* lines and selection the restorer lines with differentiated glucosinolate content have been obtained. Investigations conducted with 66 experimental F₁ hybrids aimed at determining of the influence of glucosinolate content in restorer lines on the content of these compounds in hybrid seeds progeny F₁ and in consumption seeds. Obtained results showed that glucosinolate content in hybrid seeds of F₁ progeny is not conditioned by glucosinolate content in father restoring pollinator lines, whereas this dependence occurs in F₂ progeny, that is in consumption seeds. Therefore to obtain consumption seeds of rapeseed meeting Polish standard, the breeding of restorer lines with very low glucosinolate content is necessary.

Wstęp i cel pracy

Efekt heterozji występujący głównie w plonie nasion rzepaku został stwierdzony przez wielu badaczy na różnym materiale genetycznym (Bartkowiak-Broda 1977, 1998; Grabiec 1981; Lefort-Buson, Datté 1982, 1983, 1985; Krzymański i in. 1993, 1994; Liersch i in. 2000). Jednak jego wykorzystanie w hodowli nie jest proste, ponieważ rzepak jest rośliną częściowo auto-, częściowo allogamiczną, ponadto okres kwitnienia tej rośliny w warunkach klimatycznych Polski jest długi, trwa 3–4 tygodnie, a każda roślina wytwarza trzy do pięciu tysięcy kwiatów. W związku z tym badania nad możliwością wykorzystania efektu heterozji poprzez hodowlę odmian mieszańcowych zdążyły do odkrycia genetycznych systemów kontrolowania zapylenia krzyżowego u rzepaku, takich jak: samoniezgodność, cytoplazmatyczno-genetyczna i genetyczna męska sterylność.

W wyniku wieloletnich badań opracowano kilka efektywnych systemów genetycznych wykorzystywanych w hodowli odmian mieszańcowych rzepaku: CMS *ogura*, CMS *polima*, CMS *Shaan 2A*, MSL-NPZ Lembke (Delourme, Budar 1999).

Hodowla odmian mieszańcowych w Europie jest oparta głównie na dwóch systemach: genowo-cytoplazmatycznej męskiej sterylności CMS *ogura* zwanej także Ogu – INRA oraz genetycznej męskiej sterylności MSL – NPZ Lembke.

W Polsce prace hodowlane i hodowla odmian mieszańcowych rzepaku prowadzone w Zakładzie Roślin Oleistych IHAR w Poznaniu oraz w Spółce Hodowla Roślin Strzelce, skupiają się przede wszystkim na badaniach nad CMS *ogura* i hodowli odmian mieszańcowych w oparciu o ten system. Jego zaletą jest całkowita stabilność ekspresji męskiej sterylności (Bartkowiak-Broda i in. 1979), natomiast wadą brak w obrębie gatunku *Brassica napus* genotypów z genem restorerem dla CMS *ogura*. Przeniesienie genu restorera od rzodkwi (*Raphanus sativus*) do genotypu rzepaku (Heyn 1976) spowodowało problemy z hodowlą linii restorerów o stabilnej ekspresji zdolności do restorowania CMS *ogura* oraz charakteryzujących się dobrą plennością i jakością (Pellan-Delourme 1986; Pellan-Delourme, Renard 1988).

Największym problemem było przerwanie niekorzystnego sprzężenia genu restorera z genami determinującymi wysoką zawartość niepożądanych w poekstrakcyjnej śrucie rzepakowej związków siarkowych — glukozynolanów (Delourme i in. 1999).

Wartościowe odmiany mieszańcowe pokolenia F₁ muszą charakteryzować się wysoką plennością, ale także zapewniać produkcję nasion rzepaku przeznaczonych do przerobu w olejarniach o pożądanej jakości. Zatem zarówno nasiona siewne jak i konsumpcyjne muszą spełniać polską normę: 15 μM glukozynolanów/g nasion dla nasion siewnych i 25 μM/g odtłuszczonej śruty dla nasion przeznaczonych do przerobu.

O wartości otrzymywanego produktu decydują genotypy linii rodzicielskich mieszańców pokolenia F_1 . Uzyskane dotąd poprzez krzyżowane wstecznie z podwójnie ulepszonymi liniami i odmianami linie mateczne CMS *ogura* charakteryzują się ustabilizowaną, niską zawartością glukozyolanów, natomiast na poszczególnych etapach prac badawczych oraz hodowlanych uzyskano linie restorery o zróżnicowanej zawartości glukozyolanów i o różnym stopniu sprzężenia genu restorera z wysoką zawartością glukozyolanów (Popławska 2000; Popławska i in. 2001; Krzymański i in. 2000).

Z tego względu podjęto badania mające na celu określenie wpływu zawartości glukozyolanów w liniach restorerach na zawartość tych związków w nasionach konsumpcyjnych rzepaku. Badano zawartość glukozyolanów w nasionach mieszańcowych pokolenia F_1 , ich liniach rodzicielskich, to jest liniach CMS *ogura* i liniach restorerach oraz w pokoleniu F_2 , a więc w nasionach konsumpcyjnych.

Material i metodyka

Obiektami badań było 66 mieszańców pokolenia F_1 utworzonych w oparciu o system genowo-cytoplazmatycznej męskiej sterylności CMS *ogura*. Mieszańce te zostały ocenione w doświadczeniach polowych założonych w układzie kompletnych bloków zrandomizowanych w czterech powtórzeniach z systematycznie rozmieszczonym wzorcem.

W sezonie wegetacyjnym 1999/2000 w IHAR Radzików przebadano 27 mieszańców, w sezonie wegetacyjnym 2000/2001 w RZD Wielichowo Zielęcin zbadano 27 mieszańców oraz w Borowie — Oddziale Spółki Hodowla Roślin Strzelce — 12 mieszańców.

Zawartość glukozyolanów oznaczono metodą silylowych pochodnych glukozyolanów przy pomocy chromatografu gazowego firmy Hewlett Packard 5890 (Michalski i in. 1995).

Dla wykonania analizy statystycznej badane obiekty podzielono na grupy uwzględniając całkowitą zawartość glukozyolanów w liniach restorerach służących do tworzenia mieszańców doświadczalnych:

- mieszańce z doświadczenia w Radzikowie (1999/2000)
 - A — 27,7–43,2 $\mu\text{M/g}$ nasion,
 - B — 10,4–17,9 $\mu\text{M/g}$ nasion,
 - C — 5,8–7,7 $\mu\text{M/g}$ nasion;
- mieszańce z doświadczenia w Borowie (2000/20001)
 - A — 10,1–12,4 $\mu\text{M/g}$ nasion,
 - B — 7,5–9,3 $\mu\text{M/g}$ nasion;

- mieszańce z doświadczenia w Zielęcinie (2000/2001)
A — 10,1–12,4 $\mu\text{M/g}$ nasion,
B — 6,0–8,5 $\mu\text{M/g}$ nasion.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie przy pomocy programu ANVAR opracowanego w Zakładzie Roślin Oleistych IHAR w Poznaniu.

Omówienie wyników

W dwuletnim cyklu badań analizowano mieszańce, do tworzenia których użyto jako formy ojcowskie linie restorery o zróżnicowanej zawartości glukozyzolanów. Linie ojcowskie mieszańców badanych w doświadczeniu w Radzikowie charakteryzowały się zawartością glukozyzolanów od 2,3 do 43,2 $\mu\text{M/g}$ nasion, w doświadczeniu w Borowie od 6,5 do 12,4 $\mu\text{M/g}$ nasion, a w doświadczeniu w Zielęcinie od 6,0 do 12,4 $\mu\text{M/g}$ nasion. Zawartość glukozyzolanów w liniach matecznych badanych w doświadczeniach mieszańców wynosiła: w Radzikowie — od 4,9 do 19,4 $\mu\text{M/g}$ nasion, w Borowie — od 3,2 do 10,3 $\mu\text{M/g}$ nasion, a w Zielęcinie od 3,5 do 11,1 $\mu\text{M/g}$ nasion.

Suma glukozyzolanów

Najbardziej zróżnicowane były linie restorery użyte jako formy ojcowskie mieszańców pokolenia F_1 badanych w doświadczeniu w Radzikowie. W doświadczeniu tym poddano ocenie trzy grupy mieszańców, do tworzenia których użyto linii restorerów o zawartości glukozyzolanów od 43,2 do 5,8 $\mu\text{M/g}$ nasion. W zależności od zawartości glukozyzolanów w liniach restorerach mieszańce podzielono na trzy grupy: A — wysoka, B — średnia i C — bardzo niska zawartość glukozyzolanów.

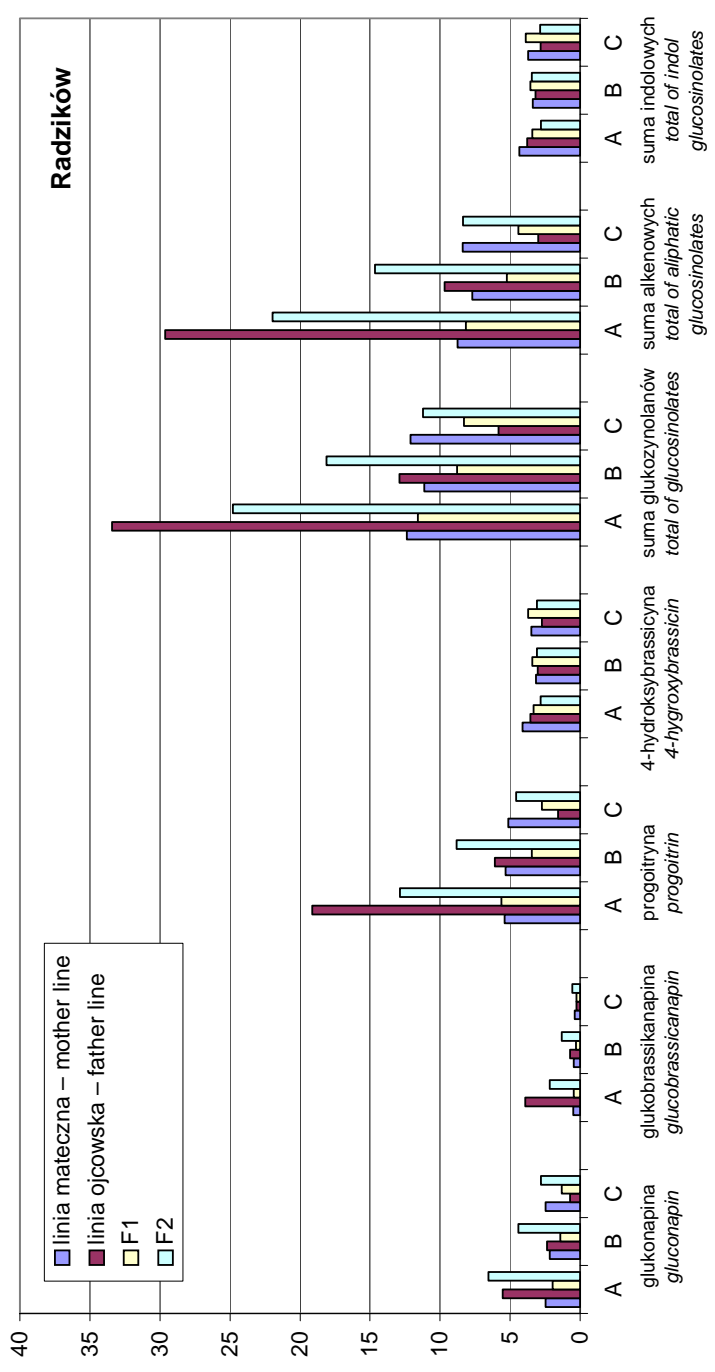
W pokoleniu F_1 zawartość glukozyzolanów w trzech badanych grupach wynosiła średnio 11,6, 8,8 i 8,3 $\mu\text{M/g}$ nasion i nie różniła się istotnie pomiędzy grupami (tab. 1, rys. 1). Natomiast w pokoleniu F_2 , a więc pokoleniu nasion konsumpcyjnych, nastąpił wzrost zawartości glukozyzolanów proporcjonalnie do ich zawartości w liniach restorerach. Różnice zawartości glukozyzolanów między pokoleniami F_1 i F_2 były istotne, przy czym w klasach A i B, a więc o wyższych zawartościach glukozyzolanów w nasionach linii restorerów, różnice te były istotne na poziomie $\alpha = 0,01$, a w klasie C na poziomie $\alpha = 0,05$. Także w pokoleniu F_2 różnice między klasami były istotne na poziomie $\alpha = 0,05$. Tak więc zawartości glukozyzolanów w liniach restorerach w sposób istotny wpływały na jakość nasion zebranych z pokolenia mieszańcowego F_1 , a więc jakość nasion konsumpcyjnych.

Tabela 1
 Porównanie zawartości glukozynolanów w nasionach siewnych i zebranych z roślin pokolenia F₁ w zależności od zawartości glukozynolanów w liniach restorerach — Comparison of glucosinolate content in sowing seeds and seeds harvested from F₁ plants in dependence of glucosinolate content in restorer lines

Linie restorujące o całkowitej zawartości glukozynolanów w grupie Restorer lines with total glucosinolate content within the group: [μM/g nasion]	Suma glukozynolanów Total of glucosinolates			Suma glukozynolanów alkenowych Total of aliphatic glucosinolates			Suma glukozynolanów indolowych Total of indol glucosinolates		
	średnia mean F ₁	średnia mean F ₂	F _{obl.} F _{cal.}	średnia mean F ₁	średnia mean F ₂	F _{obl.} F _{cal.}	średnia mean F ₁	średnia mean F ₂	F _{obl.} F _{cal.}
Radzików									
A 27,7–43,2	11,6	24,8	14,51**	8,2	22,0	16,86**	3,4	2,8	2,79
B 10,4–17,9	8,8	18,1	28,44**	5,2	14,6	26,78**	3,6	3,5	0,15
C 5,8–7,7	8,3	11,2	5,56*	4,4	8,4	9,45*	3,9	2,9	2,30
F _{obl.} — F _{cal.}	2,46	6,57*		2,76	6,46*		0,84	1,49	
Zielęcin									
A 10,1–12,4	9,8	9,7	0,06	6,1	6,0	0,06	3,8	3,7	0,01
B 6,0–8,5	11,4	9,8	6,84*	6,8	5,9	3,04	4,6	3,9	5,71*
F _{obl.} — F _{cal.}	5,59*	0,02		1,47	0,07		5,42*	3,8	
Borowo									
A 12,4	11,40	9,02	1,60	7,50	5,85	0,82	3,90	3,17	1,63
B 7,46–9,30	11,99	8,90	11,69**	7,41	5,93	3,44	4,58	2,97	11,60**
F _{obl.} — F _{cal.}	0,15	0,01		0,004	0,008		0,82	0,63	

* — istotne na poziomie $\alpha = 0,05$ — significant at the level $\alpha = 0,05$

** — istotne na poziomie $\alpha = 0,01$ — significant at the level $\alpha = 0,01$



Linie restorujące o całkowitej zawartości glukozynolanów — *Restorer lines with total glucosinolate content:*

A — 27,7–43,2 µM/g nasion – seeds B — 10,4–17,9 µM/g nasion – seeds C — 5,8–7,7 µM/g nasion – seeds

Rys. 1. Zawartość glukozynolanów w formach rodzicielskich, mieszańcach F₁ i w nasionach konsumpcyjnych (F₂) rzepaku ozimego w doświadczeniu polowym w Radzikowie w 1999/2000 roku — *Glucosinolate content in parental lines, F₁ hybrids and in consumption seeds of winter rapeseed in the field trial in Radzików in 1999/2000*

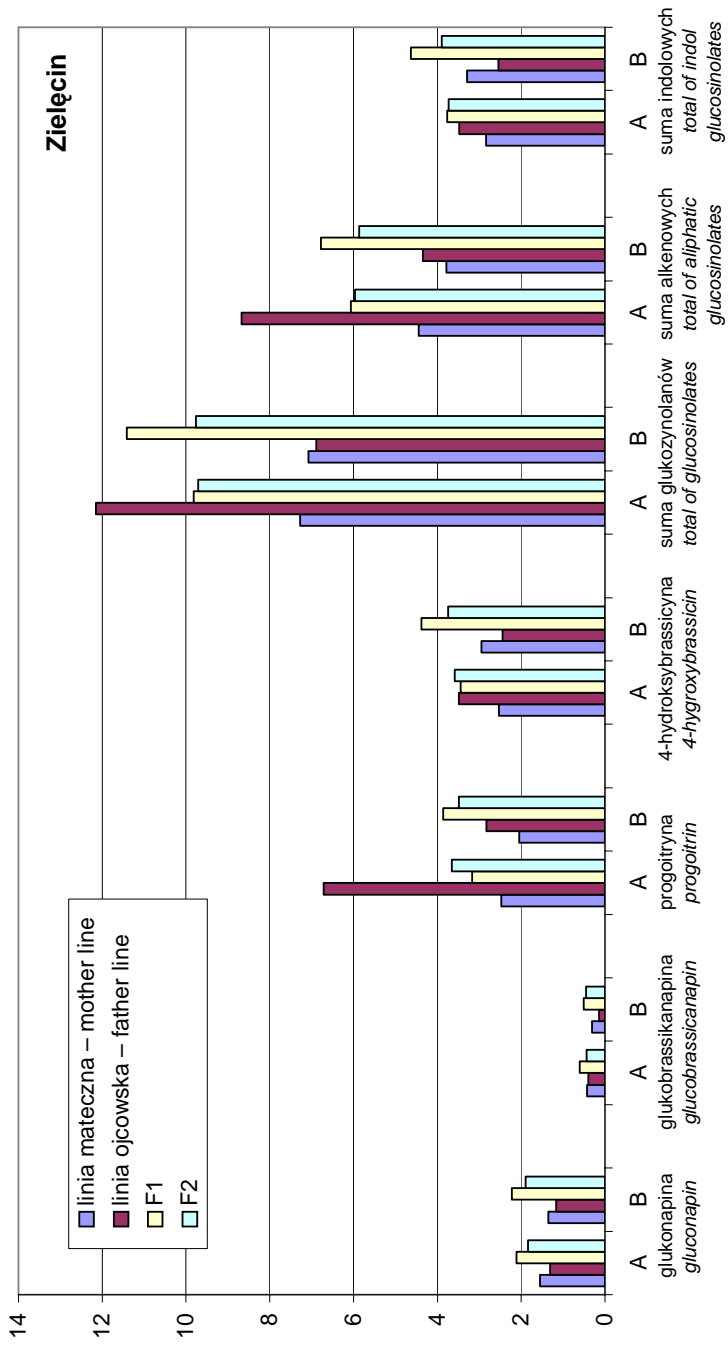
W obu doświadczeniach przeprowadzonych w sezonie wegetacyjnym 2000/2001 w Zielęcinie i Borowie do tworzenia mieszańców pokolenia F_1 użyto niskoglukozynolanowe linie CMS *ogura* oraz linie restorery o obniżonej zawartości glukozynolanów od 6,0 do 12,4 $\mu\text{M/g}$ nasion. W związku z tym do analizy statystycznej utworzono tylko po dwie klasy mieszańców: klasa A, w której formami ojcowskimi były niskoglukozynolanowe linie restorery oraz klasę B, w której linie restorery charakteryzowały się bardzo niską zawartością glukozynolanów (tab. 1, rys. 2, 3).

Nasiona mieszańców pokolenia F_1 badanych w obu doświadczeniach charakteryzowały się nieco wyższą zawartością glukozynolanów niż linie mateczne, natomiast nie obserwowano wzrostu zawartości tych związków w pokoleniu konsumpcyjnych nasion F_2 , przeciwnie wystąpił niewielki spadek (rys. 2 i 3). W grupie B w obu doświadczeniach nastąpiło istotne obniżenie zawartości glukozynolanów w pokoleniu F_2 . Różnica ta w doświadczeniu w Zielęcinie była istotna na poziomie $\alpha = 0,05$, w Borowie na poziomie $\alpha = 0,01$ (tab. 1). Była ona wynikiem użycia do tworzenia mieszańców linii restorerów o bardzo niskiej zawartości glukozynolanów.

Rysunek 4 przedstawia zmiany zawartości glukozynolanów w porównywanych pokoleniach F_1 i F_2 . W doświadczeniu w Radzikowie, gdzie zakres zawartości glukozynolanów w nasionach linii restorerów był największy i średnia zawartość najwyższa, zakres zawartości glukozynolanów w pokoleniu F_2 uległ przesunięciu w kierunku wyższych wartości. Natomiast w przypadku mieszańców badanych w Zielęcinie i Borowie zakres zmienności dla pokolenia F_1 i F_2 był zbliżony, jedynie w poszczególnych przedziałach zawartości glukozynolanów zmieniła się częstotliwość.

Glukozynolany alkenowe

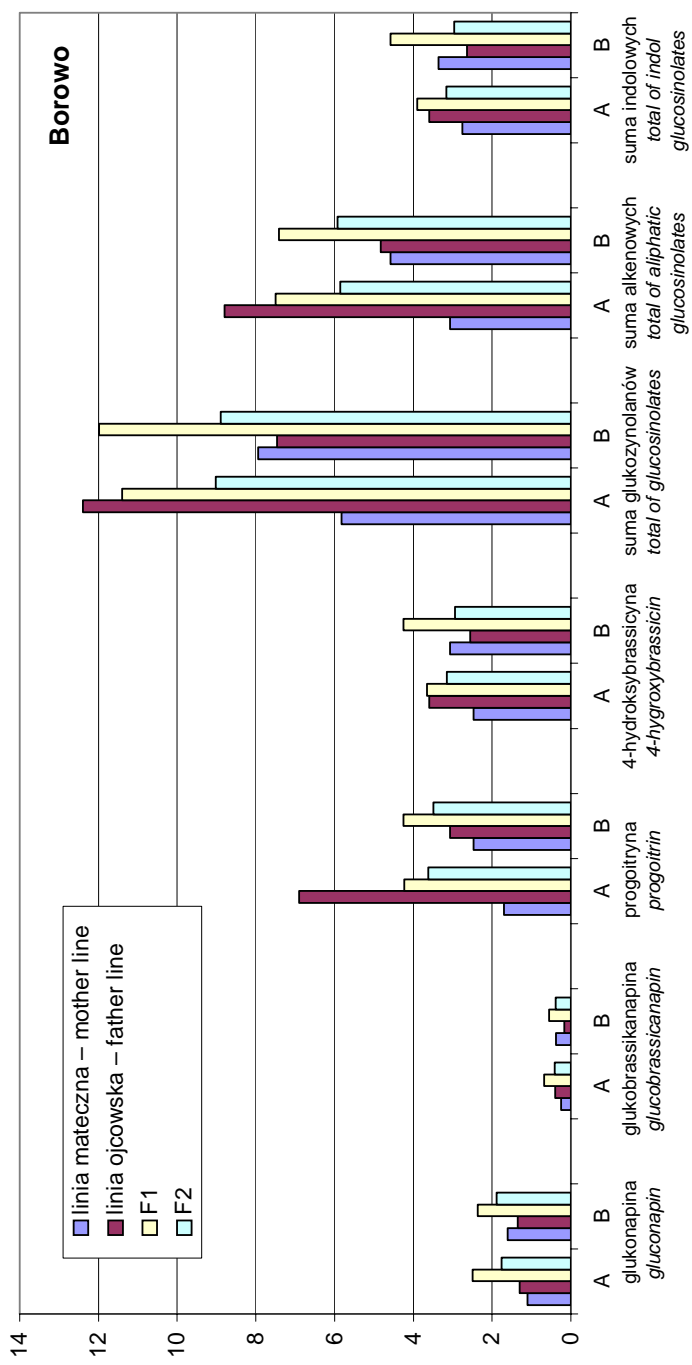
Zawartości progoitryny, glukonapiny i glukobrassicapiny — głównych glukozynolanów alkenowych, jak i sumy tych glukozynolanów były zróżnicowane w liniach restorerach będących składnikami mieszańców pokolenia F_1 badanych w doświadczeniu w Radzikowie. W pokoleniu F_1 i F_2 zaobserwowano taką samą prawidłowość jak w przypadku sumy glukozynolanów (rys. 1). W pokoleniu F_1 nie stwierdzono istotnych różnic w zawartości glukozynolanów między grupami mieszańców, natomiast różnice te były istotne na poziomie $\alpha = 0,05$ w pokoleniu F_2 — pokoleniu nasion konsumpcyjnych. Także w grupach mieszańców A i B, charakteryzujących się najwyższą zawartością tych związków w liniach ojcowskich mieszańców, wystąpiły wysoce istotne różnice pomiędzy pokoleniami F_1 i F_2 oraz istotne w grupie C.



Linie restorujące o całkowitej zawartości glukozynolanów — Restorer lines with total glucosinolate content:

A — 10,1–12,4 µM/g nasion – seeds B — 6,0–8,5 µM/g nasion – seeds

Rys. 2. Zawartość glukozynolanów w formach rodzicielskich, mieszańcach F₁ i w nasionach konsumpcyjnych (F₂) rzepaku ozimego w doświadczeniu polowym w Zieleńcinie w 1999/2000 roku — Glucosinolate content in parental lines, F₁ hybrids and in consumption seeds of winter rapeseed in the field trial in Zieleńcin in 1999/2000

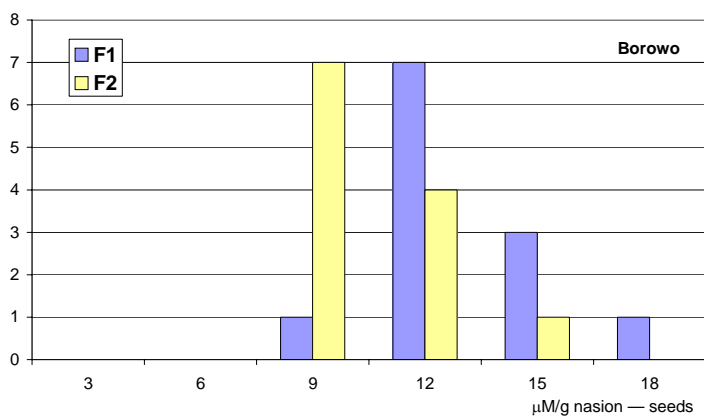
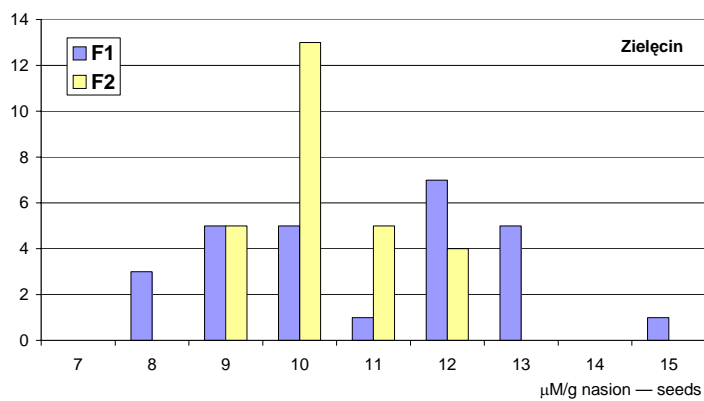
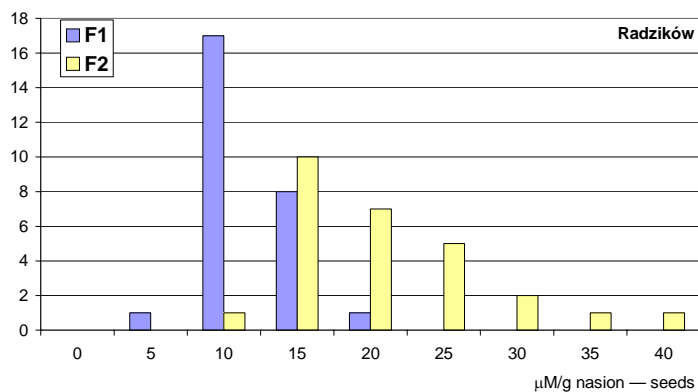


Linie restorujące o całkowitej zawartości glukozynolanów — Restorer lines with total glucosinolate content:

A — 12,4 µM/g nasion — seeds B — 7,46–9,30 µM/g nasion — seeds

Rys. 3. Zawartość glukozynolanów w formach rodzicielskich, mieszańcach F₁ i w nasionach konsumpcyjnych (F₂) rzepaku ozimego w doświadczeniu polowym w Borowie w 2000/2001 roku — Glucosinolate content in parental lines, F₁ hybrids and in consumption seeds of winter rapeseed in the field trial in Borowo in 2000/2001

Częstotliwość



Rys. 4. Porównanie zawartości sumy glukozynolanów w mieszańcach pokolenia F₁ badanych w doświadczeniach polowych oraz nasionach konsumpcyjnych (F₂) — Comparison of glucosinolates content in F₁ hybrids investigated in field trials and in consumption seeds (F₂)

W mieszańcach doświadczalnych badanych w Borowie i Zielęcinie zawartość głównych glukozynolanów alkenowych w formach matecznych w grupach A i B była zbliżona (rys. 2, 3). W nasionach wszystkich analizowanych mieszańców pokolenia F_1 oraz nasionach pokolenia F_2 nastąpił niewielki wzrost zawartości progoitryny, glukonapiny oraz glukobrassikanapiny w stosunku do zawartości tych związków w liniach matecznych CMS *ogura*. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w zawartości glukozynolanów alkenowych pomiędzy mieszańcami pokolenia F_1 i w nasionach zebranych z tego pokolenia oraz pomiędzy badanymi grupami (tab. 1).

Rysunek 5 pokazuje, że zakres zmienności dla sumy glukozynolanów alkenowych zmienił się w nasionach konsumpcyjnych w stosunku do pokolenia F_1 tylko w przypadku mieszańców badanych w doświadczeniu w Radzikowie. Nie było takiej zmiany w przypadku pozostałych mieszańców z doświadczeń w Borowie i Zielęcinie. W Borowie najbardziej liczna była grupa mieszańców o zawartości glukozynolanów alkenowych od 6 do 10,0 $\mu\text{M/g}$ nasion, a w Zielęcinie od 6 do 8 $\mu\text{M/g}$ nasion. W nasionach konsumpcyjnych otrzymanych z mieszańców F_1 badanych w Borowie i Zielęcinie przeważały obiekty o zawartości glukozynolanów alkenowych około 6 $\mu\text{M/g}$ nasion (rys. 5).

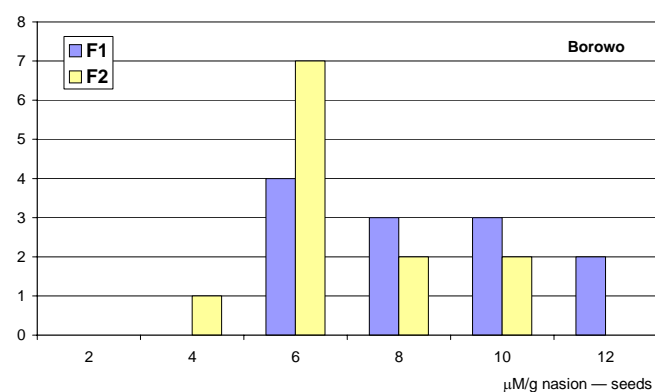
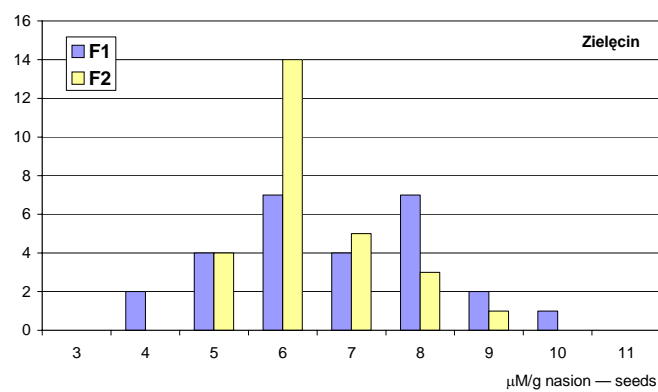
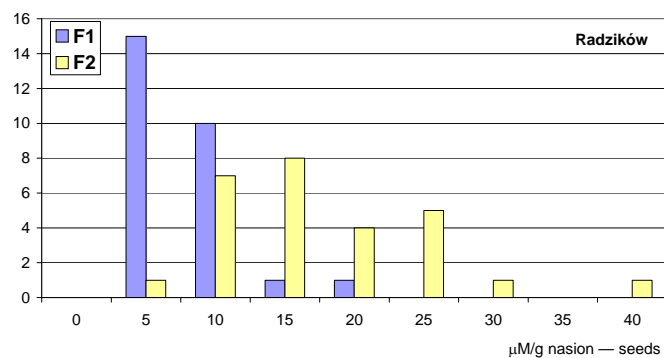
Glukozynolany indolowe

Poziom zawartości 4-hydroksyglukobrassicyny i sumy glukozynolanów indolowych w 27 mieszańcach F_1 badanych w Radzikowie, ich liniach matecznych i ojcowskich oraz w nasionach konsumpcyjnych był bardzo zbliżony (rys. 1). Nie stwierdzono żadnych udowodnionych statystycznie różnic pod względem zawartości glukozynolanów indolowych pomiędzy badanymi grupami A, B i C oraz nasionami pokolenia F_1 i F_2 (tab. 1).

W obiektach doświadczalnych badanych w Borowie i w Zielęcinie zarówno formy mateczne jak i linie restorery użyte do tworzenia mieszańców różniły się w niewielkim stopniu pomiędzy sobą zawartością glukozynolanów indolowych (rys. 2, 3). Zawartość tych związków uległa obniżeniu w nasionach konsumpcyjnych w porównaniu do zawartości w mieszańcach pokolenia F_1 (tab. 1). Różnice te były istotne statystycznie dla mieszańców z grupy B: w doświadczeniu w Zielęcinie na poziomie $\alpha = 0,05$, a w doświadczeniu w Borowie na poziomie $\alpha = 0,01$.

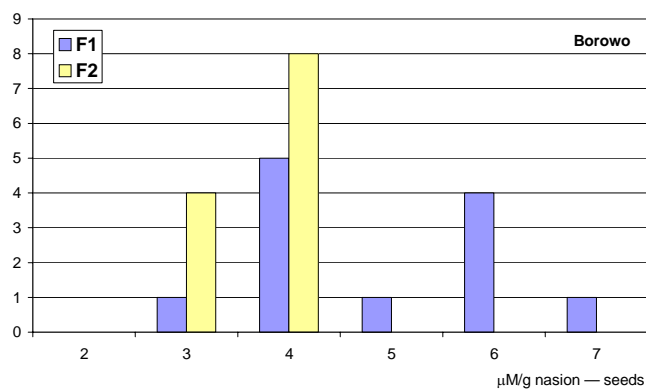
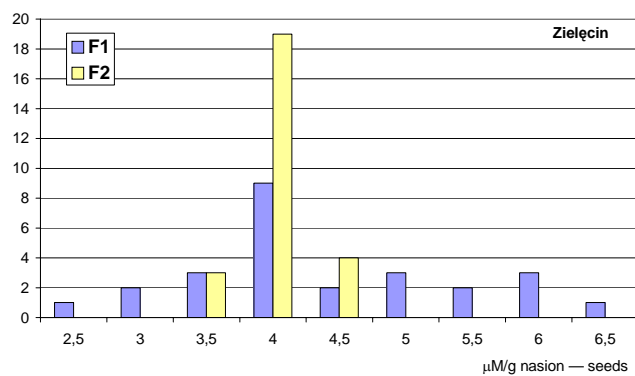
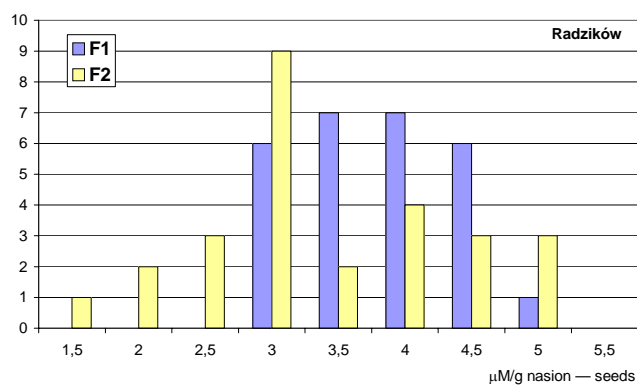
Zawartość glukozynolanów indolowych w materiale siewnym (pokolenie F_1) oraz nasionach zebranych z doświadczenia (pokolenie F_2) dla większości obiektów mieściła się w przedziale od 3 do 4,5 $\mu\text{M/g}$ nasion (rys. 6). Jednak w przypadku mieszańców badanych w Borowie i Zielęcinie, których formami ojcowskimi były linie restorery o niskiej zawartości glukozynolanów, w nasionach konsumpcyjnych średnia zawartość glukozynolanów indolowych jest niższa niż w nasionach pokolenia F_1 .

Częstotliwość



Rys. 5. Porównanie zawartości glukozyzolanów alkenowych w mieszańcach pokolenia F₁ badanych w doświadczeniach polowych oraz nasionach konsumpcyjnych (F₂) — Comparison of aliphatic glucosinolates content in F₁ hybrids investigated in field trials and in consumption seeds (F₂)

Częstotliwość



Rys. 6. Porównanie zawartości glukozynolanów indolowych w mieszańcach pokolenia F₁ badanych w doświadczeniach polowych oraz nasionach konsumpcyjnych (F₂) — Comparison of indol glucosinolates content in F₁ hybrids investigated in field trials and in consumption seeds (F₂)

Dyskusja

Ze względu na problem zawartości glukozyolanów w zrestorowanych mieszańcach pokolenia F_1 rzepaku ozimego tworzonych przy wykorzystaniu CMS *ogura*, jako formę przejściową odmian mieszańcowych zaproponowano mieszańce złożone. Odmiany te nie zawierają genu restorera, gdyż tworzone są z mieszaniny nasion niezrestorowanego, a więc męskosterylnego pokolenia mieszańcowego F_1 i nasion form zapylaczy. Pozwoliło to na wykorzystanie efektu heterozji w plonie nasion rzepaku, a jednocześnie na produkcję nasion konsumpcyjnych o jakości odpowiadającej polskiej normie. Jednak najlepszym rozwiązaniem jest hodowla odmian mieszańcowych zrestorowanych. Plenność tego typu odmian jest w mniejszym stopniu zależna od warunków środowiskowych niezbędnych do przenoszenia pyłku w trakcie kwitnienia roślin, a zatem lepsza jest ich wierność plonowania.

Problem jakości odmian mieszańcowych zrestorowanych powstał ze względu na fakt, że w uzyskanych rekombinantach rzepaku z genem restorerem pochodzącym od rzodkwi wystąpiło sprzężenie genu restorera z genami warunkującymi wysoką zawartość glukozyolanów. Dla przełamania tego sprzężenia linie te były krzyżowane z różnymi liniami CMS *ogura* o niskiej zawartości glukozyolanów i pożądane genotypy selekcjonowano w rozszczepiających się pokoleniach. Jednak niektóre linie restorery, szczególnie wyselekcjonowane w pokoleniu F_2 , jeszcze wykazywały silne sprzężenie genu restorera z genami determinującymi wysoką zawartość glukozyolanów, co powodowało wielokrotny wzrost zawartości glukozyolanów w nasionach pokolenia F_2 (Liersch i in. 2000). Selekcja prowadzona przez kilka pokoleń wśród rekombinantów pochodzących z krzyżowań niskoglukozyolanowych linii CMS *ogura* z wyjściową linią restorera pozwoliła na przerwanie tego sprzężenia. Dowodem na to są wyniki przedstawionych badań.

W przypadku gdy nie występują żadne sprzężenia, zawartość glukozyolanów jest determinowana przez genotyp rośliny matecznej i w sposób istotny modyfikowana przez warunki środowiskowe (Krzymański 1970; Bartkowiak-Broda i in. 1983). Cecha ta ma charakter poligeniczny i jest warunkowana przez co najmniej trzy pary genów (Krzymański 1970; Kudła 1997). Wysoka zawartość glukozyolanów w nasionach jest cechą dominującą, a efekty cytoplazmatyczne nie mają znaczenia w dziedziczeniu tych związków.

Zawartość glukozyolanów w nasionach badanych mieszańców pokolenia F_1 i w nasionach pokolenia F_2 jest determinowana w taki sposób jak w genotypach nie zawierających genu restorera dla CMS *ogura*. Zawartość glukozyolanów w pokoleniu F_1 nie różniła się znacząco od występującej w matecznych liniach CMS *ogura*, a efekt krzyżowania z liniami restorującymi występował w pokoleniu F_2 . Zmiany zawartości glukozyolanów były związane ze zmianami zawartości gluko-

zynolanów alkenowych. Nie obserwowano tych zmian w przypadku glukozyzolanów indolowych, gdyż te dziedziczą się niezależnie.

Występujące w przeprowadzonych doświadczeniach różnice w zawartości glukozyzolanów w nasionach pokolenia F_1 oraz w nasionach zebranych z roślin tego pokolenia wynikają z różnej zawartości tych związków w nasionach komponentów badanych mieszańców.

Problemy wysokiej zawartości glukozyzolanów w pierwszych zrestorowanych mieszańcach pokolenia F_1 typu CMS *ogura* oraz w nasionach z nich zebranych wystąpiły we wszystkich ośrodkach hodowli rzepaku. Jednak poprzez krzyżowanie wypierające mające na celu zmniejszenie w genomie rzepaku wielkości introgresji fragmentu genomu rzodkwi, w którym zlokalizowane są allele genu restorera było możliwe obniżenie zawartości glukozyzolanów w liniach restorerach do 15 $\mu\text{M/g}$ nasion i poniżej (Bartkowiak-Broda i in. 1999; Delourme i in. 1999; Popławska 2000).

W niektórych kombinacjach mieszańcowych może wystąpić efekt heterozji w zawartości glukozyzolanów. Jednak wielkość efektu heterozji odnośnie tych związków jest nieporównywalnie mniejsza niż w przypadku plonu i występuje znacznie rzadziej. Krzymański i inni (1995, 1998) badali ten problem w mieszańcach diallelicznych pokolenia F_1 pomiędzy podwójnie ulepszonymi liniami i rodami rzepaku ozimego. Stwierdzili, że w większości przypadków nie ma pozytywnej korelacji pomiędzy efektem heterozji w plonie nasion i w zawartości glukozyzolanów. Wykazali również, że jest możliwe otrzymanie wysoko-plonujących kombinacji mieszańcowych o niskiej zawartości glukozyzolanów.

Zmienne warunki środowiskowe także w sposób znaczący modyfikują zawartość glukozyzolanów. Do czynników tych należy zasobność gleby w dostępną dla rośliny siarkę, co ma wyraźny wpływ na ilość gromadzonych glukozyzolanów w nasionach (Wielebski 1997; Wielebski, Wójtowicz 1998). Wzrost zawartości glukozyzolanów alkenowych w nasionach rzepaku obserwuje się w przypadku występowania suszy w okresie wegetacji oraz przy wydłużonym okresie wegetacji (Bartkowiak-Broda, Krzymański 1981; Sang i in. 1986).

Zatem dla zapewnienia dobrej jakości nasion konsumpcyjnych rzepaku niezbędna jest hodowla odmian mieszańcowych w oparciu o linie CMS *ogura* i linie restorery o jak najniższej zawartości glukozyzolanów.

Wnioski

- Zawartość glukozyzolanów w liniach restorerach w sposób istotny wpływa na zawartość tych związków w nasionach zebranych z pokolenia mieszańcowego F_1 , a więc w nasionach konsumpcyjnych.

- Wzrost zawartości glukozynolanów w pokoleniu F₂ spowodowany jest przyrostem zawartości glukozynolanów alkenowych. Zawartość glukozynolanów indolowych nie zmienia się w sposób istotny.
- Odmiany mieszańcowe zrestorowane zapewniają pożądaną jakość nasion rzepaku przeznaczonych do przerobu tylko w przypadku gdy obie formy rodzicielskie: linie CMS *ogura* i linie restorery spełniają normę na materiał siewny.

Conclusions

- Glucosinolate content in restorer lines significantly affect the content of these compounds in seeds harvested from F₁ progeny, therefore in consumption seeds.
- The increase of glucosinolate content in F₂ progeny is resulted by the growth of alkenyl glucosinolate content.
- Restored hybrid varieties ensure the desirable quality of rapeseed seeds destined for processing only in the case when the both parental forms: CMS *ogura* lines and restorer lines meet the Polish standard for sowing seeds.

Literatura

- Bartkowiak-Broda I. 1977. Ocena heterozji i zdolności kombinacyjnej kilku linii wsobnych rzepaku bezerukowego. Biul. IHAR 146: 109-111.
- Bartkowiak-Broda I. 1998. Odmiany mieszańcowe rzepaku – osiągnięcia i perspektywy. Rośliny Oleiste XIX (2): 359-370.
- Bartkowiak-Broda I., Krzymański J. 1981. Zmiany w składzie chemicznym nasion ozimego rzepaku bezerukowego K-2040 w czasie formowania i dojrzewania. Biuletyn IHAR, (146): 25-33.
- Bartkowiak-Broda I., Krzymański J., Ogrodowczyk M. 1983. Inheritance of glucosinolate content and composition in seeds of winter rape (*Brassica napus* L.). Proc. 6th Intern. Rapeseed Congress, 17-19 may 1983, Paris, France, vol. I: 305-310.
- Bartkowiak-Broda I., Rouselle P., Renard M. 1979. Investigations of two kinds of cytoplasmic male sterility in rapeseed (*Brassica napus* L.). Genetica Polonica 20: 487-497.
- Bartkowiak-Broda I., Popławska W. 1999. Characteristics of double low winter rapeseed lines with introduced restorer gene for CMS *ogura*. Proc. 10th Intern. Rapeseed Congress, 26-29 September 1999, Canberra, Australia, CD.
- Delourme R., Budar F. 1999. Male sterility. Biology of Brassica Coenospecies – Elsevier Science B.V. 185-216.
- Delourme R., Horvais R., Valle P., Renard M. 1999. Double low restored F₁ hybrids can be produced with the Ogu-INRA CMS in Rapeseed. Proc. 10th Intern. Rapeseed Congress, 26-29 September 1999, Canberra, Australia, CD.

- Grabiec B. 1981. Badania efektów heterozji u rzepaku ozimego. Biul. IHAR 146: 121-128.
- Heyn F.W. 1976. Transfer of restorer genes from *Raphanus* to cytoplasmic male sterile *Brassica napus*. Cruciferae Newsletter Eucarpia 1: 15-16.
- Krzymański J. 1970. Genetyczne możliwości ulepszania składu chemicznego nasion rzepaku ozimego. Hodowla Roślin, Aklimatyzacja i Nasiennictwo, T. 14 (2): 95-133.
- Krzymański J., Piętka T., Krótka K. 1993. Zdolność kombinacyjna i heterozja mieszańców diallelicznych rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego. I. Pokolenie F₁. Postępy Nauk Rolniczych 5/93: 41-52.
- Krzymański J., Piętka T., Krótka K. 1994. Zdolność kombinacyjna i heterozja mieszańców diallelicznych rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego. II. Pokolenia F₁ i F₂. Rośliny Oleiste XV (1): 21-32.
- Krzymański J., Piętka T., Krótka K., Michalski K. 1995. Zawartość glukozynolanów u mieszańców F₁ polskiego rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego. Rośliny Oleiste XVI (1): 13-24.
- Krzymański J., Piętka T., Krótka K., Michalski K. 1998. Relationship between seed yield and glucosinolate content in F₁ hybrid generation of double low winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). Rośliny Oleiste XIX (2): 389-398.
- Krzymański J., Piętka T., Matuszczak M., Michalski K. 2000. Próba użycia ultradźwięków do łamania sprzężeń cech u rzepaku. Rośliny Oleiste XXI (2): 599-602.
- Kudła M. 1997. Zagadnienie glukozynolanów w hodowli jakościowej rzepaku (*Brassica napus*). Rośliny Oleiste XVIII (1): 119-134.
- Lefort-Buson M., Datté Y. 1982. Genetic study of some agronomic characters in winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). I. Heterosis. Agronomie 2 (4): 315-322.
- Lefort-Buson M., Datté Y. 1983. L'hétérosis chez le colza oleagineux (*Brassica napus* L.). Proc. 6th Intern. Rapeseed Congress, 17-19 May 1983, Paris, France, vol. 1: 558-564.
- Lefort-Buson M., Datté Y. 1985. Etude de l'hétérosis chez le colza oléagineux d'hiver (*Brassica napus* L.). Comparaison de deux populations, l'une homozygote et l'autre heterozygote. Agronomie 5 (2): 101-110.
- Liersch A., Bartkowiak-Broda I., Ogrodowczyk M. 2000. Ocena plonowania i cech jakościowych różnego typu odmian mieszańcowych rzepaku ozimego. Rośliny Oleiste XXI (2): 341-358.
- Michalski K., Kołodziej K., Krzymański J. 1995. Quantitative analysis of glucosinolates in seeds of oilseed rape. Effect of sample preparation on analytical results. Proc. 9th Intern. Rapeseed Congress, 9-11 July 1991, Cambridge, UK, vol. 1: 6-8.
- Pellan-Delourme R. 1986. Etude de deux systèmes de stérilité male génocyttoplasmique introduis chez le colza (*Brassica napus* L.) par croisements intergénériques avec *Raphanus* et *Diplotaxis*. These INRA – Rennes.
- Pellan-Delourme R., Renard M. 1988. Cytoplasmic male sterility in rapeseed (*Brassica napus* L.): female fertility of restored rapeseed with "ogura" and cybrids cytoplasm. Genome 30: 234-238.
- Popławska W. 2000. Badania nad formami restorującymi genowo-cytoplazmatyczną męską niepłodność typu Polima i Ogura u rzepaku ozimego (*Brassica napus* L. var. *oleifera*). Praca doktorska wykonana w Zakładzie Roślin Oleistych IHAR Poznań.
- Popławska W., Bartkowiak-Broda I., Liersch A., Fürguth A. 2001. Ocena cech jakościowych linii restorerów dla CMS *ogura* i ich przydatności do tworzenia zrestorowanych mieszańców pokolenia F₁ rzepaku ozimego. Rośliny Oleiste XXII (2): 337-350.

- Sang J.P., Bluett C.A., Elliot B.R., Truscott R.J.W. 1986. Effect of time of sowing on oil content, erucic acid and glucosinolate contents in rapeseed (*Brassica napus* L. cv. *Marnoo*). Aust. J. Exp. Agric. 26 (5): 607-612.
- Wielebski F. 1997. Wpływ wzrastających dawek siarki na skład glukozynolanów zawartych w nasionach dwóch odmian rzepaku ozimego. Rośliny Oleiste XVIII (1): 179-186.
- Wielebski F., Wójtowicz M. 1998. Zależność między koncentracją siarki w liściach a zawartością glukozynolanów w nasionach dwóch odmian rzepaku ozimego przy wzrastającym nawożeniu siarką. Rośliny Oleiste XIX (1): 71-80.