

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

Ocena cech jakościowych linii restorerów dla CMS *ogura* i ich przydatności do tworzenia zrestorowanych mieszańców pokolenia F₁ rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.)

Evaluation of qualitative traits of restorer lines for CMS *ogura* and its usefulness for the development of F₁ restored hybrids of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.)

Słowa kluczowe: rzepak ozimy, *Brassica napus* L., CMS *ogura*, mieszańce zrestorowane, gen restorer, linie restorera, marker izoenzymatyczny PGI-2, glukozynolany, cechy jakościowe

Key words: winter oilseed rape, *Brassica napus* L., CMS *ogura*, restored hybrids, restorer gene, restorer lines, isozyme marker PGI-2, glucosinolates, quality traits

Brak u podwójnie ulepszanego rzepaku ozimego linii restorerów o odpowiednich cechach jakościowych i agronomicznych był dotychczas czynnikiem limitującym wykorzystanie systemu CMS *ogura* w hodowli odmian mieszańcowych zrestorowanych. Gen restorer został przeniesiony do genomu rzepaku z rzodkwi (*Raphanus sativus*) (Heyn 1976). Ze względu na ścisłe sprzężenie alleli genu restorera z genami determinującymi wysoką zawartość glukozynolanów uzyskane początkowo rekombinanty charakteryzowały się wysoką zawartością glukozynolanów w nasionach. W pracy przedstawiono badania nad podwójnie ulepszonymi liniami restorera dla CMS *ogura* w pokoleniach F₅ i F₆, wyselekcjonowanych z mieszańców pomiędzy niskoglukozynolanowymi liniami CMS *ogura* (4,1–11,8 μM/g nasion) i wyjściową linią restorera R o zawartości glukozynolanów ok. 60 μM/g nasion. Selekcję linii z allelami genu restorera prowadzono na podstawie obserwacji ekspresji fenotypowej tej cechy oraz z wykorzystaniem izoenzymatycznego markera PGI-2. Przedstawiono

The lack of restorer lines with appropriate qualitative and agronomical traits was the factor limiting the utilization of CMS *ogura* system in breeding of restored hybrid varieties of double low winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). Restorer gene has been introduced to the rapeseed genome from radish genotype (*Raphanus sativus*) (Heyn 1976). Obtained recombinants were characterized by strong linkage of restorer alleles with genes determining high glucosinolate content. Investigations of double low restorer lines for CMS *ogura* in F₅ – F₆ generations are presented. These lines were selected from crossings between low glucosinolate male sterile lines CMS *ogura* (4.1–11.8 μM/g of seeds) and starting restorer line R with glucosinolates content of about 60 μM/g of seeds. Selection of genotypes with restorer gene alleles was carried out on the phenotypic expression of this trait and with the use of isozyme marker PGI-2. Results of the evaluation of yielding ability and quantitative traits for restorer lines of CMS *ogura* in F₅ and

ocenę poziomu plonowania i cech jakościowych linii restorerów pokolenia F_5 i F_6 , a zatem ich przydatności do tworzenia zrestorowanych mieszańców pokolenia F_1 rzepaku ozimego. Wśród wyselekcjonowanych w pokoleniu F_6 178 linii restorerów około 84% charakteryzowało się zawartością glukozynolanów poniżej 15 $\mu\text{M/g}$ nasion. Prawie połowa badanego pokolenia F_6 utraciła marker PGI-2. Wskazuje to na nieskuteczność korzystania z markera PGI-2 w selekcji linii restorerów w populacjach charakteryzujących się niską zawartością glukozynolanów. Plenność badanych linii restorerów była silnie zróżnicowana, a najlepsza linia nie różniła się istotnie od plenności wzorcowej odmiany Lisek.

F_6 generation are presented. Also usefulness of these restorer lines for F_1 restored hybrids of winter oilseed rape development was discussed. About 84% of 178 restorer lines selected from F_6 progeny were characterized by glucosinolate content below 15 $\mu\text{M/g}$ of seeds. The PGI-2 marker was lost in nearly half of the investigated F_6 progeny. It indicates that the use of PGI-2 marker in selection for low glucosinolate restorer lines in low glucosinolate populations was not effective. The yielding ability of the best investigated restorer line was not significantly different as compared to standard variety Lisek.

Wstęp i cel pracy

Warunkiem uzyskania nasion mieszańcowych pokolenia F_1 o pożądanых cechach jakościowych, tj. bezerukowych, o zawartości glukozynolanów w granicach polskiej normy dla materiału siewnego (do 15 $\mu\text{M/g}$ nasion) oraz o wysokiej zawartości tłuszczu, jest dobór odpowiednich pod względem tych cech komponentów odmiany mieszańcowej, a więc zarówno linii CMS *ogura* jak i linii restorera.

W wyniku krzyżowania linii CMS *ogura* z najlepszymi polskimi podwójnie ulepszonymi genotypami rzepaku ozimego, a następnie selekcji uzyskano linie CMS *ogura* o wartościowych cechach jakościowych (Liersch i in. 1999).

Zasadniczym problemem były natomiast trudności z uzyskaniem linii restorerów o niskiej zawartości glukozynolanów i zawartości tłuszczu przynajmniej na poziomie obecnie uprawianych odmian rzepaku. Ze względu na pochodzenie CMS *ogura* od rzodkwi w obrębie gatunku *Brassica napus* nie znaleziono genotypów z genami restorerami dla tego systemu. Zostały one przeniesione poprzez krzyżowanie międzyrodzajowe między liniami rzepaku z cytoplazmą CMS *ogura* oraz *Raphanobrassica* (Heyn 1976). Jednak uzyskany materiał wyjściowy do hodowli charakteryzował się wysoką zawartością glukozynolanów, którą jest bardzo trudno obniżyć ze względu na ścisłe sprzężenie genu restorera z jednym z genów warunkujących wysoką zawartość glukozynolanów (Delourme i in. 1995). Także plenność form wyjściowych jest obniżona w wyniku zaburzeń, spowodowanych włączeniem do genomu rzepaku zbyt dużego odcinka informacji genetycznej pochodzącej od rzodkwi (Pellan-Delourme, Renard 1988). Z tych powodów uzyskanie niskoglukozynolanowych i plennych linii restorerów jest bardzo trudne, a ich brak jest czynnikiem ograniczającym wykorzystanie CMS *ogura* do hodowli zrestorowanych odmian mieszańcowych.

Badania nad liniami rzepaku restorującymi dla CMS *ogura* rozpoczęto w Zakładzie Roślin Oleistych IHAR korzystając z linii R restorera o zawartości glukozyolanów 60 $\mu\text{M/g}$ nasion. Poprzez krzyżowanie tej linii z niskoglukozyolanowymi liniami rzepaku z cytoplazmą CMS *ogura* (4,1–11,8 $\mu\text{M/g}$ nasion), a następnie selekcję w kolejnych pokoleniach z zastosowaniem markera izoenzymatycznego PGI-2 sprzężonego z allelami genu restorera oraz markera molekularnego PCR-SCAR sterylnej cytoplazmy typu *ogura*, uzyskano w pokoleniu F_3 genotypy posiadające allele genu restorera i charakteryzujące się zawartością glukozyolanów poniżej 15 $\mu\text{M/g}$ nasion. Linie te poddano szczegółowej obserwacji w następnych pokoleniach w celu wyselekcjonowania w pełni stabilnych genotypów pod względem cechy niskiej zawartości glukozyolanów, a jednocześnie utrzymujących zdolność do restorowania.

Celem przeprowadzonych badań była ocena linii restorerów dla CMS *ogura* pod względem cech jakościowych i ich przydatności do tworzenia zrestorowanych mieszańców rzepaku pokolenia F_1 .

Material i metodyka

Materiałem do badań nad restorerami dla CMS *ogura* była populacja 47 genotypów rzepaku ozimego pokolenia F_5 pochodzących z krzyżowań: ♀ niskoglukozyolanowych linii rzepaku z cytoplazmą CMS *ogura* z ♂ wyjściową linią restorera R oraz populacja 178 genotypów pokolenia F_6 . Podstawą wyboru genotypów w pokoleniu F_5 była niska zawartość glukozyolanów (7,7–22,3 $\mu\text{M/g}$ nasion).

Selekcję genotypów z allelami genu restorera prowadzono na podstawie ekspresji fenotypowej zdolności do restorowania męskiej sterility oraz przy pomocy sprzężonego z genem restorerem markera izoenzymatycznego — fosfoglukoizomerazy 2 (PGI-2) (Delourme, Eber 1992). Analizy przeprowadzono według metody opracowanej przez Shields'a i in. (1983) oraz Vellajos'a (1983).

Linie restorery są prowadzone na sterylnej cytoplazmie typu *ogura*. Fakt ten pozwolił na sprawdzenie czystości wybranych linii restorerów przy pomocy specyficznego dla sterylnej cytoplazmy *ogura* markera mtDNA typu SCAR według metody podanej przez Krishnasamy i Makaroff (1993), zmodyfikowanej przez Mikołajczak i in. (1998).

Analizy zawartości glukozyolanów wykonano metodą silylowych pochodnych glukozyolanów (Michalski i in. 1995) przy pomocy chromatografu gazowego firmy Perkin Elmer, a zawartości tłuszczu za pomocą analizatora NMR.

Ocenę plenności linii restorerów przeprowadzono w RZD Wielichowo w Zielęcinie w doświadczeniu polowym założonym w czterech powtórzeniach w układzie losowanych bloków z systematycznie rozmieszczonym wzorcem — odmianą Lisek, stanowiącym odniesienie do odmian populacyjnych.

Wyniki i dyskusja

Dla populacji roślin pokoleń F_5 i F_6 zbadano zawartość glukozynolanów i tłuszczu w nasionach, a w pokoleniu F_6 udział homo- i heterozygot pod względem alleli genu restorera oraz sprzężenie tych alleli z izoenzymatycznym markerem PGI-2.

Uzyskane wyniki umożliwiły opracowanie charakterystyki pokolenia F_5 liczącego 47 linii rzepaku ozimego i pokolenia F_6 składającego się ze 178 linii. Wszystkie linie posiadały allele genu restorera (tab. 1).

Tabela 1

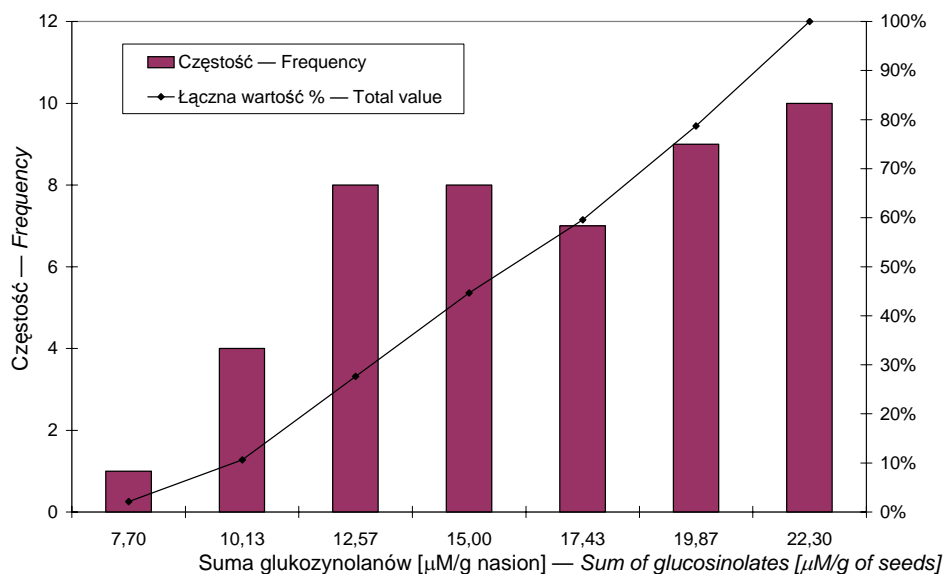
Charakterystyka pokolenia F_5 i F_6 linii restorerów dla CMS *ogura*
Characteristics of restorer lines for CMS ogura in F_5 and F_6 progeny

Charakterystyka <i>Characteristic</i>	Suma glukozynolanów [$\mu\text{M/g}$ nasion] <i>Sum of glucosinolates</i> [$\mu\text{M/g}$ of seeds]		Zawartość tłuszczu w nasionach [% s.m.] <i>Fat content in seeds</i> [% d.m.]	
	pokolenie F_5 <i>progeny F_5</i>	pokolenie F_6 <i>progeny F_6</i>	pokolenie F_5 <i>progeny F_5</i>	pokolenie F_6 <i>progeny F_6</i>
Średnia — <i>Mean</i>	15,92	13,40	42,22	43,51
Maksimum	22,50	37,70	45,40	48,20
Minimum	7,70	1,70	37,70	36,90
Odchylenie standardowe <i>Standard deviation</i>	4,08	6,01	1,57	1,95
Współczynnik zmienności <i>Coefficient of variability</i>	25,60	44,84	3,73	4,49

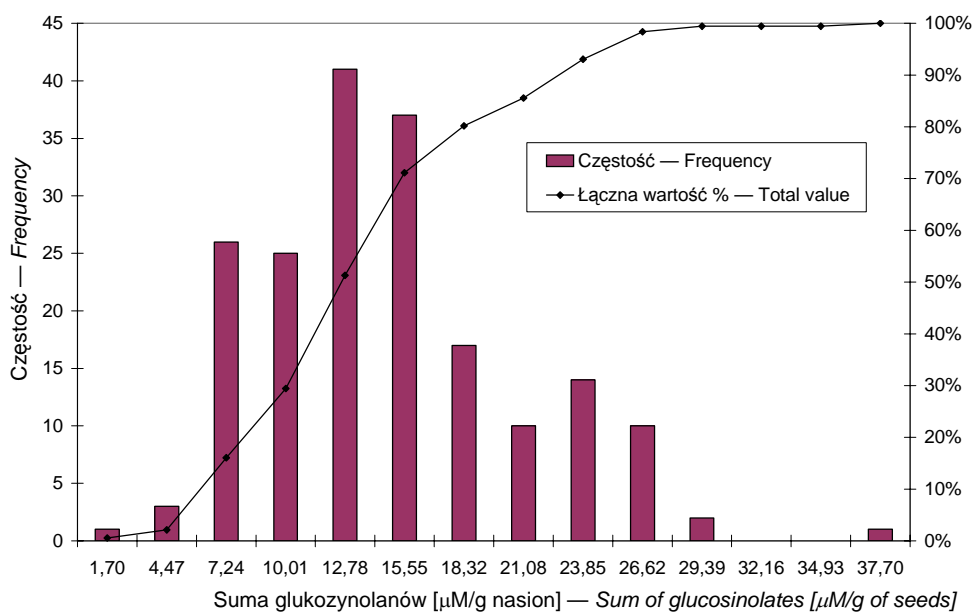
Zawartość glukozynolanów dla analizowanego materiału wahała się w pokoleniu F_6 od 1,7 do 37,7 $\mu\text{M/g}$ nasion. Średnia zawartość glukozynolanów wynosiła 13,4 $\mu\text{M/g}$ nasion, a genotypów o zawartości glukozynolanów poniżej wartości średniej było 107. W sumie 150 genotypów charakteryzowało się zawartością tych związków poniżej wartości 15 $\mu\text{M/g}$ nasion.

Porównanie zawartości glukozynolanów w liniach restorerach pokolenia F_5 ze średnią zawartością glukozynolanów w subliniach pokolenia F_6 uwidocznilo tendencję do obniżenia zawartości tych związków u 33 linii o wartości od 0,2 do 11,05 $\mu\text{M/g}$ nasion. Natomiast w przypadku 14 linii restorerów odnotowano wzrost zawartości glukozynolanów o wartości od 0,2 do 13,3 $\mu\text{M/g}$ nasion.

Histogramy 1 i 2 utworzone dla zawartości glukozynolanów w nasionach 47 linii pokolenia F_5 i 178 linii pokolenia F_6 pokazują jak w wyniku selekcji wzrasta procentowy udział genotypów o niskiej zawartości tych związków, a także znacznemu obniżeniu ulega minimalna uzyskana zawartość glukozynolanów w nasionach.



Histogram 1. Zawartość glukozynolanów w nasionach linii restorerów w pokoleniu F₅
Glucosinolate content in seeds of restorer lines in F₅ progeny



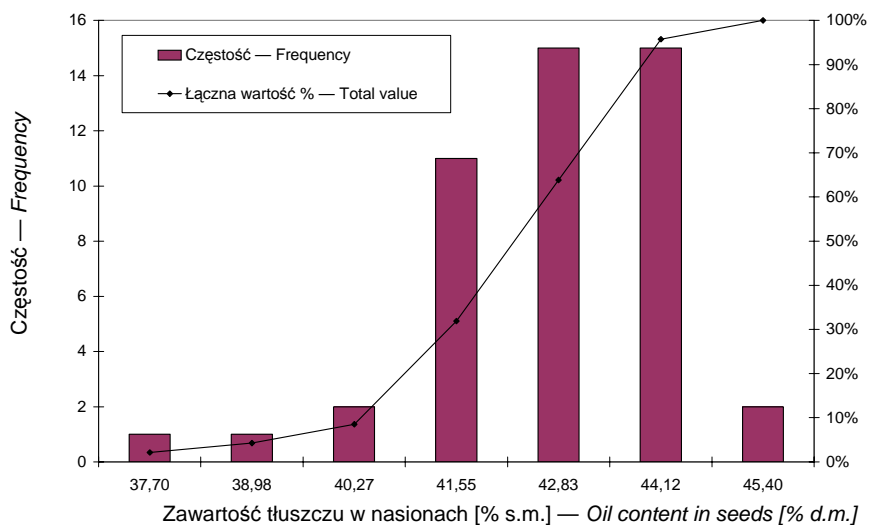
Histogram 2. Zawartość glukozynolanów w nasionach linii restorerów w pokoleniu F₆
Glucosinolate content in seeds of restorer lines in F₆ progeny

Zawartość tłuszczu w nasionach z pokolenia F_1 zależy głównie od genotypu rośliny matecznej przy minimalnym wpływie genotypu zarodka. Cecha ta jest modyfikowana również przez warunki środowiska (Bartkowiak-Broda 1978; Liersch i in. 2000). Natomiast w nasionach z roślin pokolenia F_1 zawartość tłuszczu jest determinowana w równej mierze przez genotyp rośliny matecznej i zapylacza. Zatem zawartość tłuszczu w nasionach mieszańców pokolenia F_1 oraz w nasionach konsumpcyjnych zależy od genotypów użytych do tworzenia mieszańców. Z tego względu zawartość tłuszczu w nasionach linii restorerów stanowi istotną cechę jakościową określającą ich przydatność do tworzenia mieszańców zrestorowanych.

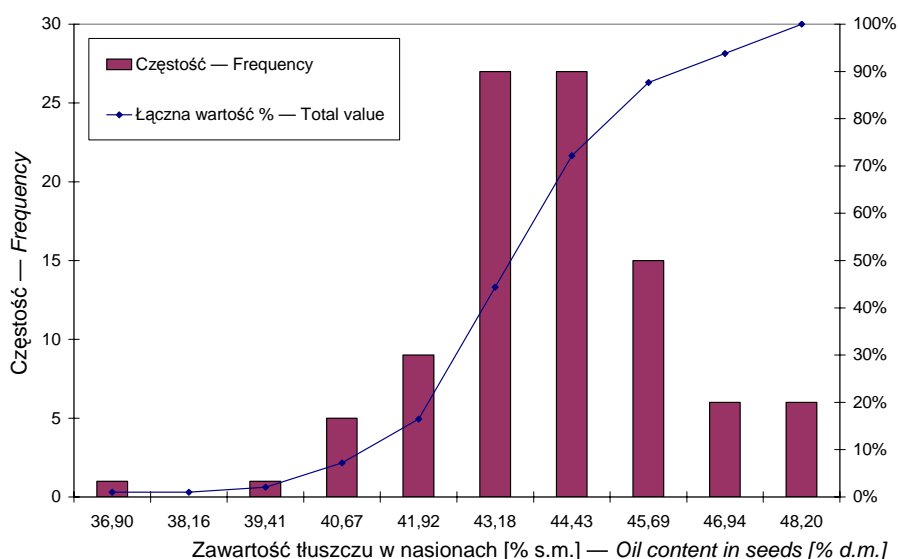
Zawartość tłuszczu w nasionach analizowanych linii pokolenia F_6 wahała się od 36,9% do 48,2%. Średnia zawartość tłuszczu wynosiła 43,5% (tab. 1).

Intensywną selekcję linii restorerów na zawartość tłuszczu rozpoczęto dla roślin pokolenia F_5 . Ocenę jej efektów w pokoleniu F_6 przedstawiają histogramy dla zawartości tłuszczu w nasionach pokolenia F_5 i F_6 (histogram 3, 4). W wyniku selekcji w pokoleniu F_6 nastąpił wzrost procentowego udziału genotypów o wysokiej zawartości tłuszczu, a podwyższeniu uległa także maksymalna zawartość tłuszczu z 45,4% do 48,2% (tab. 1).

Poprzez krzyżowanie linii restorera z niskoglukozynolanowymi liniami rzepaku ozimego (w tym przypadku liniami z cytoplazmą CMS *ogura*) i selekcją w kolejnych pokoleniach, jak pokazały przedstawione wyniki, uzyskano rekombinanty, w których zostało przerwane niekorzystne sprzężenie genu restorera (*Rfo*) z genami warunkującymi wysoką zawartość glukozynolanów i otrzymano niskoglukozynolanowe genotypy z allelami genu restorera.



Histogram 3. Zawartość tłuszczu w nasionach linii restorerów w pokoleniu F_5 — Oil content in seeds of restorer lines in F_5 progeny



Histogram 4. Zawartość tłuszczu w nasionach linii restorerów w pokoleniu F_6 — *Oil content in seeds of restorer lines in F_6 progeny*

Analiza obecności markera genu restorera PGI-2 w liniach pokolenia F_6 charakteryzującego się niską zawartością glukozynolanów — średnio $13,4 \mu\text{M/g}$ nasion wykazała, że w części badanych genotypów zostało także przerwane sprzężenie markera z genem restorerem. W sumie wykonano analizy dla populacji 805 roślin. W genotypach 96 linii pokolenia F_6 (co stanowiło 53,8% badanej populacji) stwierdzono obecność markera PGI-2 silnie sprzężonego w pierwotnej populacji z allelami genu restorera, z tego 92 badane genotypy były homozygotami, a 4 heterozygotami pod względem alleli genu *Pgi-2*. Zawartość glukozynolanów dla tych linii wahała się od $1,7$ do $37,7 \mu\text{M/g}$ nasion (tab. 2).

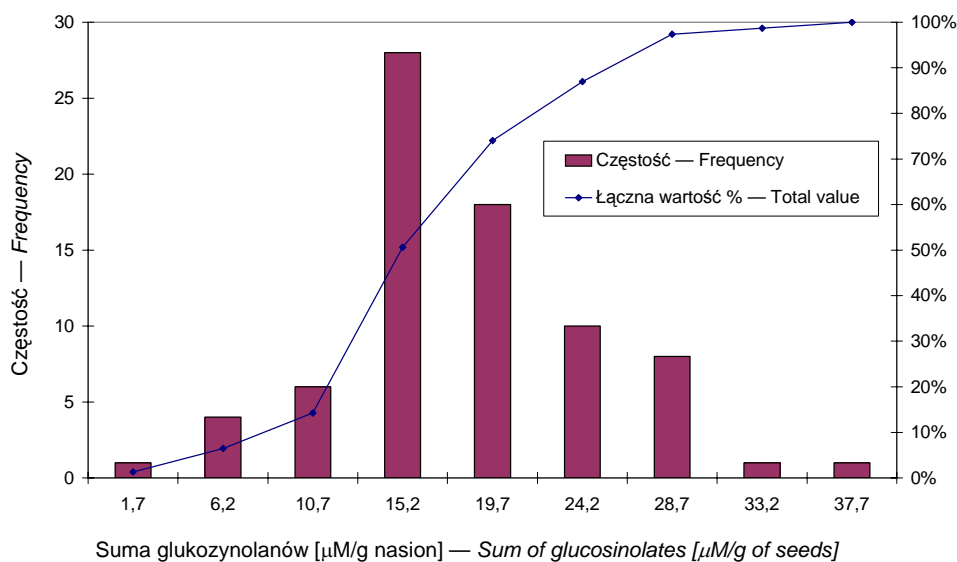
Pozostałe 82 linie posiadające w swoim genotypie allele genu restorera, utraciły charakterystyczny dla rzodkwi marker PGI-2. Wśród nich 67 okazało się homozygotami, a 15 heterozygotami pod względem alleli genu restorera. Zawartość glukozynolanów dla tych linii wahała się od $3,8$ do $24,2 \mu\text{M/g}$ nasion (tab. 2). Oznacza to, że u 46,2% analizowanych genotypów nastąpiło przerwanie sprzężenia izoenzymatycznego markera PGI-2 z allelami genu restorera.

Porównanie zawartości glukozynolanów w pokoleniu F_6 dla genotypów z markerem genu *Pgi-2* (histogram 5) i genotypów, które utraciły marker (histogram 6), potwierdza możliwość selekcji linii restorera o niskiej zawartości glukozynolanów zarówno w jednej jak i drugiej grupie. Natomiast zasadniczo wyższy procentowy udział genotypów o niskiej zawartości glukozynolanów charakteryzuje badane restorery, które utraciły marker PGI-2.

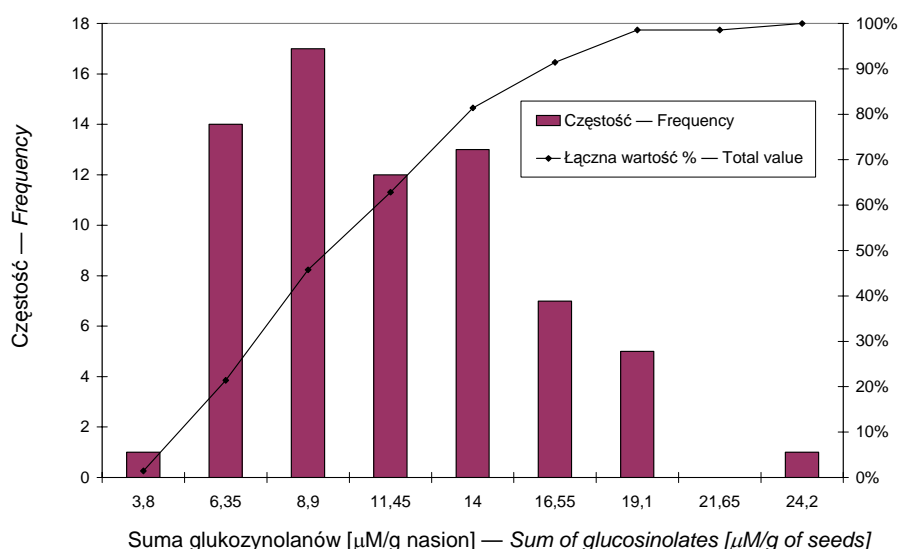
Tabela 2

Zawartość glukozynolanów w pokoleniu F₆ linii restorerów z markerem i bez markera PGI-2
Glucosinolate content in restorer lines of F₆ progeny with PGI-2 marker and with lost PGI-2 marker

Charakterystyka <i>Characteristic</i>	Suma glukozynolanów w liniach restorerach pokolenia F ₆ [$\mu\text{M/g}$ nasion] <i>Sum of glucosinolates in restorer lines of F₆ progeny [$\mu\text{M/g}$ of seeds]</i>	
	rośliny z markerem PGI-2 <i>plants with marker PGI-2</i>	rośliny, które utraciły marker PGI-2 <i>plants with lost marker PGI-2</i>
Liczba linii (178) <i>Number of lines (178)</i>	96 (53,8%)	82 (46,2%)
Średnia — <i>Mean</i>	16,2	10,2
Maksimum	37,7	24,2
Minimum	1,7	3,8
Odchylenie standardowe <i>Standard deviation</i>	6,42	4,21
Współczynnik zmienności <i>Coefficient of variability</i>	39,67	41,32



Histogram 5. Zawartość glukozynolanów w pokoleniu F₆ linii restorerów z markerem PGI-2
Glucosinolates content in restorer lines of F₆ progeny with PGI-2 marker



Histogram 6. Zawartość glukozynolanów w pokoleniu F_6 linii restorerów, które utraciły marker PGI-2
Glucosinolates content in restorer lines of F_6 progeny with lost PGI-2 marker

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że w wyniku introgresji genomu ustabilizowanych genetycznie linii rzepaku do linii restorera mogą powstać różne rekombinacje: formy pozbawione odcinka DNA determinującego wysoką zawartość glukozynolanów, które utraciły sprzężony marker PGI-2, a także takie, w których genomie marker ten został zachowany. W drugim przypadku uzyskany wynik sugeruje, że w liniach tych pozostało więcej informacji genetycznej pochodzącej od rzodkwi.

Niskoglukozynolanowe genotypy z allelami genu restorera i pozbawione markera PGI-2 pojawiały się już we wcześniejszych pokoleniach, ale ze znacznie niższą częstością. Wśród wyselekcjonowanych linii restorerów pokolenia F_4 o niskiej zawartości glukozynolanów ($<20 \mu\text{M/g}$ nasion) u 7,8% badanej populacji zaobserwowano utratę izoenzymatycznego markera PGI-2 (Bartkowiak-Broda, Popławska 1999). Fakt ten wskazywałby na możliwość dalszych zmian modyfikacyjnych zachodzących w obszarze introgresji genomu rzodkwi, polegających na utracie alleli rzodkwi *Pgi-2* wraz ze ściśle z nim sprzężonym fragmentem DNA, odpowiedzialnym za wysoką zawartość glukozynolanów. Także Delourme i in. (1999) charakteryzując obszar introgresji genomu rzodkwi dla różnych linii restorerów zauważają, iż nie jest konieczna całkowita eliminacja informacji genetycznej pochodzącej od rzodkwi w celu uzyskania linii restorera o niskiej zawartości glukozynolanów.

Uzyskane wyniki wskazują na ograniczoną przydatność markera PGI-2 w przypadku gdy selekcja prowadzona jest w populacji o znacznie obniżonej zawartości glukozyolanów. Natomiast stwierdzenie utraty markera PGI-2 przy jednoczesnym zachowaniu alleli genu restorera może wskazywać na to, że został usunięty większy odcinek DNA pochodzącego od rzodkwi. Prawdopodobność tej hipotezy pozostaje do sprawdzenia.

W doświadczeniu polowym oceniono plenność 16 linii restorerów wyselekcjonowanych w pokoleniu F₅. Plony tych linii wahały się od 54,40 do 30,69 dt/ha i żadna nie plonowała istotnie lepiej od wzorca. Najlepiej plonująca linia restorera PN 1255/2000 plonowała na poziomie 89,4% wzorca, nie różniąc się od niego w sposób istotny statystycznie (tab. 3).

Masa 1000 nasion jest jednym z elementów struktury plonu. W porównaniu z odmianą wzorcową Lisek 10 linii restorerów wykazywało wyższą masę 1000 nasion. Masa 1000 nasion linii restorerów wahała się od 6,03 do 4,53 g. Jednak mimo dużej zdolności kompensacyjnej rzepaku cecha ta nie poprawiła w sposób znaczący plenności badanych linii.

Zawartość tłuszczu w nasionach badanych linii była zbliżona i wahała się od 49,70 do 43,73%. W porównaniu z odmianą wzorcową linia PN 1686/1 charakteryzowała się istotnie wyższą zawartością tłuszczu w nasionach.

Zawartość glukozyolanów w zebranych nasionach linii restorerów wahała się od 9,45 do 14,60 $\mu\text{M/g}$ nasion, a więc wszystkie odpowiadały wymaganemu standardowi. Zawartością glukozyolanów poniżej średniej dla wzorca wynoszącej 10,18 $\mu\text{M/g}$ nasion charakteryzowały się trzy linie restorery.

Zastosowanie do hodowli zrestorowanych mieszańców pokolenia F₁ linii restorera o zawartości glukozyolanów na poziomie do 15 $\mu\text{M/g}$ nasion w połączeniu z linią CMS *ogura* o ekstremalnie niskiej zawartości glukozyolanów pozwala na uzyskanie nasion mieszańcowych o zawartości glukozyolanów odpowiadającej polskiej normie na materiał siewny, tj. do 15 $\mu\text{M/g}$ nasion (Delourme i in. 1999; Bartkowiak-Broda i in. 1999; Popławska 2000). Badania prowadzone na mieszańcach pokolenia F₁ uzyskanych z krzyżowań linii wsobnych rzepaku ozimego w układzie diallelicznym wykazały możliwość uzyskania wysoko plonujących odmian mieszańcowych o niskiej zawartości glukozyolanów (Krzymański i in. 1998), przy czym optymalną metodą selekcji najlepszych kombinacji pomiędzy liniami CMS i liniami restorerami jest krzyżowanie w układzie czynnikowym (Krzymański i in. 1999).

Tabela 3

Ocena plonu i cech jakościowych linii restorerów w doświadczeniu polowym
Evaluation of yield and qualitative traits for restorer lines in field trial

Zielęcin 2001

Linia restorera <i>Restorer line</i>	Plon nasion <i>Seed yield</i> [dt/ha]	Masa 1000 nasion <i>1000 seeds</i> <i>weight</i> [g]	Suma glukozynolanów [μM/g nasion] <i>Total of glucosinolates</i> [μM/g of seeds]	Tłuszcz [% s.m.] <i>Fat</i> [% d.m.]
PN 1145	33,45	4,53	9,88	47,08
PN1170	37,12	5,39	10,42	46,65
PN 1171	39,26	5,06	12,73	46,08
PN 1172	33,34	5,64	12,63	45,40
PN 1241	33,34	5,25	9,45	46,98
PN 1255	54,40	5,35	9,92	47,50
PN 1303	33,14	5,74	11,33	45,23
PN 1343	30,72	4,56	10,96	43,73
PN 1345	30,69	5,08	11,00	46,23
PN 1361	40,42	5,29	10,53	46,20
PN 1375	44,47	4,54	10,70	47,05
PN 1397	38,69	5,42	10,63	45,45
PN 1399	33,58	6,03	12,05	45,90
PN 1435	38,22	5,32	10,23	46,98
PN 1655/1	34,22	5,38	12,48	47,53
PN 1686/1	46,35	4,57	14,60	49,70
Średnia — <i>Mean</i>	37,59	5,20	11,22	46,48
Maksimum	54,40	6,03	14,60	49,70
Minimum	30,69	4,53	9,45	43,73
Odchylenie standardowe <i>Standard deviation</i>	6,40	0,45	1,35	1,31
Współczynnik zmienności <i>Coefficient of variability</i>	17,03	8,70	12,05	2,82
Średnia wzorca — odmiana Lisek — <i>Mean of standard</i> <i>variety Lisek</i>	60,86	5,07	10,18	47,96
NIR _{0,05} — <i>LSD_{0,05}</i>	7,17	4,85	2,85	1,10
NIR _{0,01} — <i>LSD_{0,01}</i>	9,49	6,42	3,77	1,45

Jednak ze względu na sposób dziedziczenia zawartości glukozynolanów (Krzymański 1970; Bartkowiak-Broda i in. 1983) oraz na fakt, że zawartość glukozynolanów jest modyfikowana także przez warunki środowiska: przebieg pogody, dostępność siarki w glebie (Wielebski 1997; Wielebski, Wójtowicz 1998), może wystąpić zbyt silny ich wzrost w nasionach konsumpcyjnych. Z tego względu konieczne jest dalsze prowadzenie prac badawczych nad obniżeniem zawartości glukozynolanów w nasionach linii restorera oraz wieloletnich obserwacji tych linii pod względem stabilności zawartości glukozynolanów, jak również ekspresji zdolności do restorowania.

Natomiast niewystarczająca plenność niskoglukozynolanowych linii restorerów wskazuje na konieczność dalszej eliminacji z ich genotypów zbędnej informacji genetycznej pochodzącej od rzodkwi, wpływającej na obniżkę żeńskiej płodności linii restorerów jak i mieszańców pokolenia F_1 z tymi liniami (Pelland-Delourme 1986). Konieczne jest więc krzyżowanie wypierające z wartościowymi liniami i odmianami rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego.

Wnioski

- W pokoleniu F_5 i F_6 wyselekcjonowano linie restorery charakteryzujące się niską zawartością glukozynolanów i wysoką zawartością oleju w nasionach.
- Uzyskane wyniki wskazują, że zastosowanie w hodowli odmian mieszańcowych zrestorowanych homozygotycznych linii restorerów o ekstremalnie niskiej zawartości glukozynolanów i wysokiej zawartości oleju umożliwia uzyskanie nasion mieszańcowych pokolenia F_1 odpowiadających polskiej normie pod względem jakości.
- U prawie połowy badanych linii restorerów wystąpiło przerwanie sprzężenia genu restorera z markerem izoenzymatycznym PGI-2. Zatem w selekcji linii restorerów w pokoleniach charakteryzujących się niską zawartością glukozynolanów przydatność tego markera jest ograniczona.
- Linie restorery, które utraciły marker PGI-2, utrzymują zawartość glukozynolanów na znacznie niższym poziomie, są bardziej stabilne.

Conclusions

- The restorer lines with low glucosinolates content and high oil content were selected in F_5 and F_6 generations.
- The obtained results indicate that the use of homozygous restorer lines with extremely low glucosinolate content and high oil content in breeding of

restored hybrids varieties allows to achieve hybrid seeds of F₁ progeny meeting the quality requirements of Polish standard.

- The break of linkage between the restorer gene and radish isozyme PGI-2 marker occurred in about half of investigated restorer lines. Because of that the PGI-2 marker is not useful in selection of restorer lines in low glucosinolate populations.
- The restorer lines with lost PGI-2 marker maintain glucosinolate content at considerably lower level and are more stable.

Literatura

- Bartkowiak-Broda I. 1978. Inheritance of fat content and fatty acid composition in seeds of zero-erucic winter rape (*Brassica napus*). Proceedings 5th Internacjonal Rapeseed Conference, Malmö, Szwecja, vol. 1: 119-123.
- Bartkowiak-Broda I., Krzymański J., Ogródowczyk M. 1983. Inheritance of glucosinolate content and composition in seeds of winter rape *Brassica napus* L. Proc. 6th Intern. Rapeseed Congress, Paris, 17-19.05.1983, tom I: 305-310.
- 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, Canberra, Australia, 26-29.09.1999, CD ROM
- Delourme R., Eber F. 1992. Linkage between an isozyme marker and a restorer gene in radish cytoplasmic male sterility of rapeseed (*Brassica napus* L.). Theor. Appl. Genet. 85: 222-228.
- Delourme R., Eber F., Renard M. 1995. Breeding double low restorer lines in radish cytoplasmic male sterility of rapeseed (*Brassica napus* L.). Proc. 9th Intern. Rapeseed Congress, Cambridge, UK, 4-7.07.1995, vol. 1: 6-8.
- Delourme R., Horvais R., Vallé P., Renard M. 1999. Double low restored F₁ hybrids can be produced with the Ogu-INRA CMS in rapeseed. Proc. 10th Intern. Rapeseed Congress, Canberra, Australia, 26-29.09.1999, CD ROM
- Heyn F.W. 1976. Transfer of restorer genes from *Raphanus* to cytoplasmic male sterile *Brassica napus*. Cruciferae Newsletter, Eucarpia, 1: 15-16.
- Krishnasamy S., Makaroff C. 1993. Characterization of the radish mitochondrial orf B locus: possible relationship with male sterility in *ogura* radish. Curr. Genet. 24: 156-163.
- Krzymański J. 1970. Genetyczne możliwości ulepszania składu chemicznego nasion rzepaku ozimego. Hodowla roślin, Aklimatyzacji i Nasiennictwo, tom 14, zeszyt 2: 96-133.
- Krzymański J., Piętka T., Krótka K., Michalski K. 1998. Współzależność między plonem nasion a zawartością glukozynolanów u pokolenia F₁ mieszańców rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego (*Brassica napus* L.). Rośliny Oleiste XIX (2): 389-398.
- Krzymański J., Piętka T., Ogródowczyk M., Krótka K. 1999. Ocena wartości kombinacyjnej mieszańców między liniami wsobnymi rzepaku ozimego i odmianami wykonana w układzie czynnikowym. I. Pokolenie F₁. Rośliny Oleiste XX (2): 335-346.
- 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, Cambridge, UK, 4-7.07.1995, vol. 1: 6-8.

- Mikołajczak K., Matuszczak M., Piętka T., Bartkowiak-Broda I., Krzymański J. 1998. Zastosowanie markerów DNA do badań składników mieszańców. *Rośliny Oleiste* XIX (2): 463-471.
- Liersch A., Bartkowiak-Broda I., Krótka K. 1999. Charakterystyka linii CMS *ogura* rzepaku ozimego i ich linii rekurencyjnych. *Rośliny Oleiste* XX (2): 311-324.
- 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.
- Pellan-Delourme R. 1986. Etude de deux systèmes de stérilité male génocyttoplasmique introduits chez le colza (*Brassica napus* L.) par croisements intergénériques avec *Raphanus* et *Diptaxis*. These INRA-Rennes: 88.
- Pellan-Delourme R., Renard M. 1988. Cytoplasmic male sterility in rapeseed (*Brassica napus* L.). Female fertility of restorer 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
- Shields C.R., Orton C.J., Stuber C.W. 1983. In: Tanksley S. D. and Orton T.J. (Eds) Isozymes in plants genetics and breeding, Part A, Elsevier Sciences Publishers, B.V., Amsterdam: 443-458.
- Vellajos C.E. 1983. Enzyme activity staining In: Tanksley S.D. and Orton T.J. (Eds) Isozymes in plants genetics and breeding, Part A, Elsevier Sciences Publishers, B.V., Amsterdam: 469-516.
- Wielebski F. 1997. Wpływ wzrastających dawek siarki na skład glukozyolanów 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 glukozyolanów w nasionach dwóch odmian rzepaku ozimego przy wzrastającym nawożeniu siarką. *Rośliny Oleiste* XIX (1): 71-80.