

Stanisław Spasibonek, Marcin Matuszczak, Teresa Piętka, Krystyna Krótka,
Jan Krzymański

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, Oddział w Poznaniu
Autor korespondencyjny — S. Spasibonek, e-mail: sspas@nico.ihar.poznan.pl

Możliwości dalszego obniżania zawartości glukozynolanów w nasionach rzepaku podwójnie ulepszanego (*Brassica napus* L.)

The possibilities for further reduction of the glucosinolate content in seeds of double low rapeseed (*Brassica napus* L.)

Słowa kluczowe: glukonapina, glukobrassicinapina, progoitryna, napoleiferyna, brassicina, 4HO-brassicina, suma glukozynolanów, zawartość tłuszczu, kwasy tłuszczowe, plon nasion

Streszczenie

Celem prezentowanych badań było wyselekcjonowanie linii rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego o ekstremalnie obniżonej zawartości glukozynolanów alkenowych, poniżej $5 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$ nasion, spośród populacji linii rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego o podwyższonej zawartości kwasu oleinowego ($C_{18:1} \geq 75\%$) w oleju nasion.

Materiał do badań stanowiły 23 linie wsobne o wysokiej zawartości kwasu oleinowego ($> 80\%$) oraz zmniejszonej zawartości kwasów linolowego (do 6%) i linolenowego (do 6%) w oleju nasion oraz o bardzo niskiej zawartości glukozynolanów ($< 5 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$ nasion). Linie te osiągnęły poziom plonowania zbliżony do uprawianych obecnie odmian populacyjnych. Różnice w zawartości kwasów tłuszczowych i glukozynolanów w nasionach tych linii nie są skorelowane z plonem nasion oraz z masą 1000 nasion, tak więc dalsze obniżanie zawartości glukozynolanów i różnicowanie kwasów tłuszczowych nie powinno wpływać niekorzystnie na plenność nowych linii hodowlanych.

Stwierdzona istotna, ujemna korelacja pomiędzy zawartością oleju w nasionach a zawartością glukozynolanów alkenowych stwarza możliwości dalszego ich obniżania bez ujemnego wpływu na zawartość oleju w nasionach nowych genotypów.

Stwierdzono natomiast wysoką, ujemną korelację pomiędzy zawartością kwasu oleinowego a zawartościami kwasów linolowego i linolenowego. Krzyżowanie linii hodowlanych o różnych pulach genowych może być wykorzystane w dalszych pracach nad jeszcze większym różnicowaniem składu kwasów tłuszczowych w oleju nasion rzepaku oraz dalszym obniżaniem zawartości glukozynolanów alkenowych.

Key words: gluconapin, glucobrassicinapin, progoitin, napoleiferin, brassicin, 4OH-brassicin, total of glucosinolates, fat content, fatty acid, seed yield

Abstract

The aim of the presented research has been to select double low winter oilseed rape lines with extremely low alkenyl glucosinolates content, less than $5 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$ seeds, from population comprising double low winter oilseed rape lines with high oleic acid content ($C_{18:1} \geq 75\%$) in seed oil.

The plant material consisted of 23 inbred lines from two research programs at IHAR-PIB Poznan. The first group of 16 lines comprised genotypes characterized by high oleic acid content, more than 80%, and lowered linoleic and linolenic acid content (to 6% of each), selected from 165 recombinants of M10453 and M10464 high oleic mutants and breeding lines and population varieties of high agronomic value. The second group of 7 lines originated from recombinant breeding using natural variability. The selected lines were characterized by very low glucosinolate content (less than $5 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$ seed) and increased oleic acid content (over 70%).

Obtained breeding lines with high oleic acid content and lines with reduced glucosinolate content in seeds reached the yielding level similar to the current population varieties. Differences in fatty acid and glucosinolate content in seeds of these lines are no longer correlated with seed yield and weight of 1000 seeds. Further lowering of glucosinolate content and differentiation of fatty acids content should not adversely affect the yielding of new breeding lines.

Significantly negative correlation between oil content in the seed and total of alkenyl glucosinolate content provides opportunity to continue the decrease of glucosinolate content without adversely affecting the oil content in seeds of new genotypes.

Statistically highly significant negative correlation between oleic acid content and linoleic and linolenic acids content was observed. This dependency can be used in further work on even bigger differentiation of fatty acid composition in rapeseed oil. Applied methods of recombinant breeding using natural variability and variability induced by chemical mutagenesis, though laborious and lengthy, have proved to be effective.

Wprowadzenie

W wyniku długoletnich prac badawczych i hodowlanych z wykorzystaniem naturalnej zmienności genetycznej bez uciekania się do korzystania z modyfikacji genetycznych (GMO) wyeliminowano dwie cechy, które obniżały wartość gospodarczą odmian tradycyjnych rzepaku – znacznie zredukowano poziom glukozynolanów w nasionach, natomiast ze składu kwasów tłuszczowych wyeliminowano kwas erukowy ($\text{C}_{22:1}$), niepożądany ze względu na jego złą wartość żywieniową. U odmian zeroerukowych nastąpiło zwiększenie zawartości pożądaných nienasyconych kwasów 18-węglowych: oleinowego, linolowego i linolenowego (Krzymański 2009). Korzystny skład kwasów tłuszczowych, a szczególnie zawarty w nim kwas linolenowy (omega-3), zapobiega przede wszystkim miażdżycy i związanym z nią chorobom sercowo-naczyniowym (choroba niedokrwienna serca, zawał serca, udar mózgu, choroby zakrzepowe tętnic) (Szostak 2009). Olej rzepakowy jako stały element diety może też zapobiegać powstawaniu chorób nowotworowych oraz wywierać pozytywny wpływ na pracę mózgu, oczu i serca (Obiedzińska i Waszkiewicz-Robak 2012). W przypadku śruty, która zawiera tylko około 2% tłuszczu, ma to mniejsze znaczenie, jednak jakość tego tłuszczu wpływa istotnie na wartość paszową wytlóków, które mogą zawierać go do kilkunastu procent.

Śruta rzepakowa oraz wytlóki otrzymywane z nasion odmian tradycyjnych rzepaku nie nadawały się na cele paszowe, głównie z powodu zawartych w nich związków siarkowych, glukozynolanów. Glukozynolany i produkty ich rozpadu powodują zaburzenia metabolizmu jodu w organizmie oraz mają niekorzystny wpływ

na budowę i funkcjonowanie różnych organów (Langer i in. 1971). W dużych dawkach mogą działać również toksycznie. Ponadto w trakcie przerobu nasion w olejarni, głównie w trakcie procesu ekstrakcji, produkty rozpadu glukozynolanów powodowały znaczne pogorszenie wartości sensorycznej oleju, objawiające się ostrym, nieprzyjemnym zapachem. Szczególnie intensywny zapach występował w czasie smażenia (George i Toregard 1978).

W nasionach odmian rzepaku podwójnie ulepszonych nastąpiła znaczna redukcja zawartości glukozynolanów alkenowych, głównie najbardziej szkodliwej progoitryny, przy zachowaniu pożądanych glukozynolanów indolowych. Dzięki tak poważnemu obniżeniu zawartości glukozynolanów, nasiona, jak i pozyskiwane z nich po odolejeniu śruta lub wytlóki, mogą być wykorzystywane jako wartościowe pasze wysokobiałkowe. Na podstawie licznych polskich badań nad żywieniem zwierząt paszą zawierającą śrutę poekstrakcyjną lub wytlók rzepaku (Pastuszevska i Raj 2003, Rakowska i in. 1979, 1984, 1987, Smulikowska i in. 1990) została ustalona Polska Norma dla rzepaku podwójnie ulepszanego. Norma ta dla zawartości glukozynolanów jest najniższa na świecie i wynosi 15 mikromoli na gram nasion (około 0,4%) (Polskie Normy PN-EN ISO 9167-1:1999). Dotyczy ona sumy glukozynolanów alkenowych i indolowych. Zagadnienie glukozynolanów w nasionach rzepaku, pomimo tak niskiej ich zawartości, jest wciąż aktualnym problemem hodowlanym. Zawartość glukozynolanów na poziomie normy zapewnia dobre przyrosty wagowe i reprodukcję zwierząt, ale nadal powoduje powiększanie gruczołu tarczycy. W związku z tym celowe i konieczne jest kontynuowanie prac w kierunku dalszego obniżania zawartości glukozynolanów w nasionach oraz promowanie śruty rzepakowej o ekstremalnie niskiej zawartości glukozynolanów jako konkurencyjnej dla śruty sojowej.

Celem prezentowanych badań było wyselekcjonowanie linii rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego o ekstremalnie obniżonej zawartości glukozynolanów alkenowych, poniżej $5 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$ nasion, spośród populacji linii rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego o podwyższonej zawartości kwasu oleinowego ($C_{18:1} \geq 75\%$) w oleju nasion.

Materialy i metody

Materialy roślinne

Materiał do badań stanowiły 23 linie wsobne pochodzące z dwóch programów badawczych IHAR-PIB Poznań. Pierwsza grupa 16 genotypów (PN-2001/13, PN-2002/13, PN-2003/13, PN-2004/13, PN-2006/13, PN-2009/13, PN-2010/13, PN-2012/13, PN-2013/13, PN-2015/13, PN-2036/13, PN-2038/13, PN-2050/13, PN-2075/13, PN-2081/13, PN-2082/13) o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (> 80%) oraz o zmniejszonej zawartości kwasów linolowego (do 6%) i linoleno-

wego (do 6%) (typu HO) pochodziła z hodowli z zastosowaniem mutagenyzy chemicznej, której celem było zwiększenie zawartości kwasu oleinowego, a zmniejszenie zawartości kwasów linolowego i linolenowego w oleju z nasion (Spasibionek 2006, 2013). Linie te wyselekcjonowano spośród 165 linii rekombinantów otrzymanych w wyniku krzyżowania dwóch mutantów wysokooleinowych, M10453 i M10464, z rodami hodowlanymi oraz odmianami populacyjnymi o wysokiej wartości rolniczej. Druga grupa zawierała 7 linii (PN-3/13, PN-22/13, PN-30/13, PN-246/13, PN-253/13, PN-256/13, PN-259/13) otrzymanych na drodze hodowli rekombinacyjnej, w której wykorzystano zmienność naturalną. Celem tej hodowli było uzyskanie form rzepaku o maksymalnie obniżonej zawartości glukozyzolanów w nasionach i o podwyższonej zawartości kwasu oleinowego w oleju nasion (Piętka i in. 2002, 2005, 2007, Krzymański i in. 2004). Linie uzyskano metodą selekcji cyklicznej z segregujących populacji 37 mieszańców międzyliniowych i liniowo-odmianowych. Badane linie cechują się bardzo niską zawartością glukozyzolanów ($< 5 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$ nasion) i podwyższoną zawartością kwasu oleinowego ($> 70\%$).

Zestaw wybranych linii oceniono w doświadczeniu polowym w sezonie wegetacyjnym 2013/2014 porównując je do dwóch odmian wzorcowych, Monolit i Chagall.

Przebieg doświadczenia polowego

Doświadczenie zostało przeprowadzone na poletkach doświadczalnych Spółki HR Strzelce – Grupa IHAR, Oddział Borowo, województwo wielkopolskie, (N 52°07', E 16°47'), na kompleksie glebowym pszennym dobrym, klasie gleby IIIa, o kwasowości pH – 6,0. Doświadczenie założono metodą bloków losowanych w czterech powtórzeniach. Doświadczenie prowadzono zgodnie ze standardami technologii uprawy przyjętymi dla rzepaku ozimego.

Badane cechy

Badaniami statystycznymi objęto następujące cechy;

- plon nasion przeliczony na dt/ha,
- masa 1000 nasion w gramach,
- zawartość tłuszczu w nasionach w % s.m.,
- zawartość glukozyzolanów w $\mu\text{M}/\text{g}$ nasion, w tym: glukonapina, glukobrassicapina, progoitryna, napoleiferyna, brassicyna, 4-OH-brassicyna, suma glukozyzolanów alkenowych, suma glukozyzolanów indolowych,
- zawartość kwasów tłuszczowych (%) w oleju z nasion: kwas palmitynowy, kwas oleinowy, kwas linolowy, kwas linolenowy.

Ocena biochemiczna nasion

Podstawą oceny cech jakościowych były analizy zawartości i składu kwasów tłuszczowych, zawartości glukozyzolanów oraz procentowej zawartości tłuszczu

w nasionach. Analizy chemiczne nasion wykonano dla 25 obiektów w 4 powtórzeniach przy wilgotności nasion około 5,7%.

Zawartość i skład glukozyolanów wykonano metodą chromatografii gazowej, rozdzielając je w formie pochodnych siliłowych desulfoglukozyolanów (Raney i McGregor 1990, Michalski i in. 1995). W metodzie tej do kalibracji chromatografu zastosowano wzorzec europejski CRM-366 o sumarycznej zawartości glukozyolanów $12,1 \mu\text{M g}^{-1}$ nasion z tolerancją $0,8 \mu\text{M} \cdot \text{g}^{-1}$ nasion. Wzorzec ten został opracowany przez Community Bureau of Reference – BCR jako uśredniona wartość analiz z ring-testu pomiędzy osiemnastoma laboratoriami.

Skład kwasów tłuszczowych oznaczano metodą chromatografii gazowej na chromatografie firmy Hewlett Packard, Agilent Technologies 6890N Network GC System.

Zawartość tłuszczu w nasionach oznaczano za pomocą szerokopasmowego analizatora magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) firmy Newport Instruments Ltd (Krzymański 1970).

Analizy statystyczne

Do obliczeń analizy wariancji wykorzystano opracowany w IHAR program własny ANVAR. Natomiast wyznaczenie współczynników korelacji oraz porównanie średnich wykonano z wykorzystaniem programu STATISTICA. Istotność zróżnicowania badanych obiektów została ustalona na podstawie współczynnika Snedecora i obliczonych najmniejszych różnic istotnych statystycznie ($\text{NIR}_{0,05}$ i $\text{NIR}_{0,01}$) w analizach wariancji dla doświadczenia. Z analizy wariancji dla obiektów hodowlanych wyliczono również odchylenia standardowe dla obiektów (s_{ob}) i odziedziczalności (h^2), jako współczynniki korelacji wewnętrznej w doświadczeniu. Na podstawie tych parametrów oszacowano spodziewany postęp genetyczny przy selekcji 30% najlepszych obiektów ($dG = k \times s_{\text{ob}} \times H^2$ gdzie $k_{30\%} = 1,16$) (Allard 1960).

Wyniki i dyskusja

Uzyskane linie mutantów wysokooleinowych (typ HO) oraz linie o bardzo niskiej zawartości glukozyolanów zostały włączone do prowadzonych kompleksowo w IHAR-PIB w Poznaniu programów badawczych i hodowlanych w celu ulepszenia ich niewystarczającej wartości gospodarczej. Na drodze hodowli rekombinacyjnej (poprzez krzyżowania) ich geny przeniesiono do wartościowych gospodarczo odmian i linii hodowlanych w celu wytworzenia odmian łączących cechy wysokiego plonowania, zmienionej zawartości kwasów tłuszczowych oraz znacznie obniżonej zawartości glukozyolanów. Najlepsze linie rekombinacyjne oceniono w doświadczeniu porównawczym w sezonie wegetacyjnym 2013/2014. Sporządzona analiza wariancji dla 23 rekombinantów oraz dwóch odmian wzorcowych, Chagal i Monolit, wykazała, że wszystkie analizowane cechy wysoce istotnie

(na poziomie $\alpha = 0,01$) różnicowały badane linie (tab. 1). Stwierdzono, że linia z genotypem mutantu (typ HO) PN5-2006 ($48,73 \text{ dt}\cdot\text{ha}^{-1}$) uzyskała istotnie (na poziomie $\alpha = 0,05$) wyższy plon od odmiany wzorcowej Monolit ($42,94 \text{ dt}\cdot\text{ha}^{-1}$).

Pod względem zawartości tłuszczu 6 linii (46,63–49,05%) przewyższało odmiany wzorcowe Chagall i Monolit (średnia wzorców 46,52%), w tym 3 linie PN19-256 (49,90%), PN23-05 (49,05%), PN9-2013 (48,50%) istotnie na poziomie $\alpha = 0,01$. Stwierdzono wysoką istotność zróżnicowania genotypów pod względem zawartości sumy wszystkich glukozynolanów oraz sumy glukozynolanów alkenowych. W stosunku do średniej odmian wzorcowych Chagall i Monolit ($12,24 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$ nasion; $7,78 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$ nasion) wszystkie linie z grupy drugiej charakteryzowały się pożądaną istotnie niższą (na poziomie $\alpha = 0,01$) zawartością sumy glukozynolanów ($5,59 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$ nasion – $8,18 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$ nasion) oraz skrajnie niską zawartością glukozynolanów alkenowych ($1,88 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$ nasion – $3,25 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$ nasion). Stwierdzono również wysoce istotne zróżnicowanie linii pod względem zawartości progoitryny. Spośród 23 badanych linii wszystkie linie z grupy drugiej uzyskały istotnie najniższe zawartości tego związku ($0,83 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$ nasion – $1,48 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$ nasion). Jak widać, w liniach grupy drugiej obniżeniu uległ przede wszystkim poziom glukozynolanów alkenowych, tj. glukonapiny, glukobrassicanapiny, progoitryny oraz napoleiferyny, natomiast zawartość glukozynolanów indolowych pozostała bez zmian lub istotnie wzrosła do poziomu $5,75 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$ nasion w linii PN13-2050 oraz do $5,40 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$ nasion w linii PN11-2036, zaliczonych do pierwszej grupy badanych obiektów. Znaczne obniżenie zawartości substancji antyżywniowych, poza pożądanymi glukozynolanami indolowymi, według Smulikowskiej (2006) i EFSA (2008) może bardzo poprawić wartość paszową wytlóków i śruty rzepakowej oraz zwiększyć wykorzystanie w żywieniu zwierząt gospodarskich, szczególnie zwierząt monogastrycznych.

Odnotowano również wysoką istotność zróżnicowania genotypów pod względem składu kwasów tłuszczowych w oleju nasion. Wszystkie badane linie typu HO utrzymały istotnie wyższą ($\alpha = 0,01$) od odmian wzorcowych zawartość kwasu oleinowego w przedziale 73,20–77,93%.

Do oceny wartości hodowlanej linii wykorzystano te same dane z pominięciem odmian wzorcowych. Dane te uzupełniono o takie parametry jak: odchylenie standardowe dla średnich obiektowych, odziedziczalność w szerokim sensie oraz spodziewany postęp genetyczny (tab. 2). W prezentowanych badaniach większość współczynników odziedziczalności była wyrównana i bardzo wysoka, ich wartości ukształtowały się na poziomie 0,804–0,984. Jedynie dla dwóch cech, tj. zawartości 4-OH-brassicyny i sumy glukozynolanów indolowych, współczynniki odziedziczalności były niższe i wynosiły odpowiednio 0,632 i 0,711. Wysokie wartości współczynników odziedziczalności w szerokim sensie są wynikiem dużego zróżnicowania badanej populacji pod względem analizowanych cech przy braku zmienności środowiskowej (jedno środowisko). Wyliczone wartości tego parametru dają hodowcy jedynie wstępną orientację o materiale badawczym. W praktycznej

Tabela 1.

Charakterystyka linii wsobnych badanych w doswiadczeniu porównawczym 2013/1014
Characteristics of inbred lines tested in a comparative trial 2013/1014

Plon — Plon nasion — *Seed yield* [dt/ha]
 MTN — Masa 1000 nasion — *1000 seeds weight* [g]
 Tłuszcz — Zawartość tłuszczu — *Oil content* [%]
 1 — Glukonapina — *Gluconapin*
 2 — Glukobrassicapina — *Glucobrassicapin*
 3 — Progoitryna — *Progoitrin*
 4 — Napoleiferyna — *Napoleiferin*
 5 — Brassicyna — *Brassicin*
 6 — 4-OH-brassicyna — *4-OH-brassicin*
 7 — Suma glukozynolanów — *Total of glucosinolates*
 8 — Suma glukozynolanów alkenowych — *Total of alkenyl glucosinolates*
 9 — Suma glukozynolanów indolowych — *Total of indol glucosinolates*
 C_{16:0} — kwas palmitynowy — *Palmitic acid* [%]
 C_{18:1} — kwas oleinowy — *Oleic acid* [%]
 C_{18:2} — kwas linolowy — *Linoleic acid* [%]
 C_{18:3} — kwas linolenowy — *Linolenic acid* [%]

Linie <i>Lines</i>	Plon	MTN	Tłuszcz	Glukozynolany <i>Glucosinolates</i> [μmol·g ⁻¹]									Kwasy tłuszczowe <i>Fatty acids</i> [%]			
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	C _{16:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}
PN1-2001	41,15	5,42	46,03	2,60	0,95	4,68	0,10	0,10	4,78	13,21	7,85	4,90	3,60	76,03	8,68	8,50
PN2-2002	39,36	5,92	44,95	3,33	1,03	7,15	0,10	0,10	4,98	16,69	11,80	5,08	3,68	75,33	8,53	9,25
PN3-2003	43,02	4,68	46,63	1,80	0,63	3,23	0,10	0,10	4,58	10,44	6,03	4,70	3,68	76,35	8,50	8,45
PN4-2004	41,81	4,78	45,18	2,35	0,55	4,95	0,10	0,20	4,70	12,85	8,30	4,88	3,73	75,80	8,28	9,15
PN5-2006	48,73	5,10	46,30	3,75	0,73	6,08	0,10	0,10	4,70	15,45	10,13	4,83	4,08	73,20	10,80	8,88
PN6-2009	34,01	4,70	47,63	3,30	0,95	8,20	0,13	0,08	4,58	17,24	12,15	4,73	3,73	77,25	8,48	7,05
PN7-2010	37,39	4,66	46,30	1,93	1,10	2,58	0,10	0,08	5,08	10,84	5,93	5,25	3,80	76,85	8,13	8,05
PN8-2012	37,56	5,01	43,50	4,38	1,63	7,90	0,20	0,00	3,93	18,03	13,45	4,00	3,85	74,65	8,75	9,65
PN9-2013	37,39	5,49	48,50	2,38	0,78	3,15	0,03	0,13	4,75	11,24	6,53	4,85	3,83	73,88	9,93	9,40
PN10-2015	37,16	5,35	45,68	4,45	0,73	8,55	0,13	0,08	4,30	18,23	13,45	4,38	3,15	75,20	9,90	8,45
PN11-2036	33,52	5,31	45,63	2,65	0,70	4,35	0,00	0,30	5,20	13,18	7,60	5,40	3,73	76,18	8,48	8,45
PN12-2038	31,28	4,93	44,43	2,43	0,58	4,20	0,03	0,28	4,45	11,99	7,13	4,48	3,75	75,35	9,25	8,45
PN13-2050	40,84	6,02	46,20	2,68	0,93	3,68	0,08	0,38	5,53	13,28	7,10	5,75	3,78	77,93	7,45	7,98
PN14-2075	39,07	4,78	46,45	2,25	1,10	3,60	0,10	0,10	4,88	12,03	7,90	4,98	3,83	77,03	8,28	7,65
PN15-2081	40,60	4,31	43,78	2,20	0,70	3,73	0,10	0,10	3,90	10,73	6,90	4,10	3,93	75,25	8,80	8,78

ciąg dalszy tabeli 1.

PN16-2082	40,24	4,61	43,85	2,83	0,83	5,68	0,13	0,03	3,90	13,40	9,35	4,00	3,90	74,90	8,78	9,35
Śr. grupa I Mean of group I	38,94	5,07	45,69	2,83	0,87	5,10	0,09	0,13	4,64	13,67	8,85	4,77	3,75	75,70	8,81	8,59
PN17-246	44,22	5,13	46,45	0,88	0,13	1,03	0,00	0,10	3,75	5,89	2,73	3,88	4,03	74,18	9,40	9,23
PN18-253	38,90	5,58	45,90	1,65	0,30	1,48	0,00	0,33	4,43	8,18	3,25	4,65	4,05	74,80	9,68	8,25
PN19-256	44,51	4,75	49,90	1,00	0,23	1,18	0,00	0,20	4,30	6,91	2,70	4,45	4,03	76,00	9,53	7,38
PN20-259	43,16	4,93	46,25	0,90	0,13	0,83	0,00	0,00	3,73	5,59	1,88	3,83	4,10	74,73	8,98	8,95
PN21-3	39,67	5,21	45,45	1,15	0,53	1,38	0,00	0,15	4,40	7,60	2,90	4,63	3,78	77,53	7,65	7,78
PN22-22	36,59	6,05	47,23	0,85	0,13	0,95	0,00	0,10	3,60	5,64	1,88	3,73	3,85	74,75	9,70	8,53
PN23-30	31,84	4,86	49,05	0,93	0,18	1,25	0,00	0,20	3,95	6,49	2,78	4,08	4,28	74,70	9,35	8,65
Śr. grupa II Mean of group II	39,83	5,22	47,18	1,05	0,23	1,15	0,00	0,15	4,02	6,61	2,59	4,18	4,01	75,24	9,18	8,39
Chagall	43,57	5,30	46,63	3,03	0,65	5,48	0,10	0,20	4,23	13,65	9,10	4,48	4,75	62,78	19,78	9,85
Monolit	42,94	5,02	46,40	1,75	0,58	4,00	0,18	0,10	4,23	10,83	6,45	4,33	5,00	64,00	19,25	8,75
Śr. wzorca Mean of standart	43,26	5,16	46,52	2,39	0,61	4,74	0,14	0,15	4,23	12,24	7,78	4,40	4,88	63,39	19,51	9,30
Śr. ogólna Average	39,54	5,12	46,17	2,30	0,67	3,97	0,07	0,14	4,43	11,58	7,01	4,57	3,91	74,58	9,77	8,59
F	5,09**	37,15**	28,79**	49,4**	48,5**	57,0**	20,9**	41,4**	2,5**	35,0**	41,5**	2,5**	89,7**	76,8**	89,7**	24,6**
NIR _{0,05} LSD _{0,05}	5,22	0,21	0,81	0,42	0,15	0,89	0,04	0,04	0,88	1,85	1,54	0,93	0,11	1,15	0,90	0,40
NIR _{0,01} LSD _{0,01}	6,92	0,28	1,07	0,55	0,19	1,16	0,05	0,06	1,15	2,41	2,01	1,21	0,14	1,50	1,18	0,52

Tabela 2.
 Analiza statystyczno-genetyczna linii pod względem plonu nasion, masy 1000 nasion, zawartości tłuszczu oraz wybranych zawartości glukozynolanów i kwasów tłuszczowych — *Statistical and genetic analysis of lines in terms of seed yield, weight of 1000 seeds, fat content, selected glucosinolates and fatty acids content*

Plon — Plon nasion — *Seed yield* [dt/ha]
 MTN — Masa 1000 nasion — *1000 seeds weight* [g]
 Tłuszcz — Zawartość tłuszczu — *Oil content* [%]
 1 — Glukonapina — *Gluconapin*
 2 — Glukobrassicanapina — *Glucobrassicanapin*
 3 — Progoitryna — *Progoitrin*
 4 — Napoleiferyna — *Napoleiferin*
 5 — Brassycyna — *Brassicin*
 6 — 4-OH-brassicyna — *4-OH-brassicin*
 7 — Suma glukozynolanów — *Total of glucosinolates*
 8 — Suma glukozynolanów alkenowych — *Total of alkenyl glucosinolates*
 9 — Suma glukozynolanów indolowych — *Total of indol glucosinolates*
 C_{16:0} — kwas palmitynowy — *Palmitic acid* [%]
 C_{18:1} — kwas oleinowy — *Oleic acid* [%]
 C_{18:2} — kwas linolowy — *Linoleic acid* [%]
 C_{18:3} — kwas linolenowy — *Linolenic acid* [%]

Parametry <i>Parameters</i>	Plon		MTN		Tłuszcz		Glukozynolany <i>Glucosinolates</i> [$\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$]									Kwasy tłuszczowe <i>Fatty acids</i> [%]		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	C _{16:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}					
h ₂	0,804	0,976	0,970	0,980	0,981	0,984	0,953	0,975	0,632	0,975	0,984	0,711	0,970	0,889	0,876	0,957		
s ob.	4,189	0,471	1,598	1,078	0,381	2,455	0,059	0,101	0,515	4,008	3,83	0,578	0,222	1,218	0,827	0,675		
dS	4,859	0,546	1,854	1,250	0,442	2,848	0,068	0,117	0,597	4,649	4,443	0,670	0,258	1,413	0,959	0,783		
dG	3,955	0,533	1,798	1,225	0,434	2,802	0,065	0,114	0,378	4,533	4,372	0,477	0,250	1,256	0,840	0,749		

h₂ — odziedziczalność w szerokim sensie — *heritability (BS)*

s ob. — odchylenie średniej obiektywnej — *deviation in mean object*

dS — różnica selekcyjna — *selection difference*

dG — postęp genetyczny — *genetic progress*

hodowli materiał roślinny należy oceniać w zróżnicowanych środowiskach (lata i miejscowości). Uzyskiwane wtedy wyniki są zwykle niższe z powodu zmienności niedziedzicznej, wynikającej z interakcji pomiędzy materiałami hodowlanymi a środowiskami.

Ważnym parametrem określającym wartość hodowlaną linii jest spodziewany postęp genetyczny, który ma istotne znaczenie w tworzeniu nowych odmian o lepszych cechach użytkowych, czyli o poprawionej plenności, wartości żywniowej, paszowej bądź technologicznej. Na podstawie tego parametru można stwierdzić, że poszerzono pulę genową w postaci wyselekcjonowanych linii rekombinacyjnych o wysokim plonowaniu (PN5-2006), wysokiej zawartości tłuszczu (PN19-256, PN23-30, PN9-2013), linii łączących cechy niskiej zawartości progointryny, niskiej zawartości sumy wszystkich glukozydów oraz skrajnie niskiej zawartości sumy glukozydów alkenowych (PN20-259, PN22-22). Ponadto wyselekcjonowano populację linii o podwyższonej, pożądanej zawartości sumy glukozydów indolowych (PN13-2050, PN11-2036, PN7-2010, PN2-2002) oraz linii o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (PN13-2050, PN21-3, PN6-2009, PN14-2075, PN7-2010). Podwyższenie zawartości kwasu oleinowego w oleju z nasion linii grupy pierwszej uzyskano dzięki mutacji alleli genu *fad2* kodującego tworzenie desaturazy $\Delta 12$ warunkującej desaturację kwasu oleinowego (Spasibionek 2006, Falentin i in., 2007 Mikołajczyk i in., 2010, Spasibionek 2013). Podobny efekt uzyskano w grupie drugiej poprzez wielokrotne krzyżowania linii hodowlanych z wieloma odmianami rzepaku podwójnie ulepszanego i następującą po nich selekcję cykliczną w segregujących pokoleniach (Piętka i in. 2003, Krzymański i in. 2004). Obie grupy linii zawierają więc różne pule genowe i połączenie ich przez krzyżowanie powinno doprowadzić do jeszcze większego zróżnicowania składu kwasów tłuszczowych oleju rzepakowego.

W celu wyjaśnienia współzależności pomiędzy badanymi cechami dokonano obliczeń współczynników korelacji (tab. 3). Wyselekcjonowane linie o podwyższonej zawartości kwasu oleinowego z dwóch programów hodowlanych oraz linie o obniżonej zawartości glukozydów w nasionach osiągnęły poziom plonowania zbliżony do uprawianych obecnie odmian populacyjnych. Różnice w zawartości kwasów tłuszczowych i glukozydów w nasionach tych linii nie są skorelowane z plonem nasion oraz masą 1000 nasion, tak więc dalsze obniżanie zawartości glukozydów i różnicowanie kwasów tłuszczowych nie powinno wpływać niekorzystnie na plenność nowych linii hodowlanych. Stwierdzona istotna ujemna korelacja pomiędzy zawartością tłuszczu w nasionach a zawartością sumy wszystkich glukozydów (-0,434) oraz sumy glukozydów alkenowych (-0,455) stwarza możliwości dalszego ich obniżania bez ujemnego wpływu na zawartość tłuszczu w nasionach nowych genotypów. Odnotowano również wysoką istotną statystycznie, ujemną korelację pomiędzy zawartością kwasu oleinowego a zawartościami kwasów linolowego (-0,847) i linolenowego (-0,723). Ta zależność może być

Tabela 3.

Współczynniki korelacji pomiędzy badanymi cechami — *Correlation coefficients between the studied traits*

Cecha — Trait	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1. plon nasion <i>seed yield [dt/ha]</i>	1															
2. masa 1000 nasion <i>1000 seeds weight [g]</i>	-0,069	1														
3. zawartość tłuszczu <i>oil content [%]</i>	0,011	0,085	1													
4. glukonapina — <i>gluconapin</i>	-0,077	0,061	-0,466	1												
5. glukobrasycanapina <i>glucobrassicinapin</i>	-0,126	-0,060	-0,451	0,766	1											
6. progoinryna — <i>progoitrin</i>	-0,131	-0,031	-0,438	0,955	0,716	1										
7. napoleiferyna — <i>napoleiferin</i>	0,093	-0,258	-0,493	0,794	0,831	0,815	1									
8. brassicyna — <i>brassicin</i>	-0,237	0,350	0,156	-0,182	-0,248	-0,269	-0,471	1								
9. 4-OH-brasycyna <i>4-OH-brassicin</i>	-0,044	0,257	0,045	0,333	0,470	0,256	0,163	0,488	1							
10. suma glukozynolanów <i>total of glucosinolates</i>	-0,123	0,030	-0,434	0,976	0,806	0,975	0,815	-0,157	0,434	1						
11. suma glukozynolanów <i>total of alkenyl glucosinolates</i>	-0,115	-0,041	-0,455	0,969	0,791	0,989	0,850	-0,265	0,317	0,988	1					
12. suma glukozynolanów <i>total of indol glucosinolates</i>	-0,026	0,257	0,051	0,291	0,439	0,214	0,132	0,519	0,996	0,393	0,273	1				
13. C _{16:0} kwas palmitynowy <i>palmitic acid [%]</i>	0,193	-0,211	0,294	-0,568	-0,426	-0,597	-0,441	0,073	-0,365	-0,611	-0,591	-0,336	1			
14. C _{18:1} kwas oleinowy <i>oleic acid [%]</i>	-0,190	-0,055	0,018	-0,057	0,282	0,011	0,109	0,286	0,536	0,095	0,027	0,562	-0,360	1		
15. C _{18:2} kwas linolowy <i>linoleic acid [%]</i>	0,155	0,084	0,289	0,059	-0,378	-0,014	-0,203	-0,137	-0,412	-0,087	-0,047	-0,438	0,224	-0,847	1	
16. C _{18:3} kwas linolenowy <i>linolenic acid [%]</i>	0,150	0,102	-0,436	0,203	0,073	0,148	0,176	-0,315	-0,321	0,106	0,169	-0,347	0,109	-0,723	0,287	1

r ≥ 0,398 istotne przy α = 0,05 i r ≥ 0,507 istotne przy α = 0,01

r ≥ 0,398 significant at α = 0,05 and r ≥ 0,507 significant at α = 0,01

wykorzystana w pracach nad różnicowaniem składu kwasów tłuszczowych oleju rzepakowego. Uzyskane obecnie zróżnicowanie w zawartości tych kwasów nie jest skorelowane z plennością badanych materiałów hodowlanych. Oznacza to, że u wielu badanych rekombinantów udało się przełamać sprzężenie niskiej plenności ze zmienionym składem chemicznym nasion. Dowodem tego było wpisanie do Krajowego Rejestru Odmian Roślin Uprawnych COBORU odmiany Polka (http://www.coboru.pl/Polska/Rejestr/ListyOdmian/lista_rolnicze_2016.pdf). Nowa odmiana w typie HO, o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (powyżej 79%), podwyższonej zawartości tłuszczu (do 47,1%), wysokiej zawartości białka (21,2% w suchej masie nasion) oraz niskiej zawartości glukozyolanów ($11,9 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$ nasion) może być interesującym surowcem dla przemysłu tłuszczowego i paszowego.

Odmiana Polka charakteryzuje się wysokimi walorami dietetycznymi ze względu na obniżoną zawartość kwasów nasyconych, wysoką zawartością kwasu oleinowego oraz pożądanym stosunkiem kwasów: linolowego i linolenowego (omega-6/omega-3) — 1:1 (<http://www.coboru.pl/Polska/Publikacje/diariusz.aspx>). Linie z grupy drugiej cechują się trzykrotnie niższą oraz stabilną zawartością glukozyolanów alkenowych i mogą być wykorzystane w pracach hodowlanych nad dalszym obniżaniem tych związków w nasionach rzepaku podwójnie ulepszonego.

Hodowla w kierunku obniżania glukozyolanów alkenowych oraz różnicowania składu kwasów tłuszczowych została oparta na dwóch źródłach zmienności, otrzymanych z wykorzystaniem mutagenyzy chemicznej oraz w wyniku rekombinacji. Metody te okazały się skuteczne, niemniej jednak bardzo pracochłonne i długotrwałe. W ostatnich latach wraz z rozwojem technik molekularnych powstały nowe perspektywy dla hodowli odmian typu HO oraz odmian o znacznie obniżonej zawartości glukozyolanów. Dla czterech różnych mutantów wysokooleinowych HOR 1, HOR 2, HOR 3 i HOR 4 zostały opracowane specyficzne markery DNA identyfikujące zmutowane allele genów enzymu desaturazy *FAD2* z genomów A i C, a tym samym identyfikujące formy o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (Falentin i in. 2007). Inne 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 linolowego (Guan i in. 2007). Cecha zawartości glukozyolanów jest warunkowana przez wiele genów, toteż prowadzone są liczne badania mające na celu identyfikację QTL związanych z zawartością glukozyolanów oraz analizę możliwych szlaków biosyntezy tych związków (Krzymański 1995, Uzunova i in 1995, Basunanda i in. 2007, Matuszczak 2010). Pozwolą one znacznie uprościć i zwiększyć skuteczność selekcji (wylimowanie wpływów środowiska oraz fazy rozwojowej rośliny), przyspieszyć prace hodowlane oraz ułatwić charakterystykę badanych genotypów.

Wnioski

1. Przeprowadzone doświadczenie wskazuje na duży potencjał plonowania nowych rodów rzepaku. W wyniku krzyżowań mutantów wysokooleinowych, linii o niskiej zawartości glukozyolanów alkenowych z wysokoplonującymi odmianami populacyjnymi oraz prac selekcyjnych udało się przełamać negatywne sprzężenie niskiej plenności (będącej wynikiem mutagenezy) oraz dużej ingerencji w skład chemiczny nasion. Uzyskano rody plonujące na poziomie (i powyżej) wzorcowych odmian populacyjnych.
2. Stwierdzono duże zróżnicowanie badanych linii hodowlanych pod względem zawartości kwasu oleinowego oraz glukozyolanów alkenowych w nasionach.
3. Pochodzące z różnych pul genowych linie o zróżnicowanym składzie kwasów tłuszczowych w oleju z nasion oraz linie o bardzo niskiej zawartości glukozyolanów w nasionach mogą być wykorzystane w dalszych pracach hodowlanych nad tworzeniem nowych odmian rzepaku, łączących cechy wysokiej plenności z cechami niskiej zawartości glukozyolanów alkenowych oraz wysokiej zawartości kwasu oleinowego w oleju z nasion.
4. Należy zaznaczyć jednak, że uzyskane wyniki dają hodowcy jedynie wstępną orientację o materiale badawczym. W praktyce materiał hodowlany należy oceniać w zróżnicowanych środowiskach (lata i miejscowości). Badania te wymagają kontynuacji.

Podziękowanie

Autorzy pragną podziękować dr. Krzysztofowi Michalskiemu, inż. Renacie Dalekiej oraz całemu personelowi Laboratorium Biochemicznego za wykonanie precyzyjnych analiz chemicznych nasion z doświadczenia polowego, a zespołowi hodowlanemu w Borowie za przeprowadzenie doświadczenia polowego.

Literatura

- Allard R.W. 1960. Principles of Plant Breeding 1960 Wiley & Sons London.
- Basunanda P., Spiller T.H., Hasan M., Gehringer A., Schondelmaier J., Lühs W., Friedt W., Snowdon R.J. 2007. Marker-assisted increase of genetic diversity in a double-low seed quality winter oilseed rape genetic background. *Plant Breeding*, 126: 581-587.
- Byczyńska B., Krzymański J. 1969. Szybki sposób otrzymywania estrów metylowych kwasów tłuszczowych do analizy metodą chromatografii gazowej. *Tłuszcze Jadalne*, XIII: 108-114.
- EFSA (European Food Safety Authority). 2008. Glucosinolates as undesirable substances in animal feed (Glukozyolany jako substancje niepożądane w paszach zwierząt). Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain, (Question N° EFSA-Q-2003-061) Adopted on 27 November 2007. *The EFSA Journal*, 590: 1-76.

- Falentin C., Brégnon M., Lucas M.-O., Deschamps M., Leprince F., Fournier M.-T., Delourme R., Renard M. 2007. Identification of *fad2* mutations and development of Allele-Specific Markers for High Oleic acid content in rapeseed (*Brassica napus* L.). Proc. 12th Int. Rapeseed Congress, II Biotechnology, Wuhan, China, 26-30.03.2007: 117-119.
- Guan Ch., Liu Ch., Chen S., Pen Q., Li X., Guan M. 2007. High oleic acid content breeding materials of *Brassica napus* produced by ⁶⁰Co radiation. Proc. 12th Int. Rapeseed Congress, II Biotechnology, Wuhan, China, 26-30.03.2007: 155-158.
- George P., Töregård B. 1978. An investigation into the presence of degradation products from glucosinolates in rapeseed oil. Proc. 5th Int. Rapeseed Congress, Malmö, Sweden, 12-16.06.1978, 2: 348-359.
- Krzymański J. 1970. Oznaczanie zawartości tłuszczu i wody w nasionach oleistych metodą MNR. Tłuszcze, Środki Piorące i Kosmetyki, 14/4: 202-208.
- Krzymański J. 1995. Biosynteza i fizjologiczne funkcje glukozynolanów w roślinie (Biosynthesis and physiological functions of glucosinolate in plant). Rośliny Oleiste – Oilseed Crops, XVI/1: 113-126.
- Krzymański J. 2009. Skład chemiczny oleju rzepakowego na tle innych olejów roślinnych. W: Olej rzepakowy – nowy surowiec, nowa prawda. Teraz rzepak Teraz olej. Krzymański J. (red). Polskie Stowarzyszenie Producentów Oleju, Warszawa, II: 47-56.
- Krzymański J., Krótka K., Piętka T. 2004. Elementy nieciągłości w rozkładzie zawartości kwasu oleinowego w oleju z nasion linii wsobnych rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego. (Discontinuous components in distribution of oleic acid content in seed oil of inbred lines of double low winter oilseed rape (*Brassica napus* L.)). Rośliny Oleiste – Oilseed Crops, 25/1: 11-26.
- Langer P., Michajlovskij N., Sedlak J., Kutka M. 1971. Studies in the antithyroid activity of naturally occurring 1-5-vinyl-2-thio oxazolidone in man. Endokrinologie, 57: 225-229.
- Matuszczak M. 2010. Identyfikacja loci cech jakościowych rzepaku ozimego (*Brassica napus* L. var. *oleifera*). Praca doktorska, ZGiHRO IHAR-PIB, Poznań.
- 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 Int. Rapeseed Congress, Cambridge, UK, 4-7 VII, 3: 911-913.
- Mikolajczyk K., Dabert M., Karłowski W.M., Spasibionek S., Nowakowska J., Cegielska-Taras T., Bartkowiak-Broda I. 2010. Allele-specific SNP markers for the low linolenic mutant genotype of winter oilseed rape. Plant Breeding, 129: 502-507.
- Obiedzińska A., Waszkiewicz-Robak B. 2012. Niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe szeregu omega-3 – charakterystyka, występowanie, znaczenie biologiczne i zdrowotne, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 1 (80): 27-44.
- Pastuszevska B., Raj S. 2003. Śruta rzepakowa jako pasza białkowa i energetyczna – ograniczenia i perspektywy. Rośliny Oleiste – Oilseed Crops, XXIV (2): 525-536.
- Piętka T., Krótka K., Krzymański J. 2002. Study on general combining ability in F₁ and F₂ generations of winter oilseed rape hybrid in respect of glucosinolates content. (Badanie ogólnej zdolności kombinacyjnej w pokoleniach F₁ i F₂ mieszańców rzepaku ozimego w odniesieniu do zawartości glukozynolanów). Bulletin GCIRC: <http://195.101.21/publications/B18>.
- Piętka T., Krótka K., Krzymański J. 2003. Możliwości modyfikowania składu kwasów tłuszczowych w nasionach rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego poprzez selekcję w populacji linii wsobnych (Modification possibilities of fatty acid composition in seed oil of double low winter oilseed rape with the use of selection in inbred lines population). Rośliny Oleiste – Oilseed Crops, 24/2: 327-342.

- Piętka T., Krótka K., Krzymański J. 2005. Zdolność kombinacyjna i heterozja zawartości glukozynolanów w nasionach rzepaku ozimego z pokoleń F_1 i F_2 , oznaczone metodą krzyżowań diallelicznych pomiędzy liniami podwojonych haploidów. (Combining ability and heterosis in glucosinolate content in seeds of winter rapeseed (*Brassica napus* L.) estimated with diallel crossings between doubled haploid lines). *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, XXVI/2: 311-324.
- Piętka T., Krótka K., Krzymański J., Cegielska-Taras T. 2007. Heritability, combining ability and heterosis in glucosinolate content in seeds of winter rape. (*Brassica napus* L.) estimated with diallel crossing between double haploid lines. *Proc. 12th Int. Rapeseed Congress, Wuhan, China 26-30.03.2007*, 1: 73-76.
- Polskie Normy: PN-EN ISO 9167-1:1999. Nasiona rzepaku – Oznaczanie zawartości glukozynolanów – Metoda z zastosowaniem wysokociśnieniowej chromatografii cieczowej. (Rapeseed: Method of determination of glucosinolate content using high-performance liquid chromatography).
- Rakowska M., Twarkowska J., Byczyńska B., Neuman M., Krzymański J. 1979. Effect of glucosinolate content in the seeds of cultivars on the growth, protein efficiency ratio and reproduction of rats. (Wpływ zawartości glukozynolanów w nasionach odmian na wzrost, wydajności wzrostowej białka i reprodukcji szczurów). *Biuletyn IHAR – EUCARPIA Fodder Crops Section Meeting*, 1/55: 334-349.
- Rakowska M., Twarkowska J., Słomiński B., Neuman M., Krzymański J. 1984. Próba oceny żywieniowej nowych rodów rzepaku o obniżonej zawartości glikozynolanów we wczesnych stadiach selekcji hodowlanej. (Nutritional assessment test of new oilseed rape strains with reduced content of glucosinolate in the early stages of the breeding selection). *Hodowla Roślin Aklimatyzacja i Nasiennictwo*, 28/2: 181-193.
- Rakowska M., Słominski B., Zalińska M. 1987. Effect of alkylene glucosinolate in rapeseed meal on growth and feed utilization in rats. (Wpływ glukozynolanów alkenowych w śrucie rzepakowej na wzrost i wykorzystanie paszy u szczurów). *Proc. 7th Int. Rapeseed Congress. Poznań 11-14.5.87* 7: 1627-1633.
- Raney J.P., McGregor D.I. 1990. Determination of glucosinolate content by gas liquid chromatography of trimethylsilyl derivatives of desulfated glucosinolates (Oznaczanie zawartości glukozynolanów metodą chromatografii gazowej pochodnych trimetylosililowych desulfonowanych glukozynolanów). *Proceedings of the Oil Crops Network, Shanghai, China, April 21-23, 1990*.
- Smulikowska S., Chibowska M., Wiśniewska J. 1990. Wpływ rzepaku niskoglukozynolanowego – nasion, wycioku i śruty poekstrakcyjnej na wydajność, masę tarczycy i skład kwasów tłuszczowych u kurecząt brojlerów. (The impact of seeds, expeller and meal from low glucosinolate rapeseed on the performance, the mass of the thyroid gland and fatty acid composition in broiler chickens). *Rośliny Oleiste – Wyniki Badań 1989*, 12/1: 100-106.
- Smulikowska S. 2006. Wartość odżywcza wycioków rzepakowych produkowanych w kraju dla drobiu. *Wiadomości Zootechniczne*, XLIV, 3: 22-28.
- Spasibonek S. 2006. New mutants of winter rapeseed (*Brassica napus* L.) with changed fatty acid composition. *Plant Breeding*, 125: 259-267.
- Spasibonek S. 2013. Badania genetyczno-hodowlane mutantów rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.) o zmienionym składzie kwasów tłuszczowych. (Genetic and breeding research on mutants of winter rapeseed (*Brassica napus* L.) with changed composition of fatty acids). *Monografie i Rozprawy Naukowe IHAR-PIB*, 47/2013 (107 stron).
- Zsostak W.B. 2009. Walory zdrowotne oleju rzepakowego w profilaktyce chorób krążenia i innych chorób. (Health attributes of canola oil in the prevention of cardiovascular diseases and other diseases). W: *Olej rzepakowy – Nowy surowiec, Nowa prawda, Polskie Stowarzyszenie Producentów Oleju*, Warszawa, 2: 57-88.

Uzunova M., Ecke W., Weißleder K., Röbbelen G. 1995. Mapping the genome of rapeseed (*Brassica napus* L.). I. Construction of an RFLP linkage map and localization of QTLs for seed glucosinolate content. *Theor Appl Genet*, 90: 194-204.