

*P. Kachlicki, E. Zwierzykowska*  
*Instytut Genetyki Roślin PAN w Poznaniu*  
*A. Nałęczyńska*  
*Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin*  
*Zakład Roślin Oleistych w Poznaniu*

## **Zawartość glukozyolanów w nasionach form dihaploidalnych oraz syntetycznych *Brassica napus* L.**

---

### **Wstęp**

Gatunek *Brassica napus* L., obejmujący takie rośliny uprawne jak: rzepak oleisty, brukiew oraz formy paszowe, jest najważniejszym gatunkiem amfidiploidalnym w rodzaju *Brassica*. Opierając się na wynikach badań cytologicznych oraz krzyżowań międzygatunkowych U (1935) zasugerował pochodzenie tego gatunku z naturalnego skrzyżowania gatunków diploidalnych *B. oleracea* i *B. rapa* (syn. *B. campestris*). Ta hipoteza znalazła potwierdzenie w wynikach badań układów izoenzymatycznych (Chen i in. 1989) oraz polimorfizmu długości jądrowych fragmentów restrykcyjnych RFLP (Song i in. 1988).

Współczesna hodowla rzepaku korzysta z nowych metod poszerzających naturalną zmienność genetyczną tego gatunku. Zgodnie z "trójkątem U", w wielu ośrodkach na całym świecie, dokonuje się krzyżowań międzygatunkowych w celu uzyskania syntetycznego *B. napus* o korzystnych cechach użytkowych (np. Barcikowska i in. 1987). Nowe możliwości stwarza także wprowadzanie do programów krzyżowań linii dihaploidalnych (Nałęczyńska, Cegielska 1984; Cegielska i in. 1993).

Glukozyolany są znanymi substancjami antyżywniowymi roślin krzyżowych i obniżenie ich zawartości w nasionach rzepaku stanowi jeden z celów hodowli tego gatunku. W wyniku tych prac obecne polskie odmiany rzepaku zawierają od 12 do 18 mikromoli glukozyolanów na gram odtłuszczonej mączki, a niektóre rody hodowlane charakteryzują się jeszcze niższą ich zawartością (poniżej 3 mikromoli/g).

## Materiał i metody

---

### Materiał roślinny

W pracy używano nasiona pochodzące z izolowanych pędów roślin pokolenia F<sub>10</sub> mieszańców *B. oleracea* var. *acephala* x *B. campestris* ssp. *chinensis* o ustabilizowanej żółtej barwie (43 pojedynki z 9 linii) oraz nasiona 27 linii dihaploidalnych rzepaku.

### Metody analityczne

Glukozynolany oznaczano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej desulfoglukozynolanów, zgodnie ze standardową procedurą przyjętą przez EWG (EWG 1990), przy użyciu chromatografu Beckman Gold wyposażonego w podwójną pompę (model 126), automatyczny dozownik prób (model 507) i kolumnę Lichrosorb C<sub>18</sub> (4.6 250 mm).

## Wyniki i dyskusja

---

Całkowita zawartość glukozynolanów oraz stosunki ilościowe poszczególnych związków w nasionach roślin krzyżowych są genetycznie uwarunkowane. Typowy skład glukozynolanów w nasionach dawnych odmian rzepaku (np. Kachlicki 1987) był zdominowany przez wysoką zawartość progoitryny (ok. 60% sumy) i glukonapiny (15-20%). U form podwójnie ulepszonych udział tych dwóch związków ulega znacznemu zmniejszeniu, a względna zawartość 4-hydroksyglukobrassicyny wzrasta do 50% lub nawet więcej. U form o bardzo niskiej zawartości glukozynolanów wymienione trzy związki stanowią nawet ponad 95% ich całkowitej ilości.

Zestawione w tabelach 1 i 2 wyniki oznaczeń glukozynolanów w nasionach niektórych linii dihaploidalnych oraz większości form syntetycznych *Brassica napus* odbiegały od powyższych prawidłowości. Nasiona niektórych linii dihaploidalnych zawierały stosunkowo duże ilości glukoiberyny oraz sinigryny, które są nieobecne w nasionach naturalnych genotypów *B. napus*. Znacznemu zróżnicowaniu pomiędzy liniami wyprowadzonymi z tego samego mieszańca *B. oleracea* x *B. campestris* ulegały względne zawartości progoitryny, sinigryny i glukonapiny. I tak względna zawartość progoitryny wahała się od 11 do 60%, sinigryny od 0 do 30%, a glukonapiny od 5 do 73%.

Te spostrzeżenia mają dość poważne znaczenie, tak praktyczne jak i teoretyczne. Przede wszystkim wydaje się, że nie wszystkie genotypy o liczbie chromosomów równej 38, powstające w wyniku krzyżowań międzygatunkowych w obrębie rodzaju *Brassica* mogą być automatycznie uważane za równoważne naturalnemu *B. napus*, mimo wysokiego podobieństwa morfologicznego roślin. Taki wniosek wypływa także z przedstawionych przez Songa i Osborna (1992) wyników badań polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych jądrowego i organelowego DNA (RFLP). Za-

stosowanie mieszańców międzygatunkowych oraz linii dihaploidalnych w programach hodowlanych rzepaku może spowodować wprowadzenie do odmian produkcyjnych takich glukozynolanów, które nie występowały w dotychczasowych "naturalnych" jego genotypach. Dotyczy to zwłaszcza glucoiberyny i sinigriny (patrz wyżej), a także glukoberteroiny i podwyższenia udziału glucoallisyny (Kräling i in. 1990). W związku z tym należy do oznaczania zawartości glukozynolanów stosować takie metody, które umożliwiają analizę wszystkich związków (głównie HPLC).

**Tabela 1.** Zawartość glukozynolanów w nasionach wybranych linii dihaploidalnych rzepaku ozimego (w mikromolach na gram odłuszczonej mączki)

Glucosinolate contents in seed of chosen dihaploid lines of winter rapeseed (in micromoles per gram of defatted meal)

Glukozynolany	Glucosinolate	DH/99	DH/194	DH/342	DH-C974
Glukoiberyna	Glucoiberin	0,74	1,28	3,29	3,12
Progoitryna	Progoitrin	4,87	5,46	5,55	4,42
Sinigryna	Sinigrin	0,36	2,68	2,90	1,01
Glukorafanina	Glucoraphanin	0,12	0,02	0,07	0,02
Napoleiferyna	Napoleiferin	0,14	0,07	0,07	0,02
Glukoallisyna	Glucoallisin	0,34	0,35	0,32	0,15
Glukonapina	Gluconapin	2,85	3,49	3,45	2,41
4-hydroksygluko-brassicyna	4-hydroxygluco-brassicin	7,86	4,85	7,20	5,37
Glukobrassikanapina	Glucobrassicinapin	0,41	0,49	0,42	0,36
Glukobrassicyna	Glucobrassicin	1,48	0,29	1,60	0,36
Glukonasturcyna	Gluconasturtiin	0,31	0,51	0,52	0,50
Suma	Total	18,48	19,49	25,40	17,75

## Wnioski

1. Wprowadzenie do programów hodowlanych form dihaploidalnych i syntetycznych rzepaku wymaga oceny zawartości glukozynolanów przy użyciu HPLC.
2. Konieczne są pogłębione badania nad pochodzeniem genomu *Brassica napus* L. oraz ocena zgodności genomowej jego form syntetycznych i naturalnych.

**Tabela 2.** Zawartość glukozynolanów w nasionach wybranych pojedynków syntetycznych form *Brassica napus* (w mikromolach na gram nasion)

Glucosinolate contents in seed of chosen dihaploid lines of synthetic forms of *Brassica napus* (in micromoles per gram of seeds)

Glukozynolany	Glucosinolate	211/5i	213/6i	216/7i	217/19i
Glukoiberyna	Glukoiberin	0,40	0,52	0,08	0,06
Progoitryna	Progoitrin	61,69	35,65	18,02	12,89
Sinigryna	Sinigrin	11,58	32,71	5,74	0,08
Glukorafanina	Glucoraphanin	0,10	0,26	0,13	0,06
Napoleiferyna	Napoleiferin	2,64	8,32	5,68	0,62
Glukoallisyna	Glucoallisin	0,59	0,33	0,20	2,34
Glukonapina	Gluconapin	10,35	7,96	46,07	51,48
4-hydroksygluko-brassicyna	4-hydroxygluco-brassicin	9,51	13,66	6,49	4,09
Glukobrassikanapina	Glucobrassicinapin	8,24	4,41	4,63	10,52
Glukobrassicyna	Glucobrassicin	0,59	0,98	0,77	0,24
Glukonasturcyna	Gluconasturtiin	0,27	0,94	0,30	1,11
Suma	Total	105,95	105,73	88,11	83,49

## Literatura

- Barcikowska B., Zwierzykowska E., Balicka M. 1987. On the way to yellow seeded *Brassica napus* L. – hybrids of *B. campestris* x *B. oleracea* and of *B. oleracea* x *B. carinata* yellow seeded. Proceedings 7 th Int. Rapeseed Cong., Poznań. 492-495.
- Cegielska T., Nałęczczyńska A., Gazecka-Michalska B. 1993. Możliwości wykorzystania roślin wypro-  
wadzonych z mikrospor w hodowli rzepaku. Referat na XV Semin. Rzepak.
- Chen B. Y., Heneen W. K., Simonson V. 1989. Comparative and genetic studies of isozymes in  
resynthesized and cultivated *Brassica napus* L., *B. campestris* L. and *B. alboglabra* Bailey. *Theor.  
Appl. Genet.* 77: 673-679.
- EWG 1990. Oilseeds. Determination of glucosinolates by High Performance Liquid Chromatography.  
*Official J. EC.*, L 170: 27-34.
- Kachlicki P. 1987. Glucosinolate contents analysis in Polish breeding forms of rape (*B. napus*).  
Proceedings 7 th Int. Rapeseed Cong., Poznań. 1554-1559.
- Kräling K., Röbbelen G., Thies W., Herrmann M., Ahmadi M. R. 1990. Variation of seed glucosinolates  
in lines of *Brassica napus*. *Plant Breeding* 105: 33-39.
- Nałęczczyńska A., Cegielska T. 1984. Dihaploid production in *Brassica napus* L. by in vitro androgenesis.  
*Gen. Polon.* 25: 271-276.
- Song K. M., Osborn T. C. 1992. Polyphyletic origins of *Brassica napus*: new evidence based on organelle  
and nuclear RFLP analyses. *Genome* 35: 992-1001.

- Song K. M., Osborn T. C., Williams P. H. 1988. *Brassica* taxonomy based on nuclear restriction fragment length polymorphisms (RFLPs). 1. Genome evolution of diploid and amphidiploid species. *Theor. Appl. Genet.* 75: 784-794.
- U N. 1935. Genomic analysis in *Brassica* with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization. *Jpn. J. Bot.* 7: 389-452.

## Glucosinolate content in seeds of dihaploid and synthetic forms of *Brassica napus* L.

---

### Summary

Glucosinolates are well known antinutritional compounds of cruciferous plants and studies of their contents in plant material are of great importance. Results obtained for winter oilseed rape dihaploid lines and  $F_{10}$  of *Brassica napus* forms derived from *B. oleracea* x *B. campestris* hybrids are described in this paper. In some dihaploid lines and in most of the synthetic forms the glucosinolate profiles differ significantly from those observed for the natural rapeseed genotypes. Glucoiberin and sinigrin were observed in the dihaploid lines in relatively high quantities and progoitrin, sinigrin and gluconapin content in synthetic *B. napus* differed between lines derived from the same hybrid. Practical and theoretical implications of these observations are discussed in the paper.