

L.p. w zał. do rozporządzenia MRiRW: 26

Tytuł zadania: **Badania nad zwiększeniem zdolności do plonowania odmian rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.) poprzez wykorzystanie źródeł odporności na stresy biotyczne i abiotyczne oraz poszerzenie zmienności genetycznej.**

Kierownik zadania: dr hab. Katarzyna Mikołajczyk

Temat badawczy 1: Wprowadzanie wybranych cech odpornościowych do rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.) na drodze resyntezy

Zgromadzono komponenty rodzicielskie do krzyżowań. Z banków genów sprowadzono genotypy odporne na kiłę kapusty: trzy należące do gatunku *Brassica rapa* (genom AA): ECD04, odmiana Siloga (rzepy) i odm. Satokage (kapusta pekińska), oraz trzy należące do gatunku *B. oleracea* (genom CC): ECD11, odm. Bohmerwaldkohl i odm. Badger Shipper. Nasiona wysiano na piasku kwarcowym w warunkach pokoju hodowlanego, następnie przesadzono do małych doniczek. Młode rośliny poddano jaryzacji a następnie umieszczono w fitotronie. Komponenty rodzicielskie zestawiono w następujące kombinacje: ECD04 x Bohmerwaldkohl, ECD04 x Badger Shipper, ECD04 x ECD11, Siloga x Bohmerwaldkohl, Siloga x Badger Shipper, Siloga x ECD11, Satokage x Bohmerwaldkohl, Satokage x Badger Shipper, Siloga x ECD04, łącznie 9 kombinacji krzyżówkowych.

Test fenotypowy w celu identyfikacji form odpornych na infekcję kiłą kapusty powodowaną przez pasożytniczy pierwotniak *Plasmodiophora brassicae* Wor. przeprowadzono we współpracy z Instytutem Genetyki Roślin PAN w Poznaniu, w warunkach kontrolowanych w formie testów w doniczekopaletach. Zastosowano dwa najgroźniejsze patotypy patogenu. Test wykazał odporność lub słabą infekcję badanych form przy całkowitym porażeniu odmiany odpornej *B. rapa* Graanat.

Analizowano genotypy rodzicielskie z wykorzystaniem markera SCAR dla odporności / tolerancji na infekcję kiłą kapusty typu 'Tosca'. Nie wykazano obecności produktu specyficznego dla cechy odporności pochodzącej z odmiany Tosca, co wskazuje, że badane genotypy niosą odporność innego typu.

Temat badawczy 2: Opracowanie metody laboratoryjnej oceny odporności genotypów rzepaku na osypywanie

Przedmiotem badań było 19 linii restorerów Rfo dla systemu cytoplazmatycznej męskiej sterility rzepaku CMS Ogura wybranych z materiałów Spółki Hodowli Roślin HR Strzelce Sp. z o.o Grupa IHAR oraz jedna odmiana wzorcowa o deklarowanej odporności na osypywanie – DK Excited F1, łącznie 20 genotypów. Testem laboratoryjnym zmierzono siłę [N] potrzebną do pęknięcia łuszczyzny. Każdy genotyp oceniono na podstawie testu przeprowadzonego na 120 łuszczyzn zebranych z 10 roślin (12 łuszczyzn z rośliny). W celu wykazania możliwości ograniczenia liczby łuszczyzn do badań zastosowano dwie metody. W pierwszej, losowo eliminowano liczbę ocenianych łuszczyzn z rośliny z 12 do 11, 10, 9, 8, 7 i 6 nie zmieniając liczby roślin do oceny, a w drugiej losowo eliminowano liczbę roślin z 10 do 9, 8, 7, 6 i 5. Uzyskane wyniki wykazały, że oceniane linie restorerów odznaczały się większą odpornością na pękanie łuszczyzn od odmiany DK Excited F1, która w opisie odmiany została scharakteryzowana jako odmiana o doskonałej odporności na osypywanie. Wykazano również dużą zmienność linii restorerów Rfo dla systemu cytoplazmatycznej męskiej sterility rzepaku CMS Ogura w odniesieniu do ocenianej cechy. Ponadto wykazano możliwość ograniczenia liczby łuszczyzn do oceny poprzez pobieranie mniejszej liczby łuszczyzn z rośliny i niezmnijanie liczby roślin do oceny.

Temat badawczy 3: Identyfikacja markerów DNA specyficznych dla cechy odporności/ tolerancji rzepaku na infekcję kiłą kapusty powodowaną przez pasożytniczy pierwotniak *Plasmodiophora brassicae* Wor.

Testowano specyficzność markera SCAR dla cechy odporności na infekcję kiłą kapusty pochodzącej z odmiany odpornej Tosca (marker SCAR 'Tosca'); marker ten został zdefiniowany w wyniku realizacji projektu badawczego Harmonia nr 2016/22/M/NZ9/00604 (2017-2020). Analizowano 29 genotypów zarejestrowanych odmian rzepaku ozimego o zadeklarowanej odporności na infekcję kiłą kapusty. Wykazano, że jest on specyficzny dla 7 dotąd przebadanych odmian co wskazuje, że mogą być one monitorowane przy użyciu tego markera. Dla potwierdzenia jego skuteczności planowana jest analiza genotypów rekombinantów tych odmian, z jednoczesnym przeprowadzeniem testów fitopatologicznych.

W celu identyfikacji markerów DNA dla odporności na kiłę kapusty innego typu niż Tosca, w warunkach szklarniowych wykonano krzyżowania wybranych wysokoplennych odmian rzepaku ozimego z odmianami będącymi źródłem odporności na kiłę kapusty, jednak innego typu niż odmiana odporna Tosca. Przeprowadzono serię krzyżowań linii wsobnych i odmian rzepaku ozimego, otrzymując nasiona z 3 kombinacji krzyżowań w ilości niezbędnej do wytworzenia mieszańców F1. Uzyskane mieszańce wysiano w celu otrzymania roślin donorowych do procesu androgenezy *in vitro* i wytworzenia populacji segregujących linii DH do dalszych badań.

Temat badawczy 4: Analiza genomu rzepaku ozimego dla identyfikacji rejonów sprzężonych z istotnymi cechami użytkowymi

We współpracy z Zakładem Biologii Obliczeniowej Wydziału Biologii UAM w Poznaniu, opracowano mapę genetyczną złożoną z 19 grup sprzężeń odpowiadających 19 chromosomom rzepaku ozimego. Wykorzystano w tym celu klasyczną populację mapującą (populacja EG), złożoną z ponad 100 linii podwojonych haploidów (DH) rzepaku ozimego. Populacja EG została otrzymana poprzez androgenezę w kulturach *in-vitro* z pokolenia F1 uzyskanego w wyniku skrzyżowania linii DH-JN-86 (R1) oraz DH-ER2-13/1 (R2) różniących się pod względem zawartości kwasu erukowego i glukozyzolanów w nasionach. Ogółem na mapie genetycznej umieszczono 13909 markerów (SNP, RAPD, AFLP, SSR), przy czym 7003 markery zostały zmapowane w genomie A o długości 926,2 cM, zaś 6906 markerów zlokalizowano w genomie C o długości 995,8 cM. Na mapie lokalizowano QTL dla 78 cech związanych z zawartością glukozyzolanów w nasionach rzepaku ozimego. Uzyskano 122 QTL dla 59 cech związanych z zawartością tych związków. Wykazano odrębne ścieżki biosyntezy glukozyzolanów alifatycznych i indolowych. Dla cechy GALI (suma wszystkich glukozyzolanów alifatycznych) zidentyfikowano QTL na czterech chromosomach rzepaku i potwierdzono lokalizacje uzyskane dla tej cechy przez wielu innych autorów. Można stwierdzić, że część uzyskanych QTL wykazuje specyficzność względem warunków i etapów procesu dojrzewania nasion. Częściowo odmienne lokalizacje wykazywały QTL związane z modyfikacjami grup funkcyjnych w cząsteczkach glukozyzolanów. Nasiona roślin z populacji EG zostały wysiane w doniczkach w celu namnożenia. Populacja ta będzie wykorzystywana m.in. do określenia genów i markerów funkcjonalnych na podstawie zidentyfikowanych QTL oraz posiadanych wyników sekwencjonowania nowej generacji (NGS) dla linii rodzicielskich.

Rozpoczęto mapowanie asocjacyjne (GWAS) cechy zawartości glukozyzolanów w nasionach rzepaku. Materiał badawczy stanowiła kolekcja 350 genotypów pochodzących z HR Strzelce Sp. z o.o. Grupa IHAR, charakteryzujących się zróżnicowaną zawartością glukozyzolanów w nasionach (kolekcja GLS). Do analizowanego zestawu linii dołączono także linie rodzicielskie dla populacji EG. W firmie SGS IF GmbH, TraitGenetics Section, Gatersleben, Niemcy wykonano genotypowanie badanych roślin za pomocą markerów SNP przy użyciu mikromacierzy *Brassica* 19K Illumina Infinium. Uzyskane wyniki zostały następnie wykorzystane w analizie różnicowania genetycznego tej kolekcji, co stanowi etap wstępny dla analizy GWAS. Włączenie do badań linii rodzicielskich dla populacji EG pomoże w porównaniu wyników z obu badań oraz w opracowaniu skutecznych markerów funkcjonalnych dla monitorowania zawartości glukozyzolanów w nasionach tworzonych odmian rzepaku.