

Zadanie 26: 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.

Okres realizacji 2021



Kierownik: Dr hab. Alina Liersch
Zakład Roślin Oleistych, IHAR-PIB Oddział Poznań
e-mail: a.liersch@ihar.edu.pl

Zespół wykonawców projektu

dr hab. Alina Liersch
dr hab. Katarzyna Mikołajczyk
dr hab. Stanisław Spasibionek
dr hab. Marek Wójtowicz
dr hab. Franciszek Wielebski
dr Agnieszka Łopatyńska
dr Katarzyna Gacek-Bogucka
dr Marcin Matuszczak
dr Elżbieta Starzycka-Korbas
mgr Joanna Wolko
mgr Joanna Nowakowska
mgr Magdalena Walkowiak
dr Krzysztof Michalski
inż. Renata Daleka
Mariola Ebertowska
Czesława Fink
Justyna Karauda
Danuta Gawlak
Beata Żyto
Katarzyna Śliwińska
Jacek Kwiatek
Sławomir Hoffa

realizacja tematów badawczych

analizy biochemiczne

pomoc techniczna

Cele zadania 26

- ✓ Krzyżowanie linii rzepaku podwójnie ulepszanego ze źródłem odporności na wirusa żółtaczkę rzepy (TuYV) w celu otrzymania populacji segregującej pod względem odporności na wirusa żółtaczkę rzepy (TuYV) – cel realizuje się w ramach **Tematu badawczego 1**: „Wytwarzanie genotypów rzepaku odpornych na wirusa żółtaczkę rzepy (TuYV)”.
- ✓ Celem badań jest analiza fenotypowa i wybór genotypów rzepaku ozimego wykazujących odporność/tolerancję na pęknięcie łuszczyn. Analiza odporności/tolerancji na pęknięcie łuszczyn genotypów rzepaku zostanie przeprowadzona po uzyskaniu przez rośliny pełnej dojrzałości na podstawie liczby osypanych nasion na jednostce powierzchni – cel realizuje się w ramach **Tematu badawczego 2**: „Badanie genotypów rzepaku ozimego pod względem odporności łuszczyn na pęknięcie”.
- ✓ Badanie determinacji genetycznej cechy odporności rzepaku na poszczególne patotypy kiły kapusty (6 patotypów) *Plasmodiophora brassicae* Wor. – cel realizuje się w ramach **Tematu Badawczego 3**: „Badanie determinacji genetycznej odporności rzepaku na kiłę kapusty i porażenie przez różne patotypy *Plasmodiophora brassicae* Wor.”.
- ✓ Charakterystyka 3 populacji nowych linii hodowlanych o różnym podłożu genetycznym, wytworzonych w IHAR-PIB, Oddział w Poznaniu, przy użyciu markerów DNA. Badanie możliwości zastosowania opublikowanych markerów specyficznych do identyfikacji genotypów z wprowadzoną odpornością na infekcję wirusem żółtaczkę rzepy (TuYV), monitorowanie form homo- i heterozygotycznych genu restorera Rfo, a także niezmutowanych i zmutowanych alleli desaturazy FAD3 w genomach A i C rzepaku; określenie zróżnicowania w obrębie populacji genotypów linii rodzicielskich użytych do krzyżowań, w tematach 1. oraz 3., jak również wybranych genotypów badanych w temacie 2 – cel realizowano w ramach **Tematu Badawczego 4**: „Badanie genotypów z wykorzystaniem markerów DNA”.

Temat badawczy 1 . Wytwarzanie genotypów rzepaku ozimego odpornych na wirusa żółtaczkę rzepy (TuYV)

Materiałem roślinnym było 11 genotypów: linie wsobne F5 (4 IHAR-PIB, O/Poznań); linie restorery dla systemu CMS *ogura* (2); Amalie, Aspire – odmiany populacyjne; Anarion, Excited i Astana - odmiany mieszańcowe.

Metody: test biologiczny ELISA; serie krzyżowań, analizy biochemiczne nasion: zawartość tłuszczu i białka (NIRS), skład kwasów tłuszczowych i zawartość glukozydów – metodą chromatografii gazowej.

WYNIKI

- W wyniku przeprowadzonych krzyżowań uzyskano nasiona dla 18 kombinacji krzyżówkowych w ilości od 1,49 g do 6,65 g (**miernik 1**).
 - Analiza biochemiczna 11 genotypów rzepaku ozimego wykazała dużą zmienność pod względem zawartości tłuszczu, białka, składu kwasów tłuszczowych i glukozydów (Tabela 1) (**miernik 3**).
 - Przeprowadzona inokulacja 11 genotypów w warunkach szklarniowych (IOR-PIB w Poznaniu) wykazała różnice w zasiedlaniu liści rzepaku przez kolonie mszycy brzoskwiowej *Myzus persicae* (Tabela 2), a indeks porażenia wahał się od 12,5 do 87,5%
 - Wyniki testu ELISA 11 genotypów przedstawiono w tabeli 2 (**miernik 2**).
- Odmiany Amalie, Aspire oraz Astana wykazywały większą tolerancję na wirusa żółtaczkę rzepy (TuYV)

Tabela 1. Cechy jakościowe 11 genotypów rzepaku ozimego

Genotyp	Tłuszcz [%]	Białko [%]	Kwasy tłuszczowe [%]			Suma Glukozydów [$\mu\text{mol g}^{-1}$ nasion]
			C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	
1687	49,16	16,96	75,6	12,0	4,4	7,6
1697	48,13	20,98	70,3	15,2	7,2	11,0
1749	48,38	17,13	63,5	21,9	6,9	7,4
357	49,32	17,74	72,3	14,3	5,7	10,2
773	49,17	18,59	67,2	18,2	7,4	7,1
800	43,95	21,11	77,2	8,6	6,7	12,9
Amalie	45,87	19,30	63,0	19,8	8,9	19,9
Aspire	42,19	21,42	65,0	19,0	7,7	14,5
Anarion	46,18	18,28	67,1	17,7	7,1	10,6
Excited	49,29	17,69	67,0	17,7	7,3	16,6
Astana	40,17	24,35	70,2	14,8	7,0	12,6



Fot. 1. Kolonie mszyc na liściu rzepaku



Fot. 2. Objawy charakterystyczne dla porażenia wirusem TuYV

Tabela 2. Wyniki obserwacji fenotypowych i testu ELISA 11 genotypów rzepaku ozimego

L.p.	Genotyp	Indeksy porażenia dla roślin po inokulacji mszycami z TuYV				IP [%]	Test ELISA 10 roślin
		Ocena roślin IOR-PIB testowanych na TuYV					
		Zasiedlenie roślin przez kolonie <i>Myzus persicae</i>	Powtórzenie I porażenie 40 roślin			Odczyty	
			0	1	2		
36	1687/2	b. liczne kolonie	1	0	3	75,0	1,386 do 1,908
37	1697/1	liczne kolonie	0	2	2	75,0	1,086 do 1,903
38	1749/1	liczne kolonie	0	1	3	87,5	0,813 do 1,892
39	357/1	liczne kolonie	0	4	0	50,0	0,998 do 1,777
40	773/3	liczne kolonie	0	2	2	75,0	1,264 do 1,904
41	800/2	b. liczne kolonie	2	2	0	25,0	1,347 do 2,213
42	Amalie	nieliczne mszyce	2	1	1	37,5	0,087 do 1,564
43	Aspire	liczne kolonie	3	1	0	12,5	0,119 do 1,693
44	Anarion F1	nieliczne kolonie	2	2	0	25,0	0,462 do 1,627
45	Excited F1	nieliczne kolonie	3	1	0	12,5	0,338 do 1,363
46	Astana F1	nieliczne kolonie	3	1	0	12,5	0,154 do 1,797

Temat badawczy 2 . Badanie genotypów rzepaku ozimego pod względem odporności tłuszczyn na pęknięcie

Materiałem badawczym jest populacja 150 genotypów rzepaku ozimego (**miernik 1**):

- 20 podwójnie ulepszonych linii otrzymanych z mieszańców międzygatunkowych charakteryzujących się podwyższoną odpornością na patogeny grzybowe,
- 25 linii DH z genem restorerem dla systemu genowo-cytoplazmatycznej męskiej niepłodności CMS *ogura*,
- 17 genotypów o zmienionej barwie okrywy nasiennej,
- 9 odmian o deklarowanej odporności na osypywanie (8 mieszańcowych i 1 populacyjna),
- 2 odmiany populacyjne pochodzące z Hodowli Roślin Strzelce,
- 19 linii rekombinacyjnych typu HOLL (skrót od ang. *high oleic low linolenic*) z genotypem mutantów typu LL i HO o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (do 82,2%) oraz o obniżonej zawartości kwasu linolenowego (do 1,8%) i o zróżnicowanej odporności na czerń krzyżową, suchą zgniliznę kapustnych i zgniliznę twardzikową,
- odmiana Polka (typ HO) o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (79,4%), obniżonej zawartości kwasu linolowego (6,9%) i kwasu linolenowego (7,2%),
- 1 linia wsobna mutantka M10464 (typ HO) (ang. *high oleic*) o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (78,4%),
- 16 genotypów typu CANOLA o typowym dla rzepaku składzie kwasów tłuszczowych, wysokiej zawartości tłuszczu (do 51%) i obniżonej zawartości glukozyzolanów alkenowych (do 0,4 μ M g⁻¹nasion) i sumy glukozyzolanów (do 4,3 μ M g⁻¹nasion),
- 38 genotypów typu HO&LGLS (skrót od ang. *high oleic & low glucosinolates*) o wysokiej zawartości tłuszczu (do 49,7%) oraz o bardzo niskiej zawartości glukozyzolanów alkenowych (do 0,3 μ M g⁻¹ nasion) i sumy glukozyzolanów (do 2,3 μ M g⁻¹nasion),
- 1 linia wsobna mutantka M10453 (typ HO) (skrót od ang. *high oleic*) o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (77,2%),
- 1 linia wsobna mutantka M681 (typ LL) (skrót od ang. *low linolenic*) o ekstremalnie niskiej zawartości kwasu linolenowego (2,8%).

Wyselekcjonowany do badań materiał badawczy (150 genotypów) oceniono pod względem zawartości tłuszczu, białka składu kwasów tłuszczowych oraz zawartości glukozydów (miernik 2). Analiza biochemiczna nasion ocenianych genotypów uwidoczniła, zobrazowaną miarami różnicowania, dużą zmienność zawartości: kwasu linolowego (współczynnik zmienności - 40,6%; rozstęp - 18,9), linolenowego (współczynnik zmienności - 35,2%; rozstęp - 11,7), glukozydów alkenowych (współczynnik zmienności - 57,7%; rozstęp - 19,5), indolowych (współczynnik zmienności - 31,3%; rozstęp - 8,6) oraz sumy glukozydów (współczynnik zmienności - 36,6; rozstęp - 21,9) (Tabela 1). Mniejszym różnicowaniem odznaczała się zawartość białka (współczynnik zmienności - 17,7%; rozstęp - 18,8) oraz tłuszczu (współczynnik zmienności - 9,2%; rozstęp - 21,3).

Tabela 1. Charakterystyka zmienności zawartości tłuszczu, białka, glukozydów oraz składu kwasów tłuszczowych analizowanej populacji

Średnia arytmetyczna i miary różnicowania	Tłuszcz (%)	Białko (%)	Skład kwasów tłuszczowych (%)							Zawartość glukozydów ($\mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$ nasion)								
			C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{21:1}	C _{22:1}	glukon.	glukob.	progoit.	napolei.	brassic.	4-OH	suma	alken.	indol.
Średnia	45,9	20,6	4,5	1,7	71,5	14,2	7,0	1,2	0,0	1,7	0,5	3,8	0,1	0,2	4,3	10,6	6,1	4,6
Odchylenie standardowe	4,2	3,6	0,5	0,4	7,7	5,8	2,5	0,2	0,0	1,0	0,5	2,2	0,2	0,3	1,2	3,9	3,5	1,4
Współczynnik zmienności (%)	9,2	17,7	10,9	22,8	10,7	40,6	35,2	16,7	0,0	57,3	92,3	57,4	189,2	137,9	28,3	36,6	57,7	31,3
Minimum	33,3	13,2	3,2	1,0	54,6	5,9	1,6	0,8	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	1,2	2,6	0,2	1,2
Maksimum	54,5	32,0	6,0	3,1	87,5	24,8	13,3	1,6	0,0	5,8	3,3	13,3	1,0	1,7	9,0	24,5	19,7	9,8
Rozstęp	21,3	18,8	2,8	2,1	32,9	18,9	11,7	0,8	0,0	5,8	3,3	13,1	1,0	1,7	7,8	21,9	19,5	8,6

C_{16:0} - palmitynowy, C_{18:0} - stearynowy, C_{18:1} - oleinowy, C_{18:2} - linolowy, C_{18:3} - linolenowy, C_{21:1} - eikozenowy, C_{22:1} - erukowy; *glukon.* - glukonapina; *glukob.* - glukobrassicapina; *progoit.* - progoitryna; *napolei.* - napoleiferyna; *brassic.* - glukobrassicyna; *4-OH* - 4-OH-glukobrassicyna; *suma* - suma glukozydów; *alken.* - suma glukozydów alkenowych; *indol.* - suma glukozydów indolowych.

Tabela 2. Charakterystyka zmienności wschodów, wyrównania i stanu roślin przed zimą analizowanej populacji

Średnia arytmetyczna i miary różnicowania	Wschody	Wyrównanie przed zimą	Stan roślin przed zimą
Średnia arytmetyczna	7,4	6,9	5,8
Odchylenie standardowe	0,4	0,8	0,7
Współczynnik zmienności (%)	4,9	11,7	12,2
Minimum	6,5	4,5	4,0
Maksimum	8,0	9,0	8,0
Rozstęp	1,5	4,5	4,0

Wschody - 1 oznacza brak wschodzących roślin na poletku, a 9 pełną obsadę; Wyrównane przed zimą - obsada i rozmieszczenie roślin w rzędzie, gdzie 1 oznacza brak roślin na poletku, a 9 pełną obsadę i brak przepustów; Stan roślin przed zimą - odżywienie, zdrowotność i faza rozwojowa, gdzie 1 oznacza rośliny niedożywione, porażone, w fazie 4-5 liści, a 9 rośliny bez oznak niedożywienia, zdrowe, w fazie co najmniej 9-10 liści

Ocenione w skali 1-9 wschody, wyrównanie i stan roślin przed zimą (miernik 3) scharakteryzowano miarami różnicowania (Tabela 2). Najmniejsze różnice pomiędzy ocenianymi genotypami wyrażone współczynnikami zmienności i rozstępem (4,9%, 1,5) dotyczyły wschodów roślin. Wyrównanie i stan roślin przed zimą odznaczały się większą zmiennością. Wspomniane miary różnicowania dla tych cech wynosiły odpowiednio 11,7% i 4,5 oraz 12,2% i 4.

Temat badawczy 3 . Badanie determinacji genetycznej odporności rzepaku na kiłę kapusty i porażenie przez różne patotypy *Plasmodiophora brassicae* Wor.

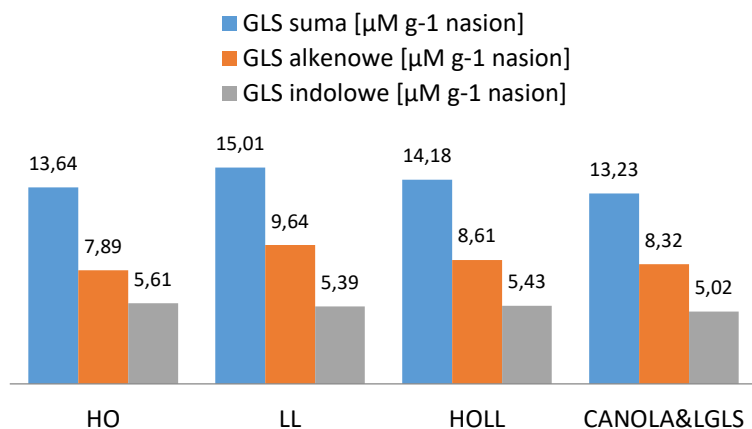
Materiał roślinny stanowiło 300 genotypów rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego (**miernik 1**) o zróżnicowanych cechach jakościowych otrzymane w IHAR-PIB, Oddział w Poznaniu, w wyniku krzyżowania wyselekcjonowanych linii hodowlanych o wysokiej wartości rolniczej oraz źródła odporności na infekcję *Plasmodiophora brassicae*. Do badań wybrano linie typu HO (skrót od ang. *high oleic*) o wysokiej zawartości kwasu oleinowego, linie typu LL (skrót od ang. *low linolenic*), linie typu HOLL (skrót od ang. *high oleic & low linolenic*) o wysokiej zawartości kwasu oleinowego i obniżonej zawartości kwasu linolenowego, oraz linie typu CANOLA&LGLS o typowym dla rzepaku składzie kwasów tłuszczowych i ekstremalnie obniżonej zawartości glukozyzolanów.

Metody: Testy biologiczne odporności na kiłę kapusty; fenotypowanie, analizy biochemiczne nasion: zawartość tłuszczu i białka (NIRS), skład kwasów tłuszczowych i zawartość glukozyzolanów – metodą chromatografii gazowej.

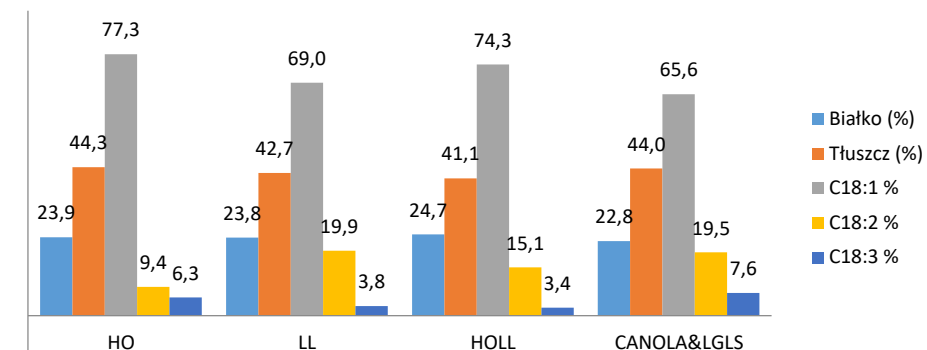
Wyniki

Uzyskano bardzo duże zróżnicowanie pod względem procentowej zawartości białka (od 19,7-28,5%) i tłuszczu (od 34,3-51,3%). Po względem zawartości kwasów tłuszczowych linie typu HO charakteryzowały się wysoką zawartością kwasu oleinowego (od 71,7%–80,6%) i obniżoną zawartością kwasu linolowego (od 6,5-15,5%), linie typu LL cechowała obniżona zawartość kwasu linolenowego (od 2,5-4,7%) natomiast linii typu HOLL wysoka zawartość kwasu oleinowego (od 71-81,5%) i obniżona zawartość kwasu linolenowego (od 2,2-4,9%). Grupa linii typu CANOLA&LGLS posiadała typowy dla rzepaku skład kwasów tłuszczowych tj. zawartość kwasu oleinowego (od 59,4-69,9%), kwasu linolowego (od 14,3-24,1%) i kwasu linolenowego (od 5,1-10,5%) (Wykres 1).

Wykres 2. Średnie zawartości glukozyzolanów w liniach typu HO, LL, HOLL i CANOLA&LGLS



Wykres 1. Średnia zawartość białka i tłuszczu oraz skład kwasów tłuszczowych w liniach typu HO, LL, HOLL, HO i CANOLA&LGLS



Pod względem zawartości związków antyżywnościowych, glukozyzolanów linie typu HO charakteryzowały się dużą zmiennością pod względem zawartości sumy glukozyzolanów alkenowych (od 1,1–31,4 $\mu\text{M g}^{-1}$ nasion), sumy glukozyzolanów indolowych (od 3,9–8,2 $\mu\text{M g}^{-1}$ nasion) i sumy wszystkich glukozyzolanów (od 5,8–36,3 $\mu\text{M g}^{-1}$ nasion). Grupa linii typu LL uzyskała ustabilizowany poziom zawartości sumy glukozyzolanów alkenowych (4,7–14,4 $\mu\text{M g}^{-1}$ nasion), sumy glukozyzolanów indolowych (4,8–5,9 $\mu\text{M g}^{-1}$ nasion) i sumy wszystkich glukozyzolanów (10,2–19,13 $\mu\text{M g}^{-1}$ nasion). Natomiast populacja linii typu HOLL cechowała się dużą zmiennością w zawartościach sumy glukozyzolanów alkenowych (od 1,5–16,8 $\mu\text{M g}^{-1}$ nasion), sumy glukozyzolanów indolowych (od 3,6–7,8 $\mu\text{M g}^{-1}$ nasion) i sumy wszystkich glukozyzolanów (od 7,2–22,3 $\mu\text{M g}^{-1}$ nasion). Podobne, wysokie zróżnicowanie obserwowano w grupie linii typu CANOLA&LGLS. Zawartość sumy glukozyzolanów alkenowych wynosiła (3,5–18,6 $\mu\text{M g}^{-1}$ nasion), sumy glukozyzolanów indolowych (2,7–6,2 $\mu\text{M g}^{-1}$ nasion) i sumy wszystkich glukozyzolanów (6,7–22,6 $\mu\text{M g}^{-1}$ nasion). Wykresy przedstawiają średnie wartości badanych cech (Wykres 2.) (**miernik 4**).

Rysunek 1 a-d. Zróżnicowanie linii pod kątem tolerancji na kiłę kapusty

Ocena odporności na kiłę kapusty

Fenotypowanie 300 genotypów przeprowadzone po 7 tygodniach od siewu każdej z 3 serii pozwoliło na wytypowanie puli linii o większej odporności na porażenie przez *Plasmodiophora brassicae*. Indeks porażenia (ID) tych odmian mieścił się w zakresie od 0 do 25%. Takich genotypów wytypowano około 40 % (Tabela 1). Ocena otrzymanych materiałów hodowlanych wykazała ich zróżnicowanie na porażenie przez *Plasmodiophora brassicae*. W wyniku badania stwierdzono duży procent genotypów o niskim indeksie porażenia (ID = 0–25%) (Rysunek 1 a, b). Dalsze oceny przy użyciu testów biologicznych pozwolą potwierdzić te wyniki i wytypować genotypy o bardzo wysokiej odporności. Będą one przydatne w uzyskaniu nowych odmian rzepaku odpornych na porażenie przez sprawcę kiły kapusty. Genotypy, które uzyskały ID wyższe, powyżej 25%, można wyeliminować z dalszych prac hodowlanych, skupiając się na liniach rokujących postęp hodowlany w odniesieniu do odporności na porażenie przez *Plasmodiophora brassicae* (Rysunek 1 c, d) (mierniki 2, 3).

Tabela 1. Syntetyczna ocena odporności linii na *Plasmodiophora brassicae*

Indeks porażenia ID%	Procentowy udział genotypów o określonym indeksie porażenia
0-25	40
25-50	15
Powyżej 50	45



a



b



c



d

Temat badawczy 4. Badanie genotypów z wykorzystaniem markerów DNA

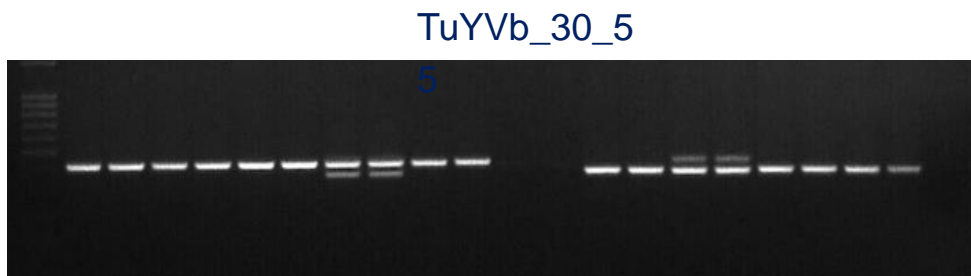
W ramach prowadzonych badań przeprowadzono:

- charakterystykę trzech populacji linii hodowlanych rzepaku ozimego, wytworzonych w IHAR-PIB, Oddział w Poznaniu, z zastosowaniem markerów DNA;
- zbadano możliwości adaptacji specyficznych markerów DNA do monitorowania genotypów rzepaku z wprowadzoną odpornością na infekcję wirusem żółtaczkę rzepy TuYV;
- monitorowano formy homo- i heterozygotycznych rzepaku z genem restorerem *Rfo*;
- monitorowano niezmutowane i zmutowane allele desaturazy FAD3 w genomach A i C rzepaku
- określono różnicowania w obrębie populacji badanych genotypów w Tematach 1., 2., oraz 3.

Temat\ populacja	'SSR_21'	'Rfo_21'	'FAD3_21'
1.	11 linii rodzicielskich do krzyżowań: <ul style="list-style-type: none">• 5 odmian odpornych na TuYV• 2 linie hodowlane PN21 z genem Rfo• 4 linie wsobne pokolenia F5	90 linii z genem restorerem Rfo, badanych w IHAR-PIB, Oddział w Poznaniu	
2.	29 genotypów <i>B. napus</i> , typ canola: <ul style="list-style-type: none">• 25 genotypów otrzymanych w wyniku krzyżowań międzygatunkowych• 4 genotypy referencyjne		
3.	15 linii matecznych, wytworzonych w IHAR-PIB O/Poz 1 linia ojcowska, odmiana Tosca odporna na infekcję kiłą kapusty		70 linii rekombinantów otrzymanych z krzyżowania linii wytworzonych w O/Poz z odmianą Tosca

Temat badawczy 4. Badanie genotypów z wykorzystaniem markerów DNA

Miernik 1: Analiza markerami SCAR 5 genotypów o zdefiniowanej odporności na wirus żółtaczkę rzepy TuYV.



Od lewej: marker wielkości DNA 10 kb, a następnie po dwie próby dla każdego genotypu: 1. Amalie, IP=37%; 2. Aspire, IP=12.5%; 3. Anarion F1, IP=25%; 4. Excited F1, IP=12.5%; 5. Astana F1, IP=12.5%; genotypy kontrolne: 6. AACC; 7. aacc; 8. Tosca; 9. Brh; 10. 1687/2; IP, indeks porażenia przez TuYV.

Miernik 2: Analiza genotypów populacji 'Rfo_21' obejmującej 90 genotypów rzepaku, w celu identyfikacji form homo- i heterozygotycznych z genem restorerem Rfo została wykonana z wykorzystaniem opracowanego testu 'qPCR_Rfo'.

Wykazano obecność 4 genotypów typu dzikiego, bez genu restorera Rfo, 9 genotypów heterozygotycznych oraz 77 homozygotycznych.

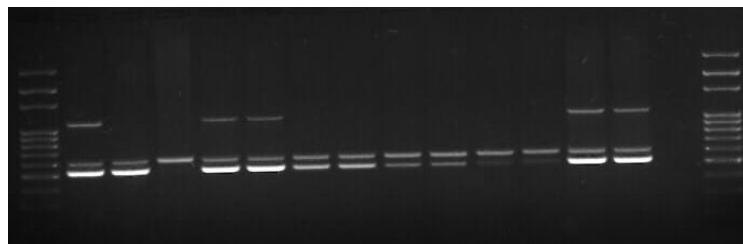
Miernik 3: Formy alleliczne genów desaturaz FAD3 w genomach A i C rzepaku w wybranych genotypach 70 linii rekombinantów identyfikowano przy użyciu analizy SnaPshot oraz elektroforezy kapilarnej.

Zidentyfikowano: 22 formy 'aacc', 11 'AACC', 2 'AaCc', 2 'aaCC', 3 'aaCc', 5 'AACc', 14 'AAcc', oraz 11 'Aacc'; A, C, typ "dziki"; a, c, genotyp niskolinolenowy.

Miernik 4: Polimorfizm loci mikrosatelitarnych w obrębie 'populacji SSR_21' badano z zastosowaniem par specyficznych starterów dla wybranych 36 loci SSR, w systemie 'M13-tailing', a produkty amplifikacji PCR analizowano z zastosowaniem elektroforezy kapilarnej w aparacie ABI PRISM 3130XL.

Są one odczytywane przy pomocy programu PeakScanner i zapisywane w systemie binarnym. Będą przedstawione graficznie w formie dendrogramu różnicowania genetycznego, z zastosowaniem narzędzi pakietu R.

Miernik 5.: Analizy SCAR na obecność genu restorera Rfo wykonano dla 5 genotypów odmian mieszańcowych rzepaku odpornych na infekcję TuYV, z zastosowaniem testu 'Multiplex PCR', poniżej produkty amplifikacji:



Od lewej: marker wielkości 100 bp; kontrole - K++, K+, i act; po 2 próby: Anarion, SYAlix, Astana, Crotera, Excited.

Anarion i Excited wykazują obecność CMS ogura oraz genu Rfo w systemie ogu-INRA; natomiast SYAlix, Astana i Crotera, nie wykazują obecności genu restorera Rfo.



Podsumowanie uzyskanych wyników

- ✓ Wykonano obserwacje fenotypowe 11 genotypów rzepaku ozimego, określono stopień porażenie blaszki liściowej wyznaczając indeks porażenia (IP %) oraz zasiedlenie liści rzepaku przez kolonie mszyc *Myzus persicae*. Tolerancję 11 genotypów rzepaku na wirusa żółtaczkę rzepy (TuYV) oceniono testem ELISA.
- ✓ Przeprowadzono serię krzyżowań ze źródłem odporności na TuYV, a wybrane mieszańce F1 zostały wybrane do uzyskania linii podwojonych haploidów, niezbędnych do analiz molekularnych i fenotypowych w dalszych etapach realizacji projektu.
- ✓ Założono doświadczenie polowe z populacją genotypów o różnym pochodzeniu, charakteryzujących się także zróżnicowaną jakością nasion co pozwoli na poszukiwanie zmienności dotyczącej odporności/tolerancji na osypywanie.
- ✓ Prowadzono prace nad wytworzeniem form populacyjnych rzepaku o wysokiej zawartości białka i tłuszczu, zmienionych proporcjach kwasów tłuszczowych i obniżonej zawartości związków antyżywnościowych – glukozyzolanów alkenowych, a podwyższonej korzystnych dla zdrowia glukozyzolanów indolowych.
- ✓ Fenotypowanie genotypów rzepaku ozimego pozwoliło na wytypowanie puli linii o podwyższonej tolerancji na porażenie przez kiłę kapusty (*Plasmodiophora brassicae* Wor.), które będą przydatne do wytworzenia nowych odmian rzepaku ozimego.
- ✓ Wstępne analizy z zastosowaniem dwóch opublikowanych markerów DNA typu SCAR, specyficznych dla genotypów tolerancyjnych na infekcję wirusem żółtaczkę rzepy TuYV wykazują różnice pomiędzy genotypami zdefiniowanymi jako odporne/ tolerancyjne oraz podatne; należy jeszcze doprecyzować warunki amplifikacji PCR. Kolejnym etapem określania przydatności markerów do monitorowania genotypów tolerancyjnych będzie badanie populacji segregującej, która będzie równolegle badana fenotypowo.
- ✓ Analizy z wykorzystaniem opracowanego testu qPCR_Rfo, a także allelo-specyficznego testu SNaPshot umożliwiły zdefiniowanie genotypów homozygotycznych, które będą wykorzystane w dalszych badaniach genetyczno-hodowlanych.
- ✓ Określenie polimorfizmów loci mikrosatelitarnych pomiędzy genotypami pozwoli na zdefiniowanie struktury badanej populacji, a także odniesienie do wcześniejszych analiz, i określenie ich wzajemnych relacji.