

Postęp Biologiczny w Produkcji Roślinnej_2023

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

Kierownik zadania:

Katarzyna Mikołajczyk, dr hab., adiunkt
k.mikolajczyk@ihar.edu.pl

Okres realizacji: 2023 r.

Miejsce realizacji:

Oddział IHAR – PIB w Poznaniu

Wykonawcy zadania:

Alina Liersch, dr hab., adiunkt
Stanisław Spasibionek, dr hab., prof. Instytutu
Laurencja Szała, dr hab., adiunkt
Marek Wójtowicz, dr hab., adiunkt
Agnieszka Łopatyńska, dr, adiunkt
Marcin Matuszczak, dr, adiunkt
Joanna Wolko, dr, asystent

Joanna Nowakowska, mgr, st. specjalista
Katarzyna Krzyżańska, mgr, inżynier
Julia Żok, mgr, inżynier
Mariola Ebertowska, st. technik
Czesława Fink, st. technik
Justyna Karauda, st. technik
Katarzyna Kozłowska, st. technik
Katarzyna Śliwińska, st. technik
Jacek Kwiatek, robotnik
Sławomir Hoffa, robotnik

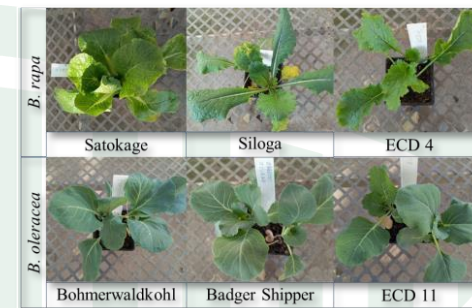
Cele zadania w 2023 r.

1. Zgromadzenie nasion wybranych gatunków *B. rapa* i *B. oleracea* i przeprowadzenie pierwszej serii krzyżowań pomiędzy komponentami rodzicielskimi – cel osiągnięty w 80%
2. Zgromadzenie wyników do opracowania metody pozwalającej na ocenę odporności genotypów na osypywanie w warunkach kontrolowanych – cel osiągnięty w całości
3. Testowanie specyficzności markera DNA typu SCAR dla odporności niesionej przez genotyp odmiany Tosca badanej w ramach zrealizowanego projektu badawczego Harmonia nr 2016/22/M/NZ9/00604 (2017 – 2020) – cel osiągnięty w całości
4. Opracowanie mapy genetycznej z lokalizacją QTL dla zawartości glukozynolanów w nasionach oraz analiza zróżnicowania genetycznego w obrębie kolekcji linii i odmian rzepaku ozimego za pomocą markerów typu SNP (etap wstępny analizy GWAS) – cel osiągnięty w 90%.

Materiały i metody

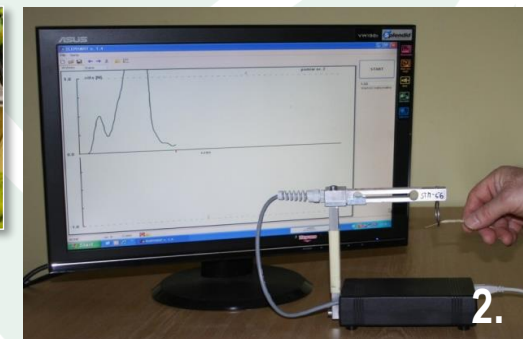
Materiał roślinny

- ❑ 6 genotypów progenitorowych dla *Brassica napus*: *B. rapa* i *B. oleracea*, uzyskanych z banku genów (1)
- ❑ 19 linii restorerów Rfo i odmiana z cechą odporności na pęknięcie DK Excited F1 (2)
- ❑ 29 genotypów zarejestrowanych odmian rzepaku ozimego odpornych na infekcję kiłą kapusty i 2 odmiany rzepaku o wysokiej wartości rolniczej, podatne na infekcję kiłą kapusty: Derrick i Uniwersum (3)
- ❑ populacja mapująca QTL, 102 genotypów rzepaku o zróżnicowanej zawartości glukozynolanów (GLS) w nasionach (4)
- ❑ kolekcja 'GWAS' - 350 genotypów rzepaku pochodzących z w HR Strzelce Sp. z o.o. Grupa IHAR, o zróżnicowanej zawartości GLS w nasionach, dla których przeprowadzono analizy SNP (4)



Metody

- Testy fenotypowe na odporność na infekcję kiłą kapusty; współpraca z IGR PAN (1)
- Pomiary siły powodującej pęknięcie połączeń klap z przegrodą łuszczyny (2)
- Ekstrakcja genomowego DNA i analiza specyficznym markerem SCAR 'Tosca'(3)
- Genotypowanie z wykorzystaniem markerów SNP, oraz SSR, AFLP i RAPD (4)
- Opracowanie mapy genetycznej i lokalizacja QTL; współpraca naukowa z Zakładem Biologii Obliczeniowej Wydziału Biologii UAM w Poznaniu (4)

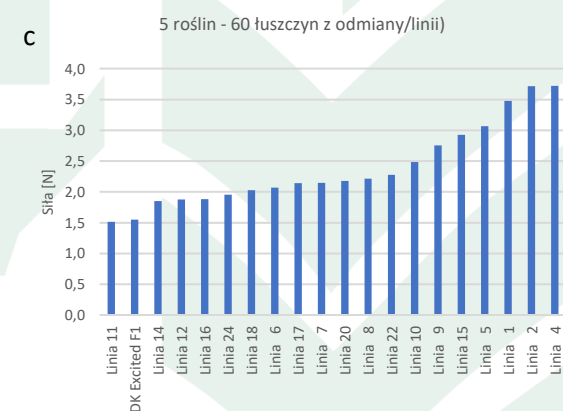
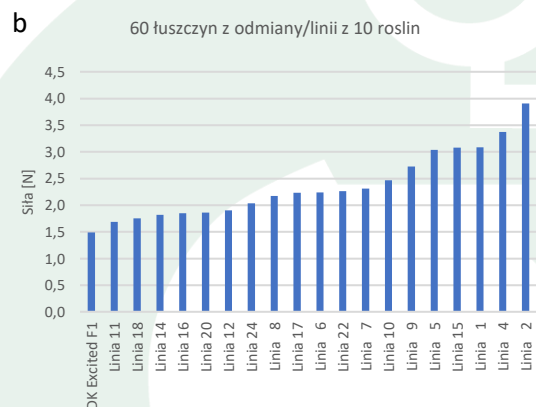
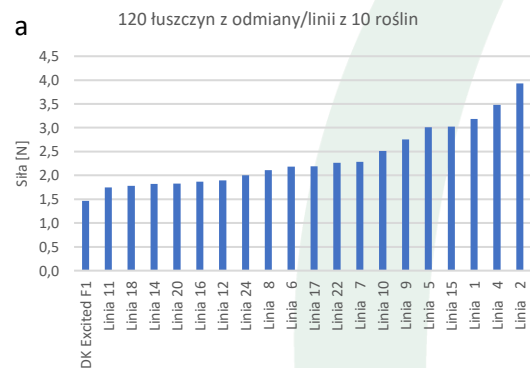


Wyniki, Wnioski, Dyskusja (1)

- ❑ Sprowadzone z banków genów komponenty odporne na kiłę kapusty rodzicielskie wykazały wysoką zdolność kiełkowania w kontrolowanych warunkach i dobrze zniosły okres sztucznej jaryzacji
- ❑ 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
- Niepowodzeniem zakończyło się pierwsze podejście do sprowadzenia odmian komercyjnych charakteryzujących się odpornością na najważniejsze choroby rzepaku i ogólną wysoką zdrowotnością. Wybrane na podstawie danych marketingowych odmiany warzyw z rodzaju *Brassica* okazały się niedostępne na rynku Unii Europejskiej
- Dalsze poszukiwania doprowadziły do banku genów w USA, który dysponuje bogatą kolekcją różnych gatunków *B. rapa* i *B. napus*. Jednak, gatunki te nie posiadają specyfikacji cech, jak na przykład odporność na choroby i szkodniki. Stąd, zmodyfikowano podejście badawcze i cel planowanej dalszej resyntezy *B. napus*, jakim będzie głównie poszerzanie i badanie nowej zmienności genetycznej w obrębie puli genowej odmian hodowlanych rzepaku
- Resyntetyzowane linie rzepaku ($2n=4$ $x=38$, AACC), które odtwarzają historyczną hybrydyzację między gatunkami progenitorowymi *Brassica rapa* ($2n=2$ $x=20$, AA) i *B. oleracea* ($2n=2$ $x=18$, CC) w celu wytworzenia *Brassica napus* ($2n=4$ $x=38$, AACC), od wielu lat są ważnym tematem badań. Linie te nie tylko zawierają przydatne zasoby genetyczne w hodowli rzepaku w celu wprowadzenia różnorodności genetycznej i wielu ważnych cech agronomicznych, ale także poszerzają wiedzę na temat ewolucji mejozy w roślinach poliploidalnych

Wyniki (2)

- ❑ Wykazano istotne zróżnicowanie materiału roślinnego pod względem podatności łuszczyń na pęknięcie
- ❑ Badane linie restorerów Rfo wykazywały w przeważającej liczbie prób wyższą odpornością na pęknięcie łuszczyń od odmiany referencyjnej DK Excited F1, o zdefiniowanej odporności na osypywanie
- ❑ Bez względu na liczbę ocenianych łuszczyń oraz zastosowaną metodę linie: 2, 4, 1, 15, 5, 9, 10, 7, 22, 17, 6 i 8 charakteryzowały się istotnie większą odpornością od odmiany referencyjnej
- ❑ Najwyższą odpornością na pęknięcie charakteryzowały się linie: 2, 4 i 1 (Rys 2 a, b, c)



Rys. 2. Wyniki pomiarów siły potrzebnej do pęknięcia łuszczyzny w zależności od liczby łuszczyń pobranych z jednej rośliny (a, b) oraz liczby roślin z których pobrano łuszczyzny (a, c)

Wnioski (2)

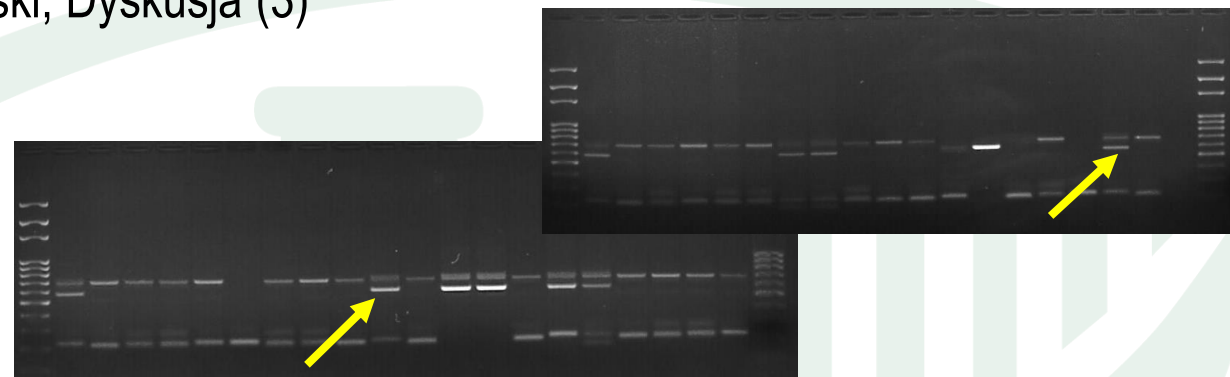
- Wyższa odporność na pękanie łuszczyń linii restorerów Rfo dla systemu cytoplazmatycznej męskiej sterylności rzepaku CMS Ogura od odmiany referencyjnej umożliwia wykorzystanie tych linii jako źródeł odporności i ograniczenia strat plonowania nowych kreacji hodowlanych.
- Wybór metody ograniczenia liczby łuszczyń do oceny ich odporności na pękanie okazał się istotny dla powtarzalności uzyskiwanych wyników. Korzystniejsze było ograniczenie liczby łuszczyń poprzez pobieranie mniejszej liczby łuszczyń do oceny z jednej rośliny niż zmniejszanie liczby roślin do oceny.
- Wykazano, że ograniczenie liczby łuszczyń do 60 w metodzie polegającej na losowym eliminowaniu łuszczyń nie zmieniało istotnie kolejności linii uszeregowanych pod względem siły potrzebnej do pęknięcia łuszczyzny.
- Małe zmiany uszeregowania materiału hodowlanego pod względem odporności łuszczyń na pękanie w wyniku ograniczenia liczby ocenianych łuszczyń z rośliny wskazują, że analizowana cecha dobrze charakteryzuje badane linie. Można więc oczekiwać podobnych wyników w kolejnych cyklach realizacji doświadczenia.
- Uzyskane wyniki wymagają potwierdzenia w kolejnych latach prowadzenia doświadczenia.

Dyskusja (2)

- Postęp w badaniach nad odpornością łuszczyń na pękanie jest warunkowany metodą oceny tej istotnej cechy. Dotychczas zaproponowano wiele metod ukierunkowanych na określenie odporności łuszczyń na pękanie. Uznając za priorytetowe dokładność metody i możliwość oceny łuszczyń o różnej długości zastosowano metodę polegającą na zginaniu szypułki łuszczyzny (Rudko, 2000) i jednocześnie poddać weryfikacji badawczej, czy ograniczenie liczby ocenianych łuszczyń w celu zmniejszenia pracochłonności metody wykorzystującej pomiar siły potrzebnej do pęknięcia łuszczyzny nie zmniejszy znacząco dokładności analizy.

Wyniki, Wnioski, Dyskusja (3)

- ❑ W wyniku analizy 29 genotypów zarejestrowanych odmian rzepaku ozimego o zadeklarowanej odporności na infekcję kiłą kapusty przy użyciu specyficznego markera SCAR 'Tosca' wykazano, że jest on specyficzny dla 7 dotąd przebadanych odmian: Cromat, Kocazz, Pegassus, Alibaba, Archimedes, Augusta i Astana
- Przeprowadzone badania pozwoliły na identyfikację odmian rzepaku odpornych na infekcję kiłą kapusty, które mogą być identyfikowane przy użyciu markera SCAR 'Tosca'.
- W celu potwierdzenia skuteczności tego markera należałoby przeanalizować genotypy rekombinantów tych odmian, z jednoczesnym zastosowaniem testów fitopatologicznych.
- W przypadku odmian, których odporność nie jest identyfikowana przez marker SCAR 'Tosca' optymalne byłoby podjęcie nowych projektów badawczych z wykorzystaniem populacji segregujących; potencjalne źródło materiału roślinnego mogłaby stanowić wybrana populacja wytworzona z jednego z mieszańców F1 utworzonego w wyniku realizacji tego tematu badawczego, jak również populacja pochodząca z materiałów doświadczalnych HR Strzelce Sp. z o.o Grupa IHAR.
- Odporność na infekcję kiłą kapusty, powodującą znaczne straty plonu, stanowi jeden z ważnych celów w hodowli rzepaku. Selekcja w oparciu o testy fitopatologiczne jest praco- i czasochłonna. W wielu ośrodkach na świecie prowadzone są badania nad mapowaniem cechy, a także opracowaniem testów genetycznych umożliwiających efektywną selekcję form odpornych w materiałach hodowlanych, we wczesnych fazach rozwoju.

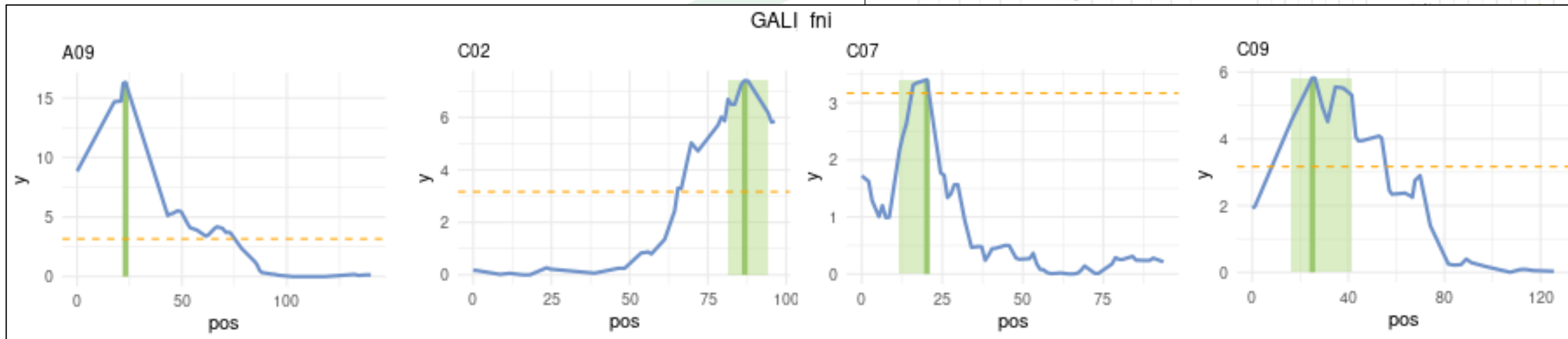
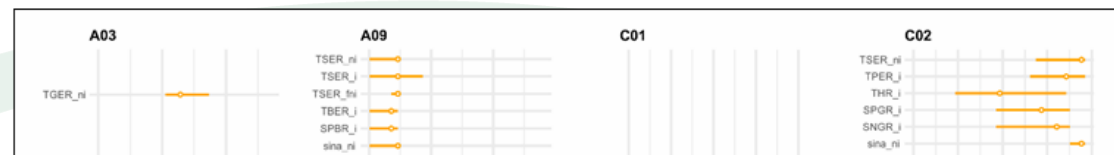


Wyniki (4) - Mapa QTL

- W tabeli znajdują się podstawowe parametry mapy genetycznej.
- Na mapie lokalizowano QTL dla 78 cech związanych z zawartością glukozyolanów.
- Uzyskano 122 QTL dla 59 cech związanych z zawartością glukozyolanów.

Genom A	A01	A02	A03	A04	A05	A06	A07	A08	A09	A10
Liczba markerów	415	864	1083	580	892	548	1006	792	325	498
Długość (cM)	77,8	84,3	134,5	46,9	107,1	111,9	89,4	78,9	140,0	55,4
Razem 7003 markery w genomie A o długości 926,2 cM										
Genom C	C01	C02	C03	C04	C05	C06	C07	C08	C09	
Liczba markerów	2359	510	1025	599	395	672	646	325	375	
Długość (cM)	104,4	96,4	163,0	104,4	143,9	71,4	93,7	93,1	125,5	
Razem 6906 markerów w genomie C o długości 995,8 cM										
<u>Ogółem 13909 markerów</u>										
<u>Długość całej mapy genetycznej: 1922 cM</u>										

Wyniki – 122 QTL (GALI – 4 QTL)



Wyniki – Kolekcja GLS – DNA QC

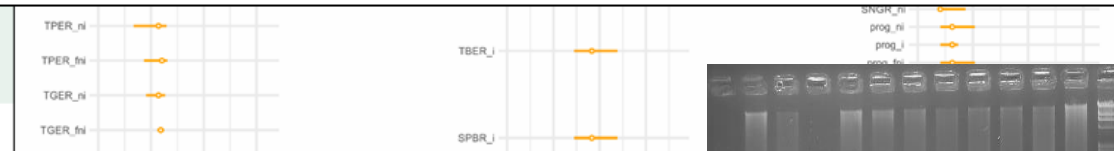
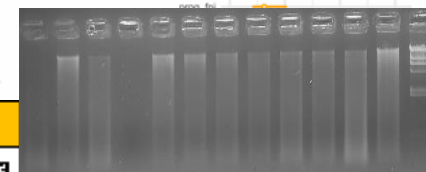


Plate 03	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	DRO0001	DRO0059	DRO0088	control	DRO0123	DRO0147	DRO0171	DRO0192	DRO0212	DRO0223	DRO0253	0120DH1023
B	DRO0007	DRO0060	DRO0089	DRO0103	DRO0129	DRO0152	DRO0172	DRO0199	DRO0213	DRO0224	DRO0298	0120DH1026
C	DRO0008	DRO0063	DRO0091	DRO0105	DRO0134	DRO0154	DRO0174	DRO0202	DRO0214	DRO0227	0120DH0980	0120DH1032
D	DRO0028	DRO0067	DRO0095	DRO0110	DRO0135	DRO0155	DRO0178	DRO0205	DRO0217	DRO0235	0120DH0981	0120DH1033
E	DRO0030	DRO0070	DRO0097	DRO0111	DRO0137	DRO0159	DRO0179	DRO0208	DRO0218	DRO0238	0120DH0982	0120DH1035
F	DRO0037	DRO0071	DRO0098	DRO0117	DRO0138	DRO0166	DRO0182	DRO0209	DRO0219	DRO0245	0120DH0983	0120DH1039
G	DRO0045	DRO0075	DRO0100	DRO0120	DRO0140	DRO0168	DRO0183	DRO0210	DRO0220	DRO0246	0120DH1695	0120DH1040
H	DRO0038	DRO0083	DRO0101	DRO0122	DRO0142	DRO0170	DRO0184	DRO0211	DRO0221	DRO0251	0120DH0985	control



Wykaz publikacji wyników w 2023 r.

Doniesienie konferencyjne

XII Symposium „Genetyka Ilościowa i Hodowla Roślin Uprawnych”, Karpacz 28.02.-03.03.2023;

Wykład plenarny pt. „Nowe formy rzepaku ozimego odporne na kiłę kapusty *Plasmodiophora brassicae*”

Autorzy: Stanisław Spasibionek (prezentujący), Magdalena Walkowiak, Ewa Jajor

Prezentacja wyników badań PBwPR_Zadanie 26, Sprawozdanie 2021 i 2022, Temat badawczy 3, str: 39 – 42 i 32 – 42.

Publikacja

New forms of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) with changed fatty acid composition and resistance to selected pathotypes of *Plasmodiophora brassicae*

Stanisław Spasibionek¹, Katarzyna Mikołajczyk¹, Marcin Matuszczak¹, Joanna Kaczmarek², Małgorzata Jędryczka²

¹Plant Breeding and Acclimatization Institute—National Research Institute, Department of Oilseed Crops, Strzeszyńska 36, 60-479 Poznań

²Institute of Plant Genetics, Polish Academy of Sciences, Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

Journal of Applied Genetics; 140 pkt. MEIN; IF₂₀₂₃ = 2.4