

Zadanie 67

Otrzymanie nowej zmienności genetycznej warzyw kapustowatych przy wykorzystaniu krzyżowań oddalonych w rodzaju *Brassica*

W roku 2015 badania prowadzono w ramach 4 tematów badawczych

Temat badawczy 1.

Otrzymanie roślin mieszańcowych w wyniku krzyżowań międzygatunkowych przy wykorzystaniu technik *in vitro*.

Program badań obejmował krzyżowania międzygatunkowe w obrębie rodzaju *Brassica* (*B. napus*, *B. oleracea* oraz *B. cretica*, *B. taurica* i *Raphanus sativus*). Celem tematu było wytworzenie nowych form hybrydowych pomiędzy uprawnymi gatunkami z rodzaju *Brassica oleracea* a genotypami oddalonymi i dzikimi w wyniku zastosowania technik *in vitro* izolowanych zarodków.

Zgodnie z harmonogramem, badania miały następujący przebieg:

- przygotowanie roślin rodzicielskich pięciu gatunków oddalonych oraz trzech gatunków warzyw kapustowatych w warunkach fitotronowych,
- krzyżowanie międzygatunkowe,
- izolowanie zarodków mieszańcowych,
- klonowanie *in vitro* pokolenia F₁ mieszańców międzygatunkowych.

W ramach zaplanowanych badań w roku 2015 pomiędzy wybranymi genotypami wykonano 25 rodzajów krzyżowań międzygatunkowych (ponad 140 niezależnych zapyleń, w tym 30 udanych), w wyniku których uzyskano 258 zarodków oraz 80 rozklonowanych roślin mieszańców międzygatunkowych.

Temat badawczy 2.

Hodowla hydroponiczna mieszańców, ukorzenie eksplantatów, przygotowanie roślin do zapylenia (wernalizacja).

Celem tematu było przeprowadzenie adaptacji międzygatunkowych mieszańców do warunków uprawy w szklarni, doprowadzenie roślin do fazy rozwojowej umożliwiającej ich jarowizację.

Materiał do badań stanowiły mieszańce międzygatunkowe *B. napus* i *B. taurica* skrzyżowane z wyselekcjonowanymi roślinami dwuletnich form uprawnych *B. oleracea* otrzymane w wyniku wykorzystania techniki izolowanych zarodków. Zgodnie z harmonogramem badania miały następujący przebieg:

- hodowla hydroponiczna mieszańców międzygatunkowych
- adaptacja do warunków uprawy w warunkach szklarniowych
- rozpoczęcie jarowizacji

Przeprowadzona adaptacja 80 międzygatunkowych mieszańców uzyskanych metodą izolowanych zarodków pozwoliła na otrzymanie w pełni wykształconych i rozwiniętych roślin zdolnych do podjęcia jarowizacji. Dla każdego z 21 otrzymanych genotypów uzyskano od dwóch do sześciu sklonowanych roślin, które charakteryzowały się dobrą zdrowotnością, wigorem oraz brakiem anomalii rozwojowych.

Temat badawczy 3.

Wytwarzanie mieszańców alloplazmatycznych warzyw kapustowatych technikami konwencjonalnymi przy wykorzystaniu gatunków dzikich lub oddalonych

Celem tematu była ocena możliwości otrzymania mieszańców międzygatunkowych form dzikich lub oddalonych z rodzajów *B. napus*, *B. rapa*, *B. taurica*, *Eruca* i *Raphanus*. z uprawnymi genotypami form dwuletnich *B. oleracea* i *B. rapa*.

Materiałem do przeprowadzenia badań w roku 2015 było 19 genotypów z rodzajów *B. napus*, *B. rapa*, *B. taurica*, *Eruca*, *Raphanus* oraz *B. oleracea* zgromadzonych i rozmnażanych generatywnie w Pracowni Genetyki i Hodowli Roślin Warzywnych. Wybrana kolekcja była silnie zróżnicowana pod względem pochodzenia, cech anatomiczno-morfologicznych, użytkowych, zdrowotności w warunkach polowych, terminu osiągnięcia dojrzałości zbiorczej oraz wyrównania wewnątrzliniowego.

Zgodnie z harmonogramem, badania miały następujący przebieg:

-przygotowanie roślin rodzicielskich w warunkach fitotronowych,
-krzyżowania międzygatunkowe przy wykorzystaniu zapyleń w pąku i na otwartym kwiecie: *B. rapa* x *B. oleracea*, *B. rapa* x *B. napus*, *B. rapa* x *R. sativus*, *B. oleracea* x *R. sativus*, *B. oleracea* x *E. sativa*, *B. rapa* x *E. sativa*, *B. oleracea* x *B. taurica*

-ocena zdolności do wiązania nasion form mieszańcowych

W trakcie sezonu wegetacyjnego w roku 2015 wykonano ponad 100 krzyżowań międzygatunkowych pomiędzy formami oddalonymi z rodzajów *B. napus*, *B. rapa*, *B. taurica*, *Eruca*, *Raphanus* oraz *B. oleracea* zgromadzonych w Pracowni Genetyki i Hodowli Roślin Warzywnych. Jednocześnie dla wszystkich genotypów przeprowadzono zapylenia wsobne/siostrzane w pąku i na otwartym kwiecie, w celu oceny ich zdolności do wiązania nasion. Wszystkie wykorzystane w badaniach linie posiadały prawidłową budowę morfologiczną kwiatów oraz łuszczyń i wysoką lub średnią zdolność do rozmnażania generatywnego przy zapyleniu wsobnym.

Krzyżowania oddalone przy zastosowaniu technik tradycyjnej hodowli umożliwiły otrzymanie wysokiej wydajności nasion mieszańcowych dla *B. napus* x *B. rapa*, *B. oleracea* x *B. nigra* oraz *B. taurica* oraz pomiędzy gatunkami *B. rapa* var. *pekinensis* i *B. rapa* var. *nipposinica*. Brak nasion dla krzyżowań *B. rapa* x *B. oleracea*, *B. napus* x *B. oleracea*, *B. rapa*, *B. taurica*, *R. sativus* świadczy o występowaniu silnych barier niezgodności krzyżowej pomiędzy tymi gatunkami.

Temat badawczy 4.

Ocena cech użytkowych, morfologicznych i anatomicznych mieszańców alloplazmatycznych oraz ich rozmnożenie generatywne

Celem badań była ocena nowo wytworzonych mieszańców międzygatunkowych pod względem cech anatomicznych, morfologicznych, cytologicznych oraz pod względem zdolności do rozmnażania generatywnego. Przeprowadzona ocena była potrzebna do selekcji genotypów o najwartościowszych cechach użytkowych, które mogą być wykorzystane w dalszych krzyżowaniach wstecznych z formami. Zgodnie z harmonogramem, badania miały następujący przebieg:

-ocena zawartości jądrowego DNA (wielkość genomu) mieszańców *B. rapa* i *B. napus* oraz *B. oleracea* i *B. napus* metodą cytometrii przepływowej (około 40 genotypów)

-ocena mikroskopowa przebiegu procesów zapylenia i zapłodnienia oraz charakterystyka prawidłowości i zaburzeń w zawiązywaniu nasion (około 20 genotypów)

-analiza form mieszańcowych w warunkach szklarniowych w fazie wegetatywnej i generatywnej pod względem cech morfologicznych i użytkowych (około 20 genotypów)

-rozmnożenie generatywne form hybrydowych przez zapylenie wsteczne lub wsobne przy wykorzystaniu technik hodowlanych (około 40 genotypów)

Analiza cytometryczna (FCM) wykazała, że genotypy *Brassica* charakteryzują się silną endoreplikacją. Wielkość genomów wszystkich mieszańców F1 pomiędzy *B. napus* i *B. rapa* reprezentowała wartości pośrednie wielkości genomów rodzicielskich – w zakresie 1,71-1,83 pg. Przeprowadzone obserwacje morfologiczne i mikroskopowe wykazały, że mieszańce CMS *B. napus* x *B. oleracea* były męskosterylne. Przyczyną występowania męskiej sterylności tych roślin była degeneracja tkanki sporogennej we wczesnych stadiach jej rozwoju lub niedorozwój endotecjum niepozwalający na otwieranie się komórek pylników co prowadziło do zamierania ukształtowanych już ziaren pyłku. Zanotowano również duże problemy z kiełkowaniem pyłku *B. oleracea* lub *B. napus* na znamionach słupków gatunków oddalonych. Otrzymana populacja była znacznie zróżnicowana pod względem cech morfologicznych w fazie wegetatywnej i generatywnej a międzygatunkowe mieszańce różniły się pod względem większości cech od linii rodzicielskich. W wyniku prowadzonych zapyleń otrzymano nasiona dla sześciu krzyżowań wypierających, gdzie formą mateczną były międzygatunkowe mieszańce rzepaku i kapusty pekińskiej a formą ojcowską wybrane linie kapusty pekińskiej.

Temat badawczy 5.

Poszukiwanie dzikich genotypów z rodzaju *Brassica* do krzyżowań z uprawnymi formami *B. oleracea*. Ocena polowa wartości użytkowej mieszańców międzygatunkowych *B. napus* x *B. rapa*.

Celem tematu było zgromadzenie kolekcji wartościowych genotypów dzikich oraz oddalonych z rodzaju *Brassica*, przeprowadzenie oceny polowej pod względem ich przydatności do krzyżowań z uprawnymi genotypami roślin kapustowatych oraz ocena cech użytkowych.

Ocenie poddanych zostało 15 genotypów pochodzącej z kolekcji zgromadzonej w Pracowni Genetyki i Hodowli Roślin Warzywnych i rozmnażanej generatywnie, powstałej w wyniku swobodnego lub celowego przepylenia wybranych dzikich i użytkowych form *B. oleracea*, *B. napus* i *B. rapa*.

Zgodnie z harmonogramem, badania miały następujący przebieg:

- zgromadzenie kolekcji genotypów *Brassicaceae* o wartościowych cechach użytkowych, prozdrowotnych lub odporności na czynniki biotyczne i abiotyczne
- przeprowadzenie doświadczenia porównawczego w warunkach polowych z analizą cech morfologicznych i użytkowych
- selekcja i rozmnożenie wegetatywne metodą sadzonek zielnych najwartościowszych obiektów.

Oceniana populacja była silnie zróżnicowana zarówno pod względem cech anatomiczno-morfologicznych, użytkowych, zdrowotności i wyrównania wewnątrzliniowego. W wyniku prowadzonych badań otrzymano bogatą i zróżnicowaną kolekcję genotypów, która może zostać wykorzystana do krzyżowań oddalonych z *B. oleracea*, *B. napus* i *B. rapa*.