

# **Wykorzystanie metod biologii molekularnej w hodowli jakościowej rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.)**

***Iwona Bartkowiak-Broda, Katarzyna Mikołajczyk***  
*Zakład Roślin Oleistych, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin*  
*ul. Strzeszyńska 36, 61-479 Poznań*  
*e-mail: ibart@nico.ihar.poznan.pl*

**Słowa kluczowe:** rzepak ozimy (*Brassica napus* L.), hodowla jakościowa, markery molekularne, transformacja, mapy genetyczne

## **Znaczenie gospodarcze rzepaku na świecie i w Polsce**

---

Rośliny oleiste są drugim po zbożach najważniejszym źródłem energii zawartej w pokarmach spożywanych przez człowieka oraz wykorzystywanych jako pasza dla zwierząt hodowlanych. Są one również cennym źródłem surowca dla wielu produktów przemysłowych. W światowej produkcji nasion roślin oleistych dominuje soja (56%), a następnie rzepak (12%), bawełna (11%) oraz słonecznik (8%). Szczególnie ważną rośliną oleistą strefy klimatu umiarkowanego jest rzepak; odmiany podwójnie ulepszone (pozbawione kwasu erukowego w oleju oraz o obniżonej zawartości glukozyzolanów w śrucie) stanowią obecnie jedno z głównych źródeł olejów roślinnych. Produkcja nasion rzepaku ozimego wykazuje w większości tendencje wzrostu zarówno w Europie, jak i na świecie (tab. 1). Do krajów europejskich wiodących w produkcji rzepaku należą: Francja, Niemcy, Wielka Brytania oraz Polska. W naszym kraju rzepak ozimy zajmuje 97% powierzchni przeznaczanej pod uprawę roślin oleistych.

Nasiona rzepaku zależnie od odmiany zawierają od 43 do 49% oleju oraz ponad 20% białka surowego [9]. Dalszy wzrost wartości nasion rzepaku jako źródła tłuszczów roślinnych oraz białka pastewnego można uzyskać poprzez wzrost zawartości oleju, modyfikacje składu kwasów tłuszczowych w oleju, jak również redukcję związków antyżywniowych występujących w śrucie poekstrakcyjnej, przede wszystkim włókna i glukozyzolanów. Dotąd klasyczne metody hodowli jakościowej umożliwiły uzyskanie odmian rzepaku o zróżnicowanych cechach jakościowych [15].

Tabela 1. Produkcja nasion rzepaku w 1000 ton

Wyszczególnienie	1981/82	1995/96	2000/01
W krajach UE (15) w tym:	2018	8228	9078
Niemcy	363	2864	3585
Dania	266	324	292
Francja	1006	2527	3569
Wielka Brytania + Irlandia	325	1278	1176
Polska	660	1350	1064
W świecie	12386	34744	37608

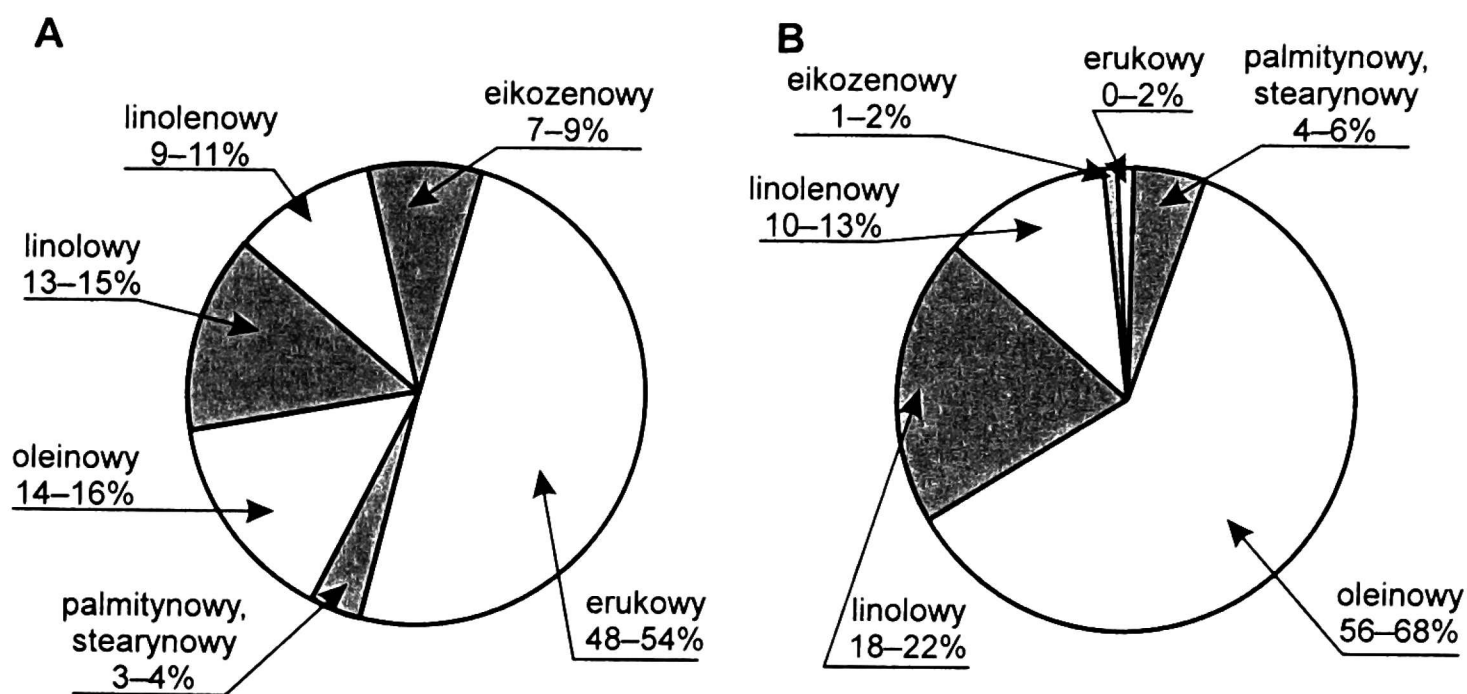
Dalsze modyfikacje wiążące się z wyprowadzeniem materiałów wyjściowych oraz rodów hodowlanych, posiadających nowe, pożądane cechy, wymagają zastosowania metod biologii molekularnej oraz biotechnologii. Główne cele selekcyjne w hodowli rzepaku obejmują: podwyższenie plonu, jakości oleju oraz śruty. Zwiększenie plenności rzepaku możliwe jest dzięki postępowi biologicznemu w selekcji odmian populacyjnych, a ostatnio poprzez hodowlę odmian mieszańcowych. Wykorzystanie genetycznie zakodowanego potencjału plonotwórczego odmian zapewnia między innymi selekcja w kierunku odporności na choroby i szkodniki, wyleganie, odporności łuszczyń na pęknięcie, a także w kierunku mrozoodporności i zimotrwałości.

## Metody modyfikacji cech jakościowych w hodowli rzepaku

### Metody klasyczne

Pierwszych istotnych zmian cech jakościowych rzepaku dokonano wykorzystując klasyczną metodę hodowli rekombinacyjnej, dzięki której uzyskano odmiany rzepaku charakteryzujące się niską zawartością kwasu erukowego oraz glukozynolanów. Krzyżowanie oraz selekcja z wykorzystaniem analiz biochemicznych cech jakościowych umożliwiły uzyskanie genotypów, z których wyprowadzono odmiany podwójnie ulepszone [15].

Poprzez zastosowanie metod mutagenezy chemicznej i fizycznej uzyskano mutanty rzepaku o zmienionej zawartości poszczególnych kwasów tłuszczowych oraz wyprowadzono, na drodze hodowli rekombinacyjnej, odmiany posiadające nowe, zmodyfikowane cechy. Zawartość kwasów tłuszczowych w nasionach odmian tradycyjnych i podwójnie ulepszonych przedstawiono na rysunku 1. Ponad 25 lat temu uzyskano mutant rzepaku o obniżonej zawartości kwasu linolenowego – w wyniku poddania odmiany „Oro” mutagenezie chemicznej [26]. Uzyskany mutant M11 został użyty do krzyżowań z *B. napus*. Olej nowych odmian okazał się bardziej stabilny i trwały [27]. Dlatego prowadzone są prace hodowlane mające na celu wprowadzenie



**Rysunek 1.** Zawartość kwasów tłuszczowych [%] w nasionach rzepaku: A) odmian tradycyjnych; B) odmian podwójnie ulepszonych

tej cechy również do odmian ozimych. W Polsce, w Zakładzie Roślin Oleistych Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Poznaniu, uzyskano niskolinolenowe mutanty rzepaku ozimego, które są wprowadzane do różnych genotypów rzepaku [28]. Jednak proces selekcyjny jest utrudniony, ponieważ zawartość kwasu linolenowego modyfikowana jest w znacznym stopniu przez warunki środowiska. Na drodze mutagenyzy chemicznej oraz hodowli rekombinacyjnej – wyprowadzono również genotypy wysokooleinowe zawierające około 80% kwasu oleinowego.

Innym przykładem wprowadzenia nowej cechy do genotypu rzepaku poprzez krzyżowanie jest cytoplazmatyczna męska sterility (CMS). Cechę tę, występującą oryginalnie u rzodkwi (*Raphanus sativus* L.) i kodowaną przez genom mitochondrialny, scharakteryzował Ogura [22]. Następnie dzięki krzyżowaniu międzygatunkowemu została ona wprowadzona do *Brassica oleracea* i *Brassica napus* [1].

## Metody biotechnologiczne i biologii molekularnej

Kolejne etapy modyfikacji cech jakościowych możliwe były wraz z rozwojem metod biotechnologicznych. Zastosowanie fuzji protoplastów pozwoliło na uzyskanie męskosterylnych cybrydów *B. napus* [23]. Allele restorujące CMS *ogura* wprowadzono z rzodkwi do rzepaku na drodze krzyżowań międzyrodzajowych pomiędzy linią CMS rzepaku a amfidiploidem *Raphanobrassica* (*R. sativus* × *B. napus*). Hodowla rekombinacyjna umożliwiła uzyskanie linii restorerów charakteryzujących się dobrą żeńską płodnością oraz niską zawartością glukozynolanów [8]. Selekcji roślin towarzyszyła analiza aktywności izoenzymu Pgi-2 (fosfoglucoizomeraza). Dalszy rozwój metod badawczych biologii molekularnej – analizy genomów z zastosowaniem markerów DNA [34] – umożliwił opracowanie markerów typu RAPD, sprzężonych z genem restorem [7]. Inny rodzaj markera – DNA-SCAR – został opracowa-

ny dla rejonu genomu mitochondrialnego, sprzężonego z występowaniem cechy cytoplazmatycznej męskiej sterylności typu *ogura* [35].

Techniki transformacji roślin otworzyły nowe możliwości badań mających na celu modyfikowanie cech jakościowych, takich jak: skład i zawartość kwasów tłuszczowych w oleju nasion rzepaku, wprowadzenie cech odporności na patogeny roślinne, herbicydy, zahamowanie ekspresji białek tworzących tapetum w celu uzyskania roślin męskosterylnych, jak również obniżenie poziomu chlorofilu w nasionach rzepaku.

Wartość użytkowa roślin oleistych zarówno dla celów spożywczych, jak i przemysłowych zależy głównie od zawartości kwasów tłuszczowych w oleju uzyskiwanym z nasion. W ciągu ostatnich dziesięciu lat wzrosło zapotrzebowanie na oleje roślinne o zróżnicowanym składzie i zawartości poszczególnych kwasów tłuszczowych w zależności od sposobu wykorzystania oleju [27]. Dla celów spożywczych, z przeznaczeniem na olej sałatkowy, zawartość kwasów tłuszczowych odmian podwójnie ulepszonych rzepaku jest korzystna. Olej z tych odmian nie zawiera szkodliwego kwasu erukowego, natomiast zawiera niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT) – linolowy i linolenowy, w ilościach i proporcjach optymalnych (2 : 1) dla zdrowia człowieka i zwierząt. Jednak, gdy olej poddawany jest obróbce termicznej lub procesom technologicznym, jak utwardzanie czy estryfikacja metylowa dla produkcji biopaliwa, wtedy korzystna jest obniżona zawartość kwasu linolenowego (do około 3%) oraz podwyższona – kwasu oleinowego (powyżej 80%). Dla celów przemysłowych i technologicznych korzystne byłoby posiadanie odmian rzepaku o wysokiej zawartości kwasu erukowego (około 90%), jak również syntetyzujących niewystępujące naturalnie u *B. napus* kwasy tłuszczowe o średniej długości łańcuchów węglowych – laurynowy i mirystynowy.

W celu otrzymania powyższych modyfikacji stosowano metody inżynierii genetycznej. Dla uzyskania podwyższonego poziomu kwasu erukowego w stosunku do odmian tradycyjnych, transformowano rośliny rzepaku genem acetylotransferazy, pochodzącym z drożdży *S. cerevisiae*. Uzyskane rośliny wykazywały podwyższoną zawartość oleju w nasionach oraz wzrost zawartości kwasu erukowego. Podejmowano próby uzyskania trierucyny, niewystępującej w oleju nasion rzepaku, poprzez transformację roślin genem acetylotransferazy kwasu lizofosfatydowego z gatunku *Lymnanthes douglasii*; wykazano obecność trierucyny w transformowanych roślinach, jednak poziom kwasu erukowego nie przewyższał poziomu odmian tradycyjnych [17].

W celu podniesienia zawartości kwasu oleinowego blokowano ekspresję desaturazy tego kwasu poprzez transformację roślin wektorem kosupresyjnym i uzyskano podwyższenie zawartości kwasu oleinowego (powyżej 80%), przy jednoczesnym obniżeniu zawartości kwasu linolowego [29]. W efekcie prac badawczych i hodowlanych z zastosowaniem metod klasycznych oraz inżynierii genetycznej uzyskano szereg odmian hodowlanych rzepaku, charakteryzujących się zróżnicowanym składem



**Tabela 2.** Pochodzenie i charakterystyka genotypów rzepaku o zróżnicowanym składzie i zawartości [%] kwasów tłuszczowych; C<sub>12:0</sub> – kwas laurynowy, C<sub>14:0</sub> – kw. mirystynowy, C<sub>16:0</sub> – kw. palmitynowy, C<sub>18:0</sub> – kw. stearynowy, C<sub>18:1</sub> – kw. oleinowy, C<sub>18:2</sub> – kw. linolowy, C<sub>18:3</sub> – kw. linolenowy [10]

Typ	Pochodzenie	C <sub>12:0</sub>	C <sub>14:0</sub>	C <sub>16:0</sub>	C <sub>18:0</sub>	C <sub>18:1</sub>	C <sub>18:2</sub>	C <sub>18:3</sub>	C <sub>22:1</sub>
Wysokoerukowy	tradycyjny transgeneza			3	1	11	12	9	52
Podwójnie ulepszony (Canola)	spontaniczny mutant, rekombinant			4	2	62	18	12	0
Wysokooleinowy	mutageneza transgeneza			4	1	84	5	3	—
Niskolinolenowy	mutageneza			4	2	61	28	3	—
Laurynowy	transgeneza	37	4	3	1	33	12	7	—
Mirystyno- wo-palmitynowy	transgeneza	18	23	2	34	15	4	—	—

i zawartością kwasów tłuszczowych [10]. Zestawienie odmian o różnych typach olejów oraz metod ich uzyskania przedstawia tabela 2.

Ważną cechą hodowlaną związaną z jakością plonu jest odporność roślin na szkodniki i choroby. Na drodze krzyżowania międzygatunkowego, przy wykorzystaniu kultur zarodkowych, wprowadzano do *B. napus* cechę odporności na pasożyta *Heterodera schachtii* [33]. W celu otrzymania roślin rzepaku odpornych na owady *Plutella xylostella* L. transformowano rośliny genem pochodzącym z bakterii *Bacillus thuringensis* BERLINER (Bt.) i kodującym sekwencje białek toksycznych dla tych owadów. Uzyskanie transgeniczných roślin rzepaku, odpornych na patogena grzybowego *Leptosphaeria maculans*, możliwe było wskutek transformacji roślin wektorem zawierającym sekwencję kodującą białko MiAMP1 (ang. antimicrobial peptide MiaMP1), występujące w nasionach *Macadamia integriflora*, pod kontrolą promotora 35S CaMV [13].

Jedną z metod podnoszenia plonu jest hodowla odmian mieszańcowych, dla otrzymywania których wykorzystuje się linie męskosterylne (CMS). W celu uzyskania męskiej niepłodności roślin prowadzono tkankowo-specyficzną ekspresję genu *E. coli* w tapetum transgeniczných roślin rzepaku. Wprowadzony gen kodował białko powodujące zanik komórek tapetum w transformowanych roślinach, co uniemożliwiało rozwój mikrospor [21].

Na jakość nasion, a w związku z tym na jakość uzyskiwanego oleju, ma niekorzystny wpływ obecność chlorofilu. Z wykorzystaniem metod inżynierii genetycznej opracowano systemy otrzymywania roślin transgeniczných rzepaku o zredukowanej zawartości chlorofilu w nasionach [31].

## Analiza cech jakościowych

---

Niezależnie od sposobu modyfikacji cech w hodowli jakościowej rzepaku konieczna jest ich analiza. Powszechnie stosowane są metody identyfikacji cech fenotypowych: biochemiczna analiza składu i zawartości kwasów tłuszczowych, glukozy-nolanów, włókna, jak również kompleksowe testy fitopatologiczne, polegające na ocenie rodzaju i stopnia porażenia określonym patogenem, oraz analiza morfologii kwiatu – w wypadku selekcji roślin posiadających cechę męskiej sterylności lub gen restorer.

Przy badaniu cech fenotypowych nie jest możliwe odróżnienie homozygoty od heterozygoty, a ponadto obiektywna ocena jest utrudniona, ponieważ ekspresja szeregu cech zmienia się zależnie od warunków środowiska. Stąd, proces hodowlany jest wydłużony, bardziej pracochłonny i mniej efektywny. Wraz z rozwojem nauk i metod biologii molekularnej, cytogenetyki oraz biotechnologii – opracowano metody analizy genotypów. Dzięki temu możliwa jest obiektywna ocena danej cechy niezależnie od zmienności niedziedzicznej, odróżnianie homozygoty od heterozygoty, jak również badanie roślin we wczesnych stadiach rozwoju, zanim ujawnią się cechy fenotypowe. Powoduje to znaczne przyspieszenie i uproszczenie procesu selekcji, a w związku z tym – oszczędność czasu i kosztów.

## Markery molekularne w hodowli jakościowej rzepaku

---

Analiza genotypu możliwa jest dzięki zastosowaniu markerów molekularnych. Selekcja przy użyciu markerów (ang. MAS – marker assisted selection) znajduje coraz szersze zastosowanie w programach hodowlanych [30]; są one stosowane również w hodowli rzepaku. W wielu ośrodkach na świecie prowadzone są prace mające na celu znalezienie istotnych dla selekcji markerów cech użytkowych, jak również skonstruowanie map genetycznych z wykorzystaniem różnego typu markerów [5]. Wykryto markery karłowatości rzepaku [3], cytoplazmatycznej męskiej sterylności (CMS) typu *ogura* [14], genu restorera dla CMS *ogura* [7], genu restorera dla CMS *polima* [11], markery sprzężone z odpornością na patogena grzybowego *L. maculans* [6] oraz na *P. lingam* [25], z genami kontrolującymi zawartość kwasu erukowego [12] i glukozy-nolanów [32], a także z niską zawartością kwasu linolenowego [2].

W Polsce jedynym ośrodkiem zajmującym się badaniami nad rzepakiem ozimym jest Zakład Roślin Oleistych Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Poznaniu. W Zakładzie tym również prowadzone są prace nad markerami molekularnymi. Do prac selekcyjnych, mających na celu identyfikację roślin posiadających gen restorer, wdrożono marker izoenzymatyczny PGI-2 [4], jak również markery DNA typu SCAR oraz typu RAPD – specyficzne dla roślin posiadających cechę cytoplazma-

tycznej męskiej sterylności typu *ogura* oraz gen restorer [19]. Rozpoczęto również badania mające na celu opracowanie markerów DNA dla odmian rzepaku o zróżnicowanej zawartości kwasów tłuszczowych [20].

Markery molekularne wykorzystuje się również do identyfikacji odmian hodowlanych oraz określania dystansu genetycznego. Jest to szczególnie istotne przy dobieganiu do krzyżowań komponentów odmian mieszańcowych. Coraz szersze zastosowanie do analizy genomów roślin należących do rodzaju *Brassica* znajdują markery mikrosatelitarne (ang. SSR – simple sequence repeats). Scharakteryzowano mikrosatelity dla *B. napus* (genom AC) oraz zidentyfikowano markery specyficzne dla każdego z genomów. Znaleziono 16 markerów mikrosatelitarnych specyficznych dla genomu A oraz 13 – dla genomu C [24]. Analizy tego typu znajdują szczególne zastosowanie w badaniach genetycznych – do detekcji mieszańców somatycznych, syntetycznych, aneuploidów oraz linii substytucyjnych w genomach A i C. Dodatkową cechą wyróżniającą markery SSR jest to, że mogą być przyłączone do znaczników fluorescencyjnych, co umożliwia ich bezpośrednią lokalizację w genomie (metody FISH oraz GISH).

## Konstruowanie map genetycznych

Dla większości odmian hodowlanych konstruuje się mapy genetyczne, dzięki którym możliwe jest poznanie organizacji i ewolucji genomów, a także prowadzone są badania genetyczne dotyczące różnych cech jakościowych odmian hodowlanych. Lokalizacja markerów molekularnych na mapach genetycznych, określających stopień sprzężenia pomiędzy danym locus a markerem, umożliwia precyzyjne określenie genotypów. Dlatego celowe jest opracowywanie map genetycznych o wysokim stopniu nasycenia, które miałyby uniwersalne zastosowanie.

Dla odmian jarych i ozimych rzepaku, różniących się cechami jakościowymi, skonstruowano kilka map genetycznych wykorzystując różnego rodzaju markery molekularne (izoenzymy, RAPD, RFLP, AFLP, SSR) oraz morfologiczne. Markery te, pokrywające ponad 60% genomu rzepaku, tworzą 19 grup sprzężeń. Aby skorelować wcześniejsze badania, jak również uzyskać wysoki stopień nasycenia oraz wypełnić luki pomiędzy poszczególnymi markerami, opracowano mapę zbiorczą, integrującą dane z trzech odrębnych map [16]. Określono dzięki temu ogólny układ i odległości dla większości poszczególnych markerów oraz uzyskano w znacznym stopniu pokrycie genomu rzepaku. Mapa zbiorcza obejmuje 540 markerów zlokalizowanych w 19 grupach sprzężeń i pokrywa 2429 cM; może być ona stosowana jako mapa referencyjna w badaniach różnych źródeł genetycznych. W ZRO IHAR w Poznaniu również jest opracowywana mapa genetyczna z zastosowaniem markerów DNA typu RAPD i AFLP, oparta na analizie populacji linii podwojonych haploidów uzyskanych z mieszańca F1, otrzymanego w wyniku skrzyżowania linii DH wysokoglukozynolanowej i niskoerukowej oraz linii DH niskoglukozynolanowej i wysokoerukowej [18].



## Podsumowanie

- Rzepak ozimy jest ważną rośliną uprawną strefy klimatu umiarkowanego.
- Olej uzyskiwany z nasion rzepaku znajduje coraz szersze zastosowanie nie tylko dla celów spożywczych, ale również w przemyśle chemicznym oraz do produkcji biopaliwa, a śruta poekstrakcyjna jest ważnym źródłem białka pastewnego.
- Ze względu na przerób rzepaku na różne cele i wzrost jego znaczenia gospodarczego wymagane są odmiany o zróżnicowanych cechach jakościowych.
- Metody biologii molekularnej, biotechnologii oraz cytogenetyki umożliwiają modyfikowanie cech jakościowych oraz efektywną analizę genotypów.

## Literatura

- [1] Bannerot H., Bouldard I., Cauderon Y., Tempé J. 1974. Cytoplasmic male sterility transfer from *Raphanus* to *Brassica*. Proc. EUCARPIA Meet Crop Sect Cruciferae. 25: 52–54.
- [2] Barret P., Delourme R., Brunel D., Jourden C., Horvais R., Renard M. 1999. Low linolenic acid level in rapeseed can be easily assessed through the detection of two single base substitution in *FAD3* genes. Proc 10 th Int Rapeseed Congress, Canberra, Australia, 26–29.09.1999, CD ROM.
- [3] Barret P., Delourme R., Foisset N., Renard M. 1998. Development of a SCAR (sequence characterised amplified region) marker for molecular tagging of the dwarf BREIZH (Bzh) gene in *Brassica napus* L. *Theor. Appl. Genet.* 97: 828–833.
- [4] Bartkowiak-Broda I., Popławska W. 1999. Characteristics of double low winter rapeseed lines with introduced restorer gene for CMS *ogura*. Proc 10 th Int Rapeseed Congress, Canberra, Australia, 26–29.09.1999, CD ROM.
- [5] Bartkowiak-Broda I. 1997. Markery molekularne w hodowli rzepaku. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops XVIII*(2): 581–585.
- [6] Chevre A.M., Barret P., Eber F., Dupuy P., Brun H., Tanguy X., Renard M. 1997. Selection of stable *Brassica napus* – *B. juncea* recombinant lines resistant to blackleg (*Leptosphaeria maculans*). 1. Identification of molecular markers, chromosomal and genomic origin of introgression. *Theor. Appl. Genet.* 95: 1104–1111.
- [7] Delourme R., Bouchereau A., Hubert N., Renard M., Landry B.S. 1994. Identification of RAPD markers linked to a fertility restorer gene for the *Ogura* radish cytoplasmic male sterility of rapeseed (*Brassica napus* L.). *Theor. Appl. Genet.* 88: 741–748.
- [8] Delourme R., Eber F., Renard M. 1991. Radish cytoplasmic male sterility in rapeseed: breeding restorer lines with a good female fertility. Proc 8th Int Rapeseed Conf. 5: 1056.
- [9] Downey R.K., Rakow G.F.W. 1987. Rapeseed and mustard. W: Fehr WR (red.) Principles of cultivar development, vol. 2. Macmillan, New York: 437–486.
- [10] Friedt W., Lühs W.W. 1999. Breeding of rapeseed (*Brassica napus*) for modified seed quality – synergy of conventional and modern approaches. Proc 10 th Int Rapeseed Congress, Canberra, Australia, 26–29.09.1999, CD ROM.



- [11] Jean M., Brown G.G., Landry B.S. 1997. Genetic mapping of nuclear fertility restorer genes for the „Polima” cytoplasmic male sterility in canola (*Brassica napus* L.) using DNA markers. *Theor. Appl. Genet.* 95: 321–328.
- [12] Jourden C., Barret P., Horvais R., Foisset N., Delourme R., Renard M. 1996. Identification of RAPD markers linked to the loci controlling erucic acid level in rapeseed. *Molecular Breeding* 2: 61–71.
- [13] Kazan K., Rusu A., Marcus J.P., Goulter K.C., Manners J.M. 2002. Enhanced quantitative resistance to *Leptosphaeria maculans* conferred by expression of a novel antimicrobial peptide in canola (*Brassica napus* L.). *Molecular Breeding* 10: 63–70.
- [14] Krishnasamy S., Makaroff C. 1993. Characterisation of the radish mitochondrial orf B locus: possible relationship with male sterility in *ogura* radish. *Curr Genet.* 24: 156–163.
- [15] Krzymański J. 1970. Genetyczne możliwości ulepszenia składu chemicznego nasion rzepaku ozimego. *Hodowla Roślin, Aklimatyzacja i Nasiennictwo* 14(2): 95–133.
- [16] Lombard V., Delourme R. 2001. A consensus linkage map for rapeseed (*Brassica napus* L.): construction and integration of three individual maps from DH populations. *Theor. Appl. Genet.* 103: 491–507.
- [17] Lühs W.W., Voss A., Sevis F., Friedt W. 1999. Molecular genetics of erucic acid content in the genus *Brassica*. Proc 10 th Int Rapeseed Congress, Canberra, Australia, 26–29.09.1999, CD ROM.
- [18] Matuszczak M. 2002. Zastosowanie metody AFLP do analizy DNA rzepaku ozimego. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops XXIII(2)*: 255–267.
- [19] Mikołajczyk K., Matuszczak M., Piętka T., Bartkowiak-Broda I., Krzymański J. 1998. Zastosowanie markerów DNA do badań odmian składników mieszańcowych rzepaku. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops. XIX(2)*: 463–471.
- [20] Mikołajczyk K., Spasibionek S., Krzymański J. 1999. Poszukiwanie markerów DNA sprzężonych z cechą obniżonej zawartości kwasu linolenowego w materiałach hodowlanych rzepaku ozimego. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops XX(2)*: 414–421.
- [21] Neumann K., Köhne S., Sonntag K., Broer I. 1999. Induced male sterility in transgenic rapeseed. Proc 10th Int. Rapeseed Congress, Canberra, Australia, 26–29.09.1999, CD ROM.
- [22] Ogura H. 1968. Studies on the new male sterility in Japanese radish, with special references to the utilization of this sterility towards the practical raising of hybrid seeds. *Mem. Fac. Agr. Kogoshima Univ.* 6: 39–78.
- [23] Pelletier G., Primard C., Vedel F., Chetrit P., Remy R., Rousselle P., Renard M. 1983. Intergeneric cytoplasmic hybridization in *Cruciferae* by protoplast fusion. *Mol. Gen. Genet.* 191: 244–250.
- [24] Plieske J., Struss D. 2001. Microsatellite markers for genome analysis in *Brassica*. I Development and abundance in *Brassica* species. *Theor. Appl. Genet.* 102: 689–694.
- [25] Plieske J., Struss D., Röbbelen G. 1998. Inheritance of resistance derived from the B-genome of *Brassica* against *Phoma lingam* in rapeseed and the development of molecular markers. *Theor. Appl. Genet.* 97: 929–936.
- [26] Rakow G. 1973. Selektion auf Linol- und Linolensäuregehalt in Rapsamen nach mutagener Behandlung. *Z. Pflanzenzüchtung* 69: 62–82.
- [27] Scarth R., McVetty P.B.E. 1999. Designer oil Canola – a review of a new food-grade *Brassica* oils with focus on high oleic, low linolenic types. Proc. 10th Int. Rapeseed Congress, Canberra, Australia, 26–29.09.1999, CD ROM.

- [28] Spasibionek S., Byczyńska B., Krzymański J. 2000. Mutanty rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego o zmienionym składzie kwasów tłuszczowych. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops* XXI(3): 715–724.
- [29] Stoutjesdijk P.A., Hurlstone C., Singh S.P., Green A.G. 1999. Genetic manipulation for altered oil quality in brassicas. Proc 10th Int. Rapeseed Congress, Canberra, Australia, 26–29.09.1999, CD ROM.
- [30] Tanksley S.D., Young N.D., Paterson A.H., Bonierbale M.W. 1989. RFLP mapping in plant breeding: new tools for an old science. *Bio/Technology* 7: 257–264.
- [31] Tsang E.W.T., Yang J., Chang Q., Nowak G., Kolenovsky A., McGregor D.J., Keller W.A. 2003. Chlorophyll reduction in the seed of *Brassica napus* with glutamate-semialdehyde aminotransferase antisense gene. *Plant Mol. Biol.* 51: 191–201.
- [32] Uzunova M., Ecke W., Weissleder K., Röbbelen G. 1995. Mapping the genome of rapeseed (*Brassica napus* L.). I. Construction of an RFLP linkage map and localization of QTLs for seed glucosinolate content. *Theor. Appl. Genet.* 90: 194–204.
- [33] Voss A., Lühs W., Snowdorn R.J., Friedt W. 1999. Development and molecular characterization of rapeseed (*Brassica napus* L.) resistant against beet cyst nematodes. Proc. 10th Int. Rapeseed Congress, Canberra, Australia, 26–29.09.1999, CD ROM.
- [34] Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., Tingey S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18: 6531–6535.
- [35] Yamagishi H., Terachi T. 1994. Molecular and biological studies on male-sterile cytoplasm in the *Cruciferae*. I. The origin and distribution of Ogura male-sterile cytoplasm in Japanese wild radishes (*Raphanus sativus* L.) revealed by PCR-aided assay of their mitochondrial DNAs. *Theor. Appl. Genet.* 87: 996–1000.

## The use of molecular biology methods in winter rapeseed (*Brassica napus* L.) quality breeding

---

**Key words:** winter rapeseed (*Brassica napus* L.), quality breeding, molecular markers, transformation, genetic maps

### Summary

Winter rapeseed (*Brassica napus* L.) belongs to the most important oilseed crops cultivated in moderate climate regions of the world. Both – rapeseed oil and seed proteins are of great value in the meaning of food industry, technology and livestock feeding. Breeding programmes are concentrated mainly on obtaining the rapeseed varieties of different quality and content of fatty acids, reduced amount of anti-nutrition compounds as well as on obtaining the high yielding cultivars and resistant to pathogens. The results of breeding and selection are mainly due to the genetic diversity and also to analytic methods of the quality traits. Methods of molecular biology, genetic engineering and biotechnology make an efficient tool for analysis of quality traits and also for obtaining a new diversity among rapeseed cultivars.