

JOANNA DOWNAR-ZAPOLSKA, LIDIA ŁYCZKO, MICHAŁ STARZYCKI

Katedra Biochemii i Biotechnologii
Politechnika Koszalińska

SKŁAD KWAŚÓW TŁUSZCZOWYCH ORAZ PODOBIENSTWO GENETYCZNE WYBRANYCH FORM Z RODZINY BRASSICACEAE ZE SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM GORCZYC STOSOWANYCH W PRODUKCJI MUSZTARDY

CONTENT OF FATTY ACIDS AND GENETIC SIMILARITY
OF SELECTED FORMS OF FAMILY BRASSICACEAE
WITH PARTICULAR EMPHASIS ON MUSTARD PLANTS
USED IN MUSTARD PRODUCTION

Streszczenie. Celem badań było porównanie zawartości kwasów tłuszczowych i pokrewieństwa genetycznego wybranych gatunków roślin z rodziny Brassicaceae, w większości gorcyc używanych w produkcji musztardy. Na podstawie analizy jakościowej kwasów tłuszczowych dokonanej metodą sililową stwierdzono, że najkorzystniejszy skład kwasów tłuszczowych miał mieszaniec złożony – rzepak żółtonasienny (*Brassica napus*) z gorczycą sarepską (*B. juncea*), a także gorczyca biała (*Sinapis alba*) odmiany ‘Bamberka’. Po opracowaniu statystycznym wyników analizy DNA metodą PCR-RAPD wywnioskowano, że gatunki: gorczyca czarna (*B. nigra*) rodów K1 oraz 2028, a także gorczyca sarepska są blisko spokrewnione genetycznie ze sobą, podobnie jak mieszańce złożone – jarmuż (*B. oleracea* var. *acephala*) z rzepakiem ozimym skrzyżowanym ponownie z rzepakiem ozimym odmiany ‘Californium’ oraz ozimy rzepak żółtonasienny z gorczycą sarepską. Podobną zależność wykazano za pomocą analizy skupień szlaków metabolicznych glukozyzolanów. Najtrudniejszymi komponentami do krzyżowań międzygatunkowych były wszystkie kombinacje, w których jednym z komponentów była gorczyca biała.

Słowa kluczowe: gorczyca, podobieństwo genetyczne, musztarda, kwasy tłuszczowe, glukozyzolan, analiza skupień

Wstęp

Gorczyce to rośliny zielne z rodziny Brassicaceae – kapustowatych, podrodziny Brassicoideae z rodzajów: *Sinapis*, *Brassica* i *Eruca* (MUŚNICKI i IN. 1997, KOTWIUK i SAWICKA 2007). Są one źródłem tłuszczu, białka o korzystnym składzie aminokwasowym, a także nienasyconych kwasów tłuszczowych. Większość gorczyc zawiera kwas erukowy, niekorzystnie wpływający na zdrowie, oraz glukozynolany, które mogą być hydrolizowane do związków działających dwojako: toksycznie i prozdrowotnie. Z jednej strony są przyczyną m.in. podrażnienia skóry i nabłonka jelita czy zapalenia oskrzeli, z drugiej zaś zmniejszają ryzyko zachorowania na nowotwór płuc i żołądka (TROSZYŃSKA i IN. 2000, KOTWIUK i SAWICKA 2007). Głównymi odmianami gorczyc, z których produkuje się musztardę, są: gorczyca biała (*Sinapis alba*), gorczyca czarna (*Brassica nigra*) i gorczyca sarepska (*B. juncea*).

Celem badań było porównanie zawartości kwasów tłuszczowych i pokrewieństwa genetycznego wybranych gatunków roślin z rodziny Brassicaceae, w szczególności gorczyc używanych do produkcji musztardy. Badania przeprowadzono za pomocą chromatografu gazowego i analiz DNA metodą PCR-RAPD.

Materiały i metody

Materiały

Materiał badawczy stanowiły nasiona pochodzące z hodowli w Małyszynie, należącej do Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – PIB. Do badań wykorzystano po 2 g nasion z następujących roślin: rzepak ozimy (*B. napus*) odmiany ‘Diamond’ [RZCZD]*, gorczyca biała (*S. alba*) odmian ‘Nakielska’ [GBN]* i ‘Bamberka’ [GBB]*, gorczyca czarna (*B. nigra*) – rody 2028 [GCZ2028]* i K1 [GCZK1]*, gorczyca sarepska (*B. juncea*) [GS]*, rzepik (*B. campestris*) zbiór 2000 [RZ2000]* i dwa mieszańce międzygatunkowe złożone: jarmuż (*B. oleracea*) z rzepakiem ozimym skrzyżowany powtórnie z rzepakiem ozimym odmiany ‘Californium’ [JRZRZ]* oraz rzepak żółtonasienny z gorczycą sarepską [RZZGS]*.

Metody

W celu sprawdzenia zawartości kwasów tłuszczowych w wymienionych gatunkach z rodziny Brassicaceae najpierw przeprowadzono oznaczenie ilościowe i jakościowe kwasów: palmitynowego, stearynowego, oleinowego, linolowego, linolenowego, eikozenowego i erukowego w chromatografii gazowej firmy Hewlett Packard typu 5890 Series II (KUBACKI i IN. 1973, STARZYCKI i IN. 1999). Następnie oznaczano glukozynolany metodą sililową za pomocą tego samego chromatografu gazowego. Aby oznaczyć glukozynolany w nasionach roślin pochodzących z rodziny Brassicaceae, przeprowadzono wstępnie ekstrakcję nasion z użyciem 70-procentowego metanolu, pamiętając

*W nawiasach kwadratowych podano oznaczenia obiektów używane w dalszej części artykułu w tabelach i rysunkach.

Downar-Zapolska J., Łyczko L., Starzycki M., 2012. Skład kwasów tłuszczowych oraz podobieństwo genetyczne wybranych form z rodziny Brassicaceae ze szczególnym uwzględnieniem gorczyc stosowanych w produkcji musztardy. *Nauka Przyr. Technol.* 6, 2, #17.

o uprzednim wytrąceniu białka solami metali ciężkich. Rozdział glukozyolanów przeprowadzono na kolumnach jonowymiennych wypełnionych dwuetyloaminoetylocelulozą. Powierzchnie pików porównano z powierzchnią wzorca wewnętrznego, którym jest glukotropeolina (STARZYCKI i IN. 1999).

Kolejnym etapem badań była izolacja DNA z materiału badawczego za pomocą CTAB – bromku cetylotrimetyloaminowego. CTAB jest detergentem, który degraduje białka i błony komórkowe, a ponadto umożliwia oddzielenie DNA od polisacharydów (DOYLE i DOYLE 1990, STARZYCKI i IN. 1999).

Ostatnią czynnością umożliwiającą identyfikację DNA była analiza PCR-RAPD (ang. *Polymerase Chain Reaction – Random Amplified Polymorphic DNA*), polegająca na zastosowaniu pięciu starterów o długości około 10 pz: OPW-05, OPY-10, OPG-11, OPD-08, OPN-02 do amplifikacji sekwencji genowej badanego materiału. Efekt działania wymienionych starterów odczytano na podstawie amplikonów widocznych w świetle UV na 1,8-procentowym żelu agarozowym po przeprowadzeniu elektroforezy (STARZYCKI i IN. 1999).

Wyniki opracowano statystycznie z użyciem programu STATISTICA9 na podstawie analizy skupień – metodą aglomeracji z wykorzystaniem miary odległości euklidesowej.

Wyniki i dyskusja

Kwasy tłuszczowe nienasycone (oprócz kwasu erukowego) są bardzo ważnym elementem diety i należy pamiętać, że ich niedobór może prowadzić do upośledzenia bilansu wodnego skóry, zaburzeń płodności, zaburzeń immunologicznych, sercowo-naczyniowych, dysfunkcji nerwowych i chorób nowotworowych (GRYS 1999), stąd badania nad możliwością wytworzenia nowego komponentu musztard – mieszańca międzygatunkowego o najkorzystniejszym składzie kwasów tłuszczowych – jest bardzo ważna. W tabeli 1 przedstawiono zawartości kwasów tłuszczowych w badanych obiektach.

Jak widać, największa zawartość kwasu linolenowego z jednoczesnym brakiem obecności kwasu erukowego występuje w gorczycy białej odmiany ‘Bamberka’, natomiast najwyższym poziomem kwasu oleinowego charakteryzuje się bezerukowy mieszaniec międzygatunkowy rzepaku żółtonasiennego z gorczycą sarepską. Dodatkowo należy zwrócić uwagę, że największą zawartość kwasu linolenowego zauważono w gorczycy czarnej rodu 2028, która zawiera najmniejszą ilość kwasu erukowego, nie licząc odmian bezerukowych.

Na podstawie powyższych wyników stwierdzono, iż najlepszymi komponentami rodzicielskimi do wytworzenia mieszańców międzygatunkowych o najkorzystniejszym składzie kwasów tłuszczowych są: rzepak żółtonasienny skrzyżowany z gorczycą sarepską oraz gorczyca czarna rodu 2028, natomiast najgorszym materiałem przeznaczonym do krzyżowań jest rzepak ozimy odmiany ‘Diamond’, gdyż zawiera największą ilość kwasu erukowego oraz charakteryzuje się najmniejszą zawartością kwasu linolenowego.

Aby oszacować efektywność i łatwość krzyżowań genetycznych badanych nasion, określono ich pokrewieństwo na podstawie zawartości w badanym materiale glukozyolanów (co z kolei określono techniką chromatografii gazowej, GC). Rezultaty prze-

Tabela 1. Zawartość kwasów tłuszczowych w komponentach rodzicielskich przeznaczonych do krzyżowań międzygatunkowych (%*)

Table 1. Content of fatty acids in components of the parents to interspecific crosses (%*)

Kwas tłuszczowy Fatty acid	Badane obiekty – Investigated objects								
	RZCZD	RZŻGS	RZ2000	GBN	GBB	GCZ2028	GCZK1	GS	JRZRZ
Palmitynowy Palmitic	2,8	4,3	2,5	2,7	3,8	4,5	3,4	4,7	3,6
Stearynowy Stearic	0,9	1,5	0,8	0,9	2,4	1,7	1,4	0,9	1,4
Oleinowy Oleanoic	14,8	61,2	18,5	23,6	6,7	19,2	15,6	8,0	36,6
Linolowy Linoleic	10,8	22,1	15,4	10	10,9	26,6	20,4	20,1	11,1
Linolenowy Linolenic	4,8	9,7	9,7	10	14,4	12,6	12,4	12,0	7,8
Eikozenowy Eicosenoic	11,4	1,2	9,7	9,9	1,5	11,1	12,3	5,0	12,2
Erukowy Erucic	54,4	0	43,3	42,9	0	24,3	34,4	49,3	27,3

*W odniesieniu do ogólnej zawartości kwasów tłuszczowych w nasionach.

RZCZD – rzepak ozimy (*B. napus*) odm. ‘Diamond’, RZŻGS – rzepak żółtonasienny (*B. napus*) z gorczycą sarepską (*B. juncea*), RZ2000 – rzepik (*B. campestris*) zbiór 2000, GBN – gorczyca biała (*S. alba*) odm. ‘Nakielska’, GBB – gorczyca biała (*S. alba*) odm. ‘Bamberka’, GCZ2028 – gorczyca czarna (*B. nigra*) ród 2028, GCZK1 – gorczyca czarna (*B. nigra*) ród K1, GS – gorczyca sarepska (*B. juncea*), JRZRZ – {jarmuż (*B. oleracea*) × rzepak ozimy (*B. napus*)} × rzepak ozimy (*B. napus*) odm. ‘Californium’.

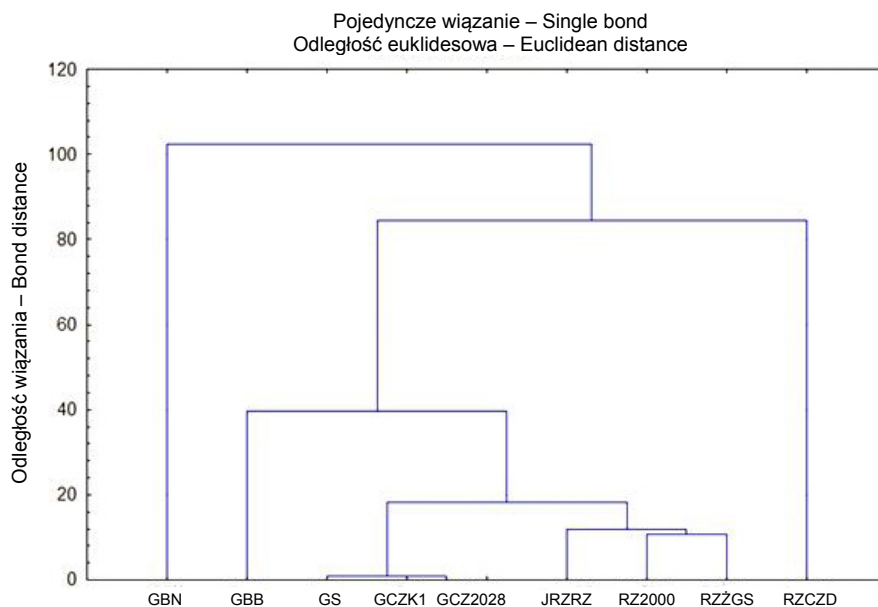
*In reference to the total content of fatty acids in seeds.

RZCZD – winter rape (*B. napus*) var. ‘Diamond’, RZŻGS – yellowseed rape (*B. napus*) with Indian mustard (*B. juncea*), RZ2000 – turnip (*B. campestris*) collection 2000, GBN – white mustard (*S. alba*) var. ‘Nakielska’, GBB – white mustard (*S. alba*) var. ‘Bamberka’, GCZ2028 – black mustard (*B. nigra*) race 2028, GCZK1 – black mustard (*B. nigra*) race K1, GS – Indian mustard (*B. juncea*), JRZRZ – {kale (*B. oleracea*) × winter rape (*B. napus*)} × winter rape (*B. napus*) var. ‘Californium’.

prowadzonej analizy skupień przedstawiono na rysunku 1. Na podstawie wykresu stwierdzono, że gatunki: gorczyca czarna rodów K1 oraz 2028, a także gorczyca sarepska wykazały małe zróżnicowanie pod względem zawartości glikozynolanów, podobnie jak mieszańce międzygatunkowe: jarmuż skrzyżowany najpierw z rzepakiem ozimym, a później z rzepakiem ozimym odmiany ‘Californium’ oraz rzepak żółtonasienny z gorczycą sarepską. Informacja ta jest wskazówką co do zbliżonych szlaków metabolicznych tych związków, a także co do możliwości efektywnego krzyżowania w obrębie podanych gatunków. Największe różnice występują pomiędzy rzepakiem ozimym odmiany ‘Diamond’ i gorczycą białą odmian ‘Nakielska’ i ‘Bamberka’.

Dodatkowe informacje o podobieństwie genetycznym wybranych gatunków roślin z rodziny kapustowatych uzyskano na podstawie wyników analizy PCR-RAPD, przedstawionej na rysunku 2 za pomocą statystycznie opracowanego dendrogramu.

Downar-Zapolska J., Łyczko L., Starzycki M., 2012. Skład kwasów tłuszczowych oraz podobieństwo genetyczne wybranych form z rodziny Brassicaceae ze szczególnym uwzględnieniem gorczycy stosowanych w produkcji musztardy. *Nauka Przyr. Technol.* 6, 2, #17.



Rys. 1. Analiza skupień szlaków metabolicznych glukozynolanów poszczególnych komponentów przeznaczonych do krzyżowań międzygatunkowych

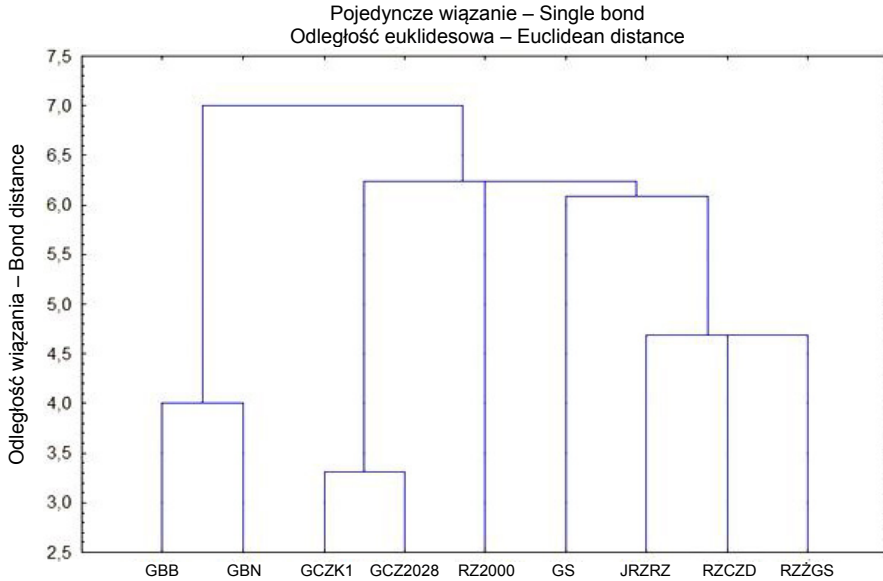
GBN – gorczyca biała (*S. alba*) odm. ‘Nakielska’, GBB – gorczyca biała (*S. alba*) odm. ‘Bamberka’, GS – gorczyca sarepska (*B. juncea*), GCZK1 – gorczyca czarna (*B. nigra*) ród K1, GCZ2028 – gorczyca czarna (*B. nigra*) ród 2028, JRZRZ – {jarmuż (*B. oleracea*) × rzepak ozimy (*B. napus*)} × rzepak ozimy (*B. napus*) odm. ‘Californium’, RZ2000 – rzepik (*B. campestris*) zbiór 2000, RZŻGS – rzepak żółtonasienny (*B. napus*) z gorczycą sarepską (*B. juncea*), RZCZD – rzepak ozimy (*B. napus*) odm. ‘Diamond’

Fig. 1. Cluster analysis of the glucosinolate pathways of the individual components to interspecific crosses

GBN – white mustard (*S. alba*) var. ‘Nakielska’, GBB – white mustard (*S. alba*) var. ‘Bamberka’, GS – Indian mustard (*B. juncea*), GCZK1 – black mustard (*B. nigra*) race K1, GCZ2028 – black mustard (*B. nigra*) race 2028, JRZRZ – {kale (*B. oleracea*) × winter rape (*B. napus*)} × winter rape (*B. napus*) var. ‘Californium’, RZ2000 – turnip (*B. campestris*) collection 2000, RZŻGS – yellowseed rape (*B. napus*) with Indian mustard (*B. juncea*), RZCZD – winter rape (*B. napus*) var. ‘Diamond’

Jak widać, potwierdza się, że najbardziej zbliżone genetycznie były: gorczyca biała odmiana ‘Bamberka’ z ‘Nakielską’, a także gorczyca czarna roku 2028 z K1 i dwa mieszańce międzygatunkowe. Największe różnice w materiale genetycznym zauważono pomiędzy gorczycą białą odmian ‘Bamberka’ i ‘Nakielska’ a mieszańcem międzygatunkowym – rzepakiem żółtonasiennym skrzyżowanym z gorczycą sarepską.

Podobne zależności filogenetyczne ustalone za pomocą analizy skupień przedstawili LYSAK i IN. (2009) na podstawie porównania rozmiaru genomu 180 przedstawicieli z rodziny kapustowatych. W analizie wzięto pod uwagę m.in. rzepik (*B. campestris*),



Rys. 2. Analiza skupień amplikonów poszczególnych komponentów przeznaczonych do krzyżowań międzygatunkowych

GBB – gorczyca biała (*S. alba*) odm. ‘Bamberka’, GBN – gorczyca biała (*S. alba*) odm. ‘Nakielska’, GCZK1 – gorczyca czarna (*B. nigra*) ród K1, GCZ2028 – gorczyca czarna (*B. nigra*) ród 2028, RZ2000 – rzepik (*B. campestris*) zbiór 2000, GS – gorczyca sarepska (*B. juncea*), JRZRZ – {jarmuż (*B. oleracea*) × rzepak ozimy (*B. napus*)} × rzepak ozimy (*B. napus*) odm. ‘Californium’, RZCZD – rzepak ozimy (*B. napus*) odm. ‘Diamond’, RZŻGS – rzepak żółtonasienny (*B. napus*) z gorczycą sarepską (*B. juncea*)

Fig. 2. Cluster analysis of amplicons of the individual components to interspecific crosses
GBB – white mustard (*S. alba*) var. ‘Bamberka’, GBN – white mustard (*S. alba*) var. ‘Nakielska’, GCZK1 – black mustard (*B. nigra*) race K1, GCZ2028 – black mustard (*B. nigra*) race 2028, RZ2000 – turnip (*B. campestris*) collection 2000, GS – Indian mustard (*B. juncea*), JRZRZ – {kale (*B. oleracea*) × winter rape (*B. napus*)} × winter rape (*B. napus*) var. ‘Californium’, RZCZD – winter rape (*B. napus*) var. ‘Diamond’, RZŻGS – yellowseed rape (*B. napus*) with Indian mustard (*B. juncea*)

gorzycę sarepską, białą i czarną. Na podstawie dendrogramu zilustrowano bliższe pokrewieństwo genetyczne rzepiku z gorczycą sarepską, a także bardziej odległe między gorczycą białą i czarną. Według JOHNSTONA i IN. (2005) rzepak i gorczyca sarepska, jako allotetraploidy, mają mniej niż 92% zawartości sumy DNA swoich rodziców, czyli: gorzycy czarnej i rzepiku – w przypadku rzepaku oraz gorzycy czarnej i kapusty (*B. oleracea*) w przypadku gorzycy sarepskiej. Jak widać, bliskie pokrewieństwo genetyczne jest uzasadnione, gdyż oba gatunki wywodzą się od gorzycy czarnej. Oprócz tego badania NELSONA i IN. (2011) nad genomem gorzycy białej udowodniły jego bliższe pokrewieństwo genetyczne z gorczycą czarną niż z rzepikiem.

Wnioski

1. Najlepszymi komponentami przeznaczonymi do krzyżowań międzygatunkowych okazały się mieszańce:

- jarmuż z rzepakiem ozimym skrzyżowany powtórnie z rzepakiem ozimym odmiany ‘Californium’,
- rzepak ozimy żółtonasienny z gorczycą sarepską.

2. Najtrudniejszymi teoretycznie i praktycznie komponentami krzyżowań międzygatunkowych okazały się wszystkie kombinacje, w których jednym z komponentów była gorczyca biała.

Literatura

- DOYLE J.J., DOYLE J.L., 1990. A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. Focus 12: 13-15.
- GRYS S., 1999. Patologiczne efekty rozkojarzenia metabolizmu kwasów tłuszczowych rodzin n6 i n3 w organizmie człowieka. W: III Sympozjum „Olej z nasion wiesiołka i inne oleje, zawierające kwasy tłuszczowe n6 lub n3 w profilaktyce i terapii”. Sulejów, 15-16.05.1998. Red. A. Stołyhwo. Agropharm, Tuszyń k. Łodzi: 89-108.
- JOHNSTON S.J., PEPPER A.E., HALL A.E., CHEN Z.J., HODNETT G., DRABEK J., LOPEZ R., PRICE H.J., 2005. Evolution of genome size in *Brassicaceae*. Ann. Bot. (Lond.) 95: 229-235.
- KOTWIUK E., SAWICKA B., 2007. Gorczyce jako rośliny wielofunkcyjne. Acta Sci. Pol. Agric. 6, 2: 17-27.
- KUBACKI S.J., KASPROWICZ W., JAMIOŁKOWSKA M., PISKORZ T., 1973. Oznaczanie wyższych kwasów tłuszczowych w roślinnych tłuszczach jadalnych. Pr. Inst. Lab. Bad. Przem. Spoż. 23, 3: 253-258.
- LYSAK M.A., KOCH M.A., BEAULIEU J.M., MEISTER A., LEITCH J., 2009. The dynamic ups and downs of genome size evolution in *Brassicaceae*. Mol. Biol. Evol. 26, 1: 85-98.
- MUŚNICKI Cz., TOBOŁA P., MUŚNICKA B., 1997. Produkcyjność alternatywnych roślin oleistych w warunkach Wielkopolski oraz zmienność ich plonowania. Rośl. Oleiste – Oilseed crops 18, 2: 269-278.
- NELSON N.M., PARKIN I.A., LYDIATE D.J., 2011. The mosaic on ancestral karyotype blocks in the *Sinapis alba* L. Genome 54, 1: 33-41.
- STARZYCKI M., STARZYCKA E., KOŁODZIEJ K., 1999. Biochemiczne metody identyfikacji nasion i roślin z rodziny *Brassicaceae* K. Biul. Inst. Hod. Aklim. Rośl. 72, 3: 12-16.
- TROSZYŃSKA A., HONKE J., KOZŁOWSKA H., 2000. Naturalne substancje nieodżywcze (NSN) pochodzenia roślinnego jako składniki żywności funkcjonalnej. Post. Fitoter. 2: 1-5.

CONTENT OF FATTY ACIDS AND GENETIC SIMILARITY OF SELECTED FORMS OF FAMILY BRASSICACEAE WITH PARTICULAR EMPHASIS ON MUSTARD PLANTS USED IN MUSTARD PRODUCTION

Summary. The aim of this research was comparing the content of fatty acids and genetic similarity of selected forms of family Brassicaceae with particular emphasis on mustard plants used in mustard production. On the basis of qualitative analysis of fatty acids it was found that most preferred fatty acid composition had a complex hybrid: yellowseed rape (*Brassica napus*) with Indian mustard (*B. juncea*) and white mustard (*Sinapis alba*) variety 'Bamberka'. Statistical treatments of results of DNA analysis of PCR-RAPD method confirmed species: black mustard (*B. nigra*) races K1 and 2028, and Indian mustard are closely genetically related to each other, as well as two hybrids – kale (*B. oleracea* var. *acephala*) of winter oilseed rape crossed again with the winter rape variety 'Californium' and yellowseed rape with Indian mustard. The similar relationships were demonstrated by the cluster analysis of metabolic pathways of glucosinolates. The most difficult components to interspecific crosses were all combinations where one of components was white mustard.

Key words: mustard plant, genetic similarity, mustard, fatty acids, glucosinolates, cluster analysis

Adres do korespondencji – Corresponding address:

Joanna Downar-Zapolska, Katedra Biochemii i Biotechnologii, Politechnika Koszalińska, ul. Raclawicka 15-17, 75-620 Koszalin, Poland, e-mail: asiagrzesiuk@gmail.com

Zaakceptowano do druku – Accepted for print:
7.11.2011

Do cytowania – For citation:

Downar-Zapolska J., Łyczko L., Starzycki M., 2012. Skład kwasów tłuszczowych oraz podobieństwo genetyczne wybranych form z rodziny Brassicaceae ze szczególnym uwzględnieniem gorczyc stosowanych w produkcji musztardy. *Nauka Przyr. Technol.* 6, 2, #17.