دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده کشاورزی

مطالعه قرابت ژنومی و تنوع ژنتیکی برخی گونه‌های جنس براسیکا (*Brassica spp*) با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیک و ISSR

پایان‌نامه کارشناسی ارشد اصلاح نباتات

مهشید پیربویری

اساتید راهنما

دکتر محمد مهدی مجیدی

دکتر آقافخر میرلوحی

۱۳۹۲

دانشگاه صنعتی اصفهان
دانشکده کشاورزی

پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته اصلاح نباتات خانم مهشید پیربویری

تحت عنوان

مطالعه قرابت ژنومی و تنوع ژنتیکی برخی گونه‌های جنس براسیکا (*Brassica spp*) با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیک و ISSR

در تاریخ ۱۳۹۲/۶/۳۰ توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و تصویب نهایی قرار گرفت.

۱- استاد راهنمای اول پایان‌نامه	دکتر محمد مهدی مجیدی
۲- استاد راهنمای دوم پایان نامه	دکتر آقافخر میرلوحی
۳- استاد داور	دکتر محمد حسین اهتمام
٤- استاد داور	دکتر مجید طالبی
٥- سرپرست تحصیلات تکمیلی دانشکده	دکتر جهانگیر خواجه علی

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فهرست مطالب..... هشت

فهرست اشکال.....ده

فهرست جداول.....یازده

چکیده..... ۱

فصل اول: مقدمه و بررسی منابع ۲

۱-۱- کلیات و اهداف ۲

۱-۲- رده بندی ۵

۱-۳- سیتوژنتیک کلزا ۵

۱-۴- ویژگی‌های گیاهشناسی کلزا ۶

۱-۵- سازگاری کلزا ۷

۱-۶-ارقام کلزا ۸

۱-۷-آفات و بیمای‌های کلزا ۹

۱-۸- اهداف و روش‌های اصلاحی در کلزا ۹

۱-۹-مراکز تنوع ۱۰

۱-۱۰- اهمیت بررسی تنوع ژنتیکی ۱۱

۱-۱۱- تنوع ژنتیکی ۱۲

۱-۱۱-۱- تنوع صفات مرفولوژیک ۱۳

۱-۱۱-۲ - نشانگرهای ملکولی و کاربرد آن در بررسی تنوع ژنتیکی ۱۵

۱-۱۲- نشانگر ISSR ۱۵

فصل دوم: مواد وروش ها ۲۰

۲-۱- بررسی تنوع ژنتیکی مرفولوژیک ۲۰

۲-۱-۱- مکان آزمایش و مواد ژنتیکی مورد استفاده ۲۰

۲-۱-۲- نحوه اجرای آزمایش در مزرعه ۲۱

۲-۱-۳- صفات موردبررسی و نحوه‌ی اندازه گیری ۲۱

۲-۲- بررسی چند شکلی نشانگرISSR ۲۵

۲-۲-۱- استخراج DNA ژنومی از نمونه‌های گیاهی ۲۵

۲-۲-۲- تعیین کیفیت DNA با استفاده از ژل آگارز ۲۶
۲-۲-۳- واکنش زنجیره ای پلیمراز(PCR) ۲۶
۲-۲-۴- الکتروفورز فرآورده‌های تکثیر شده ۲۷
۲-۳- تجزیه وتحلیل داده‌ها ۲۸
۲-۳-۱- تجزیه داده‌های مرفولوژیک ۲۸
۲-۴-۲-تجزیه و تحلیل داده‌های ملکولی(نشانگرISSR) ۲۸
فصل سوم : نتایج و بحث ۳۰
۳-۱- تحلیل تنوع ژنتیکی در ژرم پلاسم‌های جنس براسیکا با استفاده از صفات مرفولوژیک ۳۰
۳-۱-۱-آماره‌های توصیفی، برآورد ضریب تغییرات فنوتیپی، ژنوتیپی و وراثت پذیری عمومی ۳۰
۳-۱-۲- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات ۳۲
۳-۱-۲-۱- تجزیه واریانس ۳۲
۳-۱-۲-۲-مقایسه میانگین صفات ۳۲
۳-۱-۳- تجزیه خوشه ای(گروه بندی نمونه ها) ۳۹
۳-۲- تحلیل تنوع ژنتیکی در ژرم پلاسم براسیکا با استفاده از نشانگر ISSR ۴۵
۳-۲-۱- بررسی چندشکلی حاصل از آغازگرهای ISSR ۴۵
۳-۲-۲- تجزیه خوشه ای بر اساس نشانگر ISSR ۴۶
۳-۲-۳- تجزیه به مؤلفه های اصلی ۵۳
۳-۲-۴-ساختار ژنتیکی جمعیت ها ۵۶
۳-۳- مقایسه نمودار خوشه ای ژنوتیپ ها بر اساس داده های حاصل از نشانگر ISSR و صفات مورفولوژی- زراعی ۵۹
فصل چهارم: نتیجه گیری وپیشنهادات ۶۲
۵-۱- نتیجه گیری کلی ۶۲
۵-۲- پیشنهادات ۶۴
منابع ۶۵

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۲-۱: مشخصات ۵۷ نمونه از جنس Brassica ۲۳

جدول ۲-۲:اجزاء واکنش PCR و مقدار هر یک از آن‌ها برای تهیه محلول پایه ۲۶

جدول۲-۳: برنامه PCR برای واکنش های ISSR در گیاه کلزا..... ۲۷

جدول ۳-۱:آمار توصیفی صفات مورفولوژیک بررسی شده در ۳۶ نمونه جنس براسیکا..... ۳۱

جدول ۳-۳: تجزیه واریانس صفات مرفولوژیک بررسی شده در ۳۶ نمونه از ژرم پلاسم کلز ا..... ۳۲

جدول۳-۴: تجزیه واریانس صفات عملکرد و اجزای عملکرد در ۳۶ نمونه از ژرم پلاسم کلزا..... ۳۲

جدول ۳-۵: مقایسه میانگین ۳۶ نمونه جنس براسیکا مورد استفاده برای صفات مرفولوژیک..... ۳۳

جدول ۳-۶: مقایسه میانگین ۳۶ نمونه جنس براسیکا مورد استفاده برای صفات عملکرد و اجزای عملکرد..... ۳۴

جدول ۳-۷: فاصله ژنتیکی بر مبنای مربع فاصله اقلیدسی گونه های مورد مطالعه با استفاده از داده های مرفولوژیک..... ۴۲

جدول ۳-۸:مقایسه میانگین برخی صفات مهم در گونه های جنس براسیکا..... ۴۴

جدول ۳-۹: اطلاعات نشانگرهای مورد مطالعه در ارزیابی تنوع ژنتیکی ژرم پلاسمBrassica..... ۴۶

جدول ۳-۱۰: ضریب همبستگی کوفنتیک برای داده های ملکولی..... ۴۸

جدول ۳-۱۱: مقادیر Eigen value، واریانس و واریانس تجمعی سه مولفه ی اول در تجزیه به مولفه های اصلی..... ۵۳

جدول ۳-۱۲: تجزیه واریانس ملکولی گونه های جنس براسیکا بر اساس داده های حاصل از ISSR..... ۵۷

جدول ۳-۱۳: اطلاعات مربوط به پارامترهای ژنتیکی گونه های جنس براسیکا با استفاده از نشانگر ISSR..... ۵۸

جدول۳-۱۴: مقادیر ضرایب تشابه(بالای قطر) و فواصل ژنتیکی(پایین قطر)ده گونه ی جنس براسیکا با روش نی و لی..... ۵۹

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل۱-۱: روابط ژنومی گونه های مختلف جنس براسیکا بر اساس مثلث یو..... ٦.....

شکل ۲-۱: نمونه‌ای از ژل آگارز ۰/۷٪ TAE جهت تعیین کمیت و کیفیت DNA در گیاه کلزا..... ۲۷...

شکل ۳-۱: نمودار خوشه ای به روش ward در ۳۶ نمونه مختلف جنس براسیکا بر اساس صفات مرفولوژیک..... ۴۳...

شکل ۳-۲: نمودار خوشه ای به روش ward گونه های مختلف براسیکا بر اساس صفات مرفولوژیک و زراعی ..... ٤٤...

شکل ۳-۳: تصاویر مربوط به نشانگر ISSR شماره ۱۱(الف) - تصاویر مربوط به نشانگر ISSR شماره ۱۲(ب)..... ٤٧...

شکل ۳-۴: تصاویر مربوط به نشانگر ISSR شماره ۱۵ در بررسی تنوع ژنتیکی ۵۶ نمونه جنس براسیکا ..... ٤٨....

شکل ۳-۵: مقایسه ماتریس تشابه جاکارد (X) با ماتریس کوفنتیک حاصل از آن (Y) با ضریب همبستگی برابر با ۰/۸۳..... ٤٩

شکل ۳-۶: نمودار خوشه ای ۱۰ گونه ی جنس براسیکا بر اساس مارکر ملکولی ISSR..... ۵۱....

شکل ۳-۷: نمودار خوشه ای ۵۶ نمونه از جنس براسیکا بر اساس مارکر ملکولی ISSR..... ۵۲...

شکل ۳-۸: نمایش ۳ بعدی ۳ مؤلفه اول حاصل از تجزیه به مؤلفه های اصلی با استفاده از نشانگرISSR..... ۵۴ ...

شکل ۳-۹: نمودار پراکنش ۵۶ نمونه جنس براسیکا بر اساس نشانگرISSR..... ۵۵

چکیده

کلزا از جمله گیاهان دانه روغنی است که به علت دارا بودن صفات مثبت زراعی نظیر مقاومت به سرما، مقاومت به کم آبی، تحمل شوری، ارزش تناوبی بالا، کنترل علف‌های هرز، دارا بودن ژنوتیپ‌های بهاره و پاییزه ، عملکرد مناسب و کیفیت روغن نسبت به سایر دانه‌های روغنی مورد کشت در کشور برتری دارد. به طور کلی دست‌یابی به تنوع ژنتیکی در گیاهان زراعی به منظور حفاظت از منابع ژنتیکی، توسعه‌ی زمینه‌ی ژنتیکی و کاربرد در برنامه‌های اصلاحی بسیار ضروری است. در این میان خویشاوندان وحشی براسیکا نیز دارای صفات زراعی مطلوب و مفید از قبیل نر عقیمی سیتوپلاسمی و هسته‌ای، مقاومت به بیماری‌ها و حشرات و نماتدها، مقاوم به تنش‌های سرما، شوری و خشکی می‌باشد که می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی مفید واقع شوند. این پژوهش با هدف بررسی تنوع ژنتیکی بین و درون برخی از گونه‌های جنس براسیکا با بهره‌گیری از روش‌های کلاسیک و مولکولی انجام گردید. در مطالعه‌ی اول به بررسی تنوع ژنتیکی بین ۳۶ ژنوتیپ از ۶ گونه‌ی جنس براسیکا از طریق ویژگی‌های مورفولوژیک و بهره‌گیری از روش‌های چند متغییره آماری پرداخته شد. نتایج حاکی از تنوع بسیار بالا در ژرم‌پلاسم مورد مطالعه بود. تجزیه خوشه‌ای توانست گونه‌ها را تا حدود زیادی از همدیگر جدا کند. در آزمایش دوم با استفاده از ۲۳ آغازگر ISSR به بررسی تنوع ژنتیکی ۵۶ نمونه از ۱۰ گونه‌ی جنس براسیکا پرداخته شد. این آغازگرها در مجموع ۱۸۶باند چند شکل تولید نمودند. نتایج نشان داد که تنوع زیادی بین اکسشن‌های مورد مطالعه وجود داشت، با این وجود تنوع بین ژنوتیپ‌های زراعی گونه‌ی *B. napus* از گونه‌های وحشی کمتر بود. نتایج تجزیه خوشه‌ای توانست گونه‌ها را به خوبی از همدیگر جدا کند. نتایج حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی نیز گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها را تایید کرد. نتایج تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) بین گونه‌ها نشان داد که ۳۵/۴۶ درصد از تنوع مربوط به بین گونه‌ها و بقیه تنوع مربوط به درون گونه‌ها بود. نتایج این تحقیق حاکی از همبستگی پایین (۰/۰۵ درصدی) بین نمودار خوشه‌ای حاصل از داده‌های مورفولوژیک با داده-های نشانگرISSR بود. با این وجود استفاده از نشانگر ISSR در مقایسه با داده‌های مورفولوژی بهتر توانست قرابت ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها و گونه‌های مورد بررسی را تعیین کند که حاکی از کارایی این نشانگر در تمایز بین ژنوتیپ‌های جنس براسیکا است.

کلمات کلیدی: براسیکا، مورفولوژی ، ISSR، ملکولی، تجزیه خوشه‌ای، فیلوژنی، قرابت ژنتیکی

فصل اول
مقدمه و بررسی منابع

۱-۱-کلیات و اهداف

جمعیت جهان در سال ۲۰۵۰ میلادی به بیش از ۲۰ میلیارد نفر(سه برابر جمعیت کنونی) خواهد رسید؛ که برای تأمین غذای چنین جمعیتی، تولیدات کشاورزی باید به رشد ۷۰ درصدی برسد. در جهان امروز، یک میلیارد انسان گرسنه و ۵۰ میلیون کودک، دچار سوءتغذیه هستند. جهان در قرن ۲۱ میلادی با سه بحران بزرگ بازارهای مالی، غذا و انرژی روبه‌روست. توانایی یک کشور در تامین مواد غذایی مورد نیاز خود به ۳ عامل بستگی دارد: دارا بودن زمین‌های زراعی، دسترسی به آب و فشار جمعیت. در کشورهای با مقدار زمین و آب محدود، هر چه جمعیت بیشتر باشد منابع موجود برای رفع احتیاجات ضروری افراد کمتر است. به‌نظر می‌رسد با تبدیل شدن امنیت غذایی جهان به یک بحران، استفاده از محصولات غذایی اصلاح شده ژنتیکی باید در دستور کار قرار بگیرد. هرچند در مورد زیست‌فناوری و استفاده از آن در تولید مواد غذایی، هیاهوی زیادی به راه افتاده؛ اما این روش می‌تواند تا حد زیادی به بحران غذایی کره زمین پاسخ دهد. دانه‌های روغنی پس از غلات دومین ذخایر غذایی جهان را تشکیل می‌دهند [۱۲]. این محصولات حاوی ۲۰ الی ۵۰ درصد روغن می‌باشندکه در اغلب موارد حاوی ترکیبات متوازنی از اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع هستند [۶]. در این میان براسیکا یکی از جنس‌های مهم گیاهان زراعی در سطح جهان می‌باشد که چندین عضو آن به عنوان گیاه مدل مورد استفاده قرار

می‌گیرد [۴۱]. کلزا از خانواده Cruciferae می‌باشد. کلزای زراعی (*Brassica napus*) از مهمترین گیاهان دانه روغنی در دنیا می‌باشد بطوری‌که دانه کلزا حاوی ۴۰-۴۶ درصد روغن می‌باشد و در حال حاضر در بین گیاهان روغنی بعد از سویا و نخل روغنی مکان سوم را در جهان دارا می‌باشد[۴۵ و ۲۷]. براسیکای زراعی علاوه بر تولید روغن خوراکی، برای تولید روغن صنعتی و تغذیه دام (از کنجاله آن) نیز استفاده می‌شود و همچنین منبع با ارزشی از فیبرهای رژیم غذایی، ویتامین C و فاکتورهای ضروری دیگر نظیر ترکیبات ضدسرطان است. در مورد زمان شروع استفاده از گونه‌های براسیکا به عنوان یک منبع روغن تناقض‌هایی وجود دارد. تگزوپیوس[۱۴۰] اظهار داشته که احتمالا اولین بار *B. oleracea* به عنوان منبع روغن در اروپا استفاده شده است. اپلکویست [۳۴] اظهار داشته است که *B. napus* اولین بار در هلند و در قرن ۱۷ به عنوان یک گیاه روغنی کشت شده است سپس کشت آن به سایر بخش‌های اروپا گسترده شده است. در ایران تولید کلزا از بدو فعالیت شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی در دهه ۱۳۴۰ آغاز گردید و در آن سال‌ها بررسی‌های ترویجی برروی رقم سوئدی و بهاره یورو که کلزایی از گروه یک صفر(۰) محسوب می شد صورت گرفت. ویژگی‌های خاص گیاه کلزا و سازگاری آن با شرایط آب و هوایی مختلف سبب شده است که توسعه کشت این گیاه به عنوان نقطه امیدی جهت تامین روغن خام مورد نیاز کشور به شمار رود. به طوری که در حال حاظر زراعت این محصول به عنوان محور طرح‌های افزایش تولید دانه‌های روغنی به حساب می‌آید[۱۹و۲].کشور ما برای رفع نیازهای داخلی روغن سالیانه حدود یک میلیارد دلار صرف واردات روغن های گیاهی و کنجاله های روغنی می‌نماید و کمتر از ده درصد نیاز کشور با تولیدات داخلی تامین می‌شود. لذا افزایش تقاضا برای روغن گیاهی در بازارهای جهانی، فشار ناشی از هزینه‌ی خرید، واردات در کشورهای مصرف کننده و روند افزایش مصرف سرانه‌ی روغن گیاهی از جمله عواملی هستند که اهمیت توسعه کشت دانه‌های روغنی و گسترش برنامه‌های علمی تحقیقاتی را در این زمینه بیش از پیش مشخص می‌سازند[۱].

کلزا دارای ژنوم AACC و 2n=38 بعد از سویا و پنبه دانه بعنوان سومین گیاه دانه روغنی، در تامین روغن نباتی جهان نقش بارزی ایفا می‌کند. خاستگاه اصلی کلزا کرانه های دریای مدیترانه بوده است و گونه ای آمفی دیپلوئید به حساب می‌آید که از تلاقی *B. rapa* و *B. olearacea* حاصل شده‌است. وجود روغن زیاد در دانه-های کلزا و همچنین ترکیب مناسب اسیدهای چرب آن موجب تسلط این گیاه بر بازارهای جهانی شده است [۱۲۰]. دانه کلزا دارای ۴۰ تا ۴۵ درصد روغن ، ۱۸ تا ۲۴ درصد پروتئین و ۱۲ تا ۲۰ درصد پوسته است و دو فراورده مهم آن روغن و کنجاله می باشد[۱۳۵]. ارقام کلزا که در گروه کانولا قرار دارند دارای کمتر از ۳۰ میکرومول گلوکوزینولات در هر گرم کنجاله بوده و روغن آنها دارای ۵ تا ۶ درصد اسیدهای چرب اشباع ، ۵۵

تا ۶۵ درصد اسید اولئیک، ۲۰ تا ۳۰ درصد اسید لینولئیک، کمتر از ۱۰ درصد اسید لینولنیک، حدود ۲ درصد یا کمتر اسید اروسیک و فاقد کلسترول می باشند که روغن آنها بصورت خوراکی مصرف می شود[۷].

ویژگی‌های خاص گیاه کلزا و سازگاری آن با شرایط آب و هوایی اکثر نقاط کشور سبب شده است که توسعه کشت این گیاه به عنوان نقطه امیدی جهت تامین روغن خام مورد نیاز کشور و رهایی از وابستگی به آن به شمار رود[۴۹ و ۶۳]. امکان کشت پاییزه کلزا در اقلیم‌های مختلف و تفاوت فصل رشد آن با سایر دانه‌های روغنی معمول از جمله پنبه، سویا و آفتابگردان سبب شده که برداشت آن مقارن با زمانی باشد که ظرفیت کارخانه‌های روغن کشی در فصل بیکاری بوده و موجب بالا رفتن بهره‌وری و درآمد آنها می گردد[۱۵].

منابع ژنتیکی گیاهی علاوه بر زیر بنای توسعه‌ی کشاورزی به عنوان منبعی از سازگاری ژنتیکی همچون سپری در برابر تغییرات محیطی عمل می‌کنند. فرسایش منابع مذکور امنیت غذایی جهان را با تهدید مواجه می‌کنند. نیاز به حفظ و به کارگیری منابع ژنتیکی گیاهی به عنوان محافظی در برابر مشکلات غیر قابل پیش بینی درآینده بر همگان آشکار است وچشم انداز تضعیف تنوع ژنتیکی به همراه تقاضای روز افزون به این منابع آنها را در مرکز توجه جهانی قرار داده است [۲۱]. بررسی تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی بین و درون جمعیت‌ها، گونه‌ها و افراد مختلف یکی از اهداف اصلی و اولیه بسیاری از پژوهش‌های زیست‌شناسی و گیاه‌شناسی است. در سه دهه اخیر از روش‌های کلاسیک نظیر ریخت‌شناسی، مورفولوژی و فیزیولوژی برای بررسی تنوع ژنتیکی استفاده شده است که با روش‌های مولکولی می توان آن را تکمیل کرد. عمده روش‌های مولکولی برای چنین ارزیابی‌هایی استفاده از نشانگرهای مولکولی است[۴].

نشانگرهای مولکولی ابزارهای مفیدی جهت بررسی تنوع ژنتیکی در برنامه‌های اصلاحی و نقشه‌یابی ژن‌ها می-باشند و ارتباط بین تنوع فنوتیپی و ژنتیکی را فراهم می‌کنند[۷۲ و ۱۱۴] . تکنیک ISSR-PCR روشی سریع، ساده، با کارایی و تکرارپذیری بالاست که نیازی به طراحی آغازگرهای اختصاصی ندارد و در مجموعه‌ای از تحقیقات ژنتیکی از جمله: مطالعه تنوع ژنتیکی، بررسی روند تکاملی گونه‌ها، ردیابی و نقشه‌یابی ژن‌ها و ارزیابی بیولوژی در سطح وسیعی از گونه‌های زراعی به کار گرفته می‌شود[۱۱۴].

بررسی تنوع ژنتیکی برای شناسایی و معرفی ارقام برتر امری مهم می‌باشد که نتایج آن در نهایت منجر به شناخت ارقام متناسب با شرایط آب و هوایی هر منطقه خواهد بود. با توجه به مطالب گفته شده این مطالعه اهداف زیر را دنبال می‌کند:

۱. بررسی روابط فیلوژنی وتنوع ژنتیکی بین و درون برخی گونه‌های جنس *Brassica* با استفاده از نشانگرISSR
۲. بررسی تنوع ژنتیکی بین برخی ارقام و گونه‌های جنس*Brassica* با استفاده از صفات مرفولوژی

۱-۲- رده بندی

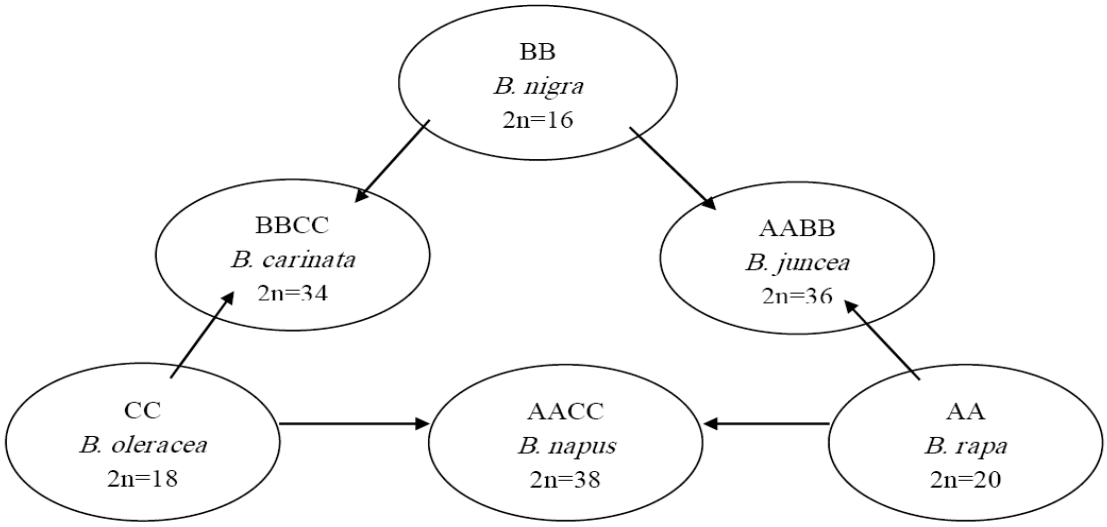
جنس کلزا(*Brassica*) متعلق به خانواده شب بو بوده، که دارای بیش از ۴۰ گونه می‌باشد. موقعیت تاکسونومیکی این جنس به شرح زیر است:

Domain: Eukaryota
Kingdom: Plantae
Subkingdom: Viridaeplantae
Phylum: Tracheophyta
Subphylum: Euphyllophytina
Class: Spermatopsida
Subclass: Rosidae
Superorder: Ranunculanae
Order: Brassicales
Family: Brassicaseae
Tribe: Brassiceae
Genus: *Brassica*

۱-۳- سیتوژنتیک کلزا

روابط گیاه‌شناختی بین گونه‌های کلزای روغنی در دهه‌ی ۱۹۳۰مشخص گردید[۱۵]. مطالعات زیر بنایی سیتولوژیکی موریناگا [۹۵]حاکی از وجود سه گونه دیپلویید شامل کلم (*B. olerace* n=9 C)، شلغم روغنی (*B. compestris n=18 A*) و خردل سیاه (*B. nigra n=8 B*) وهمچنین سه گونه آمفی‌دیپلویید شامل کلزای معمولی(*B. napus* n=19 AC) ، خردل هندی(*B. juncea* n=18 AB) خردل حبشی (*B. corinata n=17 BC*) می‌باشد که از تلاقی گونه های دیپلویید فوق الذکر حاصل گشته‌اند. یو [۱۴۲] با تولید آمفی دیپلوییدهای نامبرده به صورت مصنوعی روابط بین دیپلوییدها و آمفی پلوییدهای مذکور را اثبات نمود که این روابط به صورت شماتیک در مثلث یو که درشکل ۱-۱ آمده نشان داده شده است.

مطالعات کروموزومی گونه‌های دیپلوئید حاکی از آن است که گونه‌های مزبور از یک گونه با n=6کروموزوم به عنوان جد مشترک حاصل شده‌اند[۱۵]. درک روابط گونه‌های جنس براسیکا، متخصصین اصلاح نباتات را قادر خواهد ساخت که با استفاده از گونه‌های دیپلوئید، آمفی‌دیپلوئیدهای مصنوعی تولید نمایند و همچنین ژن‌های کنترل کننده خصوصیات مورد نظر را از طریق تلاقی بین گونه‌ای انتقال دهند[۸۳،۵۲ و ۹۶]. در چین و ژاپن انتقال خصوصیاتی از قبیل زودرسی، نرعقیمی سیتوپلاسمی، خودناسازگاری و پوشش رنگ قهوه‌ای بذر از طریق تلاقی بین گونه‌های شلغم روغنی و کلزا انجام گرفته است[۱۱۷].



شکل۱-۱: روابط ژنومی گونه های مختلف جنس براسیکا بر اساس مثلث یو

۱-٤- ویژگی‌های گیاهشناسی کلزا

کلزا گیاهی یکساله است که که به صورت بوته ای استوار، با انشعابات محدود و ارتفاع متوسط تا بلند رشد می-کند. طول دوره رشد کلزا در ارقام زودرس و بهاره از ۹۰ تا ۱۵۰ روز و در کشت پائیزه از ۲۰۰ تا ۳۳۰ روز می-رسد. تعداد شاخه های فرعی روی بوته بستگی زیادی به تراکم کاشت دارد[۷]. ریشه‌ی کلزا مستقیم و توسعه یافته است که تا عمق بیش از ۱/۵ متر در خاک‌های نفوذ پذیر رشد می‌کند.ریشه در ناحیه فوقانی ضخیم است و در نتیجه درصد بالای توسعه وزنی ریشه در لایه‌ی ۳۰ سانتیمتری فوقانی می‌باشد[۷]. برگهای پایینی بوته در وضعیت روزت تشکیل می‌شوند و به شکل بیضی و به رنگ سبز تیره، با دمبرگ بلند و ترشحات واکسی سفیدرنگ مشاهده می‌شوند. برگ‌ها روی یکدیگر سایه نمی‌اندازند و بنابراین راندمان بهره‌وری از نور به حداکثر می‌رسد. گل‌آذین کلزا به صورت خوشه در انتهای ساقه اصلی و شاخه‌های جانبی پدید می‌آیند.گلها غالباً زرد رنگ هستند. هرگل از چهار کاسبرگ، چهار گلبرگ، شش پرچم و یک مادگی زبرین دو برچه‌ای تشکیل شده است. در هر بوته تعداد زیادی گل بوجود می‌آید که تعداد زیادی از آنها ریزش پیدا می‌کند. گلدهی در کلزا از پائین به سمت بالا در گل‌آذین انجام می‌شود. کلزا گیاهی خودگشن است ولی بسته به شرایط محیطی از چند تا ۵۰ درصد دگرگشنی قابل مشاهده است. در شلغم روغنی همچنین خودناسازگاری به درجات متفاوتی دیده شده است که هرچه خودناسازگاری بیشتر باشد میزان دگرگشنی بیشتر می‌شود[۷].

میوه در کلزا خورجین بلند و باریک به طول ۵ تا ۱۰ سانتیمتر می‌باشد که از دو برچه تشکیل شده است و این دو برچه توسط غشایی نازک از هم جدا می‌شوند. این دیواره هنگام رسیدگی خورجین پاره می‌شود. خورجین‌ها در کلزا شکوفا هستند و چنانچه در شرایط هوائی خشک گردند از ناحیه‌ی رأسی شکافته شده و دانه ها به شدت ریزش می‌یابند. در هر خورجین ۱۰ تا ۴۰ دانه‌ی کوچک و گرد به قطر ۱/۵ تا ۲/۵ میلیمتر مشاهده می‌شود. دانه در ارقام مختلف کلزا و شلغم روغنی به رنگ‌های زرد، قرمز تیره، قهوه‌ای یا سیاه دیده می‌شود اما در بسیاری از ارقام کلزا سیاه است و به ندرت ارقام با دانه هائی به رنگ زرد دیده می‌شود. دانه‌های زرد رنگ به دلیل پوسته‌ی نازکتر مقدار کمتری تانن و فیبر داشته و دارای درصد روغن و پروتئین بیشتری بوده و مطلوبتر هستند و از اهداف اصلاحی نیز می‌باشند. وزن هزار دانه در کلزا از ۳/۵ تا ۶ گرم متغیر بوده همچنین دانه های شلغم روغنی بزرگتر از دانه های کلزا می‌باشند[۷].

۱-۵- سازگاری کلزا

طیف سازگاری اقلیمی کلزا تقریباً وسیع است و از عرض جغرافیایی نزدیک به ۴۰ درجه جنوبی در قاره استرالیا تا بیش از ۶۰ درجه شمالی در نروژ و کانادا کشت می‌شود در ایران می‌تواند تا ارتفاع کمتر از ۲۵۰۰ متر از سطح دریا تولید گردد[۷].گونه‌های مختلف روغنی کلزا در هر ۵ قاره و تحت شرایط متنوع اقلیمی و خاک کشت می‌گردند. که کشورهایی همچون امریکا یا چین خود دارای طیف متنوعی از اقلیم و خاک هستند که برخی مناسب کشت ارقام بهاره و بعضی برای زمستانه متناسب هستند[۱۱۳]. بر روی تأثیرات اقلیمی کلزا مطالعات فراوانی صورت گرفته است در سال ۱۹۵۵ وایتزر و همکاران به این نتیجه رسیدند که عوامل اقلیمی می‌توانند عملکرد دانه‌ی کلزا را بین ۱۵ تا ۷۴ درصد تغییر دهند که در میان عوامل اقلیمی درجه حرارت و میزان رطوبت بالاترین اثر را دارند[۸]. دی کیمبر و گرگور نیز تأثیر عامل دما را بررسی کردند و به نتیجه مشابه دست یافتند [۱۴۹]. مقاومت به سرما در کلزا متفاوت است و تیپ های پائیزه مقاومت بیشتری در برابر سرما از خود بروز می-دهند[۱۱۳]. زمان کشت کلزا در مناطق سرد و نیمه سرد را قبل از وقوع اولین یخبندان اعلام کرده اند[۳۷]. مهمترین هدف اصلاح کنندگان کلزا افزایش عملکرد دانه در واحد سطح می‌باشد که این صفت به شدت تحت تأثیر محیط و رقم می‌باشد[۸۷].

همچنین تعیین بهترین تاریخ کشت منجر به حصول عملکرد بیشتر می‌شود[۷]. دایجوکس و همکاران نیز به نتیجه مشابه دست یافتند[۴۸]. نتایج تحقیقات نشان داده که سرما باعث کاهش عملکرد می‌شود[۱۱۰] . نتایج نشان داد با تأخیر در تاریخ کاشت، محتوی روغن دانه و وزن هزار دانه کاهش می‌یابد[۲۳]. عملکرد بذر به عنوان یک صفت کمی، تحت تأثیر ژنوتیپ، محیط و برهم‌کنش ژنوتیپ و محیط می‌باشد[۶۰]. همچنین نقش تاریخ کاشت

در جلوگیری از مواجه شدن با درجه حرارت‌های بالا مهم گزارش شده است[۹۷]. رشد کلزا اغلب در دماهای بین ۱۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد انجام می‌گیرد. کلزا به دماهای بالا بخصوص در زمان گلدهی بسیار حساس است، حتی اگر رطوبت کافی در دسترس گیاه باشد. به دلیل تبخیر و تعرق بالای این گیاه که در حدود ۷۴۰ میلیمتر در یک دوره رشد می‌باشد، شرایط آب و هوایی مرطوب را به خشکی ترجیح می‌دهد[۱۵].

گونه های جنس براسیکا همچنین به دامنه وسیعی از خاک‌ها متحمل هستند. از خاک رسی سنگین تا خاک های شنی و سبک به شرطی آب بتواند از آن عبور نموده و بسته نشود و در حالت ایده ال خاک باید دارای ساختمان خوب، زهکشی مناسب، دارای قابلیت نگه‌داری رطوبت و عمیق باشد. pH مناسب خاک بین ۵/۵ تا ۸ می تواند متغیر باشد. [۳۰]. تولید محصول در سطح بازدهی مطلوب در خاک های آهکی و خاک های با pH بالا، همواره با مشکلاتی مواجه بوده است استفاده از گوگرد برای کاهش pH خاک های قلیایی و افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی وابسته به pH خاک همواره مورد توجه قرار گرفته است [۳۹].

کلزا از قدرت شاخه دهی خوبی برخوردار است و در تراکم‌های کم می‌تواند با افزایش تعداد شاخه‌های فرعی تا حدود زیادی تراکم کم گیاه را جبران کند و برای رسیدن به عملکرد بالا باید در پائیز تراکم بین ۶۰ تا ۸۰ بوته در متر مربع باشد که معادل ۶ تا ۸ کیلو بذر برای هر هکتار خواهد شد[۲].

۱-٦-ارقام کلزا

ژنوتیپ‌های کلزا را بر اساس مقدار اسیدهای اروسیک و اولئیک در روغن و مقدار گلوکوزینولات در کنجاله گروه‌بندی می‌کنند.[۷].

۱. ژنوتیپ‌هایی که بیش از ۴۵ درصد اسید اروسیک دارند و کاربرد وسیعی در صنعت دارند.
۲. ارقامی که اسید اروسیک آنها پائین است اما مقدار زیادی اسید اولئیک و مقدار کمی اسید لینولنیک دارند و روغن آنها کاربرد وسیعی در صنایع مختلف دارد.
۳. ارقامی که کمتر از ۲ درصد اسید اروسیک در روغن و کمتر از ۳۰ میکرومول گلوکوزینولات در هر گرم کنجاله دارند و در گروه کانولا قرار می‌گیرند.

در یک گروه‌بندی دیگر کلزا به صورت زیر تقسیم بندی می‌شود:

در این روش ارقام کلزا دارای دو تیپ بهاره و پائیزه می باشند که ارقام بهاره به دلیل دوره رشد کوتاهتر از عملکرد کمتری برخوردارند و در ضمن نیازی به ورنالیزاسیون یا بهاره سازی ندارند، در حالی که ارقام پائیزه نیازمندگذراندن یک دوره سرما می باشند. ارقام مختلفی اصلاح شده اند که می‌توانند در مناطق مختلف کشور کشت شوند. ارقام اصلاح شده کنونی در سه دسته کلی تقسیم می شوند که از این قرارند:

الف – ارقام صفر (۰) : در این ارقام میزان اسید اروسیک به حد بسیار اندکی تقلیل یافته است.
ب – ارقام دو صفر (۰۰): در این ارقام علاوه بر اسید اروسیک ، میزان گلوکوزینولات نیز کاهش یافته است.
ج – ارقام سه صفر (۰۰۰) : در این ارقام هر سه ماده نامطلوب در کمترین مقدار خود وجود دارند یعنی اسید اروسیک ، گلوکوزینولات و فیبر به حداقل رسیده اند[۷].

۱-۷-آفات و بیمای‌های کلزا

آفات عمومی مانند سفیده کلم، کرم آگروتیس، کرم برگ خوار چغندر قند، شب پره گاما، تریپس‌ها، زنجره‌ها و غیره به کلزا آسیب رسانده و خسارت زیادی به آن وارد می‌کنند. کلزای زراعی به شدت نسبت به خسارت شته‌ها حساس بوده و از آن‌ها خسارت زیادی می‌بیند. شته‌ها با تغذیه از جوانه انتهایی گیاه باعث می‌شوند دانه-بندی به شدت کاهش یابد[۷]. از جمله بیماری‌های کلزا می‌توان زنگ سفید، سوختگی سیاه کلم، سفیدک داخلی کلم و پوسیدگی ساقه را نام برد.

۱-۸- اهداف و روش‌های اصلاحی در کلزا

اهلی نمودن گیاهان یکی از مهمترین وقایع کشاورزی در دنیای جدید است. هدف‌های کلی اصلاح نباتات افزایش عملکرد در واحد سطح، بهتر نمودن کیفیت محصولات کشاورزی و تولید مواد اولیه مورد نیاز جوامع انسانی است. ارقام و واریته‌های اصلاح شده گیاهان زراعی و زینتی هر ساله از کشوری به کشور دیگر انتقال داده می‌شود. بدین طریق کیفیت و کمیت محصولات کشاورزی افزایش یافته و احتیاجات فراورده‌های زراعی رفع می‌شود. در اغلب گیاهان یک یا چند ژن باارزش اقتصادی فراوان دارد. ژن‌هایی که حساسیت و مقاومت گیاهان را نسبت به امراض و آفات کنترل می‌کنند در اولویت برنامه‌های اصلاح نباتات قرار دارند. هدف اصلاحگر نبات نباید در توسعه روش‌های معمول کشت نباتات اصلاحی منحصر گردد بلکه بایستی همواره در جستجوی ترکیبات نو از ژنوتیپهای مطلوب باشد. هدف اصلاحی نهایی در هر برنامه اصلاحی افزایش عملکرد می‌باشد.
کیفیت خصوصیتی است که باعث افزایش ارزش محصول می‌شود کیفیت در جائی ممکن است به ارزش غذایی یک غله یا طعم و بافت یک میوه تلقی شود. کیفیت جزء مهمی از هر برنامه اصلاح نباتات محسوب می‌شود.
افزایش تولید در واحد سطح و استفاده از ژنوتیپ‌های مفید و مطلوب در هر منطقه آب و هوایی از دیگر اهداف اصلاحگران نباتات می باشد. عملکرد گیاه در واحد سطح منعکس کننده برآیند همه اجزا گیاه می باشد. بهرحال همه ژنوتیپهای تولید شده دارای عکس العمل فیزیولوژیکی و ژنتیکی یکسانی در شرایط مختلف نیستند. عملکرد صفتی پیچیده است که تحت تاثیر اثر متقابل ژنوتیپ و محیط می باشد.

برای دستیابی به حداکثر تولید، مقاوم بودن به آفات و بیماری‌ها ضروری است علفهای هرز، حشرات، بیماری‌های باکتریایی و ویروسی در مقاطع مختلف از مرحله رشد گیاه بیشترین خسارت را به محصول وارد می‌کند. اصلاحگران همواره سعی بر دستیابی به گیاهانی را دارند که حاوی ژن‌های مطلوب مقاومت به آفات و بیماریها هستند. به هر حال از برنامه‌های اصلاحی مهم ایجاد گیاهان مقاوم می‌باشد. مقاومت به آفات بیشترین بازده اقتصادی را برای کشاورزان نوید بخش است.گیاهان مقاوم منجر به سرشکست شدن بسیاری از هزینه‌های تحمیلی به کشاورزان و بی‌نیاز شدن به فعالیتهایی همچون سمپاشی و آلودگی محیط زیست و مسائل باقیمانده سموم در بافت گیاهان زراعی با مصرف خوراکی می‌گردد.

مقاومت به تنش‌های غیر زنده نیز از جمله اهداف اصلاح نباتات می باشد. بیشتر تولیدات در مناطق نامساعد سرما و شوری حاصل می شود. و گیاه مجبور است برای تولید کافی با این شرایط نامساعد مقابله کند بعضی از واریته‌های گیاهان در شرایط نامساعد محیطی و فقر حاصلخیزی خاک قادر هستند مقدار مناسبی محصول را در واحد سطح تولید کنند بنابراین شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم به تنش‌های محیطی از اصلی‌ترین راهکارهای مناسب برای رفع معضل مذکور می‌باشد.

از روش های اصلاحی کلزا می‌توان به بک کراس و نیز انتخاب دوره ای اشاره کرد که در سطح وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۳۸]. برای گونه‌های خودناسازگار هم انتخاب دوره‌ای به منظور تولید ارقام با عملکرد بالا مناسب‌تر است [۵۱]. تولید لاین‌های دبل هاپلوئید نیز به منظور ایجاد والدین هموزیگوت برای تولید والدین هیبریدهای کلزا استفاده شده است [۱۴۳].

۱-۹-مراکز تنوع

نظر به اینکه گونه های اجدادی اصلی منقرض شده اند، شناسایی مراکز اصلی برای حفظ دانه های روغنی *Brassica* مهم جلوه می‌کند.گونه‌ی *B. rapa* وجود تنوع گسترده ای از دانه های روغنی *Brassica* را نمایان می‌سازد. این گونه، ۲۰۰۰ سال قبل در گستره ای از جزایر آتلانتیک در غرب تا سواحل شرقی چین و کره و از نروژ شمالی به سوی جنوب تا شمال هند با مرکزی نزدیک به نواحی هیمالیا پراکنده بوده است [۶۳]. مراکز ثانویه در اروپا، در نواحی مدیترانه ای و در آسیا متمرکز بودند. نمونه‌های روغنی آسیایی که با نام‌های سارسون زرد و قهوه ای شناخته می شوند؛ از لحاظ مورفولوژی گیاهی و گرایش به دارا بودن اجزای متفاوت اسید چرب و ساختار گلوکوزینولات، با انواع اروپایی متفاوت هستند. تجزیه پروتئین و سایر اجزای شیمیایی گیاهی اغلب از مجزا بودن خاستگاه‌های اروپایی و آسیایی حمایت می کنند، هرچند انواع هندی با اروپایی بیش از شلغم‌های اهلی و وحشی به همدیگر شباهت نشان داده‌اند [۴۹ و ۱۱].

اشکال وحشی *B. napus* کلزای آمفی‌دیپلوئید، در جایی ثبت نشده اند. از زمانی که مشخص شد *B. napus* باید از تلاقی درون گونه ای *B. rapa*×*B. oleracea* بوجود آمده باشد و از آنجایی که منشاء *B. oleracea* محدود به نواحی مدیترانه ای می شود، این موضوع که منشاء *B. napus* جنوب اروپاست مورد توافق قرار گرفت. *B. napus* در اوایل قرن ۱۹ در آسیا مرسوم شد، مکانی که در برخی مناطق عملکرد بهتری نسبت به دانه های روغنی بومی *B. rapa* تولید می‌کرد. اکثر ارقام *B. napus* در چین، کره و ژاپن از تلاقی بین *B. napus* اروپایی و واریته های بومی *B. rapa* ایجاد شده اند [۱۳۰].

احتمالات غیر مطمئنی درباره مرکز و خاستگاه *B. juncea* وجود دارد. نتیجه گرفته شده که منشاء آن در خاورمیانه و در جایی است که والدین فرضی آن یعنی *B. rapa* و *B. nigra* (خردل سیاه) برای اولین بار با هم برخورد کرده اند [۶۵]. به هر حال چون خردل سیاه در گذشته ادویه مهمی بود، به سرعت به خارج از اروپا، آفریقا، آسیا، هند و شرق دور گسترش یافت. چون *B. juncea* احتمالاً از تلاقی ژنوتیپ‌های متفاوتی از *B. rapa* و *B. nigra* در زمان‌ها و مکان‌های متفاوت حاصل شده؛ در نتیجه خاستگاه ثانویه آن را چین و شمال شرقی هند می توان فرض کرد [۶۴].

B. carinata یا خردل حبشی، به طور حتم از آفریقای شمالی منشاء گرفته است؛ جایی که گونه‌های والدینی آن یعنی *B. nigra* و *B. oleracea* هم ناحیه بوده‌اند. با توجه به پراکندگی محدود گونه‌های اصلی *Brassica* به حبشه و کشورهای همسایه آن، این گونه‌ها توانایی کمتری برای تبدیل شدن به گیاهی پیشرفته را داشته‌اند، اگرچه توانایی آنها برای مقاومت نسبت به خشکی، حشرات و بیماری‌ها اخیراً شناخته شده است.در دو گونه *B. napus* و *B. rapa* هر دو حالت بهاره و زمستانه وجود دارد. ارقام زمستانه میزان عملکرد بالاتری نسبت به ارقام بهاره دارند، اما مقاومت کمتری نسبت به غلات زمستانه دارند [۱۲۰].

۱-۱۰- اهمیت بررسی تنوع ژنتیکی

موفقیت گذشته، حال و آینده اصلاح‌گران نباتات به میزان تنوع ژنتیکی موجود در گیاهان زراعی و خویشاوندان وحشی آن‌ها بستگی دارد. علاوه بر آن استفاده از تنوع طبیعی به چند دلیل اهمیت دارد: یکنواختی ژنتیکی در گیاهان زراعی نامطلوب است، زیرا اولاً گیاهانی تولید می‌شوند که نسبت به اپیدمی‌ها و متغیرهای محیطی آسیب پذیرند که این باعث کاهش عملکرد می‌شود و از طرف دیگر، خویشاوندان وحشی گیاهان زراعی که دارای منابع ژنی مفید هستند، از بین می‌روند [۱۲۹]. کسب اطلاع از فاصله ژنتیکی در بین افراد یا جمعیت‌ها و آگاهی از روابط خویشاوندی گونه‌های مورد نظر در برنامه‌های اصلاحی، امکان سازماندهی ژرم-پلاسم و نمونه‌گیری مؤثر از ژنوتیپ‌ها را فراهم می‌سازد [۱۴].

۱-۱۱- تنوع ژنتیکی

اساس علم اصلاح نباتات بر وجود تنوع ژنتیکی در جوامع گیاهی استوار است و اصولاً بدون وجود تنوع، به-نژادی و انتخاب مفهومی نخواهد داشت [۱۳]. تنوع ژنتیکی اساس به نژادی است که از تکامل طبیعی ناشی شده و از اجزاء مهم پایداری نظام های بیولوژیک محسوب می‌شود. تنوع ژنتیکی به علت تمایز جغرافیایی و یا به علت موانع ژنتیکی تلقیح پذیری و تلاقی پذیری می‌باشد [۳]. حفاظت و استفاده پایدار از منابع ژنتیکی یک امر ضروری برای دستیابی به امنیت غذایی درآینده است [۱۱۲]. ذخایر ژنتیکی موجود در هر کشور یکی از گران بهاترین منابع بالقوه کشاورزی آن کشور به شمار می‌روند. هدف اصلی از مطالعه تنوع ژنتیکی و ارتباط میان کلکسیون های ژرم پلاسم، در نهایت مورد استفاده قرار دادن این اطلاعات برای تولید و توسعه ی ارقام دارای بهره وری بهتر در گونه های کشت شده می باشد [۲۶]. تجزیه و تحلیل و تفسیر دقیق تنوع ژنتیکی در ژرم‌پلاسم موجود از مهمترین مراحل در برنامه‌های اصلاحی است که امکان طبقه‌بندی و توصیف دقیق نمونه‌ها را فراهم آورده و اصلاح‌گر را در شناسایی زیر مجموعه‌ها و نمونه‌هایی که امکان استفاده مؤثر از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی آتی وجود دارد، یاری می‌کند وعلاوه بر حصول برآورد دقیق از میزان تنوع موجود در ژرم‌پلاسم، والدین متنوع برای ایجاد نتاج متفرق که دارای حداکثر تنوع برای انتخاب‌های بعدی و استفاده در دیگر برنامه-های اصلاحی می‌باشند، نیز قابل شناسایی هستند [۹۳].

بررسی تنوع ژنتیکی و انگشت‌نگاری گیاهان با استفاده از نشانگرهای مولکولی به طور گسترده‌ای انجام شده است. پیشرفت در زمینه فناوری نشانگرهای مبتنی بر DNA، به نژاد گران را در غلبه بر بسیاری مسائل موجود در رابطه با طبقه‌بندی و حفاظت ذخائر ژنتیکی گیاهی، شناسایی و حذف نمونه‌های تکراری موجود در بانک ژن یاری کرده است. یکی از مهم‌ترین موارد کاربرد این نشانگرها در اصلاح نباتات ارزیابی پتانسیل ذخائر توارثی است. گام اول در به نژادی خصوصیات گیاهی، درک از ساختار ذخائر ژنتیکی گیاهی است که این موضوع به نوبه خود نمونه‌گیری سیستماتیک از ذخائر ژنتیکی را برای مقاصد به نژادی و حفاظتی امکان پذیر می‌سازد [۱۴ و ۱۶]. اما این منابع ژنتیکی به دلیل بلایای طبیعی، چرای بی رویه حیوانات، توسعه شهر نشینی، از بین بردن علف-های هرز و گونه‌های خویشاوند گیاهان زراعی با روش‌های مدرن کشاورزی، جنگ، گسترش ارقام اصلاح شده و از بین رفتن برخی نمونه‌ها در بانک‌های ژن با خطر فرسایش روبه رو هستند [۵۷، ۱۱۸ و ۱۳۶].

به طور کلی تنوع را می‌توان به دو بخش تنوع بین و درون گونه‌ای تقسیم نمود [۱۳۱]. افزایش تنوع درون گونه‌ای با شایستگی گونه در ارتباط مستقیم بوده و باعث افزایش آن می‌گردد [۱۲۳]. طی فرآیند اهلی سازی گیاهان، که از ۱۰ هزار سال پیش آغاز شد، انتخاب شدید بر روی تنوع ژنتیکی موجود در گیاهان وحشی، تغییرات سریع و یک سویه‌ای را به وجود آورده و همین امر پایه‌ی ژنتیکی بسیاری از گیاهان را ضعیف کرده

است [۱۳۹]. از طرف دیگر یکی از پیامدهای کشاورزی نوین که مبتنی بر استفاده از ارقام اصلاح شده با بیشترین عملکرد و کیفیت قابل قبول است، کاهش تنوع ژنتیکی ذخایر است. اگرچه تخمین کاهش تنوع ژنتیکی، مشکل و در برخی موارد ناممکن است، اما در اینکه بسیاری از ژن‌های مفید از دست رفته‌اند، ذخایر ژنتیکی با سرعت فزاینده‌ای کاهش یافته‌اند و محصولات زراعی عمده در معرض تهدید روزافزون شرایط محیطی نامناسب و تنش‌های زیستی و غیر زیستی قرار گرفته‌اند، تردیدی نیست. بنابراین امروزه آگاهی از تنوع ژنتیکی و مدیریت منابع ژنتیکی، اهمیت بسیار زیادی دارد. تنوع ژنتیکی را می‌توان با روش‌های مختلف و با مطالعه ویژگی‌های متفاوت بررسی کرد که از جمله آن‌ها می‌توان به بررسی صفات مورفولوژی، آناتومی، نشانگرهای بیوشیمیایی و نشانگرهای مبتنی بر DNA اشاره کرد [۱۲۸]. اگر چه یکی از محدودیت‌های صفات مورفولوژیک و زراعی، تأثیرپذیری از محیط و دارا بودن وراثت پذیری پایین می‌باشد، اما از آنجایی که مهم‌ترین خصوصیات اقتصادی را در بر می‌گیرند، به طور گسترده جهت بررسی تعیین تنوع ژنتیکی کاربرد داشته و تکنیک‌های دیگر به عنوان مکمل این تکنیک محسوب می‌گردند [۴۰ و۵۸]. تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های گیاهی از طریق سازوکارهای متفاوتی نظیر جهش، نوترکیبی جنسی، مهاجرت و جریان ژنی، رانده شدن ژنتیکی، دورگ‌گیری بین گونه‌ای، اینتروگرسیون یا انتقال ژنتیکی، پلی‌پلوئیدی و گزینش ایجاد می‌شود. امروزه علاوه بر صفات مورفولوژیک، نشانگرهای مبتنی بر DNA نیز برای تعیین این تنوع و تعیین روابط فیلوژنی در گونه‌های گیاهی استفاده می‌شود [۱۴۴].

۱-۱۱-۱- تنوع صفات مرفولوژیک

نشانگرهای مورفولوژیک، تظاهر فنوتیپی بخشی از اطلاعات موجود در DNA بوده که به آسانی قابل ارزیابی است. این نشانگرها از ساده‌ترین نشانگرها بوده و وراثت آن‌ها به صورت مشاهده‌ای و بدون استفاده از روش‌های بیوشیمیایی یا مولکولی ارزیابی می‌شود [۷۸]. غالبیت و عدم تظاهر در مراحل اولیه رشد، آثار پلیوتروپیک، تأثیر-پذیری از محیط، اپیستازی، کم بودن چند شکلی و تعداد کم آن‌ها از خصوصیات نامطلوب این نوع نشانگرها است که استفاده از آن‌ها را محدود کرده است. چون تعداد این نشانگرها کم بوده، لذا تفسیر ژنتیکی آن‌ها چندان دقیق و واضح نیست و روشی طولانی و زمان‌بر بوده و طی مراحل رشد گیاه استفاده می‌شوند. منظور از صفات مورفولوژیک و زراعی ویژگی‌هایی نظیر ارتفاع، تعداد شاخه فرعی، عملکرد و غیره می‌باشد که از متداول‌ترین روش‌های بررسی تنوع ژنتیکی می‌باشد [۲۰].

از صفات مهم زراعی و مرفولوژیک برای انتخاب غیر مستقیم صفات مهم اقتصادی همچون عملکرد دانه و میزان عملکرد روغن استفاده می‌کنند. از جمله تحقیقات که در این زمینه صورت گرفته می‌توان به تحقیقات

مرجانویک_جرومیلا و همکاران در سال ۲۰۰۷ اشاره کرد که تعداد خورجین در بوته، وزن هزار دانه، عملکرد دانه و عملکرد روغن را بررسی کردند و به همبستگی مثبت میان صفات زراعی و عملکرد رسیدند.[۸۶]. ربیعی و همکاران نیز با بررسی صفات مرفولوژی به این نتیجه رسیدند که صفات عملکرد دانه و وزن هزار دانه را می‌توان به عنوان شاخص گزینشی برای عملکرد بالا معرفی کرد[۹]. در سال ۱۹۹۹ نیز صفات روز تا گلدهی، ارتفاع بوته، تعداد دانه در خورجین، طول خورجین و عملکرد دانه را بررسی کردند و به همبستگی مثبت انها با محتوای روغن ارقام کلزا پی بردند[۱۰۴]. مقاومت به خوابیدگی، روز تا گلدهی، تعداد خورجین در بوته و ارتفاع بوته نیز بررسی شد و به همبستگی مثبت با درصد روغن پی بردند[۱۸]. برادران و همکاران نیز از صفات مرفولوژیک کلزا استفاده کردند[۵]. خان و همکاران نیز در سال ۲۰۰۶ و ۲۰۰۸ در بررسی‌های خود روی گیاه کلزا صفات زراعی زیادی را بررسی کردندو به همبستگی مثبت آن‌ها با عملکردرسیدند[۷۴ و ۷۵] . تونکترک و سیفتسی نیز در سال ۲۰۰۷ تعداد خورجین در بوته، تعداد دانه در خورجین، تعداد شاخه‌های فرعی و وزن هزار دانه را بررسی کرده و نشان دادند با افزایش آنها عملکرد دانه افزایش می‌یابد.[۱۴۱]. مرجانویک و همکاران و نیز ایوانسکا و همکاران به ترتیب در سال‌های ۲۰۰۸و ۲۰۰۷ با مطالعه بر روی ارقام کلزا از صفات زراعی استفاده نموده وهمبستگی آن‌ها را با عملکرد مورد بررسی قرار دادند[۶۹].

در سال ۲۰۰۴ گزارش کردند که تعداد دانه در خورجین صفت مهمی است که به طور مستقیم بر عملکرد تأثیرگذار است[۵۵]. محققان دریافتند که صفات طول دوره گلدهی، زودرسی، عملکرد بیولوژیک، شاخص برداشت، تعداد خورجین در بوته و تعداد دانه در خورجین، نقش قابل توجهی در در بهبود عملکرد دانه کلزا به طور مستقیم و غیرمستقیم داشته‌اند[۱۰].

چوادهری و همکاران تنوع ژنوتیپ‌های جنس براسیکا را با استفاده از صفات روز تا گلدهی، ارتفاع گیاه، تعداد شاخه فرعی، وزن هزاردانه و غیره بررسی نموده و مشاهده شد که صفات مذکور بیشترین تنوع را نشان داده-اند[۴۶] . کندی و همکاران نیز تنوع زیادی برای همه‌ی صفات در کلزا گزارش دادند.[۷۳]. با مطالعه بر روی خردل اتیوپی به تنوع زیادی میان نمونه‌ها پی بردند[۲۸]. نمونه هایی از *B. rapa* بررسی شده و به تنوع میان آنها پی بردند[۱۰۶]. بامطالعه ارقام کلزا، ارقام چینی و اروپایی از هم تفکیک شدند[۶۷]. سانگ و همکاران نیز با بررسی گونه‌های آمفی دیپلوئید براسیکا تنوع ژنتیکی وسیع بین و درونِ سه گونه‌ی مورد بررسی را نتیجه گرفتند که علت آن نیز دورگ‌گیری های متعدد بین والدین دیپلوئید و تغییرات ژنومی بعد از پلی پلوئید شدن می-باشد[۱۳۴].

در حال حاضر از صفات مرفولوژیک در بررسی تنوع ژنتیکی گیاهان استفاده می‌شود که با وجود محدودیت‌ها و معایب بارز آن‌ها که شامل تأثیرپذیری از محیط، وراثت پذیری کم و نیز کنترل توسط ژن‌های پلیوتروپیک می-