بسم الله الرحمن الرحيم
الحمد لله رب العالمين الرحمن الرحيم مالك يوم الدين
اهدنا الصراط المستقيم صراط الذين
انعمت عليهم غير المغضوب عليهم
ولا الضالين

دانشکده علوم زراعی

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد *(M. Sc)*

رشته مهندسی کشاورزی، گرایش اصلاح نباتات

موضوع:

" بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های مختلف ***Brassica spp.*** با استفاده از نشانگرهای ***NBS-LRR*** "

استاد راهنما:

دکتر حمید نجفی زرینی

استاد مشاور:

مهندس سید حمیدرضا هاشمی پطرودی

مهندس علی زمان میرآبادی

نام دانشجو:

مهسا محمدجانی اسرمی

شهریور ماه ۱۳۹۲

چکیده

بیماری‌های زیادی در دنیا، بسته به شرایط اقلیمی گیاه کلزا را مورد تهدید قرار می‌دهد و باعث وارد آمدن خسارت اقتصادی به آن می‌گردد. موثرترین روش برای کنترل بیماری، اصلاح برای مقاومت می‌باشد، به طوریکه توارث ژنتیکی کافی موجود باشد. بنابراین، بررسی تنوع‌ژنتیکی ژرم‌پلاسم موجود، یکی از روش-های مناسب مدیریت منابع ژنتیکی می‌باشد. روش *NBS Profiling* موتیف‌های محافظت شده در دمین‌های عملکردی خانواده ژنی را مشخص می‌کند، بنابراین بررسی تنوع‌ژنتیکی، در داخل یا اطراف ژن‌های عملکردی انجام می‌شود.در این مطالعه تنوع ژنتیکی ٤٦ ژنوتیپ از جنس *Brassica* با استفاده از نشانگرهای *NBS–LRR* براساس ۸ ترکیب پرایمری نشانگر *NBS* ارزیابی گردید. در مجموع ۷۹۰ باند حاصل شد که از این تعداد ۷۰۸ باند چندشکل بود. ضرایب تشابه در دامنه ۰.۷۹ الی۰.٥٤ با متوسط ۰.٦٦٥ متغییر بود. دندروگرام‌های حاصل از تجزیه‌خوشه‌ای با روش UPGMA و همچنین تجزیه به مولفه‌های اصلی، ژنوتیپ‌ها را از یکدیگر تفکیک کرد. نتایج تجزیه خوشه‌ای نشان داد که ژنوتیپ‌ها در پنج گروه قرار می‌گیرند. در مجموع، این نتایج نشان می‌دهد که *NBS Profiling* یک ابزار معتبر طبقه‌بندی، برای بررسی تنوع ژنتیکی است.

کلمات کلیدی: کلزا، تنوع ژنتیکی، *NBS Profiling*

۱ مقدمه ۸

۱-۱ اهداف پژوهش ۱۰

۲ کلیات ۱۲

۲-۱ گیاهشناسی کلزا ۱۲

۲-۲ ریخت شناسی کلزا ۱۲

۲-۲-۱ ریشه ۱۲

۲-۲-۲ ساقه ۱۳

۲-۲-۳ برگ ۱۳

۲-۲-٤ گل ۱۴

۲-۲-٥ خورجین ۱۴

۲-۲-٦ بذر ۱۴

۲-۳ گونه های روغنی جنس براسیکا ۱۵

۲-۳-۱ کلزای آرژانتینی (Brassica napus) ۱۵

۲-۳-۲ کلزای لهستانی یا شلغم روغنی (B. rapa) ۱۵

۲-۳-۳ خردل هندی (B. juncea) ۱۵

۲-۳-٤ خردل حبشی (B. carinata) ۱۶

۲-۳-٥ خردل سفید یا خردلزرد (Sinapis alba یا B. hirta) ۱۶

۲-٤ اهمیت و جایگاه کلزا ۱۷

۲-٤-۱ اهمیت و جایگاه کلزا در جهان ۱۷

۲-٤-۲ اهمیت و جایگاه کلزا در ایران ۱۸

۲-۵ مزیت های زراعی کلزا ۱۹

۲-٦ موارد مصرف کلزا ۲۰

۲-۷ ارزش تغذیه ای کلزا ۲۱

۲-۸ ارقام و هیبریدهای کلزا ۲۱

۲-۹ معرفی بیماری های مهم کلزا ۲۲

۲-۹-۱ قارچ عامل بیماری ساق سیاه کلزا ۲۴

۲-۱۰ اهمیت و استفاده از ژنهای مقاومت ۲۶

۲-۱۰-۱ فرضیه ژن در برابر ژن ۲۷

۲-۱۰-۲ مفاهیم آنالوگ های ژن مقاومت ۲۸

۲-۱۰-۳ ساختار ژنهای مقاومت به بیماری ۳۰

۲-۱۰-٤ طبقه بندی ژنهای مقاومت به بیماری ۳۱

۲-۱۰-۵ روشهای شناسایی ژنهای مقاومت به بیماری ۳۳

۲-۱۱ اهمیت ژرم پلاسم و بررسی تنوع ژنتیکی ۳۵

۲-۱۲ تنوع ژنتیکی ۳۶

۲-۱۲-۱ روشهای بررسی تنوع ژنتیکی ۳۶

۲-۱۲-۲ نشانگر و انواع آن ۳۷

۲-۱۲-۳ نشانگرهای مورفولوژیک ۳۷

۲-۱۲-٤ نشانگرهای پروتئینی ۳۷

۲-۱۲-۵ نشانگرهای DNA ۳۸

۲-۱۲-٦ معیار انتخاب نشانگر به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ۳۹

۲-۱۳ روشهای آماری به منظور محاسبه تنوع ژنتیکی ۴۰

۲-۱۳-۱ ضرایب مبتنی بر داده های صفر و یک به منظور تشکیل ماتریس شباهت ۴۰

۲-۱۳-۲ تجزیه خوشه ایی ۴۱

۲-۱۳-۳ انتخاب تعداد مطلوب خوشه ۴۱

۲-۱۴ مطالعات تنوع ژنتیکی گیاهان با استفاده از نشانگر LRR-NBS ۴۲

۳ مواد و روشها ۴۵

۳-۱ تکنیک NBS Profiling ۴۵

۳-۱-۱ جمع آوری نمونه ۴۵

۳-۱-۲ واکنش زنجیره ایی پلیمراز ۴۶

۳-۱-۳ آنالیز مولکولی با استفاده نشانگر NBS ۴۸

۳-۱-٤ تحلیل آماری داده ها ۶۱

۳-۱-۵ بررسی بیوانفورماتیکی ۶۳

٤ نتایج و بحث ۶۵

٤-۱ نتیجه استخراج DNA ۶۵

۴-۲ تجزیه و تحلیل نشانگر *NBS* ۶۵

٤-۲-۱ نتایج مرحله هضم *DNA* ۶۵

٤-۲-۲ نتایج مرحله پیش انتخابی ۶۶

٤-۲-۳ نتایج مرحله انتخابی ۶۶

٤-۲-٤ تحلیل داده های نشانگر NBS ۶۷

۴-۳ تجزیه و تحلیل باندها ۷۲

۵ نتیجه گیری و پیشنهادات ۷۸

۵-۱ نتیجه گیری ۷۸

۵-۲ پیشنهادات ۷۸

۶ منابع استفاده شده ۸۰

فصل ۱

مقدمه

۱ – مقدمه

با توجه به رشد بی‌رویه جمعیت، بیوتکنولوژی کشاورزی به عنوان ابزاری کلیدی قادر است به همراه سایر علوم نیازهای غذایی مورد نیاز این جمعیت عظیم را فراهم نماید. این امر دانشمندان و محققین کشاورزی را وا داشته‌است که به دنبال روش‌های نوین و موثر برای افزایش تولید موادغذایی باشند. در این رابطه منابع تولید و ظرفیت ژنتیکی ارقام گیاهی حائز اهمیت می‌باشند ولی به لحاظ محدودیت منابع تولید، توجه بیشتری به افزیش کمی و کیفی محصولات زراعی از طریق تغییر ساختار ژنتکی گیاهان معطوف گردیده است(احمدی و جاویدفر، ۱۳۷۷). در میان محصولات غذایی، روغن‌های خوراکی با توجه به بازار وسیع مصرف و اهمیت فوق‌العاده غذایی، از اولویت خاصی برخوردارند، روغن‌های نباتی یکی از منابع مهم انرژی برای انسان به شمار می‌روند. در ایران طبق آمارهای رسمی، سالانه بخش مهمی از منابع ارزی و نیروی انسانی کشور صرف واردات محصولات غذایی می‌شود. بنابراین لزوم برنامه‌ریزی بلندمدت و منسجم با هدف نیل به خودکفایی در تولید روغن‌خوراکی غیرقابل انکار خواهد بود. در این راستا گیاه کلزا یکی از مهمترین گیاهان روغنی جهان به شمار می‌آید. کلزا با داشتن ٤٠ تا ٥٠ درصد روغن، منابع با ارزشی برای تامین روغن خوراکی می‌باشد. بنابراین ایجاد واریته‌های مناسب کشت در شرایط مختلف مهم‌ترین روش توسعه زراعت این محصول تلقی می‌گردد. کلزا بعد از سویا و نخل روغنی مقام سوم را در تامین روغن نباتی جهان دارد (احمدی و جاویدفر، ۱۳۷۷). به طوری که حدود ۱۵درصد کل تولید روغن‌نباتی را در جهان به خود اختصاص داده است. میزان نیاز کشور به روغن خام بر اساس مصرف سرانه ۱۳/۵ کیلوگرم و با احتساب ۷۰ میلیون نفر جمعیت، ۹٤٥ هزار تن روغن تصفیه شده می باشد که با توجه به حدود پنج درصد افت تصفیه، میزان نیاز به روغن خام حدود ۹۹۵ هزار تن برآورد می‌شود و بر اساس آمارهای موجود میزان واردات روغن خام در سال ۱۳۷۵ برابر ۷۳۷ هزار تن بوده است(گزارشات ماهانه شرکت توسعه دانه‌های‌روغنی،۱۳۷۷).

بیماری‌های زیادی در دنیا، بسته به شرایط اقلیمی گیاه کلزا را مورد تهدید قرار می‌دهد و باعث وارد آمدن خسارت اقتصادی به آن می‌گردد. یکی از مهمترین بیماری‌های کلزا در چین و نیز عامل اصلی مرگ گیاه در فرانسه وآلمان پوسیدگی اسکلروتینایی ساقه است. یکی دیگر از بیماری‌های مهم در گونه‌های *Brassica juncea* و *Brassica rapa* زنگ سفید (*Albugo candida*) است که با توجه به تنوع مطلوب گونه‌های

مذکور انتخاب واریته‌های متحمل یکی از روش‌های مدیریت این بیماری می‌باشد(عزیزی و همکاران، ۱۳۷۸). در زمینه بکارگیری روش‌های به‌نژادی درجنس براسیکا در چین بر علیه بیماری‌های ویروسی مانند ویروس موزائیک شلغم(*TMV*) پیشرفت‌هایی مشاهده شده است (عزیزی و همکاران ؛ ۱۳۷۸). عامل شانکر ساقه نیز کلزا (ساق‌سیاه) مهمترین قارچ بیمارگر کلزا دراغلب کشورها است. درمطالعات انجام شده در زمینه اهمیت جهانی بیماری ساق‌سیاه مشخص شد که این بیماری سبب آسیب جدی در اروپا – استرالیا و شمال آمریکا است(*Fitt et al. 2006, West et al. 2001*). همچنین در انگلیس در هر فصل زراعی حدود ۲۸۰۰۰ تن محصول در اثر این بیماری از بین می‌رود. جمعیت عامل بیماری ساق‌سیاه در حال حاضر با دو گونه اصلی شناخته می‌شود: *Leptosphaeria maculans* و *Leptosphaeria biglobosa* که اولی با خسارت شدید در قسمت پائین ساقه یا پایه گیاه شناخته شده و دومی اغلب با خسارتی کمتر آن‌هم در ناحیه فوقانی ساقه اصلی مشاهده می‌شود(*Fitt et al., 2006*).

تولید و استفاده از ارقام مقاوم یکی ازراه کارهای اصلی و عملی کنترل بیماری‌ها درگیاهان زراعی و کاهش خسارات ناشی ازآن‌ها است، البته به طوریکه کنترل ژنتیکی با وراثت‌پذیری بالا موجود باشد(*Bai and shaner, 1994*). بررسی تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم موجود، یکی از روش‌های مناسب مدیریت منابع ژنتیکی می‌باشد (*Clark et al,.1997*). لازمه چنین عملی، شناسایی، مکان‌یابی و جداسازی ژن‌های مقاومت به بیماری‌ها جهت استفاده از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی است(دژستان و همکاران ۱۳۸۹). پیشرفت‌های اخیر در زمینه بیولوژی مولکولی ابزارهای مناسب و مکمل را برای روش‌های کلاسیک اصلاحی برای تولید ارقام مقاوم فراهم کرده است(واندرلیندن و همکاران،۲۰۰٤).

با مقایسه توالی‌های اسیدهای آمینه پروتئین‌های رمزشده توسط ژن‌های مقاومت همسانه شده در گیاهان با منشاء تکاملی مختلف مشخص شده است که ژن‌های مقاومت براساس مشابهت‌های ساختاری تولیدات پروتئینی، به گروه‌های *NBS-LRR* (*Nucleotide Binding Site- Leucien- Rich Repeats*)، *LRR* خارج سلولی، *LRR-kinase* و گیرنده کینازی طبقه‌بندی می‌شوند(*Dangl, 1995*). مطالعات ژنومی آشکار کرده است که گروه‌های *NBS-LRR*، *LRR* خارج سلولی و*LRR-kinase* در سرتاسر ژنوم گیاهان وجود دارند. ژن‌های مقاومت گروه *NBS-LRR* متداول‌ترین گروه ژن‌های مقاومت هستند(*Hulbert et al., 2001*). تاکنون، تنها نقش ثابت شده برای ژن‌های رمزکننده پروتئین‌های دارای *NBS-LRR* در گیاهان، مقاومت به بیماریها یا آفات بوده است(*Michelmore, 2000*).

تکنیک‌های مبتنی بر انگشت‌نگاری *DNA* ابزار مفیدی برای شناسایی ژرم‌پلاسم خاص و برآورد کمیت تنوع ژنتیکی ارائه می‌نمایند. بدین ترتیب نشانگرهایی مانند چندشکلی‌های طویل تکثیر شده (*AFLP*) و یا توالی‌های تکراری ساده (*SSR*) به طور معمول برای غربال‌گیری مجموعه‌ی ژرم‌پلاسم استفاده می‌شوند که از مناطق غیررمزشونده ژنوم را مورد بررسی قرار می‌دهند. بنابراین اصلاح‌کنندگان علاقمند به تغییر موثر

ژن‌ها جهت معرفی صفت‌های مربوط با خصوصیت مطلوب می‌باشند که نشانگرهای عملکردی به وسیله روش‌های مختلفی مانند ردیابی چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی یا جایگاه‌های نشانمند توالی‌های رمز شونده، کمک بزرگی جهت انتخاب به کمک نشانگر می‌باشند.

روش *directed -profiling motif* که موتیف‌های محافظت شده در دمین‌های عملکردی خانواده ژنی مشخص می‌کند اولین بار توسط واندرلیندن در سال ۲۰۰٤ ارائه گردید که امکان بررسی تنوع‌ژنتیکی در داخل یا اطراف ژنهای عملکردی را فراهم می‌نماید. تکنیک *NBS Profiling* (جایگاه اتصال نوکلئوتیدی) نمونه‌ای از *directed -profiling motif* که ژن‌های مقاومت (*R-gene*) و آنالوگ‌های ژن‌های مقاومت (*RGA*) را با استفاده از پرایمرهای دجنریت برمبنای توالی محافظت شده در دمین *NBS* از کلاس *LRR-NBS* ژن‌های مقاومت (*R-gene*) مشخص می‌کند. روش *NBS Profiling* می‌تواند الگوی چند شکلی ژن-های مرتبط با مقاومت به بیماری را ارائه نماید. بنابراین *NBS ofilingPr* می‌تواند در اصلاح به کمک مارکر و مشخص کردن مقاومت در ژرم پلاسم‌های مختلف استفاده شود. احتمال تولید کارآمد مارکرهای مولکولی از خود و اطراف ژن‌های مقاومت می‌تواند در شناسایی لوکوس‌های مقاومت در منابع ژنتیکی و متعاقب آن کلونینگ ژن‌های مقاومت جدید بسیار مفید باشد(واندرلیندن و همکاران،۲۰۰٤).

۱-۱ اهداف پژوهش

۱) بررسی تنوع‌ژنتیکی ژنوتیپ‌های مختلف *Brassica spp.* با استفاده از نشانگرهای مولکولی.
۲) دسته‌بندی ارقام و گونه‌های مختلف کلزا بر مبنای ژن‌های مقاومت.
۳) ارزیابی نشانگر *NBS-LRR* جهت شناسایی آلل‌های جدید.

فصل ۲

کلیات و بررسی منابع

۲ کلیات

۲-۱ گیاه‌شناسی کلزا

کلزا (*Brassica napus*) گیاهی است یکساله متعلق به خانواده چلیپائیان (*Cruciferae*) یا شب‌بوئیان، پنج گونه از جنس براسیکا در سطح جهانی به عنوان دانه‌روغنی کشت می‌شوند. گونه زراعی آن همان ناپوس می‌باشد. در زبان انگلیسی رپسید[۱] به آلمانی رپس[۲] و در زبان فرانسه کلزا[۳] نامیده می‌شود. ارقام کلزا دارای تیپ‌های بهاره یا پائیزه هستند و با توجه به شرایط اکولوژیک مناطق مختلف در بهار یا پائیز کشت می‌شوند. ارقام بهاره به دلیل دوره رشد کوتاهتر از عملکرد کمتری برخوردارند و در ضمن نیازی به ورنالیزاسیون[۴] یا بهاره‌سازی ندارند، در حالی که ارقام پائیزه ضمن عملکرد بالا نیازمند گذراندن یک دوره سرما برای بهاره‌سازی و گلدهی هستند. در نوار ساحلی دریای‌خزر و در مناطق دشت با توجه به شرایط آب‌وهوایی فصول پائیز و زمستان و عدم داشتن سرماهای شدید ارقام با تیپ بهاره در پائیز کشت می‌شوند (صانعی و همکاران، ۱۳۸۹).

۲-۲ ریخت شناسی کلزا

۲-۲-۱ ریشه

کلزا دارای یک ریشه اصلی عمودی و غالبا بلند و دوکی شکل می‌باشد که قطر قسمت فوقانی آن به یک تا سه سانتی متر می‌رسد و بسته به نوع خاک تا عمق ۸۰ سانتی متری نفوذ می‌کند. همچنین دارای ریشه‌های جانبی متعددی است که معمولا افقی هستند و کمتر در عمق خاک نفوذ می‌کنند. عمق نفوذ و گستردگی سیستم ریشه نقش بسزایی در تحمل خشکی و استفاده بهینه از رطوبت ذخیره شده در خاک دارد. این سیستم ریشه‌ای، گیاهان دارای ارتفاع زیاد و کشت متراکم را در مقابل بادهای شدید حفظ می‌کند. در خاک‌های سنگین رسی عمق نفوذ ریشه کاملا محدود می‌شود (صانعی و همکاران، ۱۳۸۹).

---

[1] *Rapeseed*
[2] *Raps*
[3] *Colza*
[4] *Vernalisation*

۲-۲-۲ ساقه

کلزا یک ساقه اصلی تولید می‌کند که از آن شاخه‌های زیادی منشعب می‌شود. پس از پایان زمستان ابتدا ساقه اصلی طویل شده و به گل نشسته و سپس از ساقه اصلی شاخه‌های فرعی نیز شروع به طویل شدن می‌کنند. میزان شاخه‌دهی آن به رقم، محیط رشد، تغذیه گیاه، تکنیک‌های زراعی و غیره بستگی دارد. تراکم بوته‌ها تاثیر قابل‌توجهی در میزان شاخه‌دهی و ارتفاع دارد که ساقه اصلی در آن شروع به انشعاب می‌کند ولی عمدتا شاخه‌های جانبی در قسمت‌های میانی و بالایی ساقه‌اصلی تشکیل می‌شوند و از ساقه اصلی هشت تا ۱۰ شاخه فرعی منشعب می‌گردد. وقتی ساقه‌اصلی شروع به رشد می‌کند شاخه‌ها در محل اتصال برگ‌های فوقانی با ساقه جوانه‌زده و هرشاخه به یک گل آذین ختم می‌شود. ساقه دارای مقطع تقریبا مدور، عمودی و رنگ آن سبز روشن است که به مرور زمان، زرد می‌گردد. ارتفاع ساقه در واریته‌های مختلف از ۵۰ تا ۲۰۰ سانتی‌متر تغییر می‌کند ولی معمولا ارتفاع آن۸۰ تا۱۵۰ سانتی‌متر است. کلزا غالبا از قوه تجدید رویش خوبی برخوردار است و در صورت فراهم‌بودن مواد غذایی کافی چنانچه تراکم بوته کم باشد و یا آسیب ببیند می‌تواند با ایجاد شاخه‌های فرعی متعدد اثرات تعداد کم بوته را جبران کند (صانعی و همکاران، ۱۳۸۹).

۲-۲-۳ برگ

برگ‌های کلزا به سه شکل ساقه در آغوش- چسبیده معمولی و چسبیده دارای دمبرگ می‌باشند. برگ-های رزت اغلب بیضوی و چند قسمتی با یک لوب بزرگ در راس برگ بوده و دارای دمبرگ نیز می‌باشند. رنگ برگ‌ها سبز مایل به آبی است و در متن آن رگبرگ‌ها مشاهده می‌شوند. برگ‌های رزت و برگ‌های پائینی ساقه کمی کرک دارند ولی برگ‌های فوقانی و میانی فاقد کرک- دمبرگ و لوب هستند و لبه آنها ممکن است دندانه‌دار و یا صاف باشد. این برگ‌ها به شکل قلب بوده و در محل اتصال یک سوم ساقه را می‌پوشانند. برگ‌های کلزا بصورت متناوب روی ساقه قرار دارند.تعداد برگ‌های ساقه اصلی بسته به نوع واریته از پنج تا ۱۲ عدد در ارقام با تیپ بهاره و تا ٤٠ عدد در ارقام با تیپ پائیزه تغییر می‌کند. میزان تولید برگ به طول دوره رویشی مربوط می‌باشد. ریزش برگ به دلیل برخی عوامل از جمله خسارت آفات در نواحی گرمسیری شایع است. چنان‌چه ریزش برگ‌ها در ابتدای گلدهی رخ دهد تاثیر منفی بر عملکرد نهایی می‌گذارد اما پس از گلدهی اثر قابل ملاحظه‌ای بر آن ندارد (صانعی و همکاران، ۱۳۸۹).

۲-۲-٤ گل

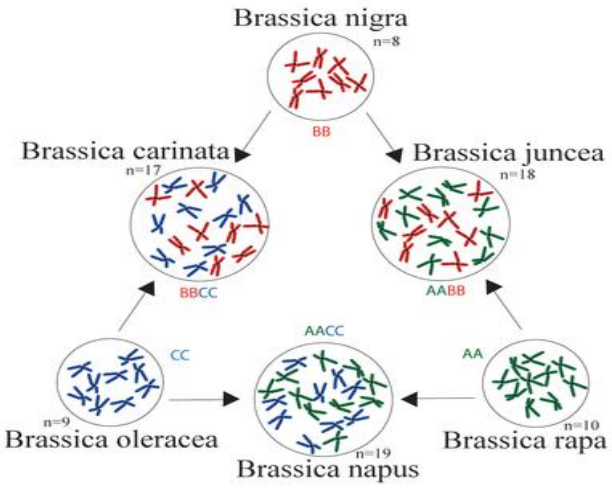
گل در کلزا به صورت صلیبی و آرایش آن به شکل خوشه‌ای بلند می‌باشد که عمدتا به رنگ زرد و دارای چهار کاسبرگ، چهار گلبرگ، یک مادگی و شش پرچم بوده که دو عدد از آنها کوتاه و چهار عدد بلند است کیسه‌های گرده در روی سطح کلاله و رو به بیرون گرده را توزیع می‌کنند. کلزا گیاهی خود گشن و درصد دگرگشنی در ارقام مختلف (با روش‌های مختلف بررسی) بین ۳۳-۲۲ درصد گزارش شده است که در این خصوص حشرات نقش به‌سزایی دارند (صانعی و همکاران، ۱۳۸۹).

۲-۲-۵ خورجین

میوه کلزا خورجین نامیده می‌شود که از رشد و تکامل تخمدان حاصل می‌گردد شکل آن باریک و کشیده با ظاهری تسبیح مانند توسط زایده باریک و کوتاهی به محور گل آذین اتصال یافته و در بخش انتهایی خود نیز به اندام کوچک و منقار مانندی ختم می‌گردد. غلاف‌ها پس از تلقیح گل از پایین به بالا تشکیل می‌شود و هم‌زمان با توسعه گل تکامل می‌یابند و تعداد کثیری دانه را بسته به رقم و شرایط محیطی در خود جای می‌دهند (صانعی و همکاران، ۱۳۸۹).

۲-۲-٦ بذر

بذرهای کلزا ریز، در حدود دو تا سه میلی‌متر و به صورت مدور و به اصطلاح ساچمه‌ای شکل است، دانه‌ها ابتدا به رنگ قهوه‌ای و در هنگام رسیدن به رنگ تیره و سیاه قابل مشاهده است و هر چه نارس تر باشند روشن‌تر هستند. وزن هزار دانه بین ٤/٥-۳/۳ گرم متغیر است (صانعی و همکاران، ۱۳۸۹).



شکل ۱-۲- روابط ژنومی گونه‌های مختلف جنس براسیکا(*U, 1935*).

۲-۳ گونه‌های روغنی جنس براسیکا

۲-۳-۱ کلزای آرژانتینی (Brassica napus)

به گونه‌ای که در حال حاضر در کشور ما و عموما در اروپا و کانادا کشت می‌شود کلزای آرژانتینی گفته می‌شود زیرا برای اولین بار از آرژانتین به کانادا وارد گردید. این گونه دارای ارقام بهاره و پائیزه با عدد کروموزومی ۳۸ است که مهمترین گونه جنس براسیکا محسوب می‌شود. ارقام بهاره و زمستانه این گونه به عنوان منابع روغن گیاهی کشت می‌گردد. ارقام زمستانه در شرایط مساعد معمولا پر محصول‌تر می‌باشند. در اروپا و چین اغلب از ارقام پائیزه استفاده می‌شود. در عرض‌های جغرافیایی و ارتفاعات زیاد و در نقاطی که شانس بقای گیاه در زمستان کم است مانند غرب کانادا به اجبار از ارقام بهاره در فصل بهار استفاده می‌شود. بذور کلزای آرژانتینی اغلب به رنگ سیاه و بعضا زرد رنگ بوده که رنگ زرد بذر با مقدار کمتر تانن در بذور و نازک‌تر بودن پوسته بذر ارتباط داشته و سبب می‌شود میزان روغن و پروتئین بذر بیشتر و مقدار الیاف و فیبر کنجاله کمتر باشد (*Olsson, 1960*).

۲-۳-۲ کلزای لهستانی یا شلغم روغنی (B. rapa)

این گونه در گذشته *B.campestris* نامیده می‌شد. در کانادا به کلزای لهستانی معروف است و یکی از گونه‌های بدون غده، شلغم روغنی می‌باشد. ارقام بهاره و زمستانه این گونه با عدد کروموزومی ۲۰ به عنوان منبع روغن مورد استفاده قرار می‌گیرند. مقاوم‌ترین ارقام کلزا به سرما به این گونه تعلق دارد که در دماهای پائین از سرعت رشد نسبتا بالایی برخوردار می‌باشند. ارقام این گونه دارای بذور قهوه‌ای یا زرد رنگ هستند *(Yadava, 1976)*.

۲-۳-۳ خردل هندی (B. juncea)

این گونه را با عدد کروموزومی ۳٦ می‌توان بوسیله رنگ بذور آن شناسایی کرد و دارای بذور قهوه‌ای یا زرد رنگ است. رقم‌های با بذور قهوه‌ای به عنوان خردل قهوه‌ای و رقم‌های با بذور زرد بعنوان خردل‌زرد یا خردل‌شرقی شهرت دارند. خردل‌هندی بهاره است و با شرایط خشک سازگاری کامل دارد و معمولا زودرس نیست. درکانادا از این گونه در مناطق جنوبی که دارای بارندگی کمتری است استفاده می‌گردد(Woods, 1992). گونه مذکور با درصد بالای خودگشنی به عنوان پربارترین محصول درمیان سایر ارقام براسیکا در هند مطرح است (Singh et al., 1974). این گونه درغرب کانادا به طور عمده برای

مصارف چاشنی معرفی شد ولی توان قابل توجهی برای مطرح شدن به عنوان یک گیاه روغنی را داراست (*Woods et al., 1991*).

۲-۳-٤ خردل حبشی (B. carinata)

خردل حبشی با عدد کروموزومی ۳٤ نسبتا کم رشد است. کشت و کار آن به فلات اتیوپی و نواحی همسایه آن در شرق آفریقا محدود می‌شود. در واقع در شمال‌شرقی آفریقا جایی که گونه‌های والد آن یعنی *B. nigra* و *B. oleracea* در حیات وحش تداخل داشته‌اند بوجود آمده‌است. بذور این گونه بزرگ و غالبا سیاه رنگ بوده و بذور زرد رنگ آن نیز وجود دارد (*Prakash and Chopra, 1991*).

۲-۳-۵ خردل‌سفید یا خردل‌زرد (Sinapis alba یا B. hirta)

این گونه با عدد کروموزومی ۲٤ در اروپا به خردل سفید و در شمال امریکا به خردل‌زرد شناخته می-شود. در مناطق مذکور به طور گسترده به عنوان چاشنی (ادویه) کشت می‌شود. بذر آن بزرگ و دارای رنگ‌زرد و روشن است. برخی از گونه‌های فوق بر اساس تلاقی درون گونه‌ای در بین گونه‌های دیپلوئید اولیه سالها پیش به طور طبیعی حاصل شده است (*U, 1935*).

B. napus مهمترین گونهٔ این جنس بوده و سومین گیاه روغنی مهم جهان است (*Burbulis et al., 2007*). در کشور ایران زراعت کلزا در بین دانه‌های روغنی نسبتا جدید است. با وجود برنامه‌های مختلف در زمینه توسعه گیاهان روغنی مانند سویا و آفتابگردان در سال‌های اخیر بدلایل مختلف، امکان توسعه آنها میسر نگردیده لیکن سازگاری کلزا در اغلب مناطق کشور با توجه به کشت پائیزه آن موفق بوده است و با توجه به شرایط آب‌وهوایی کشور، این گیاه می‌تواند به عنوان زراعت اصلی یا ثانویه نیز مطرح باشد. کشت کلزا در ایران به صورت آزمایشی و محدود از اواخر دهه ۱۳٤۰ شمسی آغاز گردید. جنس براسیکا و دیگر جنس‌های تیرهٔ *Cruciferae* به منظور مصرف انسان و تغذیهٔ دامها در سطح وسیعی کشت می‌شوند ولی بیشترین سطح زیرکشت اعضای این خانواده به نوع روغنی آن اختصاص دارد. درسراسر دنیا پنج گونه از جنس براسیکا برای تولید روغن استفاده می‌شود که از بین آنها سه گونه *B. rapa (.B Campestris)* و *B. napus* و *B. Juncea* دارای اهمیت است و ۹۹ درصد سطح زیر کشت دانه‌های روغنی را به خود اختصاص می‌دهند (احمدی و جاویدفر، ۱۳۷۷).

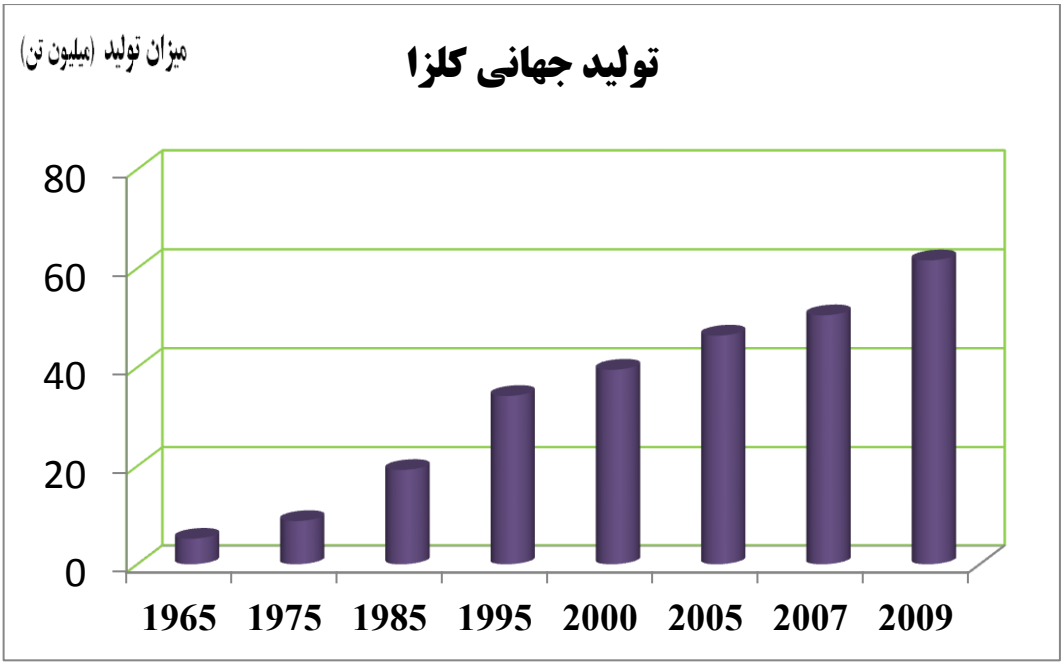
۲-٤ اهمیت و جایگاه کلزا

۲-٤-۱ اهمیت و جایگاه کلزا در جهان

کلزا بعد از سویا و نخل‌روغنی مقام سوم را در تامین روغن‌نباتی جهان دارد (احمدی و جاویدفر، ۱۳۷۷). به طوری‌که حدود ۱۵درصد کل تولید روغن‌نباتی را در جهان به خود اختصاص داده است. میزان زیاد روغن در دانه کلزا و همچنین ترکیب مناسب اسیدهای‌چرب در کلزای اصلاح شده موجب تسلط آن بر بازارهای جهانی روغن شده است. روغن ارقام کلزای دارای اسیداروسیک در صنایع صابون‌سازی، پلاستیک‌سازی و همچنین به عنوان روان‌کننده در دستگاه‌های صنعتی و موتور جت کاربرد دارد.از کنجاله دانه ارقام اصلاح شده کلزا که دارای مقدار زیادی پروتئین بوده و میزان گلوکوزینولات آن پایین است در تغذیه دام استفاده می‌شود و همچنین از اندام رویشی این ارقام به عنوان علوفه استفاده می‌شود(حجازی، ۱۳۷۹).

مجموع تولید کلزا در سال ۲۰۰۹ برابر ٦١٦٧٥٥١٨ تن گزارش گردیده که نسبت به تولید سال۲۰۰۰ معادل ۳۹۵۱۷۵۹۸ تن حدود ٥٦ درصد افزایش یافته است. مهمترین کشورهای تولید کننده کلزا در سال ۲۰۰۹ به ترتیب عبارتند از چین، کانادا، هند، آلمان، فرانسه، و نیز کشورهای لهستان، انگلستان و استرالیا که در مجموع حدود ۹٤ درصد تولید جهان را به عهده دارند. میزان تولید کلزا در سال ۲۰۰۹ در کشورهای چین (۱۳٦٥۷۰۱۲تن)، کانادا (۱۱۸۲٥٤۰۰تن)، هند (۷۲۰۱۰۰۰ تن) و کشورهای اروپایی (۲٤۸۸٤۹۷٥ تن) نسبت به سال ۲۰۰۰ به ترتیب ۲۰ درصد - ٦٤ درصد –۲٤ درصد و ۱۱۱ درصد افزایش داشته است. با وجود این که چین و هند مجموعا ۳۵ درصد کلزای جهان را تولید می‌کنند اما مهمترین عرضه‌کننده این دانه به بازار جهانی کانادا می‌باشد(آمارنامه فائو، ۲۰۰۹).

در سال ۲۰۰۹ کانادا **۵/۵** میلیون تن کلزا یعنی در حدود نیمی از تولید خود را روانه بازار ساخت. چین و هند تولیدات خود را عمدتا در داخل کشور به مصرف می‌رسانند. با مقایسه تولیدات جهانی کلزا از سال-های گذشته تا کنون به اهمیت و میزان توجه مردم دنیا به کشت کلزا پی می‌بریم.



شکل ۲-۲- مقایسه میزان تولیدات جهانی کلزا طی سال‌های سال ۱۹٦٥ الی ۲۰۰۹(آمارنامه فائو، ۲۰۰۹).

۲-٤-۲ اهمیت و جایگاه کلزا در ایران

میزان نیاز کشور به روغن‌خام براساس مصرف سرانه ۱۳/٥ کیلوگرم و با احتساب ۷۰ میلیون نفر جمعیت، ۹٤٥ هزار تن روغن تصفیه شده می‌باشد که با توجه به حدود پنج درصد افت تصفیه، میزان نیاز به روغن‌خام حدود ۹۹٥ هزار تن برآورد می‌شود و بر اساس آمارهای موجود میزان واردات روغن‌خام در سال ۱۳۷٥ برابر ۷۳۷ هزار تن بوده است(گزارشات ماهانه شرکت توسعه دانه‌های روغنی،۱۳۷۷) ودر سال ۱۳۸۳ از مرز ۱۷ کیلوگرم فراتر رفته که نشاندهنده رونود رشد مصرف روغن در کشور است. در سال ۱۳۸۲میزان نیاز کشور به روغن خام براساس مصرف سرانه ۱٦/۳ کیلوگرم حدود ۱/۰۳۹/٤٤۰ کیلوگرم بوده‌است که از خارج وارد شده است(ماهنامه روغن‌نباتی، ۱۳۸۳ الف). عمده‌ترین دانه‌های روغنی تامین کننده روغن‌خام داخلی شامل: سویا، آفتابگردان، پنبه دانه و کلزا می‌باشند و سایر دانه‌های روغنی سهم ناچیزی را تشکیل می‌دهند. بعنوان مثال درخصوص کلزا که سطح زیرکشت آن در سال ۱۳۷۳ برابر ۱۳٥ هکتار در سال زراعی ۷۹-۱۳۷۷ به ۱۸۲۰۰هکتار و ٦٤۰۰۰ هکتار در سال زراعی ۸۱-۱۳۸۰ رسیده است (رودی و همکاران، ۱۳۸۲). و در سال زراعی ۸۳-۱۳۸۲، ۷۱۰۰۰ هکتار و در سال ۸٤-۱۳۸۳، ۱٤٥۰۰۰ هکتار بوده‌است(ماهنامه روغن‌نباتی، ۱۳۸۳ ب).

ویژگی‌های خاص گیاه کلزا و سازگاری آن با شرایط آب‌وهوایی اکثر نقاط کشور باعث شده است که توسعه کشت این گیاه به عنوان نقطه امیدی جهت تامین روغن‌خام مورد نیاز کشور و رهایی از وابستگی به

شمار رود، به طوریکه در حال حاضر کلزا نقطه ثقل طرح‌های افزایش تولید دانه‌های‌روغنی درکشور محسوب می‌گردد. از جمله ویژ گی‌های زراعی این گیاه می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

۱- کلزا دارای دو تیپ بهاره و پاییزه است بنابراین امکان کشت آن در شرایط متفاوت اقلیمی وجود دارد گرچه در کشور ما عمدتا در پائیز می‌کارند .

۲- فصل رشد کلزا با سایر دانه‌های‌روغنی معمول از جمله پنبه، سویا و آفتابگردان متفاوت بوده و در زمانی که ظرفیت واحدهای روغن‌کشی خالی است این دانه برداشت می‌شود. کشت پاییزه کلزا در تناوب زراعی با غلات به ویژه گندم موجب غنا بخشیدن به تناوب‌های زراعی می‌گردد.

۳- در کشت پاییزه نیاز به آبیاری کمتر و امکان استفاده از نزولات آسمانی پائیزه و زمستانه و حتی بهاره وجود دارد.

٤- کشت کلزای پاییزه به دلیل تولید گل‌های زرد رنگ برای زنبورعسل بسیار جذاب است و زمانیکه هیچ گلی در منطقه نیست علاوه بر افزایش چشمگیر درصد باروری‌ها سبب توسعه زنبورداری نیز می‌شود.

۵- تولید مقدار قابل توجه آن می‌تواند در تامین خوراک دام‌ها در زمان کمبود علوفه نقش موثری داشته‌باشد.

٦- کنجاله حاصل از ارقام اصلاح شده کلزا را می‌توان به آسانی جایگزین کنجاله سویا نموده و مشکل نگهداری کنجاله نیز با توزیع آن در طول سال برطرف می‌گردد.

۲-۵ مزیت‌های زراعی کلزا

کلزا به علت دارا بودن صفات مثبت زراعی نظیر مقاومت به سرما و کم آبی، تحمل نسبی شوری، ارزش تناوبی بالا، بی‌تفاوتی نسبی به بافت خاک، دارا بودن ژنوتیپ‌های بهاره و پائیزه، استفاده بهینه از رطوبت و بارندگی، سهولت عملیات کاشت، داشت و برداشت، هزینه کمتر تولید وسرانجام عملکرد بالای روغن آن در واحد سطح نسبت به دیگر دانه‌های‌روغنی مورد کشت در کشور برتری داشته و می‌تواند جهت کاشت برای اکثر استان‌های کشور پیشنهاد گردد (آلیاری و شکاری، ۱۳۷۹). مقدار قابل ملاحظه تولید در واحد سطح در برخی از کشورهای پیشرفته جهان چون فرانسه، از ۳۲٦۹ کیلوگرم در سال ۱۹۹۷ به مقدار ۳۵۳۷ کیلوگرم در سال ۱۹۹۸ و درکشور آلمان از ۳۱۳٦ کیلوگرم در سال ۱۹۹۷ به ۳۳٦٤ کیلوگرم در سال ۱۹۹۸ در سطوح بالاتر از یک میلیون هکتار نشانگر مزیت توسعه این دانه‌روغنی است(آمارنامه فائو). در ۲۰ سال اخیر میزان تولید کلزا از تمام دانه‌های‌روغنی یکساله وچند ساله بیشتر بوده است که دلیل مهم آن را می‌توان موارد ذیل نام برد: وجود امکانات بالقوه برای توسعه کشت، مزیت‌های نسبی تولید، توان و ایستایی و قدرت گیاه در

مقابله با عوارض سوء طبیعی و تحمل شرایط نامطلوب حرارتی (ولدیانی و همکاران، ۱۳۸۲). کلزا با آستانه حرارتی پایین در تناوب گندم نقش حمایتی وسیع دارد ، آب کمتری نیاز داشته و باعث کاهش جمعیت علف های‌هرز می‌شود همچنین امکان تولید کاملا مکانیزه آن با هزینه پایین وجود دارد (ولدیانی و همکاران، ۱۳۸۲).

۲-٦ موارد مصرف کلزا

کلزا طی قرن سیزدهم تا پانزدهم میلادی در اروپا کشت می‌شد، اما احتمالا کشت آن در آسیا به هزاران سال قبل بر می‌گردد. این گیاه در آسیا همیشه برای تغذیه انسان و در اروپا به عنوان منبعی برای روغن‌های چراغ و نرم‌کننده استفاده می‌شده است(*Gugel and Petrie, 1992*). تهیه و استفاده روغن کلزا برای مصرف بشر اولین بار در سال ۱۹٥٦ در کانادا آغاز گردید. در انگلستان کشت کلزا در مقیاس زراعی مربوط به قرن سیزدهم بوده اگر چه قبل از این، روغن از بذور وحشی جمع‌آوری شده این گیاه برای ساخت صابون و صنعت روشنایی استفاده می‌گردید.

در قرن هفدهم از دانه کلزا برای تولید روغن در حد نیاز داخلی و کمی هم برای صادرات در انگلستان انجام می‌گرفت (*Anonymous, 1975*). بطوریکه در قرن نوزدهم کشت کلزا در بیشتر مناطق اروپا گسترش یافت. بعد از جنگ جهانی دوم علاقه به کشت کلزا در مناطق سازگار با این دانه‌روغنی افزایش یافته، بویژه در کشور کانادا که کشت این محصول از ابعاد سیاسی و اقتصادی حائز اهمیت بود (*Gugel and Petrie, 1992*). در طول جنگ جهانی دوم، کانادا هزاران هکتار از اراضی خود را برای رفع نیاز نرم کننده‌های ناوگان دریایی به کشت این گیاه اختصاص داد ولی با جایگزینی موتور دیزل به جای موتور بخار این میزان کاهش یافت.

در سال ۱۹۵۷ در کشور کانادا اولین کلزای روغنی با مقدار اندک اسیداروسیک اصلاح شد. با تولید روز افزون کلزا طی سال ۱۹٦٥ هزاران هکتار از اراضی کانادا به کشت این گیاه اختصاص یافت. در سال ۱۹۷۱ رقم اسپان[1] بعنوان اولین واریته با اسید اروسیک کم معرفی گردید و در سال ۱۹۷۳ از سوی انجمن روغن-گیری غرب کانادا یک رقم از نوع دو صفر (ارقام با اسیداروسیک زیر دو درصد و گلوکوزینولات زیر ۳۰ میکرومول) به نام تاور را انتخاب نمود و تحت عنوان کلی کانولا (امروزه کلزاهایی که از آنها روغن استخراج می‌شود را کانولا می‌نامند) معرفی شد (رودی.د، ۱۳۸۲). کشت کلزا در استرالیا از اواسط سال ۱۹٦۰ شروع شد (*Cutting, 1975*). که به این منظور از ارقام کانادایی استفاده گردید. برنامه‌های اصلاحی برای تولید ارقام تجاری در سال ۱۹۷۰ میلادی شروع شد که منجر به آزاد سازی ارقام مارنو[2] در ویکتوریا،

[1] Span
[2] *Marnoo*