دانشکده کشاورزی

گروه زراعت واصلاح نباتات

پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته بیوتکنولوژی کشاورزی

عنوان

تهیه سازه RNAi ژن‌های *fatB* و *fad2* کلزا و انتقال آن به آگروباکتریوم

استاد راهنما

دکتر بهرام باغبان

استاد مشاور

دکتر اشرف قلی زاده

پژوهشگر

صابر دلپسند خبازی

بهمن 1389

بسم الله الرحمن الرحيم

نام خانوادگی دانشجو: دلپسند خبازی نام: صابر

عنوان پایان نامه: تهیه سازه RNAi ژن‌های *fatB* و*fad2* کلزا و انتقال آن به آگروباکتریوم

استاد راهنما: دکتر بهرام باغبان

استاد مشاور: دکتر اشرف قلی زاده

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد رشته: بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه: تبریز

دانشکده: کشاورزی تاریخ فارغ التحصیلی: 89/11/18 تعداد صفحات: 76

کلید واژه‌ها: سازه، خاموشی ژن، RNAi، اسید چرب، کلزا

چکیده:

با توجه به یافته‌های جدید در زمینه اهمیت روغن در تغذیه انسان و نیز موارد صنعتی کاربرد آن، گیاهان روغنی به عنوان یکی از منابع عمده تامین کننده روغن، مورد توجه محققین قرار گرفته است. سطح زیر کشت کلزا به عنوان یک گیاه روغنی در کشور به ویژه در سال‌های اخیر در حال گسترش بوده است با توجه به این امر بهبود کیفیت روغن حاصل، از طرق مختلف از جمله دستکاری ژنتیکی گیاه، نیز بایستی مورد توجه قرار بگیرد. تحقیق حاضر در راستای امر فوق، به عنوان گام موثر در بهبود کیفیت روغن کلزا انجام گرفته است. بدین صورت که ابتدا از طریق بانک های اطلاعاتی DNA، توالی ژن‌های *fad2* و *fatB* درگیر در سنتز اسیدهای چرب در کلزا و گیاهان مشابه مورد بررسی قرار گرفت و برای تکثیر اختصاصی آن‌ها آغازگرهای مورد نیاز با استفاده از نرم افزار پرایمر- بلاست طراحی و برای سنتز سفارش داده شد. به منظور تکثیر قطعات ژنی از دستگاه ترمال سایکلر استفاده گردید. قطعات تکثیر یافته با روش PCR پس از خالص سازی از ژل آگارز با وکتور pGEMT-Easy اتصال و بعد از همسانه سازی توسط باکتری *E. coli* ، توالی یابی گردید و پس از اطمینان از توالی همسانه‌سازی شده، اقدام به همسانه‌سازی این قطعات در یک وکتور دوگانه بعنوان سازه RNAi گردید و در نهایت پس از تایید قطعات مورد هدف، آگروباکتریوم

حاوی سازه RNAi با روش ذوب و انجماد تهیه گردید که سازه مذکور شامل رشته سنس و آنتی-سنس قطعات *fatB* و *fad2* تحت راه‌انداز 35S و پایان دهنده *nos* می‌باشد ؛ که گام موثری در جهت تولید گیاه کلزا با محتوای اسیداولئیک بالا در تحقیقات آینده محسوب می‌گردد.

تقدیم به:

آنان که تپیدن قلب غیر خود، بهانه زندگی شان است.

سپاس

سپاس پروردگار علیم را که اجازه فرمود با اسرار دانش و حکمتش بیشتر آشنا شویم، خدایی که همواره با صبر و بزرگواری رفتار نمود و بندگان را هیچگاه به حال خویش وا ننهاد. سپاس خدای مهربان را که از سر حکمت و لطف، پدر و مادر را عاشق و پر مهر آفرید. سپاس خدای بخشنده را به خاطر انسان‌هایی که از سر سخاوت هر چه از علم آموخته اند، بی هیچ منت می‌آموزند و سپاس ذات اقدس را که امواج پر مهر را با هم آشنا نمود.

فهرست مطالب

فصل اول: بررسی منابع

1-1- گیاه شناسی کلزا 1

1-2- واکنش گیاه به دمای محیطی 2

1-3- تاکسونومی 3

1-4- گونه‌های روغنی جنس *Brassica* 4

1-4-1- گونه کلزا *(Brassica napus)* 4

1-4-2- گونه شلغم روغنی *(Brassica rapa)* 5

1-4-3- گونه خردل هندی *(Brassica juncea)* 5

1-4-4- گونه خردل سفید *(Brassica hirta)* 5

1-4-5- گونه خردل حبشی *(Brassica carinata)* 6

1-5- کاربردهای گیاه کلزا 6

1-6- ساختار و ویژگی روغن‌ها 8

1-7- بررسی کارهای انجام یافته برای تغییر محتوای اسیدهای چرب روغن 10

1-8- مکانسیم خاموشی ژن تداخل RNA (RNAi) 16

1-9- توصیف کلی روش و مسیر RNAi در گیاهان 18

1-10- مکانیسم ملکولی 20

1-11-آگروباکتریوم 21

فصل دوم: مواد و روش‌ها

2-1- مطالعات بیوانفورماتیکی 25

2-1-1- طراحی آغازگر 29

2-2- کشت بذور گیاهی 30

2-3- استخراج DNA ژنومی 31

2-3-1- الکتروفورز 32

2-4- تکثیر قطعات ژنی با استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمراز
(PCR).....33
2-4-1- خالص سازی محصولات
PCR.....34
2-5- واکنش اتصال.....35

2-6- تهیه سلول‌های مستعد باکتریایی.....36
2-6-1- انتقال قطعات ژنی اتصال یافته با وکتور خطی به سلول‌های مستعد باکتری (تراریختی).....
.....37
2-6-2- استخراج
پلاسمید.....38
2-7- انتقال قطعه *fatB* بر روی وکتور حاوی *fad2* (تهیه رشته سنس *fad2-fatB*
).....39
2-8- تهیه رشته آنتی
سنس.....40
2-8-1- اتصال رشته آنتی سنس در وکتور حاوی رشته
سنس.....41
2-8-2- انتقال رشته سنس و آنتی سنس بر روی پلاسمید
pBI121.....44
2-8-3- انتقال پلاسمید pBI121 حاوی کاست ژنی درون باکتری *E.coli*.....
.....44
2-8-4- تهیه سلول‌های مستعد
آگروباکتریوم.....44
2-8-5- تراریختی سلول‌های آگروباکتریوم با استفاده از روش ذوب و انجماد.....45

فصل سوم : بحث و نتیجه گیری

3-1- مطالعات
بیوانفورماتیک.....47
3-2- کشت بذور
گیاهی.....52
3-3- استخراج DNA ژنومی.....53
3-4- تکثیر قطعات ژنی با استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمراز(PCR)
.....54

3-4-1- خالص سازی محصولات PCR.....56
3-5- تهیه سلول‌های مستعد باکتریایی.....56
3-6- واکنش اتصال، تراریختی واستخراج 58
3-7- انتقال قطعه *fatB* بر روی وکتور حاوی *fad2* (تهیه رشته سنس *fad2-fatB*
).....61
3-8- تهیه قطعه آنتی سنس و همسانه سازی
آن.....64
3-9- اتصال رشته آنتی سنس در وکتور حاوی رشته
سنس.....66
3-10- توالی نوکلئوتیدی رشته مستقیم سنس- آنتی-
سنس.....67
3-11- برش وکتور pBI121 و وکتور حاوی رشته سنس- آنتی
سنس.....69
3-12- اتصال قطعه سنس–آنتی سنس با وکتور
pBI121.....69
3-13- تهیه آگروباکتریوم حاوی سازه
RNAi.....70
نتیجه گیری
وپیشنهادها 71
منابع مورد
استفاده:.....73

فهرست جداول

جدول 1 - ترکیب یا محتوای اسیدهای چرب در روغن دانه کلزا(%).....11

فهرست اشکال

شکل 1- مسیر بیوسنتزی اسید های چرب.....14
شکل 2- مسیر RNAi.....19
شکل 3- مسیر RNAi در گیاهان.....19
شکل 4- ساختار وکتور دوگانه و مشخصات Ori آن همراه با مارکرهای گزینش‌گر.....22
شکل5- شکل - ساختار وکتور باینری pBI121 23

شکل 1 - جمع آوری داده‌های مربوط به توالی قطعات ژنی ثبت شده در پایگاه NCBI.....25
شکل 2- جایگاه‌های برشی موجود در توالی قطعه *fad2*.....26
شکل 3- جایگاه‌های برشی موجود در توالی قطعه *fatB*.....27
شکل 4- شمای کاست ژنی در وکتور pGEMT-Easy.....28
شکل 5- وکتور همسانه سازی pGEMT-Easy.....29
شکل 6 - طراحی آغازگر با استفاده از نرم افزار Primer-Blast.....30
شکل 7– دستگاه ترمال سایکلر.....33

شکل 1- آغازگرهای طراحی شده برای قطعه ژنی *fad2*.....48
شکل 2- بلاست آغازگرهای طراحی شده با توالی‌های ثبت شده در پایگاه NCBI.....48
شکل 3- آغازگرهای طراحی شده برای قطعه ژنی *fatB*.....49
شکل 4- بلاست آغازگرهای طراحی شده با توالی‌های ثبت شده در پایگاه NCBI.....49
شکل 5- همردیفی آغزگرهای طراحی شده با توالی قطعه ژنی *fad2* با استفاده از نرم افزار CLUSTAL W.....50
شکل 6 - همردیفی آغزگرهای طراحی شده با توالی قطعه ژنی *fatB* با استفاده از نرم افزار CLUSTAL W.....51
شکل 7- گیاه کلزا کشت شده در شرایط گلخانه.....52
شکل 8 - الکتروفورز DNA ژنومی در ژل آگارز 0/8 درصد.....54
شکل 9- تکثیر قطعه ژنی *fad2* (293bp).....55
شکل 10- تکثیرقطعه ژنی *fatB* (309bp).....۵۵
شکل 11-رشد باکتری‌های مستعد فاقد پلاسمید در سطح محیط فاقد آنتی بیوتیک.....57
شکل 12- کلونی‌های حاصل از رشد باکتری حامل پلاسمید حلقوی با ژن مقاومت به آمپی سیلین.....58

شکل 13- کلونی‌های سفید- آبی حاصل شده از تراریختی پلاسمید نوترکیب حاوی قطعه *fad2* 59
شکل 14- کلونی‌های سفید- آبی حاصل شده از تراریختی پلاسمید نوترکیب حاوی قطعه *fatB* 59
شکل 15- پلاسمیدهای نوترکیب حاوی *fatB* برش یافته با آنزیم *Eco*RI..... 59
شکل 16- پلاسمیدهای نوترکیب حاوی *fad2* برش یافته با آنزیم *Eco*RI..... 60
شکل 17- درج جهت دار قطعه *fad2*..... 61
شکل 18- مراحل انتقال *fatB* بر روی پلاسمید حاوی *fad2*..... 62
شکل 19– کلونی‌های سفید حاوی قطعات ژنی *fad2* و *fatB*..... 63
شکل 20- برش وکتور حاوی دو قطعه ژنی *fad2* و*fatB* دردو مورد ازکلونی رشد یافته 1 و2..... 63
شکل 21– الکتروفورز قطعه آنتی سنس تکثیر یافته توسط واکنش PCR بر روی ژل آگارز 0/8درصد..... 64
شکل 22- تست سفید-آبی برای تشخیص کلونی‌های حاوی قطعه آنتی سنس..... 65
شکل 23- الکتروفورز قطعه آنتی سنس برش یافته توسط آنزیم *Eco*RI، در ژل آگارز 0/8درصد..... 65
شکل 24- الکتروفورز محصول colony PCR بر روی ژل آگارز 0/8درصد..... 66
شکل 25- برش وکتور حاوی رشته سنس-آنتی سنس با آنزیم‌های *Sac*I و *Xba*I و خروج قطعه 1206bp..... 67
شکل 26 – بلاست توالی نوکلئویدی رشته سنس–آنتی سنس در پایگاه NCBI..... 68
شکل 27- برش وکتور pBI121 حاوی کاست ژنی با دو آنزیم *Sac*I و *Xba*I..... 69
شکل 28 – کلونی‌های سفید آگروباکتریوم حاوی سازه RNAi..... 70

مقدمه

میزان تولید دانه‌های روغنی و منابع گیاهی_درختی روغنی (سویا، کلزا، آفتابگردان، پنبه دانه و پالم و غیره) از 330/27 میلیون تن در سال 2003 به میزان 395/5 میلیون تن در سال 2007 رسیده که نشان دهنده رشد فزاینده منبع تولید روغن گیاهی است. مهم‌ترین تولیدکنندگان جهانی دانه‌های روغنی ایالات متحده آمریکا با 97/3، برزیل با 58/36، چین با 56/55، آرژانتین با 46/79 و هند با 30/55 میلیون تن هستند و در مجموع سایر کشورهای دنیا 106/23 میلیون تن دانه تولید می‌کنند. حجم تولید روغن گیاهی در سال 2006-2007، 123/69 میلیون تن گزارش شده است که بخش اعظم آن را چهار منبع پالم (38/97درصد)، سویا (35/67درصد)، کلزا (17/78درصد) و آفتابگردان (10/75درصد) تشکیل می‌دهد و بقیه آن از سایر منابع روغنی جهان است. در ایران مصرف سرانه چربی‌های آشکار(روغن نباتی و کره نباتی) در سال 1340 بدون احتساب روغن زیتون و حیوانی در حدود 2/5 کیلوگرم بوده که در سال‌های اخیر به میزان 20 کیلوگرم رسیده است. بررسی میزان تولید دانه‌های روغنی در کشور نشان می‌دهد صنایع روغن‌کشی در کشور از سال 1341 تا 1346 به صورت انحصاری از پنبه دانه و سپس از دو منبع سویا و آفتابگردان بوده و طی سال‌های آخر دهه 70 سایر محصولات از جمله گلرنگ و کلزا نیز به آن اضافه شده است. مجموعه تولید دانه‌های روغنی در سال 1350 حدود 289/5 هزار تن بوده است که تنها از سه منبع پنبه‌دانه، آفتابگردان و سویا و مقدار بسیار کمی از دانه گلرنگ تأمین شده است. بالاترین میزان تولید دانه‌های روغنی در کل دوره یکسان نبوده و از مسایل حاکم بر عوامل محدودکننده تولید، عوامل اقتصادی و بازرگانی موثر بوده‌اند. در این مدت تولید دانه‌های روغنی متکی بر توسعه کشت آفتابگردان و سویا و به طور عمده در استان‌های گلستان و مازندران متمرکز شده است. در سال‌های اخیر با اجرای برنامه طرح تأمین دانه‌های روغنی طی برنامه چهار ساله قرار بود میزان تولید تا سال 1388-1387 به 2110 هزار تن برسد.

کلزا یکی از گیاهان روغنی با اهمیت به شمار می‌آید. کیفیت روغن حاصل از آن بستگی به ترکیب اسیدهای چرب آن دارد. ساخته شدن زنجیره‌های طویل اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع دارای مراحل مختلفی می‌باشد که هر یک از این مراحل توسط آنزیم یا آنزیم‌های متعدد کنترل می‌شود. تغییر در محتوای اسیدهای چرب روغن کلزا با استفاده از روش مهندسی ژنتیک نیازمند شناسایی، جداسازی و دستورزی کلیه عوامل سیس و ترانس درگیر در بیوسنتز اسیدهای چرب می‌باشد.

با توجه به این که هر چه میزان اسیداولئیک در روغن‌های گیاهی بیشتر باشد میزان پایداری آن در برابر اکسیداسیون بیشتر شده و در نتیجه سرعت فساد پذیری آن به طور معنی داری کاهش می‌یابد؛ این امر هم از نظر تغذیه ای برای سلامت انسان و هم از نظر کاربردهای صنعتی حائز اهمیت می‌باشد. برای نیل به این هدف یعنی افزایش میزان اسیداولئیک روش مهندسی ژنتیک با بکارگیری مکانیسم خاموشی ژن توانسته است میزان اسیداولئیک روغن کلزا را تا 89% افزایش دهد. با توجه به این که در واریته‌های مورد کشت در کشور میزان اسیداولئیک می‌تواند از این طریق افزایش یابد، انجام تحقیق حاضر گام موثری برای عملی ساختن این هدف به حساب می‌آید.

بنابراین تحقیق حاضر با اهداف زیر انجام گردید:

الف. همسانه سازی قطعات ژنی *fad2* و *fatB* کلزا

ب. تهیه کاست ژنی حاوی رشته سنس و آنتی‌سنس قطعات *fad2* و *fatB* کلزا

ج. انتقال کاست ژنی مذکور به وکتور دوگانه pBI121 به عنوان سازه RNAi

د. انتقال سازه RNAi حاصل به آگروباکتریوم

فصل اول

بررسی منابع

1- بررسی منابع

1-1- گیاه شناسی کلزا

کلزا (*Brassica napus*) گیاهی دولپه و متعلق به خانواده چلیپاییان[1] می‌باشد. از جمله گیاهان روغنی می‌باشد که دارای70 درصد خود گرده‌افشانی و30 درصد دگر گرده‌افشانی است، طوری که در غیاب باد و حشرات نیز دانه تولید می‌گردد(جیمز، 1983).

کلزا دارای یک ریشه اصلی عمودی و غالباً بلند دوکی شکل می‌باشد که قطر قسمت فوقانی آن 1 تا3 سانتیمتر می‌باشد و تا عمق 80 سانتیمتر خاک 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. همچنین گیاه را در ارتفاع زیاد با کشت متراکم در مقابل بادهای شدید حفظ می‌کند. در خاک‌های سنگین رسی عمق نفوذ ریشه کاملاً محدود می‌شود.

کلزا تولید یک ساقه اصلی می‌کند که از آن شاخه‌های زیادی منشعب می‌شود. پس از پایان زمستان ابتدا ساقه اصلی طویل می‌شود و پس از به گل نشستن ساقه اصلی شاخه‌های فرعی نیز شروع به طویل شدن می کنند. میزان شاخه دهی آن بستگی به واریته، محیط تغذیه گیاه، تکنیک‌های زراعی و غیره دارد. به عنوان مثال تراکم بوته‌ها تاثیر قابل توجهی در میزان شاخه دهی و ارتفاعی دارد که ساقه اصلی در آن شروع به انشعاب می‌کند ولی عمدتاً شاخه‌های جانبی در قسمت‌های میانی و بالایی ساقه اصلی تشکیل می‌شوند و از ساقه اصلی 8 تا10 شاخه فرعی منشعب می‌گردد. وقتی ساقه اصلی شروع به رشد می‌کند شاخه‌ها در محل اتصال

[1]- Crucifereae

برگ‌های فوقانی با ساقه، جوانه زده و هرشاخه به یک گل آذین ختم می‌شود. ساقه مقطعی تقریبا مدور دارد، عمودی و رنگ آن سبز روشن است که به مرور زمان زرد می‌گردد. ارتفاع ساقه در واریته‌های مختلف از 50 تا 200 سانتیمتر تغییر می‌کند ولی معمولا ارتفاع آن80 تا150 سانتیمتر است. کلزا غالبا از قوه تجدید رویش خوبی برخوردار است و در صورت فراهم بودن مواد غذایی کافی چنانچه تراکم بوته کم باشد می تواند با ایجاد شاخه‌های فرعی متعدد اثرات تعداد کم بوته را جبران کند.

برگ‌های کلزا به سه فرم چسبیده، ساقه آغوش، چسبیده معمولی و دارای دمبرگ می‌باشند. برگ‌های رزت اغلب بیضوی و چند قسمتی با یک لوپ 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 لوپ هستند و لبه آن‌ها ممکن است دندانه دار و یا صاف باشد. این برگ‌ها قلبی شکل بوده و در محل اتصال یک سوم ساقه را می‌پوشانند. برگ‌های کلزا بصورت متناوب روی ساقه قرار می‌گیرند. تعداد برگ‌های ساقه اصلی بسته به نوع واریته از5 تا 12 عدد در بوته‌های تیپ بهاره و تا40 عدد در بوته‌های تیپ پائیزه تغییر می‌کند. میزان تولید برگ به طول دوره گلدهی مربوط می‌باشد. ریزش برگ به دلیل برخی عوامل از جمله آفات در نواحی گرمسیری شایع است. چنانچه ریزش برگ‌ها رخ دهد تاثیر منفی بر عملکرد نهایی می‌گذارد اما پس از گلدهی اثر قابل ملاحظه ای بر آن ندارد (سوورو، 1993).

1-2- واکنش گیاه به دمای محیطی

کلزا در شرایط اقلیمی معتدله بهترین رشد را دارد. ازنظر سابقه تاریخی بیشترین میزان کارایی تولید کلزا در کشورهای انگلستان و هلند بوده که بیشتر به علت شرایط آب وهوایی و خاک این مناطق بوده است. کلزا در دماهای 10 الی 30 درجه رشد خوبی دارد که مطلوب ترین دما حدود 20 درجه سانتی گراد می‌باشد. در مرحله شکوفه دهی به دماهای بالا بسیار حساس می‌باشد حتی اگر رطوبت فراوانی در دسترس باشد. دوره

های طویل مدت بالاتر از 30 درجه به شدت موجب عقیمی و نیز کاهش بالای عملکرد می‌گردد. در طول پر شدن غلاف کلزا تا حدودی مقاومت بیشتری به دمای بالا دارد. محتوای روغنی دانه زمانی که در بازه دمایی 10 الی 15 درجه سانتی گراد رشد یافته باشد بیشترین مقدار می‌باشد. گسترش دوره‌های دمایی بالا در طول پر شدن دانه همواره موجب کاهش محتوای روغن و کیفیت دانه می‌گردد.

توانایی کلزا در تحمل دماهای پایین بستگی به مرحله رشدی و نیز میزان دوره مقاوم سازی به سرما دارد که دریافت کرده است. گیاهانی که این دوره را نداشته باشند تا دمای 4 درجه زیر صفر می‌توانند زنده بمانند اما انواع بهاره که این دوره را داشته باشند تا 12- درجه سانتی گراد هم زنده می‌مانند. انواع زمستانه در صورت داشتن دوره سرما دهی می‌توانند برای دوره کوتاه مدت در دمای 15- تا 20- درجه سانتی گراد زنده بمانند (سوورو، 1993).

1-3- تاکسونومی

کلزا[1] از دو گونه براسیکا به نام‌های *B. napus* و *B. rapa* مشتق گردیده است. انواع بهاره و زمستانه این دو گونه وجود دارند. بخش اعظم روغن کلزا که در جهان تجارت می‌شود مربوط به این دو گونه می‌باشد هر چند که بخش اندکی هم مربوط به خردل[2] مخصوصا *B. juncea* و *Sinapis alba.* می‌باشد.

علاوه بر *B. napus* و *B. rapa* جنس براسیکا دارای گونه‌های دیگری نیز می‌باشد که کشت می شوند که *B. carinata*، *B. nigra* و *B. oleracea* از این دست می‌باشند. 4 گونه *B. juncea*، *B. napus*، *B. oleracea,* و *B. rapa* که در سطح وسیعی کشت می‌شوند به شدت چند شکل می‌باشند که شامل گیاهان روغنی، گیاهان ریشه‌ای و سبزیجاتی مثل کلم چینی، بروکلی می‌باشند.

1 Rapeseed

2.Mustard

تعداد کروموزوم در گونه‌های براسیکا متفاوت می‌باشد. بیشترین تعداد کروموزوم مربوط به جنس*B. napus* می‌باشد که سطح کروموزومی به صورت 2n = 38, AACC می‌باشد. گونه‌های دیگر از نظر سطح کروموزومی به شرح زیر می‌باشند:

B. juncea (2n = 36, AABB)

B. carinata (2n = 34, BBCC)

B. nigra (2n = 16, BB)

B. oleracea (2n = 18, CC)

B. rapa (2n = 20, AA)

1-4-گونه‌های روغنی جنس *Brassica*

توانایی بذور گونه‌های مختلف جنس براسیکا در جوانه زدن و رشد در دمای پائین باعث شده است این گونه‌ها بعنوان یکی از معدود گیاهان زراعی و روغنی زمستانه که آن‌ها را در مناطق معتدل، ارتفاعات و در شرایط نسبتا خنک کشت کرده، مطرح باشند. پنج گونه از جنس براسیکا که در سطح جهان بعنوان دانه روغنی کشت می‌شوند عبارتند از:

1-4-1- گونه کلزا (*Brassica napus*)

این گونه کلزای معمولی است که عموما در اروپا و کانادا کشت می‌شود و در کانادا به کلزای آرژانتینی معروف است زیرا برای اولین بار از آنجا به کانادا وارد شده است. دارای ارقام بهاره و پائیزه با عدد کروموزومی 38 بوده و مهمترین گونه جنس براسیکا محسوب می‌شود. ارقام بهاره و زمستانه این گونه بعنوان منبع روغنی گیاهی کشت می‌گردد ولی 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 استفاده می‌شود. بذور آن اغلب به رنگ سیاه بوده و در حالت طبیعی فرم‌هایی با بذور زرد رنگ نیز وجود دارد بنظر می‌رسد رنگ زرد بذر با مقدار کمتر تانن در بذور و نازک تر بودن پوسته بذر ارتباط داشته و سبب می‌شود که میزان روغن و پروتئین بذر بیشتر و مقدار الیاف و فیبر کنجاله کمتر باشد.

1-4-2-گونه شلغم روغنی (*Brassica rapa*)

قبلا این گونه (*B. campestris*) نامیده می‌شد. در کانادا به کلزای لهستانی معروف است زیرا برای اولین بار از آنجا وارد کانادا شده است . این گونه یکی از گونه‌های بدون غده شلغم واقعی می‌باشد. ارقام بهاره و زمستانه این گونه با عدد کروموزومی برابر 20 بعنوان منبع روغن مورد کشت و کار قرار می‌گیرند. مقاومترین ارقام کلزا به سرما به این گونه تعلق دارد که در دماهای پائین از سرعت رشد نسبتا بالایی برخوردار می-باشند. ارقام این گونه دارای بذور قهوه‌ای یا زرد رنگ هستند.

1-4-3- گونه خردل هندی (*Brassica juncea*)

این گونه با عدد کروموزومی برابر36 را می‌توان بوسیله رنگ بذور آن شناسایی کرد. این گونه دارای بذور قهوه‌ای یا زرد رنگ می‌باشند. رقم‌های با بذور قهوه‌ای رنگ بعنوان خردل قهوه‌ای و رقم‌های با بذور زرد رنگ بعنوان خردل زرد یا خردل شرقی شهرت دارند. خردل هندی بهاره است و با شرایط خشک سازگاری کامل دارد و نسبتا زودرس می‌باشد.

1-4-4-گونه خردل سفید (*Brassica hirta*)

این گونه با عدد کروموزومی برابر24 است. در اروپا به خردل سفید و در شمال امریکا به خردل زرد معروف است. این گونه در کشورهای مذکور به طور گسترده بعنوان چاشنی(ادویه) کشت می‌شود. بذر آن بزرگ و دارای رنگ زرد و روشن است.

1-4-5-گونه خردل حبشی(*Brassica cartinata*)

این گونه با عدد کروموزومی برابر 34 نسبتا کم رشد است. کشت و کار آن به فلات اتیوپی و نواحی هم جوار آن در شرق آفریقا محدود می شود. بذور این گونه بزرگ و غالبا سیاه رنگ هستند ولی فرم‌های دارای بذور زردرنگ نیز وجود دارد.

1-5- کاربردهای گیاه کلزا

گیاه کلزا به منظورهای مختلفی کشت می‌گردد که از این میان می‌توان به موارد ذیل اشاره کرد: به عنوان علوفه برای تغذیه احشام و نیز منبعی برای تهیه روغن می‌باشد. روغن استحصال شده در مصارف خوراکی، بیودیزل، روان کننده، ساخت صابون ، لوازم آرایشی و ... بکار برده می‌شود (جیمز، 1983). روغن کلزا برای اولین باردر قرن 19 به منظور گریس موتور تولید شد. که این روغن از نظر تغذیه احشام و انسان به خاطر مزه تلخ ناشی از گلوکوزینولات کمتر مورد استفاده بود . کانولا به منظور کاهش گلوکوزینولات تولید شده بود که منجر به خوشمزه تر شدن روغن گردید. یکی از تاثیرات جانبی تولید کانولا کاهش اسیداوروسیک می‌باشد.

امروزه کلزا برای تغذیه حیوانات و نیز روغن گیاهی برای مصرف انسان و نیز بیودیزل کشت می شود. پیشگامان تولید این روغن در جهان اتحادیه اروپا، کانادا، استرالیا، ایالات متحده، چین و نیز هند می باشند. طبق اعلام دپارتمان کشاورزی ایالات متحده کلزا به عنوان سومین منبع روغن گیاهی در جهان در سال 2000 بعد از سویا و روغن پالم ونیزدومین منبع پروتئین تغذیه‌ای بعد از سویا بوده است.

دانه کلزا دارای 25 تا 55 درصد روغن ، 18 تا 24 درصد پروتئین و 12 تا 20 درصد پوست است(بی نام، 2008). روغن کلزای طبیعی شامل 50 درصد اسیداوروسیک می باشد. بذور اصلاح نشده حاوی سطوح بالای گلوکوزینولات می باشند که این ماده به طور معنی داری موجب کاهش ارزش غذایی روغن می‌شود.