بسم الله الرحمن الرحيم

١١٠٨٤٤

۸۷/۱/۱۰۵۹۴۶
۸۷/۱۲/۵

دانشکده علوم

بررسی اثر تنش شوری روی تجمع مواد محلول سیتوزولی و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانتی دو رقم کلزا (*Brassica napus* L.).

پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی

پژوهشگر

هاجر قربان‌نژاد نی‌ریزی

اساتید راهنما

دکتر ریحانه عموآقایی

دکتر اکبر مستاجران

۱۳۸۷ /۱۱/ ۳۵

استاد مشاور

دکتر بهزاد شارقی

۱۳۸۷

۱۱۰۸۳۳

دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی

پایان نامه ی کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی گیاهی

هاجر قربان نژاد

تحت عنوان

بررسی اثر تنش شوری روی تجمع مواد محلول سیتوژولی و پاسخهای آنتی اکسیدانی دو رقم کلزا

در تاریخ ۱۳۸۷/۷/۱۵ توسط هیأت داوران زیر بررسی و با درجه عالی به تصویب نهایی رسید.

۱- استاد راهنمای اول پایان نامه دکتر ریحانه عموآقایی با مرتبه علمی استاد یار امضاء

۲- استاد راهنمای دوم پایان نامه دکتر اکبر مستأجران با مرتبه علمی دانشیار امضاء

۳- استاد مشاور پایان نامه دکتر بهزاد شارقی با مرتبه علمی دانشیار امضاء

۴- استاد داور داخل گروه دکتر پرتو روشندل با مرتبه علمی استادیار امضاء

۵ - استاد داور خارج از گروه دکترعلی اکبراحسانپور با مرتبه علمی دانشیار امضاء
از دانشگاه اصفهان

۶- نماینده تحصیلات تکمیلی دانشکده علوم پایه دکتر علیرضا نقی پور امضاء
با مرتبه علمی استادیار

دکتر محمد مردانی

معاون پژوهشی و تحصیلات تکمیلی

دانشکده علوم پایه

۱۳۸۷ /۱۱/ ۳۵

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات،
ابتکارات و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع
این پایان نامه متعلق به دانشگاه شهرکرد است.

گلبرگی از آموخته هایم را متواضعانه تقدیم می کنم

به:

آنکه دلها هر صبح و شام در انتظار طلوعش می تپد که بیاید و کشتی سرگردان دلهای عاشق با ظهورش در ساحل آرامش لنگر گیرد...

به:

پدر و مادرم، زیباترین تفسیر ایثار و شکیبایی که سخاوتمندانه و با دلسوزی همواره یاریگر من بوده اند.

به:

همسر عزیزم که صبورانه در تمامی لحظات حمایت خویش را از من دریغ نداشته است.

و به فرزند دلبندم، مهدی، که در راه علم و ایمان تلاش خواهد نمود.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

چکیده

فصل اول

مقدمه و بررسی منابع ۲

۱-۱- چشم‌اندازی بر گیاه کلزا(*Brassica napus* L.) ۲

۱-۱ -۱- تاریخچه کشت کلزا ۲

۱-۱-۲-کشت کلزا در جهان و ایران ۳

۱-۱-۳-اهمیت کلزا ۴

۱-۱-۴- جایگاه سیستماتیکی و خصوصیات گیاهشناسی گیاه کلزا ۵

۱-۱-۵- روابط ژنومی گونه‌های روغنی جنس براسیکا ۶

۱-۱-۶- مراحل فنولوژی ۸

۱-۱-۷- مناطق رویش و کشت کلزا ۸

۱-۲- تنش شوری ۱۰

۱-۲-۱- خاک‌های شور مشکل در حال افزایش کشاورزی جهان و ایران ۱۱

۱-۲-۲- طبقه‌بندی گیاهان در پاسخ به تنش شوری ۱۲

۱-۲-۲-۱- پاسخ گلیکوفیت‌ها به شوری ۱۳

۱-۲-۲-۲- پاسخ هالوفیت‌ها به شوری ۱۴

۱-۲-۳- مکانیسم اثر نمک ۱۵

۱-۲-۳-۱- اثرات اسمزی ۱۵
۱-۲-۳-۲- اثرات سمیت یون‌ها ۱۵
۱-۲-۳-۳- اثرات اکسیداتیو ۱۶
۱-۲-۴- مکانیسم‌های مقاومت گیاه به شوری ۱۹
۱-۲-۴-۱- انتقال کم نمک به برگ‌ها ۱۹
۱-۲-۴-۱-۱- جذب انتخابی یون‌ها توسط سلول‌های ریشه یا تنظیم نسبت Na^+/K^+ ۱۹
۱-۲-۴-۱-۲- بارگیری انتخابی یون‌ها درآوندچوبی ۲۰
۱-۲-۴-۱-۳- پاک شدن نمک از آوندچوبی در بخش‌های فوقانی ریشه‌ها ۲۰
۱-۲-۴-۲- کنترل غلظت نمک در سیتوپلاسم ۲۱
۱-۲-۴-۲-۱- تشکیل غدد و کیسه‌های ترشح‌کننده نمک ۲۱
۱-۲-۴-۳- تنظیم اسمزی ۲۱
۱-۲-۴-۳-۱ حجره‌بندی یون‌ها در واکوئل ۲۲
۱-۲-۴-۳-۲- بیوسنتز اسمولیت‌ها ۲۵
۱-۲-۵- گسترش سیستم‌های مقاومت در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از شوری ۲۷
۱-۲-۶- استراتژی‌های غلبه بر شوری ۳۰
۱-۳- تحمل شوری در دانه‌های روغنی براسیکا ۳۳
۱-۳-۱- نقش ژنتیک در مقاومت به شوری گونه‌های براسیکا ۳۴
۱-۳-۲- اثر شوری بر مراحل مختلف رشدگونه‌های براسیکا ۳۴
۱-۳-۲-۱- جوانه‌زنی، ظهور و رشد دانه‌رست‌های اولیه ۳۵
۱-۳-۲-۲- رشد و اجزاء عملکرد ۳۷
۱-۳-۳- اثرات شوری، بر جنبه‌های مختلف فیزیولوژیکی گیاهان ۳۹
۱-۳-۳-۱- روابط آبی ۳۹
۱-۳-۳-۲- فتوسنتز ۴۱
۱-۳-۳-۳- روابط یونی ۴۲
۱-۳-۳-۴- مواد و محلول‌های آلی ۴۴
۱-۳-۳-۴-۱- قندهای محلول ۴۵
۱-۳-۳-۴-۲- محتوای پروتئینی ۴۵
۱-۳-۳-۴-۳-اسیدهای آمینه آزاد ۴۶
۱-۳-۳-۴-۴-اسیدهای چرب و روغن دانه ۴۷
۱-۳-۳-۴-۵-گلوکوزینولات‌ها در آرد دانه ۴۹
۱-۳-۴- شرایط ارزیابی تحمل شوری گونه‌های براسیکا در شرایط درون‌شیشه *in vitro* ۵۰
۱-۳-۵- چشم‌اندازهایی برای تقویت مقاومت به شوری در براسیکاها ۵۱
۱-۳-۶- اهداف ۵۵

فصل دوم

مواد و روش‌ها ۵۶

۲-۱- تهیه بذر ۵۷

۲-۲- مراحل کشت بذرها درون پتری دیش ۵۷

۲-۲-۱- آماده‌سازی بذرها ۵۷

۲-۲-۲- روش آزمایش ۵۷

۲-۳- آزمایش‌های اثر تنش شوری بر دو رقم انتخابی حساس و مقاوم کلزا در محلول غذایی هوگلند ۵۸

۲-۳-۱- تهیه محلول غذایی هوگلند ۵۸

۲-۳-۲- روش کاشت در گلدان ۵۹

۲-۳-۳- سنجش وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه ۶۰

۲-۳-۴- سنجش کلروفیل ۶۰

۲-۳-۵- سنجش کربوهیدارت‌های محلول ۶۱

۲-۳-۶ سنجش اسیدآمینه پرولین ۶۱

۲-۳-۷- سنجش میزان نشت الکترولیتی غشاء پلاسمایی ۶۲

۲-۳-۸- سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء ۶۳

۲-۳-۹- سنجش محتوای نسبی آب برگ (RWC) ۶۳

۲-۳-۱۰- اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی ۶۴

۲-۳-۱۰-۱- روش استخراج عصاره آنزیمی ۶۴

۲-۳-۱۰-۲- روش اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسیددیس‌موتاز(SOD) ۶۴

۲-۳-۱۰-۳- روش اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز(CAT) ۶۴

۲-۳-۱۰-۴- روش اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز(GPX) ۶۵

۲-۳-۱۰-۵- روش اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز(APX) ۶۵

۲-۳-۱۱- سنجش غلظت پروتئین به روش Bradford ۶۵

۲-۴- تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها ۶۷

فصل سوم

نتایج ۶۹

۳-۱- نتایج حاصل از مرحله کشت درون پتری دیش ۶۹

۳-۱-۱- بررسی و تعیین ارقام مقاوم و حساس به شوری ۶۹

۳-۲- نتایج حاصل از مرحله کشت گلدانی ۷۵

۳-۲-۱- بررسی اثر رقم و شوری بر شاخص‌های رشد ۷۵

۳-۲-۲- بررسی اثر رقم و شوری بر شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ۸۱

۳-۲-۲-۱- بررسی اثر رقم و شوری بر مقدار کلروفیل و تجمع اسمولیت‌ها ۸۱

۳-۲-۲-۲- بررسی اثر رقم و شوری بر محتوای نسبی آب، نشت الکترولیتی و پراکسیداسیون لیپیدی غشاها ۸۵

۳-۲-۲-۳- بررسی اثر رقم و شوری بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی ۸۹

فصل چهارم

بحث ۹۵
۴-۱- اثر شوری بر درصد جوانه‌زنی و طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه نه رقم کلزا ۹۵
۴-۲- اثر شوری بر شاخص‌های رشد ۹۷
۴-۳- اثر شوری بر میزان کلروفیل ۹۸
۴-۴ اثر شوری بر میزان پرولین ۹۹
۴-۵ اثر شوری بر میزان قندهای محلول ۱۰۱
۴-۶- اثر شوری بر تغییرات پراکسیداسیون لیپیدی و نشت الکترولیتی مواد ۱۰۲
۴-۷- اثر شوری بر تغییرات محتوای آبی (RWC) برگ ۱۰۴
۴-۸- اثر شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی ۱۰۶
۴-۹- اثر شوری بر محتوای پروتئین‌های محلول ۱۰۸
نتیجه گیری ۱۰۹
پیشنهادات ۱۱۰
منابع ۱۱۱

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۱- تجزیه مواد تشکیل دهندهٔ بذر کلزا ۵

جدول۱-۲- مقایسه تحمل شوری در گونه های مهم براسیکای روغنی ۳۷

جدول ۱-۳ - محتوای اورسیک اسید(در درصد روغن)۸ دودمان کلزا در غلظت‌های مختلف شوری ۴۹

جدول ۲-۱- نام ارقام و علامت اختصاری آنها ۵۶

جدول ۲-۱- محلول‌های اولیه حاوی عناصر پر مصرف ۵۸

جدول ۲-۲- محلول‌های اولیه حاوی عناصر کم مصرف ۵۹

جدول۳-۱-مقادیر F حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط درصد جوانه زنی، طول ریشه چه و ساقه چه نه رقم کلزا ۶۹

جدول۳-۲ مقایسه میانگین‌های اثر دو عامل رقم و تیمار نمک بر درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه ۷۰

جدول ۳-۳- اثرات متقابل تیمار های نمک و ارقام بردر صد جوانه‌زنی دانه‌های نه رقم کلزا در ظروف پتری ۷۲

جدول ۳-۴- اثرات متقابل تیمار های نمک و ارقام بر رشد طولی ساقه‌چه دانه‌های نه رقم کلزا در ظروف پتری۷۳ ..... ۷۳

جدول ۳-۵- اثرات متقابل تیمار های نمک و ارقام بر رشد طولی ریشه‌چه دانه‌های نه رقم کلزا در ظروف پتری ۷۴

جدول ۳-۶ مقادیر F حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به وزن تر و خشک ساقه وریشه دو رقم کلزا ۷۷

جدول۳-۷ مقایسه مقادیرمیانگین‌های وزن‌تر و خشک ساقه و ریشه تحت اثر دو عامل رقم و شوری ۷۷

جدول۳- ۸ مقادیر F حاصل از تجزیه واریانس اثر دو فاکتور رقم و تیمار بر شاخص‌های فیزیولوژیکی ۸۱

جدول۳-۹ مقایسه میانگین‌های اثر دو عامل رقم و شوری بر میزان پرولین ، قندهای محلول و کلروفیل ۸۲

جدول۳-۱۰ مقادیر F حاصل از تجزیه واریانس اثر دو فاکتور رقم و نمک بر میزان نشت الکترولیتی غشا، محتوای نسبی آب و مالون‌دآلدهید ۸۵

جدول۳-۱۱ مقایسه میانگین‌های نشت الکترولیتی غشا، محتوای نسبی آب و مالون‌دآلدهید تحت اثر دو عامل رقم و شوری ۸۵

جدول۳-۱۲ مقادیر F حاصل از تجزیه واریانس اثر دو فاکتور رقم و تیمار بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی ۸۹

جدول۳-۱۳ مقایسه میانگین‌های اثر دو فاکتور رقم و شوری بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی ۸۸

فهرست شکل‌ها و تصویرها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱- - روابط بین گونه‌های مختلف آمفی دیپلوئید و دیپلوئید براسیکا..... ۶
شکل۱-۲ القاء مسیر پیام رسانی SOS جهت برقراری هموستازی یون..... ۲۳
شکل ۳- ۱ اثر متقابل رقم و شوری بر وزن تر ساقه گیاهچه‌های مقاوم و حساس کلزا به شوری ۷۸
شکل ۳- ۲ اثر متقابل رقم و شوری بر وزن تر ریشه گیاهچه‌های مقاوم و حساس کلزا به شوری..... ۷۹
شکل ۳- ۳ اثر متقابل رقم و شوری بر وزن خشک ساقه گیاهچه‌های مقاوم و حساس کلزا به شوری..... ۸۰
شکل ۴- ۳ اثر متقابل رقم و شوری بر وزن خشک ریشه گیاهچه‌های مقاوم و حساس کلزا به شوری..... ۸۰
شکل۳-۵- اثر متقابل دو فاکتور رقم و شوری بر میزان کلروفیل برگ‌های دو رقم مقاوم و حساس کلزا به شوری..... ۸۳
شکل ۳-۶ اثر متقابل دو فاکتور رقم و شوری بر میزان پرولین در برگ‌های دو رقم حساس و مقاوم کلزا به شوری..... ۸۳
شکل۳-۷ اثر متقابل دو فاکتور رقم و شوری بر میزان قندهای محلول دو رقم حساس و مقاوم کلزا به شوری..... ۸۴
شکل۳-۸- اثر متقابل رقم و شوری بر میزان نشت الکترولیتی غشاء در دو رقم حساس و مقاوم کلزا به شوری ۸۶
شکل۳-۹- اثر متقابل رقم و شوری بر محتوای آبی برگ‌های دو رقم حساس و مقاوم کلزا به شوری..... ۸۷
شکل۳-۱۰- اثر متقابل رقم و شوری بر میزان پراکسیداسیون لیپیدی در دو رقم حساس و مقاوم کلزا به شوری ۸۸
شکل ۳-۱۱- اثر متقابل رقم و شوری بر فعالیت آنزیم سوپراکسیددیس‌موتاز دو رقم حساس و مقاوم کلزا به شوری ۸۹
شکل۳-۱۲- اثر متقابل رقم و شوری بر فعالیت آنزیم کاتالاز دو رقم حساس و مقاوم کلزا به شوری.....۹۱
شکل۳-۱۳- اثر متقابل رقم و شوری بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز رقم حساس و مقاوم کلزا به شوری ۹۲
شکل ۳-۱۴- اثر متقابل رقم و شوری بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز دو رقم حساس و مقاوم کلزا به شوری.....۹۳
شکل۳-۱۵- اثر متقابل رقم و شوری بر محتوای پروتئین‌های محلول دو رقم حساس و مقاوم کلزا به شوری..... ۹۳
شکل ۴-۱ نمودار همبستگی بین میزان پراکسیداسیون لیپیدی و میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیس‌موتاز.....۱۰۲
شکل ۴-۲ نمودارهمبستگی بین میزان نشت الکترولیتی و پراکسیداسیون لیپیدی غشا ۱۰۳
شکل ۴-۳ نمودارهمبستگی بین میزان نشت الکترولیتی و فعالیت آنزیم سوپراکسیددیس‌موتاز.....۱۰۴

تصویر ۳-۱ اثر تنش شوری بر اندام های هوایی و ریشه رقم مقاوم هایولا۳۰۸ در محیط کشت هیدروپونیک ۷۵
تصویر ۳-۲ مقایسه اثر سطوح مختلف تنش شوری بر گیاهچه های دو رقم مقاوم و رقم حساس کلزا به شوری در محیط کشت هیدروپونیک ۷۶

چکیده

شوری به عنوان یکی از خطرات در حال گسترش محیطی و محدود کننده تولیدات کشاورزی خصوصاً در مناطق خشک جهان نظیر ایران شناخته شده است. گونه‌های دانه روغنی براسیکا سومین منبع مهم روغن گیاهی در جهان به شمار می‌آید. در همین راستا گیاه کلزا که از گیاهان استراتژیک بوده و ارزش اقتصادی بالایی دارد برای این پژوهش برگزیده شد. از بین ۹ رقم رایج کلزا بر اساس طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، درصد جوانه‌زنی دو رقم مقاوم(هایولا۳۰۸) و حساس(هایولا۴۲۰) به شوری انتخاب گردید. رشد گیاهان درمحیط‌های هیدروپونیک حاوی غلظت‌های مختلف(۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار)NaCl با هوادهی انجام پذیرفت. گیاهان در اتاق رشد با فتوپریود نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در درجه حرارت ۲±۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری گردیدند. سپس واکنش ارقام انتخابی به تنش شوری از جنبه‌های اثر بر میزان کلروفیل، تجمع اسمولیت‌هایی نظیر پرولین، قند و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی ازقبیل سوپراکسیددیس‌موتاز، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز و وضعیت غشاءها از نظر پراکسیداسیون لیپیدی و نشت الکترولیتی مورد بررسی قرار گرفت. تعیین میزان کلروفیل، قند و پرولین با روش اسپکتروفتومتری و پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و محتوای پروتئین‌های محلول به ترتیب با استفاده ار روش‌های به روش Heath-Packer(1986)، Giannopolitis-Ries(1977)، Aebi(1984)، Nakano-Asada(1981) و Bradford(1976) اندازه‌گیری گردید. با افزایش تنش شوری میزان وزن تر وخشک ساقه و ریشه، کلروفیل، کربوهیدرات‌های محلول و محتوای نسبی آب برگ‌ها در هر دو رقم کاهش نشان داد. میزان پرولین با افزایش تنش شوری افزایش یافت که مقدار افزایش یافته در رقم مقاوم بطور معنی‌داری بیش از رقم حساس بود. بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی نشان داد که به موازات افزایش سطوح شوری مقدار فعالیت آنزیم های SOD, CAT , GPX افزایش نشان داد. از آنجایی که تنش‌های محیطی سبب افزایش میزان گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌گردند و در نهایت منجر به کاهش رشد و نموگیاهان می‌شود. بنابراین بالا بودن فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی که سبب کاهش غلظت ROS می‌گردد و همچنین افزایش میزان پرولین به عنوان یک تنظیم کننده اسمزی سازگار و حفظ کننده بیشتر تمامیت غشا را می‌توان به عنوان قسمتی از ساز و کار های مقاومت به شور ی در رقم مقاوم(H308) پیشنهاد کرد. در این پژوهش مشخص گردید که میزان پراکسیداسیون لیپیدی و نشت الکترولیتی غشاء با میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانتی ارتباط و همبستگی دارد. فعالیت این آنزیم‌ها در رقم مقاوم(H308) بیش از رقم حساس(H420) بود. این نتایج پیشنهاد می‌کنند که مقاومت به شوری گیاهان کانولا، احتمالاً وابسته به افزایش ظرفیت سیستم آنتی‌اکسیدانتی جهت هضم گونه‌های فعال اکسیژن و در نهایت کاهش سطح پراکسیداسیون لیپیدی و تجمع محافظت کننده اسمزی پرولین تحت شرایط شور می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: کلزا (*Brassica napus* L.)، شوری، کلروفیل، کربوهیدرات‌های محلول، پرولین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی، پراکسیداسیون لیپیدی غشاء، نشت الکترولیتی غشاء

فصل اول

مقدمه و بررسی منابع

مقدمه و بررسی منابع

۱-۱- چشم‌اندازی بر گیاه کلزا(*Brassica napus* L.)

۱-۱ -۱- تاریخچه کشت کلزا

کلزا گیاهی است قدیمی و اطلاعات واسناد موجود از پرورش این گیاه به ۲۰۰۰ سال قبل از میلاد در هند حکایت دارند. به نظر می‌رسد ابتدا از قسمت‌های رویشی کلزا برای مصارف پزشکی و به صورت سبزی استفاده می‌شده و احتمالاً استفاده از بذر به عنوان یک منبع روغن بعدها رایج شده است (Ashraf et al 2001).

کشت کلزا در اروپا به سال ۱۵۷۰ برمی‌گردد که در مناطقی از آلمان به عنوان سوخت چراغ روشنایی وکمتر به‌عنوان روغن خوراکی استفاده می‌شد. آغاز استفاده از روغن کلزا در کانادا به عنوان یک روغن خوراکی به سال‌های حدود دهه ۶۰ باز می‌گردد. درآن سال‌ها با اجرای عملیات به‌نژادی توسط کشاورزان میزان اروسیک اسید در روغن دانه‌های تولید شده کاهش یافت. در اواسط قرن ۱۹ از روغن کلزا برای ساخت صابون و روشنایی استفاده می‌گردید، البته هنوز در چراغ محراب برخی کلیساها روغن کلزا می‌سوزد. در نیمه دوم قرن ۱۹ با ورود روغن‌های معدنی استفاده از روغن کلزا به عنوان مصارف ذکر شده

خاتمه یافت و با ورود ماشین‌های بخار از آن برای روغن‌کاری ماشین‌ها به عنوان روغن روان‌ساز (به‌دلیل بالا بودن اورسیک‌اسید[1]) استفاده می‌شد(عزیزی و همکاران ۱۳۷۸).

در سال ۱۹۷۳ تلاش‌ها برای کاهش اثرات نا مطلوب ماده‌ای به نام گلوکوزینولات[2] را که در بخش غیر روغنی دانه وجود داشت آغاز شد. پیشرفت‌های علوم بیوشیمیایی و بیوتکنولوژی منجر به اصلاح کیفیت روغن و کنجاله کلزا شد که آنرا برای مصارف خوراکی مهیا نمود. با پیشرفت‌های بعدی در مصارف این گیاه، ارقام ویژه از این گیاه تولید شده است(Ghodsvali et al 2005).

Downy و همکاران با روش‌های بیوشیمیایی مقدار اورسیک اسید و گلوکوزینولات را در کلزا و نمونه‌های وحشی تعیین کردند. کلزا برخلاف نمونه‌های وحشی حاوی حداکثر دو درصد اورسیک اسید در روغن دانه و میزان گلوکوزینولات‌ها، کمتر از ۳۰ میکرومول برگرم وزن‌خشک دانه می‌باشد. اصطلاح کانولا توسط انجمن روغن‌کشی غرب کانادا به ثبت رسید و مالکیت تجاری آن در اختیار انجمن کانولای کانادا می‌باشد(Downey 1990, Ashraf & Ali 2008).

۱-۱-۲-کشت کلزا در جهان و ایران

سه کشور چین، هند و کانادا به ترتیب تولیدکنندگان عمدهٔ کلزا درجهان بوده و ۷۰/۷ درصد از کل اراضی زیرکشت کلزای جهان را در سال ۲۰۰۰ در اختیارداشته‌اند. کشت کلزا در ایران از اواخر دهه ۴۰ شمسی آغاز شده و در چند سال گذشته به سرعت توسعه یافته است. از جمله علل کشت کلزا در ایران می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

۱ – تجارب ارزنده کشورهای پیشرفته جهان وموفقیت چشمگیرآنها ، درنتیجه امکان دسترسی سریع به یافته‌های تحقیقاتی و اجرایی آنها .

۲– پاییزه بودن آن و در نتیجه امکان استفاده از نزولات آسمانی و نیاز کمتر به آبیاری.

۳– در تناوب زراعی با غلات و تعدادی از محصولات زراعی موجب افزایش عملکرد آنها شده وتا ۲۷٪ امکان مبارزه مطلوب با علف‌های هرز نازک برگ غلات را به وسیله علف‌کش‌های اختصاصی نازک برگ‌کش فراهم می‌سازد.

۴–در توسعه صنعت زنبورداری نقش مهمی ایفا می‌کند(در انگلستان سطح زیرکشت کلزا از درختان میوه فراتر رفته و این گیاه را به منبع اصلی تغذیه زنبورهای عسل تبدیل نموده است).

۵– در مقایسه با بعضی از دانه‌های روغنی مرسوم، درصد روغن بالایی دارد و همچنین از کیفیت تغذیه‌ای مطلوبی برخوردار است.

1- Erusic asid
2-Glucosinolate

طبق آمار سال ۲۰۰۰ ایران با ۱۷۲۴۰ هکتار اراضی زیرکشت کلزا ۰/۰۶ درصد از کل زمین‌های زیرکشت کلزا جهان را در اختیار دارد که با تولید ۱۷۰۱۰ تن سهمی برابر ۰/۰۴ درصد کل تولید جهان را به خود اختصاص داده است(شریعتی و قاضی‌شهنی‌زاده ۱۳۷۹). یعنی عملکرد کلزای ایران ۹۸۷ کیلوگرم در هکتار بوده که نسبت به متوسط جهانی ۶۷ درصد می‌باشد. در بین استان‌های کشور بیشترین میانگین میزان عملکرد کلزا در سال زراعی ۷۹-۷۸، مربوط به دشت مغان و کمترین آن با ۱۲۹ کیلوگرم در هکتار مربوط به استان کرمانشاه بوده است. دراستان چهارمحال و بختیاری کشت کلزا تقریباً از سال زراعی ۷۴-۷۳ آغاز و در سال زراعی ۷۹-۷۸ سطح زیرکشت به ۲۰ هکتار و متوسط عملکرد ۳۳۳ کیلوگرم درهکتار افزایش یافته است. در سال زراعی ۸۰-۷۹ سطح سبز این محصول در استان به ۸۰ هکتار فزونی یافته و سهمیه استان در سال زراعی ۸۱-۸۰ از سوی شرکت دانه‌های روغنی ۲۰۰ هکتار تعیین گردیده است(عزیزی و همکاران ۱۳۷۸، شریعتی و قاضی‌شهنی‌زاده ۱۳۷۹).

۱-۱-۳- اهمیت کلزا

دانه‌های روغنی سومین ذخایر غذایی جهان را تشکیل می‌دهند. این محصولات علاوه بر دارا بودن ذخائر غنی اسیدچرب، حاوی پروتئین نیز می‌باشند. در این میان کلزا به‌عنوان یکی از مهم‌ترین گیاهان روغنی در سطح جهان مطرح می‌باشد. آخرین ارقام منتشره از سوی سازمان خواربار و کشاورزی جهانی (FAO) در سال ۱۹۹۹ نشان می‌دهد، کلزا پس از سویا و نخل‌روغنی، سومین منبع تولید روغن نباتی جهان به‌شمار می‌رود(Ahmadi & Ardekani 2006).

چربی در جیره غذایی انسان، علاوه بر این که منبع بسیار مهمی از انرژی محسوب می‌شود، از جنبه‌های دیگر نیز دارای اهمیت است. ارزش انرژی زایی چربی‌ها بیش از قندها و پروتئین‌ها می‌باشد. در جانداران ۳۵-۳۰ درصد انرژی فراهم شده از چربی‌ها به دست می‌آید. چربی‌ها علاوه بر طعمی که به غذا می‌دهند موجب احساس سیری نیز می‌گردند. میزان اسیدهای چرب غیراشباع در روغن‌های گیاهی بیشتر از سایر روغن‌ها می‌باشد(شهبازی و ملک‌نیا ۱۳۷۹).

کلزا[1] یک فرم تغییر ژنتیک یافته از شلغم روغنی با اوروسیک اسید کم (یک زنجیره اسید چرب ۲۲کربنه) است. روغن کانولا (کلزا) دارای ۴۵- ۴۰ درصد چربی و ۲۳درصد پروتئین وهمچنین شامل ۶۲ درصد اسید چرب، دارای یک پیوند غیراشباع و۳۲ درصد اسید چرب دارای چند پیوند غیراشباع است(Ashraf et al 2001). این چربی‌ها با کمترین خطر در به‌وجود آوردن بیماریهای قلبی منبع مناسبی از انرژی هستند. در بین روغن‌های گیاهی روغن کانولا پایین‌ترین میزان اسیدهای چرب اشباع را دارد (۷-۶ درصد) که این میزان در حدود نیمی از اسیدهای چرب اشباع موجود در روغن زیتون، ذرت، و سویا است و

1- *B.napus*

در حدود یک چهارم از اسیدهای چرب اشباع موجود در روغن دانه‌های پنبه است. روغن کلزا سرشار از ویتامین E، حاوی امگا۳ (ضروری برای رشد غشاء مغز کودکان زیر دو سال)، ۶درصد اسید اولئیک (موثر در کاهش ابتلا به بیماری های قلبی)، ۲۰ درصد اسیدلینولئیک (موثر در درمان بیماری‌های آرتروز) و فاقدگلیسرول می‌باشد. استفاده مجدد آن برای ۵ بار نیز برای بدن مشکلی ایجاد نمی کند و تغییری در رنگ و بوی آن ایجاد نخواهد شد. ضمنا در برابر نور بسیار مقاوم است(Chan 1998).

جدول ۱-۱- تجزیه مواد تشکیل دهندهٔ بذر کلزا(اقتباس از عزیزی و همکاران ۱۳۷۸)

ترکیبات	پروتئین	روغن	رطوبت	هیدرات کربن	مواد معدنی	گلوکزینولات
مقدار ٪	۱۷-۲۵	۴۰-۴۵	۵/۵-۷/۳	۲۰-۲۵	۳/۲-۵/۳	۱-۴

کنجاله (بقایای) کلزا که نتیجه استخراج روغن از دانه کلزاست حاوی ۴۴-۳۶ در صد پروتئین بوده و یکی از مهمترین مواد اولیه تشکیل دهنده خوراک دام و طیور وآبزیان محسوب می گردد. چرا که ترکیبات ضد تغذیه‌ای آن (گلوکوزینولات‌ها) تا حد زیادی کاهش یافته و ترکیب آمینواسیدها به گونه‌ای است که به آن ارزش بیولوژیکی مطلوبی بخشیده است(Ashraf & McNeilly 2004).

با توجه به اهمیت چربی در رژیم غذایی انسان و شاخص بودن چربی وپروتئین‌های روغن کلزا نسبت به سایر دانه‌های روغنی پژوهش حاضر بر روی کلزا انجام پذیرفته است.

۱-۱-٤- جایگاه سیستماتیکی و خصوصیات گیاهشناسی گیاه کلزا

کلزا گیاهی است با نام علمی *Brassica napus* L. و به خانواده شب‌بو[1] تعلق دارد. این خانواده شامل ۳۷۵ جنس و ۳۲۰۰ گونه است که پراکنش گسترده‌ای در جهان دارند (Singh & Jain 2006).

کلزا گیاهی یک‌ساله، علفی، با شاخه‌های راست و منشعب و دارای ریشه‌ای راست می‌باشد که در مواردی طول آن به ۸۰ سانتی‌متر می‌رسد. طول ریشه وتعداد ریشه‌های فرعی بسته به نوع واریته فرق می کند. برگ‌های کلزا به سه فرم چسبیده به آغوش ، چسبیده معمولی و دارای دمبرگ مشاهده می‌شوند. گل‌آذین آن از نوع خوشه و اغلب گل‌ها به رنگ زرد هستند. گل‌ها کامل و دارای چهارکاسبرگ، چهار گلبرگ، پرچم‌ها از نوع تترادینام (چهار پرچم بلند و دو پرچم کوتاه) و مادگی دو برچه‌ای است. میوه خورجین[2] و برچه‌های این میوه توسط یک دیواره نازک از هم جدا می‌شوند. هر میوه خورجین دارای ۴۰-۱۵

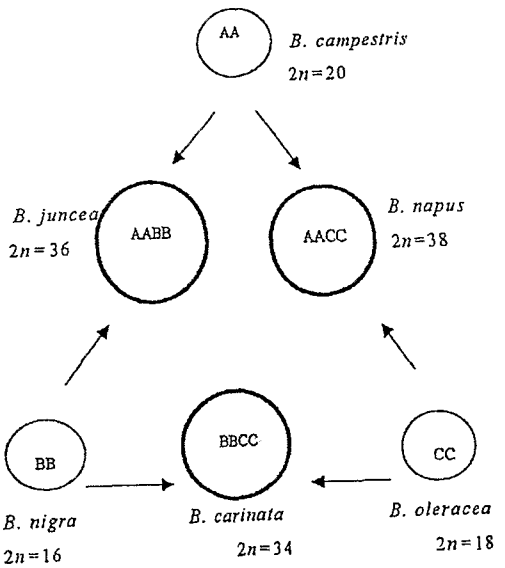
1- *Brassicaceae* = *Cruciferae*
2- Silique

بذرکوچک به‌قطر۲/۵-۱ میلی‌متر است. کلزا گیاهی عمدتاً خودگشن است که میزان خودگشنی آن بیش از ۷۰٪ می‌باشد(Towsened & Gueste 1980).

۱-۱-۵- روابط ژنومی گونه‌های روغنی جنس براسیکا

سه گونه رایج دیپلوئید براسیکا وجود دارد: *B.nigra* ,*B.campestris* و *B.oleracea* با عدد کروموزومی ۸، ۱۰ و۹ که به‌صورت A, B، وC معرفی می‌گردند. برخی گونه‌های خردل و دانه‌های روغنی اصلی از این ها مشتق شده‌اند. گونه‌های آمفی‌دیپلوئید، حاصل روابط سیتوژنتیکی هستند (He & Cramer 1992).

B. carinata(BBCC,n=17) احتمالاً از *B. oleracea*(CC,n=9) و *B. nigra*(BB,n=8) به وجود آمده است. *B. napus*(AACC,n=19) یک آمفی دیپلوئید مشتق شده از *B. oleracea* و *B.campestris*(AA,n=10) بوده و *B. juncea*(AABB,n=18) آمفی دیپلوئید حاصل از *B. campestris* و *B. nigra* می‌باشد(شکل ۱-۱)(Ashraf and McNeilly 2004).



شکل ۱-۱- روابط بین گونه‌های مختلف آمفی دیپلوئید و دیپلوئید براسیکا.

براساس طبقه‌بندی Morinaga در سال۱۹۳۴.(اقتباس از Ashraf and McNeilly 2004).

• ***Brassica napus*** .L ژنوم AC عدد کروموزومی ۱۹ = n

این گونه تحت شرایط مساعد بالاترین عملکرد را در بین سایرگونه‌ها داراست. انواع زمستانه آن در اروپا وانواع بهاره آن در سایر نقاط کشت می‌شود و اغلب نوع زمستانه آنها به فرایند بهاره سازی[1] واکنش نشان می‌دهند. بخش اعظم تحقیقات فیزیولوژیکی بر روی این گونه انجام شده است. رنگ بذرهای این گونه در حالت طبیعی به رنگ سیاه هستند، ولی با روش‌های به‌نژادی بذرهایی به رنگ زرد تولید کرده‌اند که مزیت این بذرهای زرد رنگ به بذرهای سیاه، داشتن مقدار کمتر تانن و نازک تر بودن پوست بذر می‌باشد(Bunting 1986).

• ***Brassica rapa*** .L ژنوم A عدد کروموزومی ۱۰=n

این گونه *B. campestris* هم نامیده می‌شود، ولی *B. rape* متداول‌تر است. مقاوم‌ترین ارقام کلزا به این گونه تعلق دارند. انواع بهاره *B. rape* در مقایسه با *B. napus* معمولاً زودتر گل داده و می‌رسند. بنابراین این گونه برای مناطقی که دارای فصل رشد کوتاه هستند مناسب‌تر بوده و حدود نیمی از زراعت کلزا در غرب کانادا به این گونه تعلق دارد(Bunting 1986).

• ***Brassica juncea*** ژنوم AB عدد کروموزومی ۱۸=n

این گونه بومی شبه قاره هند به‌شمار می‌آید. اخیراً محققان استرالیایی و کانادایی توجه بیشتری به این گونه دارند، چون مقدار اسید اوریک و گلوکوزینولات آن کم است(Love et al 1991). این گونه به‌علت داشتن صفات مختلفی چون جوانه‌زنی بهتر در شرایط نسبتا خشک خاک در مقایسه با سایر گونه‌ها تحمل بیشتری به گرما وخشکی دارد که احتمالا به غلظت موسیلاژ در پوسته بذرآنها ارتباط داشته و باعث نگهداری بهترآب می‌شود(Bunting 1986).

• ***Brassica carinata*** ژنوم BC عدد کروموزومی ۱۷=n

این گونه به طورگسترده‌ای در اتیوپی و به صورت محدود در هندوستان کشت می‌شود. اخیراً به دلیل مقاومت به خشکی، مقاومت به ریزش غلاف و بیماری‌ها مورد توجه قرارگرفته‌است (Bunting 1986, Alonso et al 1991).

1- Vernalization

• ***Sinapis alba*** **ژنوم D عدد کروموزومی n=۱۲**

این گونه *Brassica hirta* نیز نامیده می‌شود. در اروپا به خردل سفید و در شمال آمریکا به خردل زرد معروف است. این گونه درکشورهای مذکور به‌عنوان چاشنی کشت می‌شود. بذرهای این گونه بزرگ و دارای رنگ زرد روشن هستند(Bunting 1986).

۱-۱-٦- مراحل فنولوژی

براساس آخرین توصیف انجمن کلزای کانادا (۱۹۹۸)، این مراحل به صورت زیر تقسیم بندی شده است :

مرحله جوانه‌زنی مرحله قبل از سبز شدن می‌باشد. مرحله بعد از جوانه‌زنی، ایجادگیاه‌چه (سبز شدن) است. پس از آن مرحله روزت که نخستین، دومین وسومین برگ حقیقی گسترش می‌یابد. به دنبال آن مرحله غنچه‌دهی است که گل‌آذین در وسط روزت قابل رویت می‌شود، گل‌آذین به بالاتر از سطح روزت رشد کرده و غنچه‌های پایینی به زردی می‌گرایند. مرحله گلدهی، با شکفتن نخستین گل شروع شده و هنگامی‌که غلاف‌های پایینی شروع به دانه‌بندی می‌کنند پایان می‌یابد. در مرحله رسیدن و بلوغ، دانه‌ها با متورم شدن غلاف‌های پایینی به حد نهایی رشد رسیده و حالت شفاف پیدا می‌کنند. در ابتدای این مرحله دانه‌های غلاف‌های پایینی سبز رنگند. با تغییر رنگ، آنها زرد متمایل به قهوه‌ای یا سبزمتمایل به زرد خواهند شد و در نهایت غلاف‌های پایینی زرد یا قهوه‌ای می‌گردند. در این مرحله کلیه دانه غلاف‌ها قهوه‌ای شده و بوته می‌میرد(شهیدی و فروزان ۱۳۷۶).

۱-۱-۷- مناطق رویش و کشت کلزا

توانایی بذرهای کلزا برای جوانه زدن و رشد در دماهای پایین باعث شده این گونه به عنوان یکی از شاخص‌ترین گیاهان روغنی که می‌توان آن را در مناطق معتدله، ارتفاعات بالا و تحت شرایط نسبتاً خنک(معتدل) کشت داد مطرح می‌باشد. کلزا جزء گیاهان زمستانه و مهم‌ترین گیاه روغنی و پروتئینی یک‌ساله قابل کشت در مناطق سرد و سرد مرطوب، یعنی شرایطی که گیاهان روغنی دیگر قادر به رشد مطلوب نیستند، می‌باشد. همچنین کشت این گیاه در مناطق نیمه گرم نیز می‌تواند پروتئین و روغن قابل ملاحظه‌ای تولید نماید(انفراد و همکاران ۱۳۸۲).

مناطق اصلی رویش این گیاه عبارتند از:

• **غرب کانادا**

زمستان‌های سرد، در این منطقه باعث شده کشت کلزا به انواع بهاره آن محدود شود (Lewis & Turling 1994).