**مهتاب صمدی**
Samadi.m@arc-ordc.ir

# اصلاح کلزا (مطلب مروری)

**Breeding Rapeseed (review)**

کارشناس ارشد بیوتکنولوژی گیاهی، مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر، شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

## مقدمه

خانواده براسیکاسه (Brassicaceae) یا کروسیفر (Cruciferae) شامل تقریبا ۳۷۵ جنس و ۳۲۰۰ گونه است. جنس براسیکا (Brassica) با تقریبا ۱۰۰ گونه، تعداد زیادی از محصولات روغنی مهم اقتصادی در جهان را شامل می شود. گونه *Brassica napus* L., spp. oleifera به نام کلزا یا کانولا از مهترین گونه اقتصادی این جنس می‌باشد. بطور کلی شش گونه از جنس براسیکا برای استفاده انسان با اهمیت هستند. خویشاوندی بوتانیکی بین این گونه‌ها بر اساس مطالعات تاکسونومیک اولین بار توسط یو در سال ۱۹۵۳ انجام گرفت. سه گونه **کلزای آرژانتینی یا کانولا** *B. napus* (AACC,2n = 38)، **خردل قهوه‌ای یا هندی** *B. juncea* (AABB 2n = 36)، و **خردل حبشی** *B. carinata*(BBCC ،2n = 34) ، آلوتتراپلوئید بوده و از سه گونه دیپلوئید **خردل سیاه** *B. nigra* (2n = 16 ،BB)، **کلم** *Brassica oleracea* (CC, 2n = 18)، و **شلغم روغنی** *rapa* (AA, 2n = 20) *Brassica* به وجود آمدند (یو۱۹۳۵). علاوه بر جنس براسیکا از جنس‌های مهم دیگر این خانواده، می‌توان *Raphanus* *Sinapis* اشاره نمود که به ترتیب برای ریشه‌های خوراکی و منبع ادویه کشت می‌شوند. جنس براسیکا شامل تعدادی از گونه‌های زراعی و وحشیاست که ترکیبی از سیستم های اصلاحی از دگرگرده افشانی کامل تا سطح بالایی از خودگرده افشانی در آن‌ها قابل استفاده است. بنابراین از نقطه نظر اصلاحی مواد گیاهی بسیار جالب می‌باشند. سه گونه اولیه مونوژنومیک (*B. rapa*, B. *nigra*, B. *oleracea* ) بسیار دگرگرده افشان هستند، درصورتی که گونه‌های آمفی‌دیپلوئید ( *B. napus*, B. *juncea*, B.*catarina*) عمدتا خودگرده‌افشان هستند.گونه‌های جنس براسیکا می‌توانند به راحتی تلاقی داده شوند و هیبریدهای حیاتی با فرزندان بارور تولید کنند که نشانه‌ای روشن از روابط نزدیک ژنتیکی آن‌ها می‌باشد. اصلاح کلاسیک با رده‌بندی موضوعات اصلاحی جهت بهبود گیاهان زراعی شروع می‌شود. موضوعات بهبود ژنتیکی از طریق اصلاح کلاسیک در هر یک از گونه‌های گیاهی متفاوت است. گونه غالب در جنس براسیکا، کلزا (*Brassica napus* ) است که با دو تیپ رشدی تابستانه و زمستانه در اقلیم های مختلف تحت شرایط آب و هوایی متغیر کشت می‌شود. بدلیل شرایط رشدی متفاوت تیپ‌های تابستانه و زمستانه کلزا، موضوعات اصلاحی و اهداف مهم برای هر یک متفاوت بوده و ممکن است در طول زمان با توجه به نیازمندی‌های جدید تولید کننده (مانند نیاز برای مقاومت به بیماری خاص) و یا مصرف‌کننده (مانند ویژگی‌های کیفی بذر) تغییر کند. بنابراین جهت بهبود این محصولات نیاز به تصمیمات طولانی مدت و ارزیابی عمیق نیازهای آینده وجود دارد. وظیفه اصلاحگر ایجاد لیست اولویت برای بهبود صفات مختلف و گنجاندن فعالیت‌های اصلاحی در یک برنامه اصلاحی جامع است. این مسئله ملاحظاتی از جمله در دسترس بودن زمین، تجهیزات

کاشت و برداشت پلات‌های آزمایشی، فضای گلخانه، امکانات غربال‌گری برای مقاومت به بیماری، امکانات آزمایشگاهی و افراد متخصص را شامل می‌شود. بر اساس گزارشات منتشر شده در شبه قاره هند بهبود ژنتیکی عملکرد دانه موضوع اصلاحی اولیه است، درحالی که در جهان غرب، اصلاح برای رسیدن به کیفیت بهتر بیشتر مدنظر است بطوری که در اروپا و کانادا، اصلاح برای روغن و کنجاله جهت تغذیه انسان و دام از اولویت‌های پژوهشی اصلی نسبت به کشورهای آسیایی است. در کشورهای آسیایی قرن هاست از کشت کلزا و خردل، نژادهای محلی و بومی *B. juncea* و *B. campestris* حاصل شده است و در حال حاضر این محصولات مواد گیاهی خام اساسی برای اصلاح‌گر را تشکیل می‌دهند. در سراسر جهان اصلاح برای مقاومت به بیماری‌ها و آفات موضوع اصلاحی مهمی شده است و اصلاح برای مقاومت به بیماری بخشی از تمام پروژه‌های اصلاحی کلاسیک است. همچنین در حال حاضر ایجاد واریته‌های با کیفیت کانولا یا دو صفر (اسید اروسیک صفر و گلوکوزینولات پایین) در بخش‌های مختلف جهان صورت می‌گیرد. علاوه براین ایجاد واریته‌های زودرس برای مناطق با فصل رشد کوتاه (از جمله در بخش‌های مرکزی چین و غرب کانادا) و انتقال ژن برای تحمل به علفکش‌ها از جمله اهداف اصلاحی دیگری هستند که مدنظر اصلاح‌گران قرار دارند.

## روش های اصلاحی کلاسیک

### روش انتخاب دوره‌ای

روش اصلاحی کلاسیک ساده برای بهبود واریته‌های خودگرده‌افشان مانند شلغم روغنی (*B. rapa*) براساس انتخاب دوره‌ای است (Downey and Rakow 1987). در این روش مواد آزمایشی، جمعیت‌های بومی، نتاج حاصل از تلاقی یا هر جمعیت در حال تفرق دیگر می‌باشند. گیاهان خودگرده افشان در خزانه‌های ردیفی برای عملکرد زراعی و کیفیت بذر، اغلب تکراردار ارزیابی می‌شوند. بذر ذخیره شده از تک بوته‌ها که نتاج برتر تولید کردند با هم مخلوط می‌شوند و در سال بعد در بلوک مجزا کشت می‌شوند، پس مجددا تک بوته‌های برتر خودگرده افشان بطورجداگانه برداشت می‌شوند. پس نتاج حاصله برای شروع چرخه بعدی انتخاب دوره‌ای تست می‌شوند. در هر چرخه از انتخاب دوره‌ای، جمعیت جدیدی ایجاد می‌شود که می‌تواند یک واریته جدید باشد. (Falk and Woods 2002, 2003) سیکل انتخاب دوره تا دستیابی به سطح قابل قبول از بهبود صفات ادامه پیدا می‌کند. واریته‌های مختلف بهبود یافته مانند Varuna, Krishna, Kranti, Shekhar, Durgamani, Sita, RH-30 از این روش ایجاد شده‌اند (Rai 1983 a, b).

### روش شجره

این روش ممکن است بطور موثر برای تمرکز ژن‌های مطلوب مربوط به صفات اقتصادی مختلف جهت تولید بسیاری از واریته‌ها در *B. napus* و *B. juncea* بکار گرفته شود. در هند، واریته‌های با عملکرد بالا با روش شجره انتخاب شده‌اند. در این روش ۵ تا ۱۰ گیاه F1 برای بدست آوردن بذر نتاج F2 کشت می‌شوند و ۱۰۰۰ تا ۳۰۰۰ گیاه F2 کشت و بطور جداگانه برداشت می‌شوند تا نتاج F3 به وجود آید. در نسل F4 نیز انتخاب انجام می‌شود. تنوع میان خانواده های F4 شاخص خوبی برای انتخاب موثرتر است. این روش برای ایجاد واریته زمستانه *B. napus* با اروسیک اسید پایین و عملکرد بالا از تلاقی بین واریته زمستانه *B. napus* با اسیداروسیک بالا Rapol و واریته بهاره *B. napus* با اروسیک اسید پایین Oro استفاده شده است.

## روش بک کراس

وقتی ژن مطلوب در جمعیت ناسازگار و وحشی در دسترس باشد، استفاده از روش بک کراس انتخاب درستی خواهد بود. واریته بهاره *B. napus*, Westar به وسیله ترکیب روش‌های اصلاحی بک کراس و شجره ایجاد شده است. روش اصلاحی بک کراس جهت انتقال میزان گلوکوزینولات پایین واریته Bronowski از گونه *B. napus* به تعدادی از واریته‌های تجاری Gobhi Sarson (*B. napus*) در قسمت‌های مختلف جهان استفاده شده است. همچنین این روش برای انتقال صفات جدید مانند ترکیب اسید چرب، رنگ بذر، مقاومت به علفکش و آفات بکار گرفته شده است.

## ایجاد واریته های سنتتیک و مرکب

در شبه قاره هند، ایجاد واریته های مرکب، به عنوان یک راهکار، راه برای افزایش عملکرد براسیکا در شرایط کشت دیم گزارش شده است. واریته ها در این مناطق در معرض همه نوع تنش های زنده و غیر زنده هستند(Rai 1979). اگر چه واریته های سنتتیک *B. napus* در بازار اروپا عرضه شده اند، آنها اغلب یکنواخت نبوده به همین دلیل این روش اصلاحی اغلب به مدت طولانی در *B. napus* استفاده نمی‌شود. در کانادا تلاش‌ها جهت ایجاد واریته سنتتیک در *B. napus* بهاره برای کشت تجاری موفق خیلی دلگرم کننده نبوده است. برنامه اصلاحی ایجاد واریته مرکب در *B. rapa* و گونه‌های دیگر، تولید تعدادی از هیبریدهای بین گونه‌ای و ترکیب ساختن آنها را شامل می شود ( Rai) .1982

## ایجاد واریته‌های هیبرید

هیبرید کلزا همانند واریته آزاد گرده افشان (OP) می‌تواند با استفاده از روش‌های اصلاحی کلاسیک و بیوتکنولوژی ایجاد شود. چالش امروز اصلاح گران، توسعه یک برنامه ساختاری مناسب است که طی آن لاین‌های اینبرد والدینی، از نظر میزان هتروزیس تست شده و ترکیباتی از تلاقی والدین، با بهترین عملکرد، غربال گری و شناسایی شوند. بطور کلی جهت تولید هیبرید، والد ماده، به عنوان لاین نرعقیم توانایی تولید گرده ندارد، بنابراین اطمینان حاصل می‌شود که بذر فقط از طریق دگرگرده افشانی با والد نر دیگر، تولید خواهد شد. به منظور تولید بذر هیبرید بصورت تجاری، جلوگیری از خودگرده افشانی والد بذری در تلاقی هیبرید ضروری است. این روش در ذرت ساده است چرا که اندام نر و ماده بصورت جدا و مجزا روی گیاه قرار گرفته‌اند و اندام نر گیاه می‌تواند به آسانی بطور دستی در تعداد زیادی از گیاهان برداشته شود اما در اکثر گونه‌های زراعی مانند کلزا اندام نر و ماده در یک مکان از ساختار گل قرار گرفته‌اند و حذف اندام نر (عقیم کردن) بصورت دستی تعداد زیادی از گیاهان، غیر ممکن است. بنابراین تولیدکنندگان بذر به روش‌هایی جهت کنترل سیستم گرده‌افشانی برای تولید بذر هیبرید نیاز دارند. حدود ۳۰ سال است که پژوهشگران کلزا جهت جلوگیری از خود گرده افشانی روی مکانیسم ژنتیکی تمرکز کرده‌اند. اوایل دهه ۱۹۹۰، پس از ارزیابی سیستم‌های مختلف، تنها دو سیستم قابل اعتماد با عنوان سیستم نر عقیمی ژنتیکی و نر عقیمی سیتوپلاسمی در نظر گرفته شدند. با پیشرفت علم و تکنولوژی سیستم دیگر مبتنی بر فرایند مولکولی نیز ایجاد شده است. بنابراین صرف نظر از افزایش پتانسل عملکرد بذر هیبرید کلزا، ایجاد سیستم‌های نرعقیم برای تولید بذر هیبرید بطور قطع، دستاورد بزرگی است. امروزه دو سیستم نرعقیمی سیتوپلاسمی (CMS تحت کنترل اثرات متقابل ژن‌های هسته ای و سیتوپلاسمی) و نرعقیمی ژنتیکی (GMS

تحت کنترل ژن‌های هسته‌ای) بطور تجاری به ویژه در اروپا استفاده می‌شوند.

## سیستم نر عقیمی ژنتیکی لمبک (MSL)

سیستم نرعقیمی ژنتیکی لمبک ( Male Sterility Lembke) از موتانت ژنی مغلوب خودبه خودی در خزانه شرکت اصلاحی PflanzenzuchtHG Lembke Norddeutsche (NPZ) آلمان در اوایل دهه ۱۹۸۰ انتخاب شد. این نرعقیمی ژنتیکی مغلوب، اختصاصی شرکت NPZ/Lembke است. در این سیستم نر عقیمی، تمامی واریته‌ها و لاین‌های رایج کلزا به عنوان بازگرداننده باروری شناخته می‌شوند، به عبارتی هر واریته‌ای می‌تواند به عنوان بازگرداننده باروری عمل کند. بنابراین هیچ روش اصلاحی خاصی برای ایجاد لاین گرده دهنده مورد نیاز نیست. همچنین نقصی روی کیفیت بذر تولید شده از این سیستم وجود ندارد. از معایب این سیستم این است که فرایند اصلاحی برای ایجاد لاین‌های عقیم MSL جدید بسیار کند است. این سیستم بیشترین سیستم تولید هیبرید در آلمان است به طوری که هیبریدهای تولیدی از این سیستم ۴۰ درصد سهم بازار در سال های ۲۰۰۲ و ۲۰۰۳ داشتند.

## سیستم نرعقیمی سیتوپلاسمی (CMS)

نرعقیمی سیتوپلاسمی (CMS) صفت کلاسیک غیرمندلی بوده و استفاده از این سیستم در تولید هیبریدهای تجاری متداول می‌باشد. این صفت وراثت مادری داشته و به آسانی از طریق گرده افشانی با لاین نر بارور (لاین نگهدارنده) که از نظر ژن‌های هسته‌ای مشابه لاین نرعقیم است قابل تکثیر است. سیستم نر عقیمی سیتوپلاسمی به سیستم سه لاین A، B و R معروف است و تولید بذر هیبرید کلزا در این سیستم شامل مراحل زیر می‌باشد:

۱) ایجاد لاین‌های نرعقیم (A)، نگهدارنده (B)، بازگرداننده باروری (R)

۲) تلاقی بین لاین نرعقیم (A) و لاین نگهدارنده (B) به منظور نگهداری و تکثیر لاین نر عقیم

۳) تلاقی بین لاین نرعقیم (A) و لاین بازگرداننده باروری (R) به منظور تولید بذر هیبرید

به هرحال واضح است که اصلاح و تولید لاین‌های نرعقیم، نگهدارنده و بازگرداننده باروری برای شرکت‌های اصلاحی کلزا فرآیندی زمان بر و پرهزینه است، اما با بهره‌برداری از بنیه هیبرید و برگشت هزینه با درآمد بیشتر از طریق فروش هر ساله بذر هیبرید به کشاورزان جبران می‌شود. سیستم نر عقیمی سیتوپلاسمی ( Cytoplasm Male Sterility) فراوان‌ترین سیستم کنترل گرده افشانی در براسیکا است. در این سیستم از اثرات متقابل سیتوپلاسم و هسته در گونه‌های مختلف، نرعقیمی کامل یا جزیی حاصل می‌شود. گاهی اوقات با اثراتی روی مورفولوژی گل همراه است بطوری که ساختار گل برای حشرات جذاب نبوده که می‌تواند اثر منفی در تولید هیبرید داشته باشد. دمای بالا و خشکی نیز در کارایی این سیستم عقیمی بسیار تاثیرگذار هستند. نر عقیمی سیتوپلاسمی می‌تواند در اثر موتاسیون‌های خودبه‌خودی به نام Autoplasmic-cms و یا از طریق تلاقی‌های بین گونه‌ای و بین جنسی با ترکیب هسته از یک گونه با سیتوپلاسم از گونه دیگر به نام Alloplasmic- cms ایجاد شود. اگرچه سیستم‌های CMS فراوانی از منابع مختلف در دسترس هستند، اما اغلب کاربردشان در برنامه‌های اصلاحی کلزا به دلیل ناپایداری عقیمی، عدم وجود لاین‌های بازگرداننده باروری و نگهدارنده و اثرات منفی سیتوپلاسم مورد استفاده در القا نرعقیمی با محدودیت

مواجهه می‌شود. توضیحات بیشتر دو نوع از این سیستم در زیر آمده است.

### نرعقیمی سیتوپلاسمی پلیما (Polima)

این سیستم بطور خودبه‌خودی در کلزا به وجود آمد (Fu, 1981). تعدادی از ژن‌های بازگرداننده باروری در ارقام SOSR، Fang، McVetty و برخی از واریته‌های چینی و هندی در دسترس است. ارزش تولید هیبرید با استفاده از این روش دارای محدودیت‌هایی است از جمله این که در شرایط محیطی مختلف بیان ژن نرعقیمی در این سیستم ناپایدار است بطوری که در شرایط دمایی بالا ممکن است خاصیت عقیمی شکسته شود. در نتیجه بذر هیبرید حاصله ممکن است با بذور عقیم آلوده شود و از آنجایی که این لاین‌ها بذر تولید نمی‌کنند در نهایت عملکرد تولید هیبرید کاهش خواهد یافت. از معایب دیگر این سیستم محدودیت تعداد لاین‌های نگهدارنده آن است. سیستم پولیما فقط با غربالگری تعداد فراوان از لاین‌ها در محیط‌های مختلف به منظور شناسایی ژنوتیپ‌های نگهدارنده پایدار کارایی دارد.

### سیستم نرعقیمی سیتوپلاسمی اوگرا (Ogura )

سیستم نرعقیمی سیتوپلاسمیOgu-INRN به وسیله INRN ( Institute National Research Agriculture) از طریق امتزاج پروتوپلاست بین تربچه (*Raphanus sativus*) و کلزا (*Brassica napus*) در فرانسه ایجاد شد. یکی از امید بخش‌ترین روش‌های تولید هیبرید است. نتایج منتشر شده نشان می‌دهد که نرعقیمی در این سیستم بسیار پایدار است. اما ژن‌های بازگرداننده باروری با ژن‌هایی از تربچه لینکاژ دارند که باعث ایجاد کیفیت نامطلوب بذر از جمله میزان گلوکوزینولات بالا در والد پذیرنده می‌شوند. شرکت Pioneer Hi-Bred مواد آزمایشی INRN را با موافقت و اجازه دریافت کرد و توانست میزان گلوکوزینولات لاین‌های بازگرداننده باروری را از طریق روش‌های اصلاحی کلاسیک کاهش دهد.

### سیستم سیدلینک این ویگور( SeedLink (InVigor

توسط متخصصین ژنتیک گیاهی شرکت CropScience Bayer ایجاد شد. در این سیستم لاین‌های نر عقیمی ژنتیکی و بازگرداننده باروری از طریق مهندسی ژنتیکی ایجاد می‌شوند. نرعقیمی و بازگرداننده باروری در این سیستم کارا و پایدار است. آسانی تولید بذر در این سیستم قابل توجه است. از جمله محدودیت‌های این سیستم این است که محصولاتی که بر پایه تغیرات ژنتیکی ایجاد می‌شوند هنوز در برخی کشورها تجاری نشده اند.

## اهداف اصلاحی و دستاوردهای آن

### عملکرد دانه و پایداری عملکرد

افزایش عملکرد و پایداری آن هدف معمول و مداوم در تمام برنامه‌های اصلاحی کلاسیک است. عملکرد هر گیاه حاصل کلیهٔ اجزاء آن می‌باشد. بنابراین جهت بهبود عملکرد باید مبادرت به اصلاح عوامل مؤثر در عملکرد نمود. اگرچه در ارزیابی لاین‌ها و واریته‌ها، عملکرد به عنوان یک صفت مورد ارزیابی قرار می‌گیرد ولی جهت اصلاح ارقام پرمحصول می‌توان نقاط ضعف گیاه از جمله حساسیت به بیماری‌ها، خوابیدگی، طول دورهٔ رویش و غیره را رفع نمود. پنج واریته کلزا تابستانه با عملکرد بالا و حاصل انتخاب شجره‌ای از کلزای آرژانتینی، در اوایل دهه ۱۹۴۰ ایجاد شدند. تلاش‌هایی جهت بهبود در عملکرد بذر از کلزای آرژانتینی به شلغم روغنی صورت گرفت. این واریته‌ها، اسیداروسیک، در حد روغن بالا وگلوکوزینولات بالایی در کنجاله داشتند (Finlayson et al. 1973). با

روش‌های اصلاحی افزایش میزان عملکرد، کاهش اسیداروسیک و گلوکوزینولات و افزایش میزان روغن در برخی واریته‌ها بدست آمد. تمامی این بهبودها از طریق دورگ‌گیری و- اصلاح با انتخاب شجره و روش‌های اصلاحی کلاسیک حاصل شدند (Rakow 1993a, b).

## خصوصیات روغن

از ابتدا ایجاد واریته‌های با میزان اسیداروسیک پایین برای استفاده از روغن کلزا به عنوان روغن گیاهی جهت مصرف انسان یک ضرورت بود. در مورد اسیداروسیک نگرانی تغذیه ای وجود داشت، بطوری که در موش‌هایی که از روغن کلزا با اروسیک اسید بالا تغذیه می‌کردند، تغییرات قلبی مشاهده شد. (Beare-Rogers 1970; Kramer and Sauer 1983). بیانیه کنفرانس رسمی بین المللی کلزا در سال ۱۹۷۰ تغییر تدریجی بیش از حد برای واریته های با اسیداروسیک پایین تهیه‌کرد، که طی چند سال بدست آمد. امروزه کل تولید کلزا در کانادا، استرالیا و اروپا و بسیاری از کشورهای دیگر شامل تیپ با اسیداروسیک پایین (کمتر از یک درصد) است که طریق کاربرد روش‌های اصلاحی کلاسیک در ترکیب با روش‌های تحلیلی مناسب از آنالیز اسید چرب بدست آمده است. همچنین به منظور افزایش کیفیت روغن کانولا اصلاح‌گران با استفاده از روش‌های اصلاحی کلاسیک و مدرن به افزایش میزان اسیداولئیک و کاهش اسیدلینولئیک (روغن مصرف انسان) و یا افزایش اروسیک اسید و لینولئیک اسید (روغن صنعتی) دست یافتند.

## کیفیت کنجاله

کنجاله کلزا به عنوان مکمل غذایی با پروتئین بالا برای دام و ماکیان استفاده می‌شود. ارزش و بازاریابی کنجاله کلزا در گذشته به دلیل حضور گلوکوزینولات در بذر محدود بود. راه‌حل نهایی برای این مشکل حذف ژنتیکی گلوکوزینولات بذر از طریق اصلاح بوده که در چند سال اخیر بدست آمده است. جستجو برای کلزا با سطوح پایین گلوکوزینولات موفقیت آمیز بود زمانی که Krzymanski در سال ۱۹۶۷، میزان پایین گلوکوزینولات را در کلزای لهستانی *B. napus* واریته Bronowski با میزان گلوکوزینولات ۱۰ درصد کشف کرد (Finlayson et al. 1973; Röbbelen and Thies 1980). میزان پایین گلوکوزینولات Bronowski بطور موفقیت‌آمیز به ژرم‌پلاسم الیت با اسیداروسیک صفر کلزا تابستانه و زمستانه از طریق دورگ‌گیری- اصلاح و انتخاب شجره وارد شدند. همچنین این صفت به *B. rapa* از طریق دورگ‌گیری‌های بین گونه‌ای با Bronowski در ترکیب با بک‌کراس‌های تکراری به *B. rapa* وارد شد. امروزه تقریبا تمامی واریته‌های کلزا با اروسیک اسید پایین میزان گلوکوزینولات پایین (۱۵ میکرومول بر گرم بذر) دارند.

## مقاومت‌ها

اصلاح‌گران همواره به دنبال منابع مقاومت در برابر بیماری‌ها، آفات، خشکی، شوری، سرما و غیره بوده‌اند. امروزه با عوض شدن ارقام به دوصفر (Double Low) به نظر می‌رسد آسیب‌پذیری آنها مخصوصاً به بیماری‌ها نیز بیشتر شده است. بطور کلی گزارش شده است در شبه قاره هند بیماری لکه برگی آلترناریایی، زنگ سفید و سفیدک پودری از بیماری‌های مهم هستند در حالی که در کشورهای غربی از جمله در کانادا و استرالیا بیماری ساق‌سیاه (*Leptosphaeria maculans* Desm.) مهم است. بیماری ساق‌سیاه، که به وسیله قارچ *Leptosphaeria maculans* ایجاد می‌شود یکی از شایع‌ترین بیماری‌ها در

کلزا بهاری است. ژن‌های مقاومت در واریته‌ها و لاین‌های ژرم پلاسمی استرالیا و اروپا (فرانسه) وجود دارند. واریته‌های مقاوم با واریته‌های سازگار و حساس کانادایی تلاقی داده شدند و انتخاب در نسل‌های در حال تفرق بعد از تلاقی صورت می‌گیرد. بسیاری از واریته‌های جدید کانادایی و هیبریدها به ساق سیاه مقاوم هستند. خزانه‌های بیماری مزرعه‌ای و روش‌های انتخاب آلودگی در محیط کنترل شده، در انتخاب لاین‌ها و واریته‌های مقاوم بسیار موثر هستند. برخی از بیماری‌های دیگری که می‌توانند سبب خسارت اقتصادی قابل ملاحظه شوند، ریشه گرزی (*Plasmodiophora brassicae*)، پوسیدگی ریشه (*Rhizoctonia solani* Kuhn) و پوسیدگی ساقه می‌باشند. در برخی مناطق بیماری اسکلروتینیا *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) می‌تواند تهدید برابر و حتی بیشتر از بیماری ساق سیاه برای کشت براسیکا باشد. نژادهایی از زنگ سفید (*Albugo candida*) شناسایی شده‌اند که می‌توانند به *B. campestris* (نژاد ۷) و *B. juncea* (نژاد ۲) حمله کنند (Pidskalny and Rimmer 1985). واریته‌های اروپایی و کانادایی *B. napus* به تمامی نژادهای شناخته شده زنگ سفید مقاوم هستند، اما واریته‌های چینی به نژاد ۷ آن حساس می‌باشند (Fan et al. 1983a , b). واریته های *B. juncea* نسبت به *B. campestris* به بیماری لکه برگی حاصل از عامل بیماری *Alternaria brassicae* دارای تحمل مزرعه‌ای نسبتا بهتری می‌باشد (Rai et al. 1976). همچنین مشاهده شده است *B. carinata* نسبت به *B. campestris* و *B. juncea* تحمل بیشتری به بیماری لکه برگی نشان می‌دهند (Bansal et al.1990). از تلاقی‌های بین واریته‌ای و بین گونه‌ای می‌توان در جهت انتقال ژن‌های مقاومت به بیماری به ارقام مدنظر بهره گرفت. در جهت مقاومت به حشرات تنها امید، انتقال ژن‌هایی است که باعث تولید مواد دافع حشرات می‌شود. مقاومت به علف کش‌ها نیز در کلزا دارای اهمیت بوده و در این گیاه ژن‌های مقاومت به علف‌کش تریازین وگلیفوسیت (راندآپ) در دسترس می‌باشد و حتی به ارقام تجارتی نیز وارد شده است. همچنین در شرایط دیم استفاده از بارندگیهای پائیزه و زمستانه حائز اهمیت بوده و باید ارقامی تهیه گردند که زودرس‌تر باشند. منابع و لاین‌های زودرسی وجود دارند که می‌توان از آن‌ها با استفاده از روش‌های اصلاحی در جهت ایجاد واریته‌های زودرس جدید بهره گرفت.

## خصوصیات زراعی مطلوب

براساس نظر مندهام و همکاران (۱۹۸۱) و تورلینگ (۱۹۹۱) تیپ ایده‌آل کلزا در جهت تولید عملکرد بالا دارای خصوصیات زیر می باشد (Mendhan et al., 1981; Thurling, 1991):

۱. دارای رشد اولیه سریع باشند (قبل از روزت)
۲. گلدهی زود هنگام پس از روزت
۳. ساقهٔ کوتاه وضخیم
۴. گل‌های بدون گلبرگ
۵. توان مطلوب حفظ بذرها از سقط شدن
۶. برخورداری از تعداد خورجین ۸۰۰۰-۵۰۰۰ عدد در مترمربع
۷. طویل بودن خورجین
۸. خورجین‌هایی که به شکل عمودی‌تر قرار گیرند
۹. افزایش تعداد غلاف درساقه اصلی و کاهش ساقهٔ فرعی از پایین
۱۰. مقاومت به ریزش

در ارزیابی ارقام و یا ایجاد یک رقم جدید هر یک از صفات ذکر شده مدنظر اصلاح‌گر می‌باشد و درصد جمع کردن اکثر این صفات در رقم مورد نظر می‌باشد.

## منابع ایجاد تنوع ژنتیکی جدید در جنس براسیکا

در دانه‌های روغنی جنس براسیکا بدلیل طبیعت دگرگرده افشانی گونه‌های اولیه تنوع کافی در دسترس است، اما جهت جستجو ژن‌های جدید و ترکیب ژنی برای مقاومت به بیماری، حشرات، نرعقیمی، بازگرداننده باروری و غیره باید تنوع ژنتیکی جدید را به طور مصنوعی ایجاد کرد در این رابطه می‌توان از موتانزایی القایی و تلاقی‌های بین واریته‌ای هدفمند و تلاقی‌های دور بین گونه‌ای بهره برد. در کلزا دورگ‌گیری با خارج کردن بساک غنچه گل که روز بعد باز می‌شوند، انجام می‌شود. روز بعد کلاله گل عقیم شده با گرده تازه از پرچم گیاه انتخابی گرده پاشی می‌شود. (Chiang 1974). تلاقی‌های درون گونه‌ای بسیار موفقیت‌آمیز هستند و میزان موفقیت تلاقی اگر با دقت صورت گیرد، بیشتر از ۹۰ درصد است و عملکرد غنچه عقیم شده و گرده افشانی شده ممکن است ۲۰-۱۰ بذر در هر خورجین باشد. در هر صورت میزان موفقیت در تلاقی‌های بین گونه‌ای به خویشاوندی ژنتیکی، اساس ژنومی گونه‌های والدینی مورد استفاده و تلاقی متقابل وابسته است. برای اصلاح‌گران درک اساسی رابطه تلاقی پذیری میان گونه‌های روغنی براسیکا بدلیل امکان انتقال صفات مهم زراعی مانند مقاومت به بیماری و آفات، نر عقیمی سیتوپلاسمی، بازگرداننده باروری و ویژگی‌های کیفی مطلوب اهمیت دارد.

## موتانزایی القایی برای ایجاد تنوع جدید

موتانزایی به ویژه موتانزایی مصنوعی تنوع مفید فراوانی برای اصلاح و بهبود گیاهان زراعی فراهم کرده است و فرایندهای اصلاحی را در مقایسه با برنامه‌های اصلاحی کلاسیک کوتاه کرده است. اصلاح موتاسیونی محصولات براسیکا در سال ۱۹۴۰ شروع شد. ده ها واریته با بهبود صفات از طریق موتانزایی فیزیکی و شیمیایی اصلاح شده‌اند. در ضمن پیشرفت زیادی در روش موتانزایی القایی بدست آمده است (Jambhulkar et al. 2007). موتانزایی القایی فیزیکی عمدتا به موتاسیون DNA و تنوع کروموزومی ناشی از موتاژن فیزیکی مانند اشعه ایکس، اشعه گاما، اشعه آلفا، اشعه بتا، لیزر، پرتو الکترونی، پرتو یونی، اشعه فرابنفش و غیره اشاره دارد. موتاژن‌های فیزیکی توسط اشعه ایکس، گاما و نوترون‌های سریع حرارتی بطور گسترده در اصلاح موتاسیونی براسیکا بکار گرفته شده‌اند. موتانزایی القایی شیمیایی در مقایسه با موتانزایی فیزیکی با قدرت نفوذ زیاد، تخریب قابل ملاحظه ساختار کروموزوم را سبب می‌شود، موتانزایی شیمیایی می‌تواند باعث موتاسیون‌های نقطه‌ای بیشتر و درصد پایین انحرافات کروموزومی شود. در میان تمامی موتاژن‌های شیمیایی، اتیل متیل سولفونات (EMS) و عوامل آلکالیل‌کننده متداول‌ترین موتاژن‌ها بوده و بطور گسترده در اصلاح براسیکا استفاده می‌شوند( Sega 1984; James and Dooner 1990; Henikoff et al. 2004; Wang et al. 2008; Wu et al. 2008). در حال حاضر دانه‌گرده (بساک)، جنین نابالغ، بذر و کالوس بطور گسترده به عنوان هدف برای القا و موتاسیون در براسیکا استفاده شدند ( Schnurbusch and Becher 2000; Zhao et al.2000; Muangprom et al. 2005; Ferrie et al. 2008) مثال‌های زیادی از افزایش میزان روغن با استفاده از موتاسیون‌های القایی در کلزا وجود دارد. وانگ و همکاران (۲۰۰۸)، ۱۱۶۸ بذر M3 از جمعیت بزرگ موتانت EMS *B. napus* را بررسی کردند. آنها فراوانی توزیع میزان روغن را تا میزان ۴۷/۸ درصد اندازه‌گیری کردند که این مقدار از تیپ وحشی به ارزش( ۳۰/۶۲ ) بیان کردند. یا سایر مزارع مشابه ( ۳۶/۳۸ ) بیشتر بود (Wang et al., 2008). روغن کلزا به عنوان روغن گیاهی خوبی برای مصرف انسان در نظر

گرفته شده است، چرا که ترکیب اسیدچرب آن به ویژه سطوح پایین اسیدهای چرب اشباع و سطوح بالا اسیدچرب غیر اشباع تک باند مضاعف، برای تغذیه انسان بسیار مفید است. در هر صورت هنوز نیاز است انواع دیگر اسیدهای‌چرب در روغن افزایش یا کاهش داده شوند. گزارش‌هایی از تغییر ترکیب اسیدچرب در کلزا از طریق ایجاد موتاسیون ارائه شده است. همچنین طی دهه گذشته مثال‌های زیادی از انتخاب گیاهان مقاوم به بیماری از موتانت‌های کلزا وجود دارد. در سال ۱۹۹۹ مولین و همکاران اولین بار دو جمعیت کوچک موتانت کلزا به وسیله EMS ایجاد کردند (Mullins et al. 1999). بعد از تلقیح برگ‌های جوان گیاه با *Sclerotinia sclerotiorum*، آن‌ها دریافتند جمعیت M2 تنوع بیشتری نشان می‌دهد و میزان آلودگی کمتر از جمعیت والدینی است. سپس آن‌ها برخی گیاهان با تغییر در میزان مقاومت به *Sclerotinia sclerotiorum* جدا کردند. موتانزایی القایی برای بدست آوردن لاین‌های موتانت با سه درصد لینولئیک اسید در *B. napus* (Rakow 1973 ; Robbelen and Nitsch 1974)، تغییر رنگ بذر موتانت در خردل (Verma and Rai 1980a) و تحمل به بیماری لکه برگی بکار گرفته شده است. علاوه بر این موتانزایی القایی برای ایجاد تنوع جدید برای زودرسی، تیپ گیاهی متراکم و رنگ بذر زرد در خردل در هند استفاده شده است. اکثر موتاسیون‌های القایی حتی مضر و در عمل قابل مشاهده نیستند بنابراین غربالگری و شناسایی موتانت قابل مشاهده برای موفقیت اصلاح موتاسیونی بسیار مهم است. مطالعات اولیه در شناسایی موتانت‌ها به انتخاب فنوتیپی وابسته است. برای فرد با تنوع فنوتیپی آشکار بررسی مستقیم فنوتیپ، ساده و روش موثری است. اما درصورتی که موتانت‌هایی با تنوع فنوتیپی پیچیده رخ دهد شناسایی موتانت‌ها بطور صحیح و به سرعت در جمعیت بزرگ موتانت مشکل است. امروزه با توجه به توسعه مارکرهای مولکولی، غربال‌گری و شناسایی موتانت‌ها در سطح مولکولی با مارکرهای اختصاصی متنوع در براسیکا امکان پذیر شده است(Schierholt et al. 2000; He and Yang 2004; Hou et al. 2008). اخیرا تکنولوژی جدید تیلینگ (آسیب های موضعی مورد هدف در ژنوم) برای شناسایی موتاسیون‌های نقطه ای با هزینه کم و توان بالا معرفی شده است(McCallum et al. 2000a, b).

## تلاقی‌های بین گونه‌ای برای ایجاد تنوع جدید

فاکتورهای زیادی در تلاقی بین گونه‌ای تأثیرگذار هستند، اما مهم‌ترین آن‌ها نزدیکی و قرابت دو گونه است. بسیاری از گونه‌های براسیکا درجه بالایی از خوشاوندی را نشان می‌دهند، که امکان تلاقی بین گونه‌ای و بین‌جنسی را فراهم می‌کند. اصلاح‌گران با انجام درجات متفاوت از دورگ‌گیری بین گونه‌های خویشاوند براسیکا به جستجو صفات جدید مانند کیفیت روغن، مقاومت به ریزش و آفات جهت ایجاد واریته‌های جدید کمک می گیرند (Zhang et al., 2004). در براسیکا دورگ‌گیری بین گونه‌ای روش مفیدی برای انتقال صفات با ارزش بین گونه‌های تجاری است (Rahman, 2001., Seyis et al., 2003). بطور کلی اطلاعات درباره دورگ‌گیری بین گونه ای از دو منبع حاصل می‌شود: ۱) تلاقی‌های انجام‌شده توسط اصلاح‌گران و ژنتیک دانان ۲) هیبریدهای طبیعی که در مزرعه یافت می‌شوند. موفقیت در تلاقی بین *B. napus* و *B. juncea* در دهه ۱۹۷۰ گزارش شده است (Roy, 1978). منگ و همکاران (۱۹۹۸)، در تلاقی بین *B. napus* و *B. carinata* با استفاده از روش‌های اصلاحی کلاسیک هیبریدهای بارور بدست آوردند (Meng et al., 1998).

دورگ‌گیری بین گونه‌های تتراپلوئید و دیپلوئید مشکل است و عدم موفقیت در مراحل زیادی از خودناسازگاری در مرحله گرده افشانی تا موانع قبل و بعد از جوانه‌زنی اتفاق می‌افتد. در اکثر تلاقی‌های بین گونه‌ای بدلیل عدم موفقیت در تشکیل آندوسپرم، بذر بالغ تولید نمی‌شود (Nishiyama et al., 1991). کشت تخمک برای غلبه خودناسازگاری بین گونه‌ای پس از تشکیل تخم استفاده می‌شود (Diederichsen and Sacristan, 1994). بطور مشابه تلاقی بین *B. napus* و *B. oleracea* بطور طبیعی ناموفق است، اما با تکنیک کشت جنین هیبرید می‌تواند تولید شود (Gowers et al., 1999). رانی و همکاران ۱۹۹۵ به منظور کاهش اسیداروسیک *B. napus* را با *B. juncea* تلاقی دادند (Raney et al., 1995). همچنین در هندوستان کاشیک و آگنیهوتری ۲۰۰۰، تغییر اولئیک اسید بالا و لینولئیک پایین را در تلاقی بین گونه‌ای از *B. napus* و *B. juncea* همراه با نجات جنین گزارش کردند (Kaushik and Agnihotri, 2000). انتقال خصوصیات کیفی کانولا از کانولا به خردل از طریق تلاقی بین گونه‌ای، روش سریع برای بهبود پارامترهای کیفی روغن ژرم پلاسم *B. juncea* است. وقوع آمفی دیپلوئید خود به خودی در دو رگ‌گیری بین گونه‌ای و بین‌جنسی از گونه براسیکا غیرعادی نیست. این پدیده به گامت‌های منحصر به فرد کاهش نیافته نسبت داده می‌شود. رشید و همکاران ۱۹۹۴، براسیکا ناپوس دانه زرد از جمعیت F2 حاصل تلاقی‌های ترکیبی بین (*B. napus*×*B. juncea*) و (*napus*×*B. carinata*) انتخاب کردند (Rashid et al., 1994). تقریبا در اغلب موارد نسل‌های اولیه حاصل از تلاقی گونه‌های وحشی با گونه‌های زراعی از لحاظ صفات مورفولوژیکی و ژنتیکی بسیار نامطلوب می‌باشند، اما بهره‌گیری از روش‌های مناسب اصلاحی مانند تلاقی برگشتی می‌تواند این گیاهان را در حد ارقام زراعی ارتقاء داد (Mujeeb-Kazi, 1993). اطلاعات اخیر روی دورگ‌گیری بین گونه‌ای در گروه کروسیفر براسیکا برای انتقال زودرسی به *B. napus* با استفاده از دورگ‌گیری با *B. compestris* ، انتقال مقاومت به ریزش به *B. napus* با تلاقی *B. compestris* و *B. juncea* است. تمامی این اطلاعات بطور واضح نشان می‌دهد که ایجاد واریته‌هایی با بهبود عملکرد و کیفیت با استفاده از دورگ‌گیری بین گونه‌ای در محصولات روغنی براسیکا امکان پذیر است.

## استفاده از روش‌های اصلاحی بیوتکنولوژی در جنس براسیکا

دانه‌های روغنی در جنس براسیکا بدون شک نقش مهمی در امنیت غذایی و انرژی در آینده دارند. بنابراین نیاز است این محصولات به تنوع ژنتیکی لازم برای مقاومت در برابر چالش آب و هوا و تنش‌های زنده و غیر زنده بدون به خطرانداختن عملکرد مجهز باشند. اگر چه اصلاح کلاسیک در توسعه واریته‌های دانه روغنی براسیکا نقش مهمی داشته است. اما تکیه بر قابلیت در دسترس بودن آلل‌های سودمند در گونه‌هایی که اجازه ورود به واریته‌های تثبیت شده را می دهد، اغلب محدود شده است. همچنین انتخاب فنوتیپی اصلاح کلاسیک اغلب با دانش کم یا بدون آگاهی از تنظیم و عملکرد ژن‌های مسئول صفات انتخابی انجام می‌گیرد. در نتیجه فرایندهای اصلاحی اغلب وقت‌گیر و ناکارامد هستند. لذا نیاز است استفاده از روش‌های اصلاحی بیوتکنولوژی و ابزارهای ژنومی جهت شناسایی و جداسازی صفات و بهره‌وری استفاده از منابع و افزایش درک بیوشیمیایی و محدودیت‌های فیزیولوژیکی عملکرد

مورد توجه خاص قرار گیرد. به صورت تجاری ثابت شده است گیاهان جنس براسیکا مهم‌ترین گیاهان زراعی برای پاسخ به دستکاری‌های بیوتکنولوژی هستند. پیشرفت قابل توجهی در زیست‌شناسی سلولی و مولکولی گونه‌های براسیکا در چند سال گذشته انجام شده است. باززایی گیاه از طریق اندام‌زایی و جنین‌زایی سوماتیکی به طور فزاینده‌ای با استفاده از انواع مختلف ریزنمونه و با بهبود کشت بافت با تمرکز بر عواملی مانند سن آن، ژنوتیپ و افزودنی‌های محیط کشت بهینه شده است. تولید هاپلوئید و دابل‌هاپلوئید با استفاده از میکروسپور باعث افزایش تولید لاین‌های هموزیگوت در گونه Brassica شده است. بنابراین ابزاری برای تولید سریع لاین‌های هموزیگوت در تولید بذر هیبرید فراهم می‌شود. جنین‌های سوماتیکی و گیاهچه‌ها در سال ۱۹۷۷ در *B. napus* تولید شدند و این تکنولوژی از آن زمان برای اهداف مختلف مورد استفاده قرار گرفته است. بیشتر ژنوتیپ‌ها به کشت میکروسپور پاسخ می‌دهند و این ریزنمونه‌ها عملکرد بیشتری نسبت به کشت بساک دارند. میکروسپور و کشت بساک به عنوان ابزارهای اصلاحی برای بهبود Brassica سبزیجات مانند *B. oleracea* و pakchoi (*B. rapa* ssp. chinensis) بکار گرفته شده‌اند. جنین‌های حاصل از کشت میکروسپور در *B. napus* جهت بررسی مسیرهای بیوشیمیایی و انتخاب محصولات متابولیک و همچنین جهت بررسی مقدار گلوکوزینولات به منظور انتخاب لاین مطلوب در *B. napus* مورد استفاده قرار گرفته‌اند. ثابت شده است که میکروسپورها برای اهداف ترانسفورماسیون در جهت تولید گیاهان تراریخته *B. napus* حیاتی هستند. همانند سایر تکنیک‌های کشت بافت، کشت میکروسپور براسیکا نیز به ژنوتیپ وابسته است. به عنوان مثال، تنها ۳۰ درصد از ژنوتیپ های *B. juncea* که مورد آزمایش قرار گرفته‌اند به کشت میکروسپورها پاسخ مثبت دادند. اثرات وابسته به ژنوتیپ نیز در *B. carinata* مشاهده شد. از این رو هنوز نیاز به گسترش این تکنولوژی در ارقام غیر پاسخ‌دهنده است. امتزاج سلول سوماتیکی ایجاد هیبریدهای بین گونه‌ای و بین‌جنسی را درگونه‌های ناسازگار جنسی Brassica تسهیل کرده است. بهبود محصولات با استفاده از تنوع سوماکولونال نیز به دست آمده است. منبع با ارزش به طور بالقوه ژن‌ها برای بهبود این دانه‌های روغنی استفاده از گونه‌های اجدادی وحشی است که می‌توانند تا حد زیادی با استفاده از فناوری‌های ژنومی و ترانسژنیک بکارگرفته شوند. بهرحال امروزه استفاده از نشانگرهای مولکولی در انتخاب به کمک مارکر و اصلاح، فناوری ترانسژنیک برای معرفی صفات مطلوب و تجزیه و تحلیل آنها بخش مهمی از تحقیقات جاری در این جنس هستند.

## منابع


**احمدی، م و ف. جاوید فر(مترجمین). ۱۳۷۷.** تغذیه گیاه روغنی کلزا. شرکت سهامی خاص توسعهٔ کشت دانه های روغنی

**Bansal, U. K., Sequin-Swartz, G., Rakow, G. F. W. and Petrie, G. A. (1990).** Reaction of Brassica species to infestation by *Alternaria brassicae*. Can J Plant Sci, 70:1159–1162.

**Beare-Rogers, J. L. (1970).** Nutritional aspects of long-chain fatty acids. In: Proc Int Conf on the Science, Technology and Marketing of Rapeseed and Rapeseed Products. Ste-Adèle, Québec, Canada. Rapeseed Association of Canada and Department of Industry, Trade and Commerce, Ottawa, Canada, pp: 450–465.

**Chiang, M.S. (1974).** Cabbage pollen germination and longevity. Euphytica, 23:579–584.

**Cowling, W. (2010).** The challenge of breeding canola hybrids new opportunities for WA growers. Western Australian Pty Ltd, Agribusiness Crop.

**Gupta, S. K. (2012).** Technological innovation in major world oil crops, volume 1 breeding, Chapter3: *Brassica*. P. 52-83.

**Henikoff, S. Till, B. J. and Comai, L. (2004).** TILLING. Traditional mutagenesis meets functional genomics. Plant Physiol. 135: 630–636.

**He, D. L. Yang, G. S. (2004).** In vitro induced mutant of *Brassica napus* haploid and mutation efficencydetection by AFLP molecular markers. Chin J Oil Crop Sci., 26(2): 10–14.

**Hou, S. W., Sun, L. D., Zhang, Y. C., Wu, D. L., Guan, L. P., Li, W. J., Dang, B. R., Xie, H. M., Zhou, L. B. and Gao, Q. X. (2008).** Mutagenic effects of *Brassica napus* by 12C6+ ion beam. Nucl Tech 31(6):449–454.

**Iqbal, M. C. M., Weerakoon, S. R. and Peiris, P. K. D. (2006).** Variability of fatty acid composition in interspecific hybrids of mustard *Brassica juncea* and *Brassica napus*. Cey. J. Sci. (Bio. Sci.), 35 (1): 17-23.

**Jambhulkar, S. J. (2007).** Mutagenesis: Generation and Evaluation of Induced Mutations. Advances in Botanical Research, Vol. 45, pp 417–434.

**James, D. W. and Dooner, H. K. (1990).** Isolation of EMS-induced mutants in Arabidopsis altered in seed fatty acid composition. Theor Appl Genet, 80: 241–245.

**Kaushik, N. and Agnihotri, A. (2000).** GLC analysis of Indian rapeseed mustard to study the variability of fatty acid composition. Biochemical Society Transactions, *28* (6):581-583.

**Mendhan, N. J., Shipway, P. A. and Scott, R. K. (1981).** The effects of delayed sowing and winter on growth, development and yield of winter oilseed rape (*Brassica napus*). J.Agric. Sci. Camb., 97: 389 – 416.

**Meng, J. L. and Yi, G. X. (1988).** Studies on the embryology of reciprocal crosses between *Brassica napus* and *B. juncea*. Scientia Agricultura Sinica, 21, 46-50.

**Meng, J., Shi, S., Gan, L., Li, Z. and Qu, X. (1998).** The production of yellow-seeded *Brassica napus* (AACC) through crossing interspecific hybrids of *B. campestris* (AA) and *B. carinata* (BBCC) with *B. napus*. Euphytica, 103: 329–333.

**McCallum, C. M., Comai, L., Greene, E.A. and Henikoff. S. (2000a).** Targeted screening for inducedmutations. Nat Biotechnol, 18: 455–7.

**Diederichsen, E. and Sacristan, M. D. (1994).** The Use of Ovule Culture in Reciprocal Hybridization between *B. campestris* L. and *B. oleracea* L. Plant Breeding, 113 (1), 79–82.

**Downey, R. K. and Rakow, G. F. W. (1987).** Rapeseed and mustard. In: W.R. Fehr (Ed.), Principles of Cultivar Development, Vol. 2. Macmillan, New York, pp. 437–486.

**Edwards, D., Batley, J., Parkin. I. and Kole, C. (2012).** Genetics, Genomics and Breeding of Oilseed Brassicas, Chapter 4: Classical Genetics and Traditional Breeding. P.73-84.

**Falk, K. C. Woods, D. L. (2002).** Mixing effect in summer turnip rape synthetics. 13th Int Crucifer Genetics Workshop, Davis, California, USA, 23–26 March.

**Falk, K. C. Woods, D. L. (2003).** Seed yield of successive synthetic generations in summer turnip rape. Can J Plant Sci, 83: 271–274.

**Fan, Z. Rimmer, S. R. and Stefansson, B. R. (1983a).** Inheritance of resistance to *Albugo* candida in rapid cycling population of *Brassica campestris*. Phytopathol, 77:527–532.

**Fan, Z. Rimmer, S. R. and Stefansson, B. R. (1983b).** Inheritance of resistance to *Albugo candida* in rape. Can J Genet Cyotol, 25:420–424.

**Ferrie, A. M. R., Taylor, D. C., MacKenzie, S. L., Rakow, G. Raney, J. P. and Keller, W. A. (2008).** Microspore mutagenesis of Brassica species for fatty acid modifications: a preliminary evaluation. Plant Breed, 127: 501–506.

**Finlayson, A. Krzymanski, J. Downey, R. K. (1973).** Comparison of chemical and agronomic characteristics of two *Brassica napus* L. cultivars. Bronowksi and Target. J Am Oil Chem Soc. 50: 407–410.

**Fu, T. D. (1981).** Production and research of rapeseed in the People's Republic of China. Eucaroia Cruciferae Newsletter 6: 6-7 .

**Gowers, S. and Christey, M. C. (1999).** Intercrossing *Brassica napus* and *Brassica oleracea* to introgress characters from kale to rape, 10th Int. Rapeseed Congress, Canberra, Australia.

**Gupta, S. K. (2009).** Biology and breeding in crucifer (chapter 7:Wild germplasm and male sterility). Pp: 113-123.

**Kramer, J. K. G. and Sauer, F. D. (1983)**. Cardiac lipid changes in rats, pigs, and monkeys fed high fat diets. In: JKG Kramer, FD Sauer, WJ Pigden (eds) High and Low Erucic Acid Rapeseed Oils. Production, usage, chemistry and toxicological evaluation. Academic Press Canada, Don Mills, Canada, pp 476–513.

**Pidskalny, R. S. and Rimmer, S. R. (1985).** Virulence of Albugo candida from turniprape (*Brassica campestris*) and mustard (*B. napus*) on various crucifers. Can J Plant Pathol, 7:283–286.

**Rai, B. (1982).** Breeding strategy for developing high yielding varieties of toria(*Brassica campestris* var. toria). In: Research and development strategies for oilseeds production in India. ICAR, New Delhi, pp: 131–135.

**Rai, B. (1983a)**. Genetic improvement of seed yield and disease resistance in rapeseed and mustard
oil crops. Oil Crops J, 13:6–13.

**Rai, B. (1983b)**. Advances in rapeseed and mustard breeding research. Ind Farm 37:16–17.

**Rai. B., Kolte, S. J. and Tiwari, A. N. (1976).** Evaluation of oleiferous *Brassica* germplasm for resistance to Alternaria leaf blight. Ind J Mycol Pathol, 6:76–77.

**Röbbelen, G. Thies, W. (1980)** .Variation in rapeseed glucosinolates and breeding for improved meal quality. In: S Tsunoda, K Hinata, C Gómez-Campo (eds) *Brassica* Crops and Wild Allies. Japan Scientifi c Societies Press, Tokyo, Japan, pp: 285–299.

**Seyis, F., Friedt, W., Pons-Kuhnemann, J. and Lühs, W. (2003).** *Brassica napus* resynthesis as a tool for broadening the genetic base of oilseed rape. Proc., 11th Intl. rapeseed congress,The Royal Veterinary and Agric. Univ., Copenhagen, Denmark. 6-10 July, 2003, *2*: 378-381.

**Schierholt, A., Becker, H.C. and Ecke, W. (2000).** Mapping a high oleic acid mutation in winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). Theor Appl Genet, 101: 897–901.

**Schnurbusch, T. Becher, H. C. (2000).** A mutant of *Brassica napus* with increased palmitic acid content. Plant Breed, 119: 141–144.

**Sega, G. A. (1984).** A review of the genetic effects of ethyl methanesulfonate. Mutat Res/Rev Genet Toxicol, 134: 113–142.

**Thurling, N. (1991).** Application of the ideotype concept in breeding for higher yield in the oilseed brassicas. Field Crop Research, 26:201-219.

**McCallum, C. M., Comai. L., Greene, E. A. and Henikoff, S. (2000b).** Targeting induced local lesions IN genomes (TILLING) for plant functional genomics. Plant Physiol, 123: 439–42.

**Muangprom, A., Thomas, S. G., Sun, T. P. and Osborn, T. C. (2005).** A novel dwarfi ng mutation in a green revolution gene from *Brassica rapa*. Plant Physiol, 137: 931–8.

**Mujeeb-Kazi, A. (1993).** Interspecific and intergeneric hybridisation in the triticeae for wheat improvement. p 95-102. In: Damania, A. B. (ed) *Biodiversity* and wheat improvement. John Wiley and Sons Pub.

**Mullins, E. Quinlan, C. and Jones, P. (1999).** Isolation of mutants exhibiting altered resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* from small M2 populations of an oilseed rape (*Brassica napus*) variety. Eur J Plant Pathol.105: 465–475.

**Nishiyama, I., Sarashima, M. and Matsuzawa, Y. (1991).** Critical discussion of abortive interspecific crosses in Brassica. Plant Breeding, 107: 288-302.

**Rahman, M. H. (2001).** Production of yellow-seeded *Brassica napus* through interspecific crosses. Plant Breeding, 120(6): 463-472.

**Rakow, G. (1973).** Selection for linoleic and linolenic acids in rapeseed after mutagenic seed treatment (in German) Z Pfl anzenzüchtg, 69: 62–82.

**Rakow, G. (1993a).** AC Excel summer rape. Can J Plant Sci, 73: 183–184.

**Rakow, G. (1993b)**. AC Elect summer rape. Can J Plant Sci. 73: 181–182.

**Raney, P., Rakow, G. and Olson, T. (1995).** Development of zero erucic, low linolenic *Brassica juncea* utilizing interspecific crossing. Proc. 9th Int. Rapeseed Congress, Cambridge UK, 2: 416-418.

**Rashid, A., Rakow, G. and Downey, R. K. (1994).** Development of yellow-seeded *Brassica napus* through interspecific crosses. Plant Breeding, 112: 127–134.

**Robbelen, G. Nitsch, A. (1974).** Genetische und physiologische undersuchungenand polyen-fettsaure-mutanten von Raps. I auslese und beschreibung neuermutanten. Z Pflansenzuchtg, 75:93–105.

**Roy, N. N. (1978)**. A study on disease variation in the populations of an interspecific cross of *Brassica juncea* L. x *B. napus* L. Euphytica, 27: 145-149.

**U, N. (1935)**. Genome analysis in *Brassica* with special reference to the experimental formationof *B. napus* and peculiar mode of fertilization. Jpn. J. Bot., 9: 389–452.

**Verma, V. D. Rai, B. (1980a).** Note on induced mutagenesis for spotting out usable sources of resistance to *Alternaria* leaf spot in Indian mustard. Ind J Agric Sci, 50:278–280.

**Vollmann, J. and Rajcan, I. (2009).** breeding. Oil Crops, handbook of plant, PP. 548.

www.grdc.com.au

www.bayercropscience.ca

**Wang, N., Wang, Y. J., Tian, F., King, G.J., Zhang C. Y., Long, Y. Shi, L. and Meng, J. L. (2008)**. A functional genomics resource for *Brassica napus*: development of an EMS mutagenized population and discovery of FAE1 point mutations by TILLING. New Phytol 180: 751–765.

**Wu, G. Z., Shi, Q. M., Niu, Y., Xing, M. Q. and Xue, H. W. (2008).** Shanghai RAPESEED Database: a resource for functional genomics studies of seed development and fatty acid metabolism of Brassica. Nucl Acids Res, 36: D1044–D1047.

**Zhao, Y., Wang, M. L., Zhang, Y. Z., Du, L. F. and Pan, T. (2000).** A chlorophyll-reduced seedling mutant in oilseed rape, *Brassica napus*, for utilization in F1 hybrid production. Plant Breed, 119: 131–135.

**Zhang, G. Q., Tang, G.X., Song, W. J. and Zhou, W. J. (2004).** Resynthesizing *Brassica napus* from interspecific hybridization between *Brassica rapa* and *B. oleracea* through ovary culture. *Euphytica,* 140: 181–187.