دانشکده کشاورزی

گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی

پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته بیوتکنولوژی کشاورزی

انتقال ژن *codA* به گیاه کلزا جهت مقاومت به تنش شوری

استاد راهنما

دکتر ابراهیم دورانی

استاد مشاور

دکتر مصطفی ولیزاده

دانشجو

سعید مهدوی اقدم

شهریور ۹۲

بسم الله الرحمن الرحيم

نام خانوادگی: مهدوی اقدم نام: سعید

عنوان پایاننامه: انتقال ژن *codA* به گیاه کلزا جهت مقاومت به شوری

استاد راهنما: دکتر ابراهیم دورانی علیایی

استاد مشاور: دکتر مصطفی ولیزاده

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد رشته: بیوتکنولوژی کشاورزی گرایش:-

دانشگاه: تبریز دانشکده: کشاورزی تاریخ فارغ التحصیلی: شهریور ۹۲

کلید واژه: انتقال ژن، کلزا تنش شوری،*codA*

چکیده

کلزا به خاطر داشتن سطوح پایین اسید چرب‌های اشباع از گیاهان روغنی مهم محسوب می-شود. تنش شوری یکی از عوامل محدود کننده در رسیدن گیاهان به حداکثر پتانسیل ژنتیکی خود می‌باشد. با توجه به افزایش جمعیت جهان و نیاز روز افزون به غذا، استفاده از گیاهان تراریخته متحمل به تنش‌ها یکی از راهبردهای موثر در این زمینه می‌باشد. افزایش محتوی سلولی برخی از ترکیبات اسمز نگهدار از طریق مهندسی ژنتیک موجب بهبود تحمل گیاهان به تنش‌های غیرزیستی از جمله شوری شده است. از مهمترین این ترکیبات اسمزنگهدار گلایسین بتائین می‌باشد که آنزیم کولین اکسیداز (*codA*) با تبدیل کولین به گلایسین بتائین از آنزیم‌های مهم در این مسیر می‌باشد. هدف از این طرح انتقال ژن کولین اکسیداز به گیاه کلزا رقم Orient برای افزایش تحمل آن به شوری می‌باشد. از ژن *codA* تحت کنترل پیشبر 35S همسانه سازی گردیده بود استفاده گردید. پلاسمید دوگانه حاوی ژن پس از تکثیر و تایید نهایی در باکتری *E.coli* به آگروباکتریوم نژاد GV3101 منتقل گردید. پس از آنالیز مولکولی باکتری‌های تراریخته برای حضور پلاسمید در آن از

طریق PCR، از آن‌ها برای تراریخته کردن کلزا استفاده شد. در این طرح برای انتقال ژن، دو ریزنمونه کوتیلدون و هیپوکوتیل گیاه به همراه غلظت‌های ۰/٤ و ۰/٦ آگروباکتریوم در حضور نیترات نقره به میزان ۵ میلی‌گرم در لیتر در مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل، نشان داد که استفاده از ریزنمونه هیپوکوتیل برای تراریختی کلزا در این آزمایش بهتر از کوتیلدون بود. بیشترین میزان تراریختی با استفاده از ریزنمونه هیپوکوتیل ۲۰ درصد بدست آمد. شاخساره‌های تراریخته برای ریشه‌زایی به محیط ریشه‌زایی منتقل شدند. گیاهان تراریخته احتمالی شده در حضور ماده گزینشگر موفق به القا و گسترش ریشه شدند در حالی که گیاهان غیرتراریخته نکروزه شده و از بین رفتند. از کل گیاهان باززا شده تعداد ٤۰ گیاه تولید ساقه و در نهایت تعداد ۳٤ گیاه تولید ریشه کردند. گیاهان ریشه دار شده پس از استقرار در گلخانه با استفاده از آغازگرهای اختصاصی برای ژن *nptII* مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج حاصل نشان داد که تعداد ۲۱ گیاه سازواره ژنی را دریافت کرده اند. گیاهان برای گلدهی تحت مراقبت های ویژه قرار گرفتند و پس از بذردهی، بذور نسل اول آنها جمع آوری گردید.

فهرست

فصل اول: مقدمه و بررسی منابع

مقدمه..... ۱

۱-۱- اهمیت گیاهان تراریخته در کشاورزی..... ۵

۱-۲- تاریخچه استفاده از کلزا به عنوان محصول زراعی..... ٦

۱-۳- گیاهشناسی کلزا..... ۷

۱-۳-۱- گونه‌های روغنی جنس *Brassica* ۸

۱-۳-۱-۱- گونه کلزا *Brassica napus* ۸

۱-۳-۱-۲- گونه شلغم روغنی *Brassica rapa* ۹

۱-۳-۱-۳- گونه خردل هندی *Brassica juncea*... ..... ۹

۱-۳-۱-٤- گونه خردل سفید *Brassica hirta* ۹

۱-۳-۱-۵- گونه خردل حبشی *Brassica cartinata* ۱۰

۱-۳-۲- اکولوژی کلزا..... ۱۰

۱-٤- سطح زیر کشت، تولید و عملکرد کلزا در ایران و جهان..... ۱۰

۱-۵- اصلاح ژنتیکی کلزا..... ۱۲

۱-٦- تنش‌های غیر زیستی و ضرورت تولید گیاهان زراعی..... ۱۳

۱-٦-۱- تنش شوری..... ۱۵

۱-٦-۲- تحمل به شوری در گیاهان..... ۱۷

۱-٦-۳- مکانیسم‌های تحمل به شوری در گیاهان..... ۱۸

۱-٦-۳-۱- پمپ‌های یونی، کلسیم و مسیرهای SOS..... ۱۹

۱-٦-۳-۲- آبسیزیک اسید و فاکتورهای رونویسی..... ۲۱

۱-٦-۳-۳- پروتئین کیناز فعال شونده توسط میتوژن..... ۲۱

۱-٦-۳-٤- فعالیت آنتی اکسیدان..... ۲۲

۱-٦-۳-۵- ترکیبات اسمزنگهدار..... ۲٤

۱-۷- اصلاح گیاهان برای تحمل به شوری..... ۲۸

۱-۷-۱- انتخاب واصلاح گیاهان به شوری به روش سنتی ۲۸
۱-۷-۲- استفاده از مهندسی ژنتیک در تحمل به شوری..... ۳۰
۱-۸- گلایسین بتائین..... ۳۱
۱-۸-۱- نقش گلایسین بتائین در تحمل به شوری..... ۳۱
۱-۸-۲- مسیرهای بیوسنتز گلایسین بتائین ۳۳
۱-۹- مهندسی ژنتیک گیاهان برای تولید گلایسین بتائین ۳٤
۱-۱۰- کشت بافت و انتقال ژن در کلزا..... ۳۷
فصل دوم
مواد و روش ها
۲-۱- مواد گیاهی..... ٤۰
۲-۲- باکتری‌ها و پلاسمید..... ٤۰
۲-۳-ضد عفونی سطحی بذور..... ٤۰
۲-٤- تهیه ریزنمونه برای تراریختی..... ٤۰
۲-۵- انتخاب غلظت مناسب آنتی‌بیوتیک کانامایسین..... ٤۱
۲-٦- محیط کشت باکتری..... ٤۲
۲-۷- تکثیر پلاسمید..... ٤۲
۲-۷-۱- تهیه باکتری‌های مستعد..... ٤۲
۲-۷-۲- تراریختی باکتری‌های مستعد *E.coli* با پلاسمید خالص pBI121 ..... ٤٤
۲-۷-۳- استخراج پلاسمید از *E.coli*..... ٤۵
۲-۸- مشاهده کیفیت و کمییت پلاسمید در الکتروفورز..... ٤٦
۲-۹- تراریختی آگروباکتریوم..... ٤۷
۲-۹-۱- تراریختی آگروباکتریوم با پلاسمید خالص pBI121..... ٤۷
۲-۹-۲- استخراج پلاسمید از آگروباکتریوم..... ٤۹
۲-۱۰- هضم آنزیمی..... ٤۹
۲-۱۱- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای تایید پلاسمید نوترکیب..... ۵۰
۲-۱۲- ذخیره باکتری برای تلقیح ۵۰

۲-۱۳- انتقال ژن به گیاه..... ۵۱
۲-۱۳-۱ پیش کشت ریزنمونه‌ها..... ۵۱
۲-۱۳-۲- آماده سازی آگروباکتریوم و تلقیح ریزنمونه‌ها ۵۱
۲-۱۳-۳- گزینش ریز نمونه‌های تراریخته احتمالی..... ۵۲
۲-۱٤- سازگار کردن گیاه به شرایط invivo..... ۵۳
۲-۱۵- بررسی مولکولی گیاهان تراریخته احتمالی..... ۵۳
۲-۱۵-۱- استخراج DNA ژنومی از برگ تراریخته احتمالی ۵۳
۲-۱۵-۲- واکنش زنجیره ای پلیمراز گیاهان تراریخته..... ٥٤
فصل سوم
نتایج و بحث
۳-۱- کشت بذور و به دست آوردن ریزنمونه‌های استریل..... ٥٦
۳-۲- انتخاب غلظت مناسب آنتی بیوتیک کانامایسین..... ٥٦
۳-۳- واکنش PCR جهت تایید حضور ژن..... ۵۷
۳-٤- باززایی گیاهچه‌های تراریخته از ریز نمونه‌های کوتیلدون و هیپوکوتیل..... ۵۸
۳-۵- ساقه‌زایی و ریشه‌زایی گیاهان تراریخته احتمالی..... ٦٤
۳-٦- سازگار کردن گیاهان به شرایط خارج از شیشه..... ٦٦
۳-۷- انتقال به گلخانه و سرمادهی جهت بذرگیری..... ٦٦
۳-۸- بررسی مولکولی گیاهان تراریخته احتمالی..... ٦٨
۳-۹- نتیجه گیری کلی ٦٩
۳-۱۰- پیشنهادات..... ٦٩
فصل چهارم
منابع مورد استفاده..... ۷۱
پیوست..... ۸۷

مقدمه

مناطقی که در جهان تحت تأثیر نمک قرار دارند به طور مداوم در حال افزایش هستند. بر اساس برآوردهای انجام شده حدود ۵۰٪ اراضی دنیا که معادل سه برابر مساحت زیر کشت گیاهان می‌باشد تحت تنش شوری است (FAO، ۲۰۰۸). شوری خاک در کشور ما نیز از مشکلات جدی بر سر راه کشت گیاهان زراعی می‌باشد (فروتن و همکاران، ۱۳۸٤). ایران دارای اقلیم گرم و خشک بوده و وسعت اراضی تحت شوری در ایران در حدود ۱۵ میلیون هکتار است که نزدیک به ۱۰ درصد مساحت کشور را در برمی‌گیرد (وزارت جهاد کشاورزی، ۱۳۸۰).

کلزا (*Brassica napus*) از نظر تولید روغن، گیاه زراعی مهم و با ارزشی است که با تولید روغن مصرفی پس از روغن پالم و سویا از نظر تولید روغن در جهان مقام سوم را دارد. تلاش‌های زیاد به زراعی و به نژادی، افزایش کمیت و کیفیت محصول و ویژگی‌های زراعی آن را بهبود بخشیده است (FAO، ۲۰۱۳). ولی به دلیل اهمیت اقتصادی آن، برنامه‌های اصلاحی کارآمد برای افزایش روز افزون عملکرد آن و گسترش دامنه کشت آن ضروری به نظر می‌رسد. افزایش سطح زیر کشت با گسترش دامنه سازگاری و افزایش عملکرد آن در واحد سطح در کشور می‌تواند نقش بسزایی در رسیدن به خودکفایی در تولید روغن مصرفی ایفا کند.

تنش شوری می‌تواند به طور مستقیم یا غیرمستقیم روی وضعیت فیزیولوژیکی گیاهان با برهم زدن متابولیسم و رشد و نمو اثر بگذارد (زیو، ۲۰۰۱). مقاومت به شوری یک فرآیند بسیار پیچیده‌ای است که در سطح سلولی و گیاه کامل عمل می‌کند (اشرف و هریس، ۲۰۰٤). بنابراین توسعه گیاهان با تحمل به شوری نیازمند درک واضحی از ژنتیک و مکانیسم‌های فیزیولوژیکی دخیل در فرآیند تحمل در مراحل مختلف رشدی گیاه می‌باشد (زیو، ۲۰۰۱).

گیاه در محیط شور به دو طریق آسیب می‌بیند:۱- منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی محلول خاک که جذب آب را دشوار می‌کند. ۲- جذب و انباشتگی یون‌های سمی در سلول که اثرات نامطلوبی بر بسیاری از فرآیندهای حیاتی گیاه دارد. در ابتدای تنش شوری، تنش خشکی که در اثر کاهش پتانسیل آب محیط ریشه حادث می‌شود، عامل اصلی کاهش رشد است ولی به تدریج غلظت املاح در بافت-های گیاهی افزایش می‌یابد و زمانی که غلظت املاح در بافت گیاهی به حد سمیت رسید خسارت ناشی از سمیت باعث کاهش رشد و مرگ گیاه می‌شود (مان، ۱۹۹۳).

در دو دهه گذشته تحقیقات مولکولی درک مهمی از مکانیسم‌های مولکولی مقاومت به شوری در گیاهان را فراهم کرده است (رونتین و همکاران، ۲۰۰۲). مطالعات نشان می‌دهد که تنش‌های مختلف محیطی ممکن است تنش اسمزی، اکسیداتیو و تخریب پروتئین در گیاهان را تحریک کنند که موجب پاسخ‌های سازگاری سلولی مانند تجمع ترکیبات ارگانیک سازگار، دفع مسمومیت حاصل از گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و القاء پروتئین‌های تنش می‌گردد (زیو، ۲۰۰۱).

ترکیبات ارگانیک سازگار(مواد اسمز نگه‌دار[1]) با وزن مولکولی کم و با حلالیت بالا در آب هستند که در غلظت‌های بالا برای گیاه غیر سمی هستند (لی و همکاران، ۲۰۱۱). این مواد نقش مهمی در پایداری پروتئین و جلوگیری از تخریب غشا در تنش‌های غیر زنده بازی می‌کنند (یانسی، ۱۹۹٤). مواد اسمز نگهدار در سه گروه تقسیم می‌شوند: گروه اول بتائین‌ها(مشتقات N-methylated amini acid)، گروه دوم پرولین و اکتوئین (آمینو اسیدها) و گروه سوم پلی اول‌ها و تری هالوزها (قندهای غیراحیا) می‌باشند.

1-Osmoprotectant

هر چند تحت شرایط تنش، استفاده از یون‌ها به منظور تنظیم اسمزی ممکن است از لحاظ انرژیکی بسیار مناسب‌تر از سنتز اسمولیت‌های آلی باشد ولی بسیاری از گیاهان برای تحمل تنش‌های اسمزی، اسمولیت‌های آلی را تجمع می‌کنند (چینوسومی و همکاران، ۲۰۰۵). از مهم‌ترین اسمولیت-های گیاهی می‌توان به گلایسین بتائین، تری هالوز، مانیتول و پرولین اشاره کرد. گلایسین بتائین و تری هالوز از طریق پایدار کردن ساختار چهارم پروتئین‌ها و حالت بسیار منظم غشاهای سلولی به عنوان تنظیم‌کننده اسمزی عمل می‌کنند. تلاش‌های زیادی برای افزایش محتوای سلولی این مواد برای افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های غیر زیستی انجام شده است (مرور شده توسط گرور و همکاران، ۲۰۰۳).برخلاف پرولین تجزیه گلایسین بتائین در گیاهان کمتر می‌باشد. لذا در سال‌های اخیر توجه بیشتری به مهندسی ژنتیکی گیاهان برای سنتز گلایسین بتائین شده است (چینوسومی و همکاران، ۲۰۰۵). دستورزی آنزیم‌های دخیل در بیوسنتز گلایسین بتائین از راهبردهای مطرح در افزایش محتوی این ترکیبات می‌باشد. از مهم‌ترین آنزیم‌های دخیل در این مسیر آنزیم کولین اکسیداز می‌باشد که در باکتری *Arthrobacter globiformis* موجب سنتز گلایسین بتائین از کولین می‌گردد.

به نظر می‌رسد دستورزی گیاهان برای افزایش میزان بتائین سلولی با افزایش بیان آنزیم کولین اکسیداز یک راهکار مناسب برای دستیابی به گیاهان متحمل به شوری است (ساکاموتو و موراتا، ۲۰۰۰).

بررسی منابع

۱-۱- اهمیت گیاهان تراریخته در کشاورزی

جمعیت جهان در حدود هفت میلیارد نفر (سال ۲۰۱۱) می‌باشد. با افزایش جمعیت جهان خسارت به مواد غذایی نیز افزایش می‌یابد. وسعت زمین‌های زیر کشت در جهان به موازات افزایش جمعیت به دلایل اقلیمی قابل افزایش نمی‌باشد پس تنها راه افزایش غذای موجود افزایش عملکرد محصول است. تکنولوژی تولید گیاهان تراریخته راهی برای افزایش عملکرد محصولات زراعی می‌باشد (چن و سینگ، ۲۰۱۱). گیاهان تراریخته در حال حاضر از لحاظ افزایش عملکرد در مقایسه با مدیریت محصول در کاهش استفاده از حشره کش‌ها و کاهش خسارات پس از برداشت خیلی بهتر و قابل پیش بینی‌تر عمل کرده‌اند (تریت و بارکر، ۲۰۱۱)، که این آینده بیوتکنولوژی را اثرگذارتر نشان می‌دهد.

بیوتکنولوژی مدرن به سرعت با تکنولوژی کشاورزی جدید در طول تاریخ سازگار گردید به طوری که گیاهان تراریخته را جزوه سازگارترین تکنولوژی‌ها در تاریخ کشاورزی به حساب می‌آوردند. امروزه در ایالات متحده ۹٤ درصد از محصول سویا، ۹۰ درصد از محصول کتان و ۸۸ درصد از مزارع ذرت زیر کشت گیاهان تراریخته هستند (NASS، ۲۰۱۱). در سال ۲۰۱۱، ۷۵ درصد کشت جهانی سویا،همچنین ۸۰ درصد از کتان کشت شده در جهان و بیش از ۳۰ درصد کشت کلزا دنیا را گیاهان تراریخته تشکیل داده‌اند (کلایو، ۲۰۱۱).این اطلاعات به طور قابل توجهی دلیلی برای گسترش بیوتکنولوژی می‌باشد. نتایج تمامی گزارشات رسیده از نقاط مختلف دنیا در مورد سیر رویدادهای بیوتکنولوژی در کشاورزی به طور واضحی سهم گیاهان GM را در افزایش هر کدام از شاخص‌های، ظرفیت، مصرف و سهم در دادوستد را نشان می‌دهد.

۱-۲- استفاده از کلزا به عنوان گیاه زراعی

کلزای روغنی مهم‌ترین گونه زراعی جنس براسیکاسه می‌باشد و به احتمال قوی فرم وحشی آن به اروپا و آفریقای شمالی محدود می‌شود(شیرانی راد و دهشیری، ۱۳۸۱). کلزا دارای سابقه طولانی برای مصرف دام و انسان می‌باشد. ۲۰۰۰ سال قبل از میلاد مسیح در نوشته های دوران قدیم از آن یاد شده است حتی در نوشته های باستانی که به زبان سانسکریت بوده، دانه روغنی کلزا سارسون نامیده شده است (عاشوری، ۱۳۸۰). در آثار بجا مانده از دوران نو سنگی در مصر، در نوشته های هندوها که از سال‌های ۱۵۰۰ تا ۲۰۰۰ قبل از میلاد به دست آمده و به ویژه در کتیبه‌های یونانی، رومی و چینی باقی مانده از سال‌های ۲۰۰ تا ۵۰۰ قبل از میلاد به گیاهان روغنی جنس براسیکا و ارزش دارویی آن‌ها اشاره شده است. کشت تجاری کلزا از سال ۱۹٤۲ در قسمت شمالی آمریکا یعنی کشور کانادا شروع گردیده و امکان استفاده از روغن کلزا برای مصرف خوراکی در سال ۱۹٤۸ مورد توجه قرار گرفت و منجر به استخراج روغن خوراکی از کلزا در سال ۱۹٥٦ تا ۱۹٥۷ گردید (شیرانی راد و دهشیری، ۱۳۸۱). کلزا نخستین بار در کانادا در سال ۱۹٤۳ به منظور روغن کاری ماشین بخار کشت شد(عزیزی و همکاران، ۱۳۷۸).با تولید روز افزون کلزا طی سال ۱۹٥٦ هزاران هکتار از اراضی کانادا به کشت این گیاه اختصاص یافت (رودی و همکاران، ۱۳۸۲).

در اواخر دهه ۱۹۷۰ میلادی اصطلاح کانولا توسط انجمن صنایع روغن‌کشی غرب کانادا به ثبت رسید و در ژانویه ۱۹۸٥ سازمان غذا و داروی آمریکا روغن کلزا را برای کاربرد و مصرف در غذای انسان تأیید نمود. در این راستا تقاضا در بازار افزایش یافته و به تناسب آن باعث افزایش عرضه در ایالت متحده شد. امروزه کلزا به عنوان سومین منبع روغن گیاهی در جهان می‌باشد (طغرایی، ۱۳۹۰). بر اساس تعریف سال ۱۹۸٦، کانولا دانه‌ای است که میزان اسید اروسیک در روغن

آن حداکثر دو درصد و مقدار گلوکوزینولیت‌های الیفاتیک حداکثر ۳۰ میکرو مول در گرم وزن خشک بدون چربی دانه اعلام گردید.

۱-۳- گیاه‌شناسی کلزا

از نظر گیاه‌شناسی این گیاه به تیره چلیپائیان یا شب بو و جنس براسیکا تعلق دارد و گونه زراعی *napus* می‌باشد. کلزا با نام علمی *napusBrassica*به انگلیسی Rapeseedبه آلمانی Rapsو به فرانسه Colza نامیده می‌شود. کلزا گیاهی است یک ساله با تیپ‌های بهاره و پائیزه که با توجه به شرایط اکولوژیک مناطق مختلف مورد زراعت قرار می‌گیرد.این گونه آمفی‌دیپلوئید حاصل از تلاقی فرم‌هائی از گونه کلم (*Brassica olearacea*)، با شلغم (*Brassica campestris*) در طبیعت می‌باشد.روغن کلزا برای تغذیه انسان و کنجاله آن به عنوان منبعی با پروتئین بالا برای تغذیه دام مناسب می‌باشد (رودی و همکاران، ۱۳۸۲). *B.napus* کلزای معمولی است که عموماً 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 (عزیزی و همکاران، ۱۳۷۸). کلزا با عدد کروموزومی برابر ۳۸ بوده و مهم‌ترین گونه زراعی براسیکا محسوب می‌شود (شیرانی راد و دهشیری، ۱۳۸۱). علاوه بر گونه *B.napus* (کلزا به معنی اخص)، دانه گونه‌های شلغم روغنی (*B.campestris*)، خردل هندی (*B.juncea*)، خردل سیاه (*B.nigra*) و خردل حبشی (*B.carinata*) در بازارهای جهانی تحت نام کلزا شناخته می‌شوند (رضایی، ۱۳۸۳).

۱-۳-۱- گونه‌های روغنی جنس *Brassica*

توانایی بذور گونه‌های مختلف جنس براسیکا در جوانه زدن و رشد در دمای پایین باعث شده است این گونه‌ها به عنوان یکی از معدود گیاهان زراعی و روغنی زمستانه که آن‌ها را در مناطق معتدل، ارتفاعات و در شرایط نسبتاً خنک می‌توان کشت کرد، مطرح باشند. پنج گونه از جنس براسیکا که در سطح جهان به عنوان دانه روغنی کشت می‌شوند در زیر آورده می‌شوند:

۱-۳-۱-۱- گونه کلزا (*Brassica napus*)

این گونه، کلزای معمولی است که عموماً 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 ۳۸ بوده و مهم‌ترین گونه‌ی جنس براسیکا محسوب می‌شود. ارقام بهاره و زمستانه این گونه به عنوان منبع روغنی گیاهی کشت می‌گردد ولی ارقام زمستانه در شرایط مساعد معمولاً پر محصول تر 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 زردرنگ نیز وجود دارد. به نظر می‌رسد رنگ زرد بذر با مقدار کم تانن در بذور و نازک‌تر بودن پوسته بذر ارتباط داشته و سبب می‌شود که میزان روغن و پروتئین بذر بیشتر و مقدار الیاف و فیبر کنجاله کم‌تر باشد (طغرایی، ۱۳۹۰).کلزای زراعی که در ایران کشت می‌شود متعلق به این گونه می‌باشد.

۱-۳-۱-۲- گونه شلغم روغنی (*Brassica rapa*)

قبلاً 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 ۲۰ به عنوان منبع روغن مورد کشت و کار قرار می‌گیرند. متحمل‌ترین ارقام کلزا به سرما به این گونه تعلق دارد که در دماهای پایین از سرعت رشد نسبتاً بالایی برخوردار می‌باشند. ارقام این گونه دارای بذور قهوه‌ای یا زرد رنگ هستند (رضایی، ۱۳۸۳).

۱-۳-۱-۳- گونه خردل هندی (*Brassica juncea*)

این گونه با عدد کروموزومی برابر ۳٦ را می‌توان به وسیله رنگ بذور آن شناسایی کرد. این گونه دارای بذور قهوه‌ای یا زرد رنگ می‌باشند. رقم‌های با بذور قهوه‌ای رنگ به عنوان خردل قهوه‌ای و رقم‌های با بذور زرد رنگ به عنوان خردل زرد یا خردل شرقی شهرت دارند. خردل هندی بهاره است و با شرایط خشک سازگاری کامل دارد و نسبتاً زودرس می‌باشد(رضایی، ۱۳۸۳).

۱-۳-۱-٤- گونه خردل سفید (*Brassica hirta*)

این گونه با عدد کروموزومی ٢٤ در اروپا به خردل سفید و در شمال امریکا به خردل زرد معروف است. این گونه در کشورهای مذکور به طور گسترده به عنوان چاشنی(ادویه) کشت می‌شود. بذر آن بزرگ و دارای رنگ زرد و روشن است (رضایی، ۱۳۸۳).

۱-۳-۱-۵- گونه خردل حبشی (*Brassica cartinata*)

این گونه با عدد کروموزومی برابر ۳٤ نسبتاً کم رشد است. کشت و کار آن به فلات اتیوپی و نواحی هم‌جوار آن در شرق آفریقا محدود می‌شود. بذور این‌گونه بزرگ و غالباً سیاه رنگ هستند ولی فرم‌های دارای بذور زردرنگ نیز وجود دارد (رضایی،۱۳۸۳).

۱-۳-۲- اکولوژی کلزا

کلزا سازگاری مناسبی با شرایط آب و هوایی معتدل و مرطوب دارد. کلزا گیاهی روز بلند است، روز بلندی در کلزا باعث ساقه رفتن و نیز کوتاه شدن دوره رشد می‌شود. با کم شده طول روز، کلزا در پائیز در مرحله روزت باقی می‌ماند. در بهار با تابش بیشتر نور، ساقه رفتن و گل‌دهی گیاه بهتر می‌شود (حجازی، ۱۳۷۹). دامن هفت و پریود نوری برای رشد کلزا بسیار گسترده است. به طوری که در دامنه ۱۰ تا ۲٤ ساعت روشنایی قادر به رشد و نمو می‌باشد. نیاز حرارتی کلزا برای جوانه‌زنی همانند غلات سردسیری در محدوده دو تا چهار سانتی‌گراد قرار دارد. دمای مناسب بهاره شدن[1] یک تا چهار درجه سانتی‌گراد بوده که انجام آن ۲۰ تا ٦۰ روز به درازا می‌کشد (آلیاری و همکاران، ۱۳۷۹).

۱-٤- سطح زیر کشت، تولید و عملکرد کلزا در ایران و جهان

در ایران زراعت کلزا در بین دانه‌های روغنی معمول پدیده‌ای جدید به شمار می‌آید. با وجود برنامه‌های مختلف در زمینه توسعه سایر گیاهان روغنی مانند سویا و آفتابگردان، در سال‌های اخیر به دلایل مختلفی امکان توسعه آن‌ها میسر نگردیده است ولی سازگاری کلزا در اغلب مناطق کشور با

1-Vernalization

توجه به ارقام و تاریخ‌های کاشت مناسب، موفق بوده است. با توجه به شرایط آب و هوایی کشور این گیاه می‌تواند به عنوان زراعت اصلی و زارعت ثانویه مطرح باشد. کشت کلزا به صورت آزمایشی و محدود از اواخر دهه ۱۳٤۰ شمسی آغاز شد. این تلاش‌ها از حدود ۲۰ سال پیش به صورت مؤثرتری جهت انتخاب ارقام مناسب کشت در ایران ادامه یافتند. بذور کلزا از کشورهای مختلف دنیا تهیه و در مناطق مختلفی از جنوب تا شمال کشور کشت شد تا سازگاری اقلیمی ارقام کلزا و امکان تولید گسترده آن‌ها مشخص گردد (طغرایی، ۱۳۹۰).

سطح زیر کشت این محصول در ایران از میزان ٤۸ هزار هکتار در سال ۲۰۰۳به ۱٦٥ هزار هکتار در سال ۲۰۱۱ رسیده است. میزان برداشت کلزا در ایران در سال ۲۰۰۳ از ۷٦ هزار تن به ۳٤٥ هزار تن در سال ۲۰۱۱ افزایش یافته است (FAO، ۲۰۱۱). میزان تولید کلزای جهان در سال ۲۰۱۱ به میزان ٦۲ میلیون تن بود.از کل تولید جهانی کلزا بین سال‌های ۲۰۰۰ تا ۲۰۱۱، ۳۹ درصد در آسیا، ۳٦ درصد در اروپا،۲۱ درصد در آمریکا، سه درصد در اقیانوسیه و کمتر از یک درصد در آفریقا تولید شده است (FAO، ۲۰۱۱).پنج کشور برتر تولید کننده در سال‌های ۲۰۰۰ تا ۲۰۱۱ به ترتیب چین (با بیش از ۱۲ میلیون تن)، کانادا (با حدود نه میلیون تن)، هند (با حدود شش میلیون تن)،آلمان (با حدود چهار میلیون تن) و فرانسه (با نزدیک چهار میلیون تن) بودند. در بین سال‌های ۲۰۰۰ تا ۲۰۱۱ کشورهای بلژیک، هلند، آلمان، ایرلند و شیلی پنج کشور با بالاترین عملکرد در دنیا بوده‌اند. در طی همین سال‌ها پنج کشور تولید کننده بذر کشورهای چین، لهستان، کانادا، هند و لیتوانی بوده است (FAO، ۲۰۱۱).

روغن کلزا از لحاظ تولید در بین ۲۵ گیاه روغنی تولیدی در جهان در سال ۲۰۱۱ بعد از سویا، روغن پالم و دانه کتان رتبه چهارم را به خود اختصاص داده است. در ایران نیز در بین ١٤ گیاه روغنی از نظر میزان تولید مقام اول را دارا می‌باشد (FAO، ۲۰۱۱).

۱-۵- اصلاح ژنتیکی کلزا

با افزایش نیاز جهانی برای روغن کلزا و تأمین تقاضای بازار، تحقیقات بیشتری در جهت اصلاح کلزا شروع شده است. هرچند روش‌های اصلاحی مرسوم توانسته در این زمینه راه‌گشا باشد ولی این روش در برخی موارد توأم با محدودیت‌هایی است. از جمله به محدودیت منابع ژنی می‌توان اشاره کرد و علاوه بر آن این روش‌ها زمان‌بر و دشوار هستند، جهت تولید و گسترش یک واریته جدید از طریق اصلاح مرسوم در حدود هشت الی ده سال زمان لازم است. استفاده از مهندسی ژنتیک در کنار گسترش دامنه ژنی، زمان لازم برای معرفی یک واریته جدید را کم می‌کند. بخش قابل توجهی از تحقیقات هم اکنون در این راستا قرار گرفته است و در اصلاح کلزا نیز از این فناوری استفاده می‌شود. هرچند گیاهان دستکاری شده ژنتیکی در دنیا کشت می‌گردند ولی کلزای دستورزی شده حدود ۸/۲ درصد از کل زمین‌های کشت شده کلزا را به خود اختصاص داده است (کلایو، ۲۰۱۱).

تراریختی در کلزا بیشتر به روی اصلاح کیفیت روغن (کاتاویک و همکاران، ۲۰۰۱) و ایجاد مقاومت به علف کش‌ها (مونسانتو، ۲۰۰۲) متمرکز شده است و در حال حاضر گیاهان تراریخته تجاری شده برای این صفات موجود می‌باشند. کلزا همچنین برای مقاومت به حشرات (استوارت و همکاران، ١٩٩٦) و قارچ‌ها (گریسون، ١٩٩٦) نیز مهندسی شده است. گزارشاتی از تراریختی کلزا