دانشکده علوم کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد

آنالیز مولکولی گیاهان نسل سوم(T_2) کلزای تراریخت شده با ژن های *EPSPS* جهش دار

از

مینا سمیعی فراهانی

اساتید راهنما

دکتر امیر موسوی

دکتر حبیب الله سمیع زاده لاهیجی

دی ۱۳۸۸

دانشکده علوم کشاورزی
گروه زراعت و اصلاح نباتات
بیوتکنولوژی در کشاورزی

آنالیز مولکولی گیاهان نسل سوم (T_2) کلزای تراریخت شده با ژن های *EPSPS* جهش دار

از
مینا سمیعی فراهانی

اساتید راهنما
دکتر امیر موسوی
دکتر حبیب الله سمیع زاده لاهیجی

استاد مشاور
دکتر علی هاتف سلمانیان

دی ۱۳۸۸

Faculty of Agriculture
Department of Agronomy and Plant Breeding
Agriculture Biotechnology

Molecular Analysis of the Third Generation (T_2) of Transformed Canola with *EPSPS* Genes

by
Mina Samiei Frahani

Supervisors
Dr. Amir Mousavi
Dr. Hbibollah Samizadeh Lhiji

Advisor
Dr. Ali Htef Salmanian

December 2009

Faculty of Agriculture

A Thesis Submitted for the Degree of M.Sc.

Molecular Analysis of the Third Generation (T_2) of Transformed Canola with *EPSPS* Genes

by

Mina Samiei Frahani

Supervisors

Dr. Amir Mousavi

Dr. Hbibollah Samizadeh Lhiji

December 2009

بسم الله الرحمن الرحيم

چکیده

آنالیز مولکولی گیاهان نسل سوم (T_2) کلزای تراریخت شده با ژن های *EPSPS* جهش دار

مینا سمیعی فراهانی

علف کش گلایفوسیت به صورت وسیع‌الطیف و غیر انتخابی در کنترل علفهای هرز مزارع کلزا (*Brassica napus* L.)، که از مهم ترین گیاهان دانه روغنی جهان به شمار می‌رود، بسیار موثر می باشد و اثرات بازدارندگی خود را بر روی علفهای هرز و گیاه زراعی، از طریق مهار رقابتی آنزیم کلیدی 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase یا EPSPS در مسیر شیکیمات اعمال می نماید. از راهکارهای موجود برای ایجاد مقاومت به علف کش گلایفوسیت استفاده از آنزیم EPSPS جهش یافته درگیاه هدف می باشد. در این راستا، دو جهش ($A^{183}T$, $G^{96}A$) در ژن *epsps* جداشده از منبع باکتریایی *E. coli* توسط روش جهش زایی نقطه ای (Site Direct Mutagenesis)، ایجاد شده و در گیاه زراعی کلزا تحت پروموتر CaMV 35S بیان یافته اند. در این پژوهش، از بذور گیاهان T_2 برای تولید و آنالیز نسل سوم گیاهان تراریخت استفاده شد. مقاومت به علف کش گلایفوسیت در گیاهچه ها و قطعات محور زیر لپه مورد بررسی قرار گرفت و تحمل گیاهچه ها در غلظت های ۰/۱ تا ۰/۲ میلی مولار علف کش و توسعه کالوس در غلظت ۰/۰۵ میلی مولار مشاهده شد. حضور و بیان ژن های جهش یافته *epsps* در این گیاهان با آزمون های PCR، RT-PCR و ELISA اثبات گردیده و نتایج حاصله بیانگر ایجاد گیاهان تراریخت با میزان مقاومت پایدار نسبت به علف کش گلایفوسیت بودند. در نهایت، محلول پاشی گیاهان تراریخت گلدانی با غلظت های مختلف علف کش صورت گرفت که مشاهدات حاکی از تحمل این گیاهان در دامنه ای حدود ۵-۲/۵ میلی مولار از علف کش و مقاومت نسبی در غلظت ۱۰ میلی مولار در هر دو نوع از لاین های مورد بررسی بود. البته گیاه تراریخت دارای ساختار ژنی با جهش $G^{96}A$ در مقایسه با گیاه تراریخت داری ساختار ژنی با جهش $A^{183}T$ ، درجات بالاتری از مقاومت را نشان داده که می تواند حاکی از پایداری بیشتر و کارآیی بهتر این نوع جهش، بیان موثرتر آن در سطوح مختلف نسخه برداری و ترجمه ونیز جایگزینی مناسب تر آن در طی فرآیند تراریختی باشد. .

کلمات کلیدی: *Brassica napus*, EPSPS, Site Direct Mutagenesis, گلایفوسیت.

Abstract:

Molecular Analysis of the Third Generation (T2) of Transformed canola with Mutant *EPSPS* Genes

Mina Samiei Farahani

Glyphosate, a non-selective and broad-spectrum herbicide, which is found to be very efficient in canola cultivation, one of the most important oilseed plant in the world, imposes destructive consequences on crops as well as weeds by inhibiting the key enzyme 5-enol pyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) of shikimate pathway. The strategy which is adopted here is the expression of *E. coli, epsps* gene which has been mutated with two single mutation ($A^{183}T$ and $G^{96}A$) by site directed mutagenesis, in canola under control of CaMV 35S promoter. In this project, seeds of T_2 plants have been used for generation of the third and its analysis. Resistance to glyphosate has been confirmed in planlets and *In vitro* culture of hypocotyls. The results showed that callus formation and its growth occured in medium containing 0.05 mM and seedling tolerance occurred in 0.1 to 0.2 mM glyphosate. Furthermore, integration transcription and translation of *epsps* genes were checked by genomic PCR, RT-PCR and ELISA, respectively. The results have demonstrated stable resistance to glyphosate. Finally, transgenic plants were sprayed by different concentrations of glyphosate to determine the resistance threshold. This test indicated T_2 transgenic lines resistance to 2.5-5 mM glyphosate, however they showed semi-resistance to glyphosate in 10 mM glyphosate. Moreover, $G^{96}A$ lines showed higher glyphosate resistance in compare to $A^{183}T$ plants that might be contributed to better stability and functional ability of the enzyme this mutation or effective transcription, translation or integration of $G^{96}A$ in transgene.

Key Words: *Brassica napus*, EPSPS, Site Direct Mutagenesis, Glyphpsate

فهرست مطالب

عنوان صفحه

چکیده

فصل اول: مقدمه و مرور منابع ۱

۱-۱- کلزا ۲

۱-۱-۱ -گیاه شناسی کلزا ۲

۱-۱-۲- روابط بین ژنوم گونه های روغنی کلزا ۳

۱-۲-تاریخچه کشت کلزا و وضعیت آن در ایران وجهان ۵

۱-۳- مزایای زراعی و اهمیت اقتصادی کلزا ۷

۱-٤- علف‌های هرز ۸

۱-٤-۱- علف‌های هرز گیاه کلزا ۹

۱-۵- کنترل علف های هرز ۱۰

۱-۵-۱-کنترل زیستی علف های هرز ۱۱

۱-۵-۲-کنترل شیمیایی علف های هرز ۱۱

۱-٦-طبقه بندی علف‌کش ها ۱۲

۱-٦-۱- علف‌کش‌های انتخابی ۱۲

۱-٦-۲- علف‌کش‌های غیرانتخابی ۱۲

۱-۷- گلایفوسیت ۱۳

۱-۷- ۱- تاثیر گلایفوسیت بر مسیر شیکیمات ۱۵

۱-۷-۲- انواع آنزیم EPSPS ۱۹

۱-۷-۳- مقایسه EPSPS و CP4EPSPS ۲۰

۱-۸-مقاوم سازی گیاهان زراعی به علف کش گلایفوسیت ۲۱

۱-۹- مروری بر گیاهان مقاوم به گلایفوسیت تجاری شده ۲۲

۱-۱۰- علل تنوع و اهمیت آنالیز گیاهان تراریخت ۲۵

۱-۱۱- آنالیز کیاهان تراریخت ۲٦

۱-۱۱-۱- آنالیز ژنتیکی ۲٦

۱-۱۱-۲- آنالیز مولکولی ۲٦

۱-۱۱-۲-۱- روش های مبتنی بر DNA ۲٦

۱-۱۱-۲-۲- روش های مبتنی بر RNA ۲۸

۱-۱۱-۲-۳- روش های مبتنی بر پروتئین ۲۸
۱-۱۱-۳- آنالیز فنوتیپی ۲۹
۱-۱۲- مروری بر گیاهان تراریخت مقاوم به گلایفوسیت و آنالیز آن ها ۲۹

فصل دوم: مواد و روش‌ها **۳۳**
۲-۱- مواد ۳٤
۲-۱-۱- مواد شیمیایی، آنزیم ها و کیت ها ۳٤
۲-۱-۲- مواد گیاهی ۳٤
۲-۱-۳- تهیه محیط کشت ها ی MS و B5 ۳٤
۲-۱-٤- ترکیب محیط CIM ۳٥
۲-۲- روش ها ۳۷
۲-۲-۱- ضدعفونی بذورT_2 و کشت در محیط جوانه زنی ۳۷
۲-۲-۲- تعیین حد آستانه گیاهچه های تراریخت در محیط حاوی علف کش گلایفوسیت ۳۷
۲-۲-۳-انتقال گیاهان تراریخت به گلدان ۳۷
۲-۲-٤- آزمون توسعه کالوس ۳۸
۲-۲-٥- استخراج DNA از گیاهان تراریخت نسل سوم (T_2) ۳۸
۲-۲-٦- بررسی کمیت وکیفیت DNA ٤۲
۲-۲-۷- واکنش PCR ژنومی ٤۲
۲-۲-۸- استخراجRNA تام از بافت گیاهی ٤٥
۲-۲-۹- آزمون RT-PCR ٤۷
۲-۲-۹-۱- ساختcDNA تک رشته ای از RNA ٤۷
۲-۲-۹-۲- تکثیرcDNA تک رشته ای توسط واکنش PCR ٤۸
۲-۲-۱۰- آزمون ELISA ٥۰
۲-۲-۱۱- آزمون Immunostrip ٥۲
۲-۲-۱۲-اعمال تیمار گلایفوسیت برروی گیاهان تراریخت نسل سوم) ٥۲
فصل سوم: نتایج **٥۳**
۳-۱- تعیین حد آستانه تحمل گیاهچه های تراریخت نسل سوم T_2 کلزا به علف کش گلایفوسیت ٥٤
۳-۲- بررسی توسعه کالوس از محور زیرلپه گیاهچه های تراریخت وشاهد ٥٥

۳-۳- بررسی و تأیید انتقال ژن های *EPSPS* جهش دار ۵۶
۳-۳-۱- استخراج DNA ژنومی pBI121 ۵۶
۳-۳-۲- واکنش PCR برای ژن مربوط به پیش بر CaMV 35S ۵۷
۳-۳-۳- واکنش PCR برای تأیید حضور ساختار های حاوی *EPSPS* دست ورزی شده ۵۸
۳-٤- تعیین کمیت و کیفیت RNA استخراج شده از گیاهان تراریخت نسل سومT_2 ۵۸
۳-۵- آزمون RT-PCR به منظور بررسی نسخه برداری ژنهای جهش یافته*EPSPS* باکتریایی در گیاهان تراریخت ۶۰
۳-٦- بررسی بیان ژن در گیاهان تراریخت با استفاده از آزمون ELISA ٦١
۳-۷- آزمون Immunostrip ٦۳
۳-۸- اعمال تیمار علف کش گلایفوسیت بر روی گیاهان تراریخت نسل سوم ٦٤
فصل چهارم: بحث **٦۷**
٤-۱-بحث کلی ٦۸
٤-۲- جمع بندی و نتیجه گیری ۷٦
٤-۳- **پیشنهادات** ۷۷
منابع ۷۸
ضمایم

فهرست جداول

جدول۲-۱- ترکیب محیط کشت های MS و B5 ۳۶

جدول۲-۲- بافر استخراج DNA ۴۱

جدول۲-۳- بافر شستشو ۴۱

جدول۲-٤- بافرTE ۴۱

جدول۲-۵- مواد لازم جهت تهیه واکنش PCR به منظور تایید حضور پیش- برCaMV35S ۴۳

جدول ۲-٦- مواد لازم جهت تهیه واکنش PCR به منظور تایید گیاه تراریخت ٤٤

جدول ۲-۷- مواد لازم جهت تهیه واکنش RT-PCR به منظور تایید بیان ژن جهش بافته EPSPS در گیاه تراریخت ۴۹

جدول ۳-۱- نتایج مربوط به اندازه گیری غلظتgDNA استخراج شده از گیاهان کلزا به روش اسپکتوفتومتری ۵۷

جدول۳ -۲- نتایج مربوط به $OD_{۲٦۰}$ و غلظت بعضی ا زنمونه‌هایRNA مربوط به گیاهان تراریخت نسل سوم تراریخت ۵۹

جدول ۳-۳-غلظت پروتئینNPTII در لاین‌های مختلف گیاهان تراریخت و شاهد کلزا ٦۲

جدول۳-٤- نتایج حاصل از محلول‌پاشی گیاهان تراریخت نسل سوم و شاهد(غیرتراریخت) با غلظت‌های صفر، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار علف‌کش گلایفوسیت. ٦۵

جدول۳-۵- نتایج حاصل از آزمون کای‌اسکور، جهت مقایسه ساختارها و غلظت- های علف‌کش گلایفوسیت ٦٦

جدول۳-٦- نتایج بررسی اثر متقابل غلظت علف‌کش گلایفوسیت در ساختار تراریختی گیاهان کلزا از لحاظ مقاومت ٦٦

فهرست تصاویر

شکل ۱-۱- بخش‌های مختلف گیاه کلزا ۳

شکل۱-۲- روابط ژنومی گونه های جنس *Brassica* ۵

شکل ۱-۳- چند نمونه از علف‌های هرز گیاه کلزا ۱۰

شکل۱-٤- فرمول شیمیایی علف‌کش گلایفوسیت ١٤

شکل۱-۵- نحوهٔ عملکرد EPSPS در مسیر شیکیمات ١٦

شکل۱-٦- ساخته شدن تیروزین و فنیل آلانین از کوریسمات ١٦

شکل۱-۷- ساخته شدن تریپتوفان از کوریسمات ١٧

شکل۱-۸- ساختار فضایی آنزیم EPSPS ١٩

شکل ۱-۹- چند نمونه از گیاهان مقاوم به گلیفوسیت ٢٥

شکل۳-۱- وضعیت گیاهچه‌های ، تراریخت و شاهد کلزا در محیط حاوی گلایفوسیت، ٥٤

شکل۳-۲- وضعیت تولید کالوس در ریزنمونه‌های محور زیرلپه ای گیاهچه‌های تراریخت و شاهد کلزا در محیط CIM حاوی گلایفوسیت ٥٥

شکل۳-۳- توسعه کالوس در محور زیرلپه گیاهچه‌های تراریخت و شاهد در محیط حاوی گلایفوسیت. ٥٥

شکل۳-٤- الکتروفورز DNA ژنومی کلزای تراریخت ATh ٥٦

شکل۳-۵- محصول آزمون PCR برای اثبات حضور پیش‌بر CaMV35Sدر گیاه کلزا ٥٧

شکل۳-٦- محصول آزمون PCR برای اثبات ژن *EPSPS* جهش یافته در گیاه کلزا ٥٨

شکل۳-۷- الکتروفورز RNA استخراج شده از گیاهان تراریخت نسل سوم کلزای تراریخنت و شاهد ٥٩

شکل ۳-۸- محصول آزمون RT-PCR برای اثبات بیان ژن *EPSPS* جهش یافته در گیاه کلزا ٦٠

شکل۳-۹- تشخیص پروتئین NPTII در گیاهان تراریخت کلزا با استفاده از روش داس الایزا. ٦١

شکل۳-۱۰- تشخیص پروتئین NPTII در گیاهان تراریخت کلزا با استفاده از روش Lateral Flow Strip. ٦٣

شکل۳-۱۱- محلول‌پاشی گیاهان تراریخت و شاهد کلزا با غلظت ۲/۵میلی‌مولار گلایفوسیت. ٦٤
شکل۳-۱۲- محلول‌پاشی گیاهان تراریخت و شاهد کلزا با غلظت های مختلف گلایفوسیت ٦٥

فصل اول:

مقدمه و مرور منابع

۱-۱-کلزا:

گیاه کلزا با نام علمی .*Brassica napus* L ، در زبان انگلیسی Rapeseed، فرانسه Colza، آلمانیRaps و در کانادا Canola نامیده می‌شود . به احتمال قوی نوع وحشی آن به اروپا و آفریقای شمالی محدود می‌باشد. کلزا گیاهی است یک ساله با دو تیپ رشد بهاره و پاییزه که ارقام پاییزه پر محصول و دارای ارتفاع زیاد است.

۱-۱-۱- گیاه شناسی کلزا:

گیاه کلزا. *Brassica napus* L از راستهRhodales، خانواده شب‌بوئیان یا چلیپائیان (Brassicaceae)، می‌باشد. این گیاه دارای یک ریشه‌ی اصلی و قوی، به همراه ریشه های فرعی فراوان با گستردگی بالا می‌باشد که در تحمل خشکی این گیاه اهمیت زیادی دارد. پس از پایان مرحله روزت، بوته به ساقه رفته، یعنی تولید یک ساقه اصلی می نماید بعد از به گل رفتن آن، رشد شاخه های فرعی آغاز می شود. شکل، رنگ و تعداد برگ ها بسته به رقم و مرحله رشد متفاوت است ولی به طور معمول برگ های اصلی بیضوی شکل و به رنگ سبز زیتونی بوده و تعداد آن‌ها برروی ساقه در تیپ های بهاره ۱۲ عدد و در پائیزه ها به بیش از ٤٠ عدد می‌رسد. برگ ها درزمان برداشت می‌ریزند و به همین علت برداشت محصول به سهولت امکان‌پذیر است(دهشیری، ۱۳۷۸). گل آذین در کلزا به شکل خوشه ای بلند می‌باشد. گل ها اغلب زرد رنگ و کامل بوده، دارای ٤ کاسبرگ، ٤ گلبرگ، یک مادگی دو برچه ای و ٦ پرچم که دو عدد از آن‌ها کوتاه و بقیه بلند می‌باشند. میزان خودباروری در این گیاه بطور معمول بیش از ۷۰ درصد است (عزیزی وهمکاران، ۱۳۷۸). در ارقام مختلف کلزا میزان دگرگشنی بین ۲۲ تا ۳۲ درصد متغیر است و در بعضی منابع دگرگشنی تا فاصله١٤ کیلومتری نیز گزارش شده است که نشان دهنده‌ی عملکرد فعال حشرات در این زمینه می باشد. میوه کلزا، خورجین دو بزرچه ای بوده که در هر کدام ٤٠-١٥ عدد دانه تشکیل می شود. بذور رسیده کلزا کره ای به قطر ۳-۲ میلی متر و قهوه ای ی ثیره ثا سیاه می باشند(شکل۱-۱).

شکل ۱-۱- بخش‌های مختلف گیاه کلزا

۱-۱-۲-روابط بین ژنوم گونه های کلزای روغنی:

کلزا یک آلوتتراپلوئید طبیعی بوده و این گیاه از تلاقی شلغم روغنی (*B. rapa*) و کلم (*B. oleracea*) حاصل شده است شکل(۱-۲). تولید هیبرید های بین گونه ای میان انواع مختلف این گونه، به علت اختلالات کروموزومی که به مرگ جنینی منجر می شود، دشوار است (انفراد، ۱۳۸۰). به همین علت انجام این گونه تلاقی ها در طبیعت را بایستی یکی از حوادث نادر تلقی نمود.

پنج گونه از جنس براسیکا که در سطح جهان به عنوان دانه روغنی کشت می‌شوند عبارتند از:

کلزا: (*B. napus*)

این گونه، کلزای معمولی با ژنوم AACC و عدد کروموزومی n=19 است که عموماً در اروپا و کانادا کشت می‌شود و در کانادا به کلزای آرژانتینی معروف است. دارای ارقام بهاره و پاییزه با عدد کروموزومی ۳۸ (آلوتتراپلوئید) بوده و مهم‌ترین گونه جنس براسیکا محسوب می‌شود. ارقام بهاره و زمستانه این گونه به عنوان منبع روغن گیاهی کشت شده ولی ارقام زمستانه در شرایط مساعد معمولا پر محصول‌تر می‌باشند (عزیزی و همکاران، ۱۳۷۸).

در اروپا و چین اغلب از ارقام پاییزه استفاده می‌شود. بذور آن به رنگ سیاه بوده و در حالت طبیعی بذور زرد رنگ نیز وجود دارد. به نظر 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.

گونه شلغم روغنی: (*B. rapa*)

قبلاً این گونه (*B. campestris*) نامیده می‌شد و در کانادا به کلزای لهستانی معروف است زیرا برای اولین بار ازآنجا وارد کانادا شده است. دارای ژنوم AA و عدد کروموزومی n=10 می‌باشد 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 قرار گرفته و مقاوم‌ترین ارقام کلزا به سرما به این گونه تعلق دارند که در دماهای پایین از سرعت رشد نسبتاً بالایی برخوردارند. ارقام این گونه دارای بذرهای قهوه‌ای یا زردرنگ هستند.

گونه خردل هندی: (*B. juncea*)

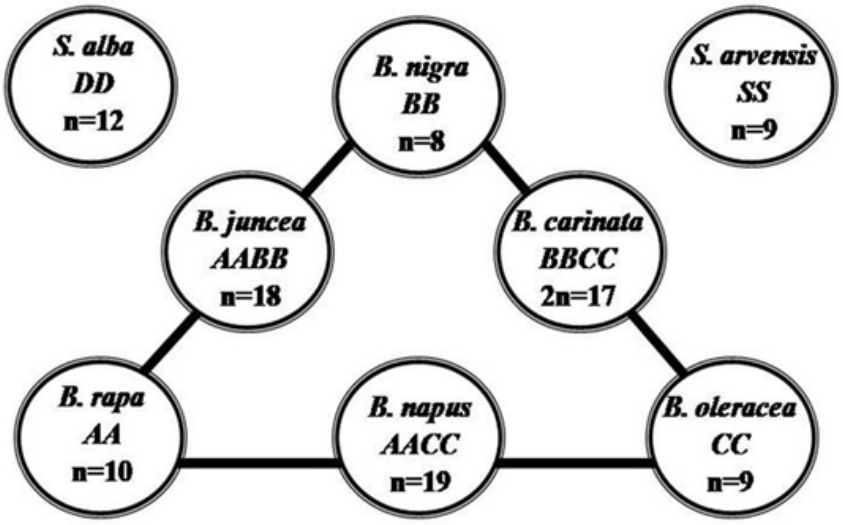
این گونه با ژنوم AABB و عدد کروموزومی ۳٦ را می توان به وسیله رنگ قهوه‌ای یا زردرنگ بذور آن شناسایی کرد. رقم‌های با بذور قهوه‌ای رنگ به عنوان خردل قهوه‌ای و رقم‌های با بذور زرد رنگ به عنوان خردل زرد یا خردل شرقی شهرت دارند. خردل هندی، بهاره است و با شرایط خشک سازگاری کامل دارد و نسبتاً زودرس می‌باشد.

گونه خردل سفید: (*B. carinat*)

این گونه با ژنوم BBCC و عدد کروموزومی ۳٤ 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 روشن است.

گونه خردل حبشی: (*Sinapis alba*)

این گونه با عدد کروموزومی ۲٤ نسبتا کم‌رشد است. کشت آن به فلات اتیوپی و نواحی هم‌جوار آن در شرق آفریقا محدود می‌شود. بذور این گونه بزرگ و غالباً سیاه‌رنگ هستند ولی بذور زرد رنگ نیز وجود دارد.



شکل۱-۲- روابط ژنومی گونه های جنس Brassica

۱-۲-: تاریخچه کشت کلزا و وضعیت آن در جهان و ایران:

مبدأ اولیه کلزا به خوبی روشن نمی‌باشد اما به احتمال قوی خاستگاه آن ناحیه آسیا و اروپا می‌باشد. زراعت کلزا از ۳۰۰۰ سال قبل در هندوستان رواج داشته و از آنجا به چین و ژاپن راه یافته است، به طوری که در اواسط دهه ۱۹۳۰ تقریبا ۹۰ درصد از کل کشت آن به دو کشور چین و هند تعلق داشت. در اروپا استخراج روغن از دانه کلزا و دانه سایر گونه‌های متعلق به جنس براسیکا از قرن شانزدهم رواج داشته است. این روغن ابتدا به عنوان سوخت چراغ و روان‌کننده ماشین‌های بخار استفاده می‌گردیده است و سپس به عنوان روغن خوراکی مرسوم گردید.

در سال ۱۹۳٦ گونه *B. campestris* (امروزه به *B. rapa* معروف است) و چند سال بعد *B. napus* به کانادا وارد شد. تولید تجاری کلزا در غرب کانادا در سال ۱۹٤۲ به عنوان منبع تأمین کننده روغن روان‌ساز در جنگ جهانی دوم آغاز گردید. امکان استفاده از روغن کلزا برای مصارف خوراکی در سال ۱۹٤۸ مورد توجه قرار گرفت و منجر به استخراج روغن خوراکی از کلزا در سال های ۱۹۵٦ و ۱۹۵۷ گردید. هم‌اکنون کانادا یک تولید کننده عمده کلزا می‌باشد. زراعت کلزا در

استرالیا از سال ۱۹٦۹ آغاز شده و رقم‌های مورد کشت، متعلق به هر دو گونه کلزا و شلغم روغنی می‌باشد که از ژاپن و کانـادا به این کشور وارد شده‌اند. در سال‌های ۱۹۷۲ تا ۱۹۷۷ میزان اسیداروسیک[1] روغن رقم‌های کلزا و شلغم روغنی بـه کمتـراز ۲ درصد کاهش یافت. در سال ۱۹۷٤ رقم Tower به عنوان اولین رقم دو صفر کلزا که هم مقدار اسـیداروسـیک و هـم مقـدار گلوکوزینولیت آن پایین بود معرفی شد (دهشیری، ۱۳۸۷). در سال ۱۹۸۱ تولید رقم‌های کلزا با میزان گلوکوزینولات بالا تقریبا متوقف گردید. در سال ۱۹۸٦، اولین رقم کلزا با میزان اسید اروسـیک پـایین در کانـادا تولیـد شـد. ارقـام Midas، Span و Torch از نخستین ارقام اصلاح شده با اسید اروسیک پایین می‌باشند که در کانادا مـورد کشـت قـرار گرفتـه‌انـد (دهشـیری، ۱۳۷۸). امروزه این گیاه روغنی در بیش از ۱۲۰ کشور جهان کشت داده می‌شود که مهم‌ترین آن‌ها کانـادا، چـین، هندوسـتان و اتحادیه اروپا می‌باشد(رشدی و همکاران[2]، ۲۰۰۸). مقدار تولید جهانی دانه‌های روغنی در سـال ۰۹-۲۰۰۸ ، ٤۱۸ میلیـون تـن بوده است و کلزا با تأمین حدود ۱۳٪ از کل روغن خوراکی جهان بعد از سویا و نخل روغنی مهم‌ترین گیاه روغنی بـه شـمار می‌رود و طی ۲۰ سال گذشته گیاهانی مانند بادام زمینی، آفتابگردان و پنبه‌دانه را پشت سر گذاشـته اسـت. در بـین کشـورهای جهان در این سال به ترتیب چین ، کانادا و هند تولیدکنندگان عمده کلزا می باشند(آی اس اس آ[3]، ۲۰۰۹).

در ایران آغاز برنامه‌های کشت دانه‌های روغنی مربوط به دهه ۱۳٤۰ خورشیدی می باشد. نوعی کلزا در حدود ۵۰۰ سـال پیش به عنوان منداب شناخته شده است ولی کشت ارقام اصلاح شده آناز اوایـل دهـه ۷۰ آغـاز گردیـد. در دو دهـه گذشـته، آزمایش‌های به‌نژادی و به‌زراعی متعدد و متنوعی دربخش دانه‌های روغنی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر بر روی کلزا صورت گرفته و منجربه معرفی چهار رقم کلزای اصلاح شده با نام‌های زرگل، طلایه، استقلال و سـاری‌گـل شـده اسـت. سطح زیر کشت گیاهان دانه روغنی در ایران در سال ۱۳۸۸، ۵۸٦ هزار هکتار بوده که از این میزان ۲۸۰ هزار هکتار آن به کلـزا تعلق داشته است، و بر اساس آمار موجود بیشترین سطح زیر کشت کلزا در استان ها به ترتیب متعلق به مازنـدران، گلسـتان و آذربایجان غربی بوده است. با بررسی نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده، مشخص شده کـه توسـعه کشـت کلـزا در کشـور امکان پذیر است وتوجه به مسائل به‌زراعی و به‌نژادی آن حائز اهمیت می‌باشد.

[1] Erucic Acid
[2] Roshdy et al.
[3] ISSA

۱-۳- مزایای زراعی و اهمیت اقتصادی کلزا

در میان دانه های روغنی که بعد از غلات دومین منبع تأمین کننده انرژی برای جوامع بشری مخسوب می شوند، کلزا از جایگاه ویژه ای برخوردار بوده و طبق آمار منتشره از سازمان خواروبار کشاورزی فائو[1]، کلزا پس از سویا و نخل روغنی، سومین منبع تولید روغن نباتی جهان بشمار می‌آید. به‌طوری که ۱٤.۷٪ کل تولید روغن گیاهی جهان را به خود اختصاص داده است. از آن‌جائی که میزان روغن حاصل از دانه‌های روغنی داخلی حدود ۸٪ نیازخام کشور را تامین می‌کند لذا توسعه کشت کلزا بدلیل صفات مطلوب زیر مورد توجه قرارگرفته است.

۱- دارا بودن تیپ‌های زمستانه و حدواسط که امکان کشت این گیاه را در شرایط متفاوت اقلیمی فراهم می سازد.

۲- در کشت پاییزه نیاز به آبیاری کمتری بوده و امکان استفاده از نزولات آسمانی پاییزه و زمستانه وجود دارد.

۳- کلزا می‌تواند به تناوب با زراعت گندم و جو و همچنین به عنوان کشت دوم پس از برنج کشت شده و از تراکم بیماری‌ها، آفات و علف‌های هرز بکاهد و باعث افزایش عملکرد دانه این محصولات شود.

٤- کلزا دارای پتانسیل عملکرد بالابوده و در بین دانه‌های روغنی از درصد روغن دانه بالایی (٤۰ تا ٤٥ درصد) برخوردار است.

٥- در اراضی شالیزار، پس از برداشت برنج می‌توان ارقام بسیار زودرس کلزا را در جهت کشت استفاده نمود.

٦- فصل رشد کلزا با سایر دانه‌های روغنی متفاوت است و زمانی که ظرفیت واحدهای روغن‌کشی خالیست، این گیاه برداشت می‌شود.

۷- کلزا با تقدم برداشت در مقایسه با گندم، زمینه لازم را برای کشت دوم محصولات تابستانه فراهم می‌کند.

۸- در توسعه‌ی صنعت زنبورداری نقش مهمی را اعمال می‌کند.

۹- به علت پاییزه بودن بر خلاف سایر دانه‌های روغنی در رقابت با محصولات پردرآمد بهاره قرار نمی‌گیرد.

۱۰- کنجاله حاصل از ارقام اصلاح شده کلزا می‌تواند جایگزین کنجاله سویا گردد.

۱۱- روغن کلزا (کانولا) در ارقام اصلاح شده فعلی در مقایسه با روغن‌هایی نظیر آفتابگردان، سویا و ذرت، بدلیل وجود اسیدهای چرب اشباع نشده و نبود کلسترول از اهمیت بیشتری برخوردار است.

[1] FAO