اگر با یقین نمی‌توانید بگویید که کار شما برای جامعه مفید است،
پس نمی‌توانید اظهار کنید که کار شرافتمندانه‌ای را انجام داده‌اید.

لئو تولستوی

دانشکده کشاورزی

گروه زراعت و اصلاح نباتات

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی

عنوان

جداسازی راه انداز اختصاصی ریشه چغندرقند

استاد راهنما

دکتر بهرام باغبان کهنه روز

استاد مشاور

دکتر اشرف قلی زاده

پژوهشگر

زهرا حسن زاده

بهمن 88

شماره پایان نامه:

نام خانوادگی: حسن زاده نام: زهرا

عنوان پایان نامه: جداسازی راه انداز اختصاصی ریشه چغندرقند

استاد راهنما: دکتر بهرام باغبان کهنه روز

استاد مشاور: دکتر اشرف قلی زاده

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد رشته: مهندسی کشاورزی

گرایش: بیوتکنولوژی دانشگاه: تبریز دانشکده: کشاورزی

تاریخ فارغ التحصیلی: تعداد صفحه: 65

کلید واژه‌ها: جداسازی- راه انداز اختصاصی ریشه- چغندرقند

چکیده:

راه اندازها نقش اساسی در رونویسی و بیان ژنها دارند. تا زمانیکه راه انداز ژن توسط RNA پلیمراز مورد شناسایی قرار نگیرد، رونویسی و در نتیجه بیان ژن به وقوع نمی پیوندد. بعضی از ژنها دارای بیان اختصاصی در اندام، بافت و یا شرایط محیطی متفاوت هستند، کلید این بیان اختصاصی در دست راه اندازهای اختصاصی قرار دارد که در اندام، بافت و یا شرایط محیطی خاص فعال می گردند، همین امر ضرورت شناسایی و جداسازی راه اندازهای اختصاصی را نشان می دهد. به دلیل اهمیت چغندرقند به عنوان یک گیاه صنعتی و اقتصادی، این تحقیق روی گیاه مزبور انجام شد. از آنجا که ریشه این گیاه بخش اقتصادی و مورد استفاده آن را تشکیل می‌دهد شناسایی و جداسازی راه اندازهای اختصاصی آن هدف اصلی این تحقیق می باشد بطوریکه برای تغییر ویژگیهای خاص آن و همچنین پروژه های انتقال ژن مورد استفاده قرارگیرد. در این تحقیق ابتدا اطلاعات مربوط به راه‌اندازهای اختصاصی ریشه در گیاهان مختلف جمع آوری شده و با راه اندازهای اختصاصی ریشه چغندر از نظر توالی نوکلئوتیدی مورد مقایسه قرار گرفت، سپس با استفاده از قسمتهای مشترک و مورد نظر این راه اندازها، آغازگرهایی طراحی وبرای تولید سفارش داده شد. برای دسترسی به نواحی مورد نظر از ژنوم گیاه چغندرقند، واکنش زنجیره ای پلیمراز با استفاده از آغازگرهای اختصاصی انجام پذیرفت. بدین منظور ابتدا با استفاده از روش CTAB، DNA گیاه چغندرقند استخراج و به عنوان DNA الگو در PCR مورد استفاده قرار گرفت. بعد از تکثیر قطعات مورد نظر، این قطعات در پلاسمیدهای pBluescript و pGEMT-Easy همسانه سازی شدند. پیرو درج قطعه در پلاسمیدها از طریق تراریختی باکتریایی، باکتریهای تراریخت تولید و پلاسمیدهای تکثیر یافته در آنها از طریق آنزیمهای برشی مورد تایید قرار گرفته و نهایتاً برای تعیین توالی آنها اقدام گردید. در پایان توالیهای حاصله مجدداً مورد بررسیهای بیوانفورماتیکی قرار گرفته و نتیجه گیری لازم یعنی شباهت قطعات همسانه سازی شده با اطلاعات موجود در NCBI و همچنین عدم وجود تفاوت در نواحی مهم همانند UTR مورد تایید قرار گرفت.

عنوان	صفحه
مقدمه.	1
فصل اول: بررسی منابع	
1- چغندر	4
1-1- شناخت کلی از چغندر	4
1-1-1- ارقام چغندر	6
1-1-2- ترکیب شیمیایی چغندر	8
1-2- راه انداز	9
1-2-1- ساختار راه اندازهای گیاهی	11
1-2-2- جداسازی و ارزیابی فعالیت راه انداز	12
1-2-3- آزمون گذرای راه اندازها	14
فصل دوم: مواد و روشها	
2- مواد و روشها	23
2-1- طراحی جفت آغازگرهای اختصاصی	23
2-2- بافرها و محلولهای مورد استفاده	24
2-2-1- بافرCTAB	24
2-2-2- تهیه ژل آگارز و الکتروفورز	24
2-2-2-1- بافر بارگذاری	26
2-2-2-2- EDTA نیم مولار با pH = 8	27

2-2-2-3- Tris-Cl نیم مولار با pH = 8	27
2-2-3- محیط کشت مایع (LB)	27
2-2-4- محیط کشت جامد (LB Agar)	28
2-2-5- محیط ذخیره و نگهداری باکتریها:	28
2-2-6- محلول FSB	28
2-2-7- X-Gal و IPTG	29
2-2-8- بافرهای مورد استفاده در استخراج پلاسمید	29
2-3- ماده گیاهی جهت استخراج DNA	30
2-4- استخراج DNA ژنومی	30
2-5- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)	32
2-6- اتصال قطعات تکثیری به پلاسمید	33
2-7- تراریختی	35
2-7-1- سویه باکتریها	35
2-7-2- تهیه سلولهای مستعد	35
2-7-3- تراریختی باکتریها	36
2-7-4- محیط کشت انتخابی	37
2-8- استخراج پلاسمید	38
2-9- برش آنزیمی	39
2-10- توالی یابی کلونها	40

فصل سوم: نتایج و بحث

3- نتایج و بحث 41

3-1- مطالعات بیوانفورماتیکی و طراحی آغازگر 41

3-2- تعیین کیفیت و کمیت DNA 42

3-3- تکثیر راه اندازهای اختصاصی از طریق واکنش زنجیره‌ای پلیمراز 43

3-4- همسانه‌سازی 45

3-4-1- تعیین غلظت محصول خالص‌سازی شده 46

3-4-2- انجام واکنش اتصال 46

3-4-3- انجام عمل تراریختی و انتخاب کلنی‌های سفید از آبی 47

3-5- آنالیز کلونهای سفید 48

3-5-1- استخراج پلاسمید و برش آنزیمی 48

3-5-2- تعیین توالی قطعات همسانه سازی شده 49

3-6- بررسیهای بیوانفورماتیکی راه اندازهای همسانه سازی شده با UTR و بدون UTR 52

3-7- نتایج و پیشنهادات 60

فصل چهارم: فهرست منابع 61

فهرست جدولها

جدول 1-1- ترکیبات شیمیایی ریشه چغندر 8

جدول 1-2- ترکیبات شیمیایی برگ چغندر 9

جدول 2-1- اجزای بافر CTAB 24

جدول 2-2- اجزای بافر الکتروفورز (TBE, 0.5 X) 25

جدول 2-3- ترکیب شیمیایی محیط LB 27

جدول 2-4- ترکیب شیمیایی محیط LBA 38

جدول 2-5- ترکیبات محلول FSB 29

جدول 2-6- ترکیب مواد شیمیایی بافر I 29

جدول 2-7- ترکیب مواد شیمیایی بافر II 30

جدول 2-8- ترکیب مواد شیمیایی بافر III 30

جدول 2-9- اجزای واکنش PCR 32

جدول 2-10- مخلوط واکنش اتصال قطعات تکثیری به پلاسمید pBluescript 34

جدول 2-11- مخلوط واکنش اتصال قطعات تکثیری به پلاسمید pGEM-T Easy 35

جدول 2-12- اجزای واکنش برش آنزیمی برای pBluescript 39

جدول 2-13- اجزای واکنش برش آنزیمی برای pGEM-T Easy 40

جدول 3-1- نتایج حاصل از تراریختی باکتریایی 48

جدول 3-2- نتایج حاصل از مقایسه قطعه pGEM-T Easy+ MLLpromo با MLL 59

جدول 3-3- نتایج حاصل از مقایسه قطعه pGEM-T Easy+ MLLpromo+UTR با *MLL* 59

فهرست شکلها

شکل 2-1- نواحی مورد نظر برای همسانه سازی ژن MLL 23

شکل 2-2- نشانگر مولکولی GeneRulerTM 1 kb DNA Ladder 26

شکل 2-3- نقشه فیزیکی pBluescript 33

شکل 2-4- نقشه فیزیکی pGEM-T Easy Vector 34

شکل 3-1- الکتروفورز DNA استخراجی 43

شکل 3-2- قطعه FR1 به طول 1287 جفت باز 44

شکل 3-3- قطعه FR2 به طول 1458 جفت باز 45

شکل 3-4- پلاسمیدهای حاوی قطعات بعد از برش آنزیمی 49

شکل 3-5- - نمونه‌ای از نتایج توالی یابی با استفاده از نرم افزار Chromas lite 50

شکل 3-6- توالی نوکلئوتیدی حاصل از توالی یابی برای قطعه pGEM-T Easy+ MLLpromo 51

3-7- هم ردیف کردن قطعه FR1 با ژن اصلی با استفاده از نرم افزار ClustalW2 53

شکل 3-8- هم ردیف کردن قطعه FR2 با ژن اصلی با استفاده از نرم افزار ClustalW2 55

شکل 3-9- هم ردیف کردن دو قطعه FR1 و FR2 با ژن اصلی با استفاده از نرم افزار ClustalW2 57

مقدمه

در شرایطی که افزایش جمعیت، کمبود مواد غذایی، بروز و شیوع انواع بیماری‌ها و آسیبهای وارده به محیط زیست، امنیت ملی کشورها را مورد تهدید و مخاطره قرارداده است ابزار توانمند بیوتکنولوژی در پزشکی، صنعت، کشاورزی و محیط زیست انقلاب عظیمی را به وجودآورده است و امیدی برای حل بسیاری ازمشکلات حاد بشر در سده بیست و یکم به شمار می‌رود. درحال حاضر سرمایه‌گذاری وگسترش صنعت زیست‌فناوری، منافع زیادی را نصیب کشورهای توسعه یافته کرده است و باایجاد مشاغل جدید باعث رونق اقتصادی آنها می‌شود و نکته مهمتر این که بیوتکنولوژی علمی است که می‌تواند به پیشرفت و بهبود کیفیت زندگی بشر کمک کند. بیوتکنولوژی که ابزاری قدرتمند در بالابردن توان یک کشور محسوب می‌شود، از دو کلمه زنده یا سیستم زنده و تکنولوژی به معنای شناخت تکنیکها در جهت تامین نیازهای بشر و یا دستیابی به یک هدف علمی پایه شکل گرفته است. بیوتکنولوژی بطور کلی به مجموعه‌ای از فناوریها اطلاق می‌شود که سیستمهای زنده یا بیولوژیکی گیاه، حیوان، میکروارگانیسم یا ترکیبات مخصوص مشتق شده از این سیستمها رابه منظور تولید کالاها و خدمات صنعتی بکار می‌گیرد. بیوتکنولوژی باعث شده است از گیاهان عظیم‌الجثه و موجودات زنده ریز، به عنوان کارخانه‌های تولید محصولات مختلف بتوان استفاده نمود. این دستاورد، علاوه بر کاهش بسیاری از هزینه‌ها، موجب آشتی بیشتر تکنولوژی و طبیعت شده است. روندی که تا چند دهۀ قبل در توسعۀ صنایع وجود داشته است، توسعه کارخانه‌ها و ماشین آلات بزرگ و پیچیدۀ مکانیکی و بعضاً الکتریکی بوده است. این روند، افزایش آلودگی محیط زیست را نیز در بر داشته است. اما بشر امروز، با بهره‌گیری از بیوتکنولوژی، به قابلیتهای شگفت‌انگیز طبیعت و موجودات زنده

پی برده است و بر آن است تا از همین قابلیتهای به ودیعه نهاده شده، استفاده کند، به گونه ایکه کاربردهای بیوتکنولوژی تقریباً نامحدود به نظر می‌رسد. تلاش‌ها برای توسعه مفهوم بیوتکنولوژی از اوایل دهه 1970 میلادی عمدتاً درآمریکا و درزمینه پزشکی آغاز شد. در اواخر دهه 70 میلادی به ترتیب با تولید انسولین و هورمون رشد نوترکیب انسانی اولین دستاوردهای این دانش پا به عرصه وجود گذاشت. اولین واکسن نوترکیب دامی در سال 1982 تولید شد. انسولین و واکسن هپاتیت B و اینترفرون به ترتیب در سال‌های 1982 و 1986 از سازمان غذا و داروی آمریکا مجوز فروش دریافت کردند. امروزه مطالعه بیوتکنولوژی به شاخه‌های مختلف مثل گیاهی، دامی، محیط زیست، دارویی و غیره تقسیم می‌شود. بیوتکنولوژی گیاهی، کاربردهای حال وآینده مهندسی مواد قابل تولید در گیاهان و مواد خام حاصل از گیاهان است که شامل عملکرد محصولات، تغییر ترکیب بیوشیمیایی محصول (اسیدهای چرب، پروتئین‌ها، طعم، رنگ و..)، بهبود ارزش تغذیه‌ای، فعالیت ژنهای جدید، بهبود قابلیت نگهداری (انبارداری، عمرنگهداری)، کاهش مراحل فراوری، بهبود مقاومت و ... می‌باشد. دستیابی به این اهداف با استفاده از تکنولوژی DNA نوترکیب[1] امکان‌پذیر است. تکنولوژی DNA نوترکیب مجموعه‌ای از تکنیکهای مرتبط با DNA است که با وارد شدن در عرصهٔ دانش بیولوژی در اوایل دهه1970 میلادی، انقلابی در تحقیقات علوم پایه زیستی و نیز بیوتکنولوژی به‌وجود آورده است. تکنیک همسانه‌سازی ژن[2] هستهٔ مرکزی تکنولوژی DNA نوترکیب را تشکیل می دهد که با استفاده از آن می‌توان یک ژن بیگانه را در یک سلول زنده تکثیر و سپس با بیان آن، پروتئین مرتبط

[1]- Recombinant DNA Technology
[2]- Gene Cloning

با آن ژن را که بطور عمومی پروتئین نوترکیب[1] نامیده می شود، در مقادیر زیاد تولید کرد. برای بیان ژن بیگانه و درنتیجه تولید پروتئینهای نوترکیب در یک سیستم، راه اندازهای خاص آن سیستم مورد نیاز است. در تمامی سیستمها برای بیان ژن RNA پلیمراز به DNA متصل شده و رونویسی را از جایگاههایی به نام راه انداز شروع می‌نماید. این جایگاهها عموماً در نزدیکی محل شروع سنتز RNA بر روی قالب DNA قرار دارد. تنظیم شروع رونویسی اغلب به واسطه تغییراتی در نحوه واکنشی متقابل RNA پلیمراز با راه اندازها به انجام می‌رسد. توالی‌های نوکلئوتیدی راه اندازها تفاوت قابل توجهی با یکدیگر داشته و بر روی تمایل اتصال RNA پلیمراز و بنابراین فراوانی شروع رونویسی اثر می‌گذارند. بعضی از ژنهای *E. Coli* یکبار در هر ثانیه رونویسی شده و بقیه کمتر از یک بار در هر نسل رونویسی می‌شوند. بیشتر این تفاوت‌ها بخاطر تفاوت در توالی راه انداز می‌باشد. در غیاب پروتئین‌های تنظیمی، تفاوت موجود در توالیهای دو راه انداز ممکن است تا 1000 برابر یا بیشتر بر روی فراوانی شروع رونویسی اثر بگذارد. توالی راه اندازهای یوکاریوتی متغیرتر از انواع موجود در پروکاریوتها می‌باشد. با نقش مهمی که راه اندازها در آغاز و سرعت شروع رونویسی و بیان ژنها دارند، شناسایی و جداسازی آنها از سیستمهای مختلف از جمله گیاهان می‌تواند در رسیدن به اهداف بیوتکنولوژی کمک نماید.

هدف

هدف از این تحقیق جداسازی راه انداز اختصاصی ریشه چغندرقند بوده، تا برای تغییر ویژگیهای خاص آن و همچنین پروژه های انتقال ژن در آینده مورد استفاده قرارگیرد.

[1]- Recombinant Protein

فصل اول

بررسی منابع

1- چغندر

1-1- شناخت کلی از چغندر

چغندرقند از تیره اسفناجیان[1] می‌باشد. این گیاه ویژه مناطق معتدله است و در اثر دگرگونیهای روزافزون در زمینه اصلاح نباتات و بهبود روشهای زراعی که در دو قرن اخیر انجام پذیرفته، از دیدگاه ارزش کیفیت و کمیت محصول، آن را یکی از گیاهان مهم زراعی جهان نموده است. امروزه درصد قند چغندر تا 28 درصد افزایش یافته و بازده محصول آن در هکتار به بیش از 50 تن هم رسیده است. افزون بر این، چغندرقند می تواند همانند یک گیاه علوفه‌ای کاربرد داشته باشد زیرا برگهای آن دارای پروتئین فراوانی بوده و می‌تواند مانند علوفه خشک و یا تر در خوراک دامها به کار رود. همچنین غده های تکه تکه و خردشده چغندرقند کاربرد فراوانی در خوراک دام دارند. سطح زیر کشت آن در جهان در سال 2007 بیش از 5 میلیون هکتار بوده است. بذر چغندرقند برای اولین بار در سال 1274 قمری توسط دکتر پرلاک به ایران آورده شد. طبق آمار فائو (سازمان جهانی خوارو و بار) سطح زیر کشت این گیاه در ایران در سال 2007 میلادی، 160 هزار هکتار با عملکرد متوسط 30 تن بوده است.

چغندر از جنس بتا[2] و گونه وولگاریس[2] می باشد. بتا وولگاریس دارای چهار زیرگونه است:

1-چغندر علوفه ای — *Beta vulgaris spp.rapa*

2-چغندرقند — *Beta vulgaris spp.altisima*

3-چغندر لبویی — *Beta vulgaris spp.sculenta*

4-چغندر برگی — *Beta vulgari spp.cicla*

[1]- *Chenopodiaceae*
[2]- *Beta vulgaris* L.

در هر چهار زیرگونه، تعداد کروموزومها در حالت دیپلوییدی 18 عدد است، اگرچه اکثر واریته های جدید اروپایی هیبریدهایی تریپلویید از دیپلوییدهای نرعقیم[1] و تتراپلوییدهای گرده افشان هستند. اندام ذخیره‌ای چغندرقند، ریشه نامیده می‌شود. البته حدود 90% آن حقیقتاً ریشه بوده و 10% فوقانی (طوقه) از محور زیر لپه به وجود می آید.

چغندرقند گیاهی است دوساله، در سال اول به طریق برون‌زمینی[2] سبز شده و به فرم روزت تکوین می‌یابد. گیاه روزت شامل برگهای کرکدار، سبز تیره، براق، دارای رگبرگهای مشخص و دمبرگهای قوی است. تولید برگ در سال اول انجام شده و در همان حال ریشه نیز حجیم شده و ساکاروز در آن تجمع می‌یابد. ریشه معمولاً قبل از شروع یخبندانهای زمستان برداشت می‌شود. لازمه تولید گل در سال دوم عمل بهاره‌سازی[3] است. بهاره‌شدن معمولاً در زمستان، در پایان سال اول و یا وقتی گیاهچه ها بلافاصله بعد از استقرار، یک سرمای دیررس را تجربه کنند، به طور طبیعی به وقوع می‌پیوندد. در این صورت بوته ها به ساقه می‌روند که جهت گلدهی نیاز کمتری به بهاره‌سازی دارند. در چنین مواردی گیاهان گلدار تولید می‌شوند که ریشه آنها ساکاروز خود را از دست داده و به مقدار زیادی چوبی می‌شوند، تعداد زیاد گیاهان گلدار در مزرعه راندمان برداشت و عملکرد قند را کاهش می دهد. پس از بهاره‌سازی، ساقه طویل شده، گلها ظاهر و بذر تشکیل می‌شود. با سخت و چوبی شدن گلپوشها، بذر داخل تخمدان احاطه می‌گردد. گلها در خوشه هایی به تعداد دو تا هفت عدد تشکیل شده، گلهای مجاور هم در یک خوشه به هم می‌چسبند بطوریکه بذر حقیقی چغندر به صورت یک ذره سخت و چروکیده به قطر 5-3 میلیمتر تولید می‌شود. اگر این بذرهای چند جنینی[4] کشت شوند، چندین گیاهچه از آنها به وجود می‌آید که باید با صرف هزینه زیاد توسط دست در

[1] -Male-sterile
[2]- Epigeal
[3]- Vernalization
[4]- Multigerm

طول مراحل اولیه رشد محصول تنک شوند. این مشکل را می‌توان توسط تفکیک فیزیکی ذرات بذر حقیقی به اندازه های ریزتر، توسط سایش بذر یا خردکردن آن مرتفع ساخت. این روشها موفقیت کامل را به دنبال ندارند و ناگزیر درصد جوانه زنی کاهش می‌یابد. روش موفقیت آمیزتر، اصلاح فرمهای تک جنینی[1] است که در هر گل آذین فقط دارای یک گل هستند. گیاهان مونوژرم نرعقیم را می بایست با گرده افشان کننده های چندجنینی تلاقی داد تا بذر تک جنینی تریپلوییید حاصل شود (کوچکی و سلطانی، 1375).

۱-۱-۱- ارقام چغندرقند

چغندرقند بر حسب حجم ریشه، مقدار برگ و درصد قند به رقمهای زیر تقسیم می‌شود:

رقم E :

این رقم دارای ریشه‌های بزرگ و سنگین بوده، سر آن نسبتاً پهن و تعداد برگهای آن زیاداست. محصول این رقم در واحد سطح زیاد ولی درصد قند آن نسبت به سایر رقمها کمتر است.

رقم N :

سر این رقم کوچکتر و تعداد برگ های آن کمتر از رقم E است .محصول چغندر در هکتار آن از رقم E کمتر ولی درصد قند آن بیشتر است .این رقم برای مناطقی که امکان کشت زودهنگام وجود نداشته باشد، مناسب است.

رقم Z :

چغندرهای این رقم باریک و کشیده اند و مقدار برگ آن از رقم های N و E کمتر است .مقدار محصول آن درواحد سطح کمتر، ولی درصد قند آن بیشتر و ازرقمهای یاد شده زودر س‌تر است.

[1]- Monogerm

رقم ZZ :

خصوصیات ظاهری این رقم شبیه رقم Z ولی مقدار قند آن بیشتر است. کشت آن اقتصادی نیست و تنها برای دورگ‌گیری و اصلاح بذر از آن استفاده می‌شود (کوچکی و سلطانی، 1375).

زمانیکه گیاهچه مستقر گردید، گیاه وارد یک دوره شروع رشد برگی می‌شود که طی آن ریشه از رشد بسیار کمی برخوردار است. بطوریکه گیاه در 6 هفتگی با داشتن 8 تا 10 برگ دارای ریشه کوچکی است. برگهای بالغ تا مرحله 12 برگی، بطور مرتب بزرگتر می‌گردند ولی برگهایی که بعداً تشکیل می‌شوند دارای اندازه کوچکتری می‌باشند. برگهای قدیمی‌تر به همان ترتیبی که تولید شده‌اند می‌میرند و شاخص سطح برگ[1] در زمانی که بزرگترین برگها به حداکثر اندازه می‌رسند کاهش پیدا می‌کند. تولید و توسعه برگها با دوره گرما رابطه خطی داشته و از مرحله 8 تا 10 برگی به بعد رشد برگ و ریشه همزمانی دارند، در حالیکه ریشه بطور فزاینده نسبت بیشتری از وزن ماده خشک گیاه را تشکیل می‌دهد (کوچکی و سلطانی، 1375).

ساکاروز حاصل از فتوسنتز برگی از طریق آوندهای آبکش وارد ریشه می‌شود و در واکوئلهای سلولهای پارانشیمی در مناطق آوندی و پارانشیمی جای می‌گیرد. بیشترین غلظت ساکاروز در سلولهای مربوط به مناطق آوندی وجود دارد. درصد ساکاروز در مرکز قطورترین بخش ریشه بیشتر است. این غلظت در بالا، پایین و خارج از این نقطه کاهش می‌یابد. در میان منطقه حلقه مرکزی، سلولهایی که به آوند آبکش نزدیکترند، جوانتر و کوچکتر وآنهایی که دورتر هستند، بزرگتر و پیرترند. سلولهای کوچکتر دارای ساکاروز بیشتر بوده و دلیل آنها نزدیکی به آوند آبکش است و هیچ خصوصیات ارثی برای ارتباط اندازه سلول با توانایی برای ذخیره ساکاروز وجود ندارد. سلولهای

[1]- Leaf Area Index (LAI)

پیرتر از مسیر انتشار دورترند، بنابراین دارای درصد ساکاروز کمتری می‌باشند (کوچکی و سلطانی، 1375).

1-1-2- ترکیبات شیمیایی چغندر

ترکیبات شیمیایی ریشه در جدول (1-1) و برگ چغندر در جدول (1-2) آورده شده است.

جدول 1-1- ترکیبات شیمیایی ریشه

ترکیب شیمیایی	مقدار(در 100 گرم)
آب	87 گرم
پروتئین	1/6 گرم
مواد چرب	0/1 گرم
مواد قندی و اسید، هیدراتهای کربن	9/9 گرم
خاکستر	1/1 گرم
کلسیم	16 میلی گرم
فسفر	33 میلی گرم
آهن	0/7 میلی گرم
سدیم	60 میلی گرم
پتاسیم	335 میلی گرم
ویتامین A	20 میلی گرم
ویتامین C	10 میلی گرم
ریبوفلاوین	0/05 میلی گرم
تیامین	0/03 میلی گرم
نیاسین	0/4 میلی گرم

جدول 1-2- ترکیبات شیمیایی برگ چغندر

ترکیب شیمیایی	مقدار(در 100 گرم)
آب	91 گرم
پروتئین	2/4 گرم
چربی	0/3 گرم
هیدراتهای کربن	3/8 گرم
کلسیم	88 میلی گرم
فسفر	39 میلی گرم
آهن	3/2 میلی گرم
سدیم	147 میلی گرم
پتاسیم	55 میلی گرم
ویتامین A	6500 واحد
ویتامین C	32 میلی گرم
تیامین	0/06 میلی گرم
ریبوفلاوین	0/17 میلی گرم
نیاسین	0/5 میلی گرم
اسید فولیک	مقدار کم

1-2- راه انداز[1]

کلمه راه انداز اولین بار توسط جاکوب و موناد در سال 1961 مورد استفاده قرار گرفت. امروزه استفاده از راه اندازهای اختصاصی در گیاهان تراریخت حائز اهمیت فراوان است. برای عینیت دادن به این هدف، تکنولوژی DNA نوترکیب در گیاهان عالی نیز همانند دیگر موجودات زنده زمینه را

[1]- Promoter

برای تحقیقات پایه و کاربردی فراهم کرده است. به کمک این فناوری ژنهای خارجی را می‌توان وارد هر نوع گیاهی کرد که این امر امکان مهندسی متابولیک در آنها را فراهم می‌کند، از این طریق مسیرهای متابولیکی و فعالیت آنها به وسیله ژنهای خارجی تغییر می‌کند که برای مثال می‌توان به گیاهان مقاوم به تولید علفکش اشاره کرد که در آنها یک ژن باکتریایی که آنزیم EPSP غیرحساس به علفکش[1] را رمز می‌کند با استفاده از راه انداز CaMV35S وارد گیاه شده است که این آنزیم برای بیوسنتز آمینواسیدهای آروماتیک مورد نیاز می‌باشد، این گیاهان تراریخته حتی بعد از اینکه در معرض علفکش گلایفوسیت قرار می‌گیرند می‌توانند رشد کنند (شاه و همکاران، 1986).

گوجه‌فرنگی‌هایی که ماندگاری بالایی دارند (همیلتون و همکاران، 1995) و سویاهایی با محتوای اسیداولئیک بالا (کینی، 1995)، نمونه‌های دیگری از گیاهانی هستند که در آنها از تکنولوژی DNA نوترکیب استفاده شده است. یکی از راههای تولید گیاهان تراریخته استفاده از راه انداز های متنوعی است که در گیاهان وجود دارد. راه انداز برای رونویسی یک ژن ضروری است. امروزه یک راه انداز که بطور گسترده برای رونویسی ژنهای خارجی مورد استفاده قرار می‌گیرد راه انداز 35S RNA (اودل و همکاران، 1985) ویروس موزاییک کلم (CaMV، هون و همکاران، 1982) می‌باشد. این راه انداز دارای فعالیت رونویسی بالا در بسیاری از گیاهان بوده و سبب بیان ژن در سرتاسر گیاه تراریخته می‌شود. اگر همه ژنها به وسیله CaMV35S راه اندازی شوند، احتمالاً فعالیت بیش از حد گیاه و در نتیجه تجمع مقدار زیادی از پروتئینها و متابولیتهای خارجی، سبب آسیب دیدن متابولیسم طبیعی گیاه خواهد شد بنابراین در انتقال ژن ،راه اندازهایی مورد استفاده قرار می‌گیرند که دارای

[1]- 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthetase