کد رهگیری ثبت پروپوزال: ۱۰۳۳۹۶۸

کد رهگیری ثبت پایان نامه: ۲۱۰۹٤٤٤

بسم الله الرحمن الرحیم
الحمد لله رب العالمین الرحمن الرحیم مالک یوم الدین
ایاک نعبد و ایاک نستعین اهدنا الصراط المستقیم
صراط الذین انعمت علیهم غیر المغضوب علیهم
ولا الضالین

کلیه امتیازهای این پایان‌نامه به دانشگاه بوعلی سینا تعلق دارد. در صورت استفاده از تمام یا بخشی از مطالب این پایان‌نامه در مجلات، کنفرانس‌ها و یا سخنرانی‌ها، باید نام دانشگاه بوعلی سینا یا استاد راهنمای پایان‌نامه و نام دانشجو با ذکر مأخذ و ضمن کسب مجوز کتبی از دفتر تحصیلات تکمیلی دانشگاه ثبت شود. در غیر این صورت مورد پیگرد قانونی قرار خواهد گرفت. درج آدرس‌های ذیل در کلیه مقالات خارجی و داخلی مستخرج از تمام یا بخشی از مطالب این پایان‌نامه در مجلات، کنفرانس‌ها و یا سخنرانی‌ها الزامی می‌باشد.

……..……, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

.....، گروه .....، دانشکده .....، دانشگاه بوعلی سینا، همدان.

مقالات خارجی

مقالات داخلی

دانشکدهٔ کشاورزی
گروه آموزشی بیوتکنولوژی

پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته مهندسی کشاورزی گرایش بیوتکنولوژی گیاهی

عنوان:

بررسی برخی ژن‌های کنترل‌کننده‌ی گلدهی در گیاه چغندرقند (*Beta vulgaris* L.)

استاد راهنما:
دکتر اصغر میرزایی اصل

اساتید مشاور:
دکتر سید باقر محمودی
دکتر سنبل ناظری

نگارش:
الهام شجاعی

۱۸ بهمن ۱۳۹۱

پیشکش به شما **پدر** عزیزم؛

پ

اسطوره ی زندگیم، پناه خستگیم، امید بودنم،

خورشیدی شدی و از روشنایی ات جان گرفتم و در ناامیدی ها نازم را کشیدی و لبریزم کردی از شوق،

اکنون حاصل دستان خسته ات رمز موفقیتم شد.

تقدیم به شما **مادر** مهربانم؛

ای دریای بیکران فداکاری و عشق، ای شوق زیبای نفس کشیدنم،

رنگ شادی هایم شدی و غم ها را با تمام وجود از من دور کردی،

عمری خستگی ها را به جان خریدی تا اکنون توانستی طعم خوش پیروزی را به من بچشانی.

خدای من، ای که به تو بی نیاز شوند و از تو بی نیاز نباشند، به تو رو آورند و از تو رو برنتابند، از سر شور و شوق، آهنگ تو کرده‌ام و با دلی مطمئن به تو امید بسته‌ام. تمنای من از تو هرچند زیاده باشد، در برابر غنای تو ناچیز و اندک است، که دست عطایت از هر دستی گشاده‌تر است، باشد که از عهده‌ی شکرت به درآیم و در صف بندگان شکرگذار تو قرار گیرم. سپاس بیکران بر همدلی، همراهی و همگامی پدر و مادر مهربانم که در تمام عرصه‌های زندگی یار و یاوری بی چشمداشت برای من بودند. پدر و مادری که بودنشان تاج افتخاری است بر سرم و نامشان دلیلی است بر بودنم، دو وجودی که برایم زندگی را معنا کردند تا در سایه‌ی امنشان در راه کسب علم و دانش تلاش نمایم. از خواهر دوست داشتنی‌ام، دوست و یار مهربان دوران کودکی تا امروز که همواره وجودش مایه‌ی دلگرمی من و نگاه مهربانش بدرقه‌ی راهم بوده، تشکر می‌کنم. از همراهان همیشگی زندگیم دو برادر مهربانم نهایت قدردانی را دارم. از استاد گرامی و بزرگوارم جناب آقای دکتر اصغر میرزایی اصل که با حمایت‌های بی دریغ و راهنمایی‌های بی شائبه‌ی خود مرا در انجام این پژوهش یاری نمودند خالصانه سپاسگذارم و به پاس تمام خوبی‌ها و مهربانی‌هایشان دعای خیرم را بدرقه‌ی راه این عزیز می‌نمایم. از اساتید محترم جناب آقای دکتر سید باقر محمودی و سرکار خانم دکتر سنبل ناظری که زحمت مشاوره‌ی این پایان نامه را متقبل شدند، کمال تشکر را دارم. از اساتید بزرگوار جناب آقای دکتر علی دیجو و جناب آقای دکتر خسرو پیری که زحمت داوری و مطالعه‌ی این پایان نامه را بر عهده گرفتند، سپاسگذارم. از ناظر تحصیلات تکمیلی سرکار خانم دکتر آزاده صفادوست جهت ایجاد شرایط مناسب برای جلسه‌ی دفاع ایشان ممنون هستم. از سرکار خانم استاد احمدی مسئول آزمایشگاه بیوتکنولوژی به خاطر کمک‌ها و همکاری‌های بی دریغ‌شان تشکر می‌نمایم. از دوستان و همکلاسی‌های عزیزم که در طول دوران کارشناسی ارشد یاری گر من بودند، سپاسگزارم.

الهام شجاعی

بهمن ۱۳۹۱

مقدمه ۱
۱- بررسی منابع ۴
۱-۱- چغندرقند ۴
۱-۱-۱- گیاه‌شناسی چغندرقند ۴
۱-۱-۲- اهمیت چغندرقند ۵
۱-۱-۳- بهاره‌سازی ۵
۱-۱-۴- ساقه‌روی و گلدهی ۶
۱-۱-۵- تنظیم ساقه رفتن و گلدهی ۶
۱-۲- مسیرهای گلدهی ۷
۱-۲-۱- مسیرهای توانمندسازی گلدهی ۸
۱-۲-۲- ژن بازدارنده‌ی گلدهی:*FLC* ۹
۱-۲-۳- ژن‌های بازدارنده‌ی گلدهی:*TFL1*،*SVP* و *TOE1/2* ۱۰
۱-۲-۴- ژن *FRI*:کنترل‌کننده‌ی مثبت *FLC* ۱۱
۱-۲-۵- کنترل‌کننده‌های مثبت ژن *FLC* ۱۲
۱-۲-۶- مسیر بهاره‌سازی:کنترل‌کننده‌ی منفی ژن *FLC* ۱۳
۱-۲-۷- مسیر خودانگیز یا غیرارادی:کنترل‌کننده‌ی منفی ژن *FLC* ۱۴
۱-۳- مسیرهای توسعه‌دهنده‌ی گلدهی ۱۶
۱-۳-۱- مسیر تناوب نوری ۱۷
۱-۳-۲- کیفیت نور و دمای پیرامون ۲۲
۱-۳-۳- مسیر جیبرلین ۲۴
۱-۳-۴- مجموعه‌ی ائتلاف مسیر گلدهی ۲۶
۱-۴- ژن‌های ثبت شده‌ی کنترل‌کننده‌ی گلدهی در چغندرقند در پایگاه‌های اطلاعاتی ۲۷
۱-۵- بیوانفورماتیک ۲۸
۱-۵-۱ ابزارهای بیوانفورماتیکی ۲۹
الف) پایگاه GenBank ۳۰
ب) پایگاه EST ۳۰
ج) پایگاه PROSITE ۳۱
د) ابزار BLAST ۳۲
۲- مواد و روش‌ها ۳۴
۲-۱- شناسایی توالی‌های EST مربوط به ژن‌های گلدهی در چغندرقند از طریق نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی ۳۴
۲-۲- شناسایی آزمایشگاهی برخی ژن‌های کنترل کننده‌ی گلدهی در چغندرقند ۳۴
۲-۲-۱- مواد گیاهی ۳۴
۲-۲-۲- کشت بذور چغندرقند ۳۴

۲-۲-۳- استخراج RNA به کمک محلول RNX-Plus ۳۴
۱) تهیه‌ی محلول‌های لازم جهت استخراج ۳۵
الف- تهیه‌ی آب تیمار شده با دپس (دی اتیل پیرو کربنات) ۳۵
ب- تهیه‌ی محلول اتانول ۷۰ درصد تیمار شده با آب تیمار شده با دپس ۳۵
۲) آماده‌سازی وسایل موردنیاز جهت استخراج RNA ۳۵
۳) استخراج RNA ۳۵
۴) ارزیابی و تعیین غلظت RNA استخراج شده ۳۷
الف- روش انجام الکتروفورز ژل آگارز ۳۷
الف-۱- طرز تهیه‌ی بافر ۵X TBE ۳۷
الف-۲- طرز تهیه‌ی ۱۰۰ میلی لیتر محلول ۰/۵ مولار EDTA ۳۷
الف-۳- تهیه‌ی ژل آگارز۱درصد با بافر ۱XTBE ۳۷
الف-۴- بافر الکتروفورز ۳۸
الف-۵- الکتروفورز روی ژل آگارز ۳۸
الف-۶- رنگ آمیزی ژل آگارز با رنگ اتیدیوم بروماید ۳۸
ب- تعیین غلظت RNA نمونه ها به روش اسپکتروفتومتر ۳۸
۲-۲-۴- ساخت رشته‌ی cDNA با استفاده از آنزیم رونویسی معکوس(RT) ۳۹
۲-۲-۵- طراحی آغازگر برای ژن‌های مسیر گلدهی در چغندرقند ۴۱
۲-۲-۶- آماده‌سازی آغازگر ۴۱
۲-۲-۷- انجام واکنش PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ۴۲
۲-۲-۸- الکتروفورز محصولات PCR ۴۳
۲-۲-۹-توالی‌یابی ۴۴
۳- نتایج و بحث ۴۵
۳-۱- شناسایی ESTهای مربوط به ژن‌های کنترل‌کننده‌ی گلدهی در چغندرقند ۴۵
۳-۱-۱- سر هم کردن ESTها و تعیین توالی ژن‌های کنترل‌کننده‌ی گلدهی در چغندرقند ۵۴
۳-۲- نتایج شناسایی آزمایشگاهی ژن‌های کنترل‌کننده‌ی گلدهی در چغندرقند ۵۵
۳-۲-۱- ژن *CDF* ۵۵
الف- نتیجه‌ی توالی‌یابی ۵۶
ب- بررسی موتیف‌های مربوط به ترجمه‌ی پروتئینی ژن *CDF* ۵۷
ج- تفاوت عملکرد ژن‌های *CDF1*، *CDF2* و *CDF3* ۵۸
د-همردیفی ژن‌های *CDF1*، *CDF2* و *CDF3* با توالی تکثیر شده در چغندرقند ۵۹
و- بررسی شباهت قطعه‌ی توالی‌یابی شده با سایر ژن‌ها ۶۰
ه- بررسی پروتئین توالی ثبت شده ۶۱
۳-۲-۲- ژن *COP1* ۶۲
الف- نتیجه‌ی توالی‌یابی ۶۲

ب- بررسی شباهت قطعه‌ی توالی‌یابی شده با سایر ژن‌ها ۶۲
ج- بررسی پروتئین توالی ثبت شده ۶۳
۳-۲-۳- ژن *CLF* ۶۴
الف- نتیجه‌ی توالی‌یابی ۶۴
ب- بررسی شباهت قطعه‌ی توالی‌یابی شده با سایر ژن‌ها ۶۵
ج- بررسی پروتئین توالی ثبت شده ۶۶
۳-۲-۴- ژن *SUF4* ۶۶
الف- نتیجه‌ی توالی‌یابی ۶۶
ب- بررسی شباهت قطعه‌ی توالی‌یابی شده با سایر ژن‌ها ۶۷
ج- بررسی پروتئین توالی ثبت شده ۶۷
نتیجه‌گیری کلی ۶۹
پیشنهادها ۷۰
پیوست ۷۰
۴-منابع ۷۵

جدول ۲-۱- تهیه‌ی بافر ۵XTBE ۳۷
جدول ۲-۲- واکنش ساخت cDNA ۳۹
جدول ۲-۳- مشخصات آغازگرهای طراحی شده ۴۱
جدول ۲-۴- مواد لازم جهت انجام واکنش PCR ۴۲
جدول ۲-۵- مشخصات چرخه‌های PCR ۴۲
جدول ۳-۱- ژن‌های مربوط به مسیر بهاره‌سازی ۴۵
جدول ۳-۲- ژن‌های مربوط به مسیر تناوب نوری ۴۸
جدول ۳-۳- ژن‌های مربوط به مسیر خودانگیز ۵۱
جدول ۳-۴- ژن‌های مربوط به مسیر جیبرلین ۵۲
جدول ۳-۵- ژن‌های مربوط به مسیرهای دیگر ۵۴
جدول ۳-۶- مشخصات ESTهای همپوشان مربوط به ژن‌های کنترل‌کننده‌ی گلدهی در چغندرقند ۵۵
جدول ۳-۷- بررسی موتیف‌های ژن‌های *CDF1*، *CDF2* و *CDF3* ۵۸
جدول ۳-۸- نتیجه‌ی همردیفی ژن‌های *CDF1*، *CDF2* و *CDF3* با توالی تکثیر شده در چغندرقند ۵۹
جدول ۳-۹- میزان شباهت ژن *CDF3* گیاهان مختلف با توالی شناسایی شده در گیاه چغندرقند ۶۱
جدول ۳-۱۰- میزان شباهت ژن *COP1* گیاهان مختلف با توالی شناسایی شده در گیاه چغندرقند ۶۲
جدول ۳-۱۱- میزان شباهت ژن *CLF* گیاهان مختلف با توالی شناسایی شده در گیاه چغندرقند ۶۵
جدول۳-۱۲- میزان شباهت ژن *SUF4* گیاهان مختلف با توالی شناسایی شده در گیاه چغندرقند ۶۷

شکل ۱-۱- مسیرهای توسعه و توانمندسازی گلدهی ۸
شکل ۱-۲- مسیرهایی که گلدهی را توانمند می‌کنند ۹
شکل ۱-۳- مسیرهایی که گلدهی را توسعه می‌دهند ۱۶
شکل ۳-۱- الگوی الکتروفورزی قطعات تکثیر شده ۵۶
شکل ۳-۲- ترجمه‌ی پروتئینی قطعه‌ی توالی‌یابی شده ۵۷
شکل ۳-۳- نتیجه‌ی همردیفی موضعی ژن *CDF3* با قطعه‌ی تکثیر شده در چغندرقند ۶۰

دانشگاه بوعلی سینا

مشخصات رساله/پایان نامه تحصیلی

عنوان:

بررسی برخی ژن‌های کنترل‌کننده‌ی گلدهی در گیاه چغندرقند (*Beta vulgaris L.*)

نام نویسنده: الهام شجاعی

استاد راهنما: دکتر اصغر میرزایی اصل

اساتید مشاور: دکتر سید باقر محمودی، دکتر سنبل ناظری

دانشکده: کشاورزی	**گروه آموزشی: بیوتکنولوژی**	
رشته تحصیلی: مهندسی کشاورزی	**گرایش: بیوتکنولوژی گیاهی**	**مقطع تحصیلی:کارشناسی ارشد**
تاریخ تصویب پروپوزال: ۱۳۹۰/۸/۲۲	**تاریخ دفاع: ۱۳۹۱/۱۱/۱۸**	**تعداد صفحات: ۸۸**

چکیده:

انتقال از رشد رویشی به دوره‌ی زایشی از تحولات مهم در زندگی گیاهان است. این پدیده در گیاهان عالی تحت تاثیر عوامل ژنتیکی و بسیاری از عوامل فیزیولوژیکی می‌باشد. در دهه‌های اخیر گیاه آرابیدوپسیس به عنوان یک گیاه مدل در بسیاری از مطالعات مربوط به عمل گلدهی به کار رفته است. بسیاری از مسیرهای مربوط به کنترل گلدهی در این گیاه مشخص و تعریف شده است. هر مسیر گلدهی، تحت تاثیر یک سری از ژن‌های مخصوص در همان مسیر می‌باشند. در گیاهان مکانیسم کنترل گلدهی بویژه در دو لپه‌ایها مشابه است، به ویژه اینکه مشابه برخی ژن‌های کنترل کننده‌ی گلدهی در گیاهان در چغندرقند نیز شناسایی شده است. شناسایی عوامل ژنتیکی کنترل کننده‌ی گلدهی در گیاه چغندرقند، در تولید ارقام مقاوم به ساقه‌روی در این گیاه مهم است. در این تحقیق با استفاده از آنالیزهای بیوانفورماتیکی، شباهت توالی ۷۴ ژن کنترل‌کننده‌ی گلدهی در گیاه آرابیدوپسیس با توالی‌های EST گزارش شده در چغندرقند بررسی گردید و توالی‌های چغندرقند که شباهت معنی‌داری با ژن‌های کنترل‌کننده‌ی گلدهی در گیاه آرابیدوپسیس داشتند، شناسایی شدند که احتمالا بخش‌هایی از ژن‌های کنترل‌کننده‌ی گلدهی در چغندرقند می‌باشند. با سرهم کردن ESTهای شناسایی شده، بخش‌هایی از توالی ژن‌های کنترل-کننده‌ی گلدهی در گیاه چغندرقند تعیین شد. ژن‌های *SUF4* و *CLF* در مسیر گلدهی بهاره‌سازی و ژن‌های *COP1* و *CDF* در مسیر گلدهی تناوب نوری قرار دارند. بر اساس توالی ESTهای بدست آمده که مشابه این چهار ژن در گیاه آرابیدوپسیس بودند، برای هر ژن آغازگرهایی طراحی شد. از برگ گیاهچه‌های جوان چغندرقند RNA استخراج گردید و از روی آن cDNA ساخته شد. با استفاده از آغازگرهای طراحی شده و cDNA ساخته شده، واکنش PCR انجام شد تا محصول رونوشت این چهار ژن در چغندرقند، تکثیر شود. محصولات واکنش PCR بعد از تایید، توالی‌یابی شدند. توالی‌های بدست آمده‌ی مربوط به ژن‌ها در گیاه چغندرقند با توالی‌های شناخته شده و ثبت شده‌ی مربوط به سایر گیاهان در پایگاه‌های اطلاعاتی مقایسه و تایید گردید. سپس این توالی‌های بدست آمده به عنوان بخشی از توالی ژن‌های *SUF4*، *CLF*، *COP1* و *CDF* مربوط به گیاه چغندرقند در پایگاه اطلاعاتی NCBI ثبت شد.

کلمات کلیدی: ژن‌های مسیرهای گلدهی، چغندرقند، گلدهی، EST

مقدمه

مقدمه

چغندرقند با نام علمی *Beta vulgaris* مهم‌ترین منبع تامین‌کننده‌ی قند در جهان است و اخیرا به گیاه مهمی برای تولید سوخت‌های زیستی بویژه اتانول زیستی در جهان تبدیل شده‌است (جیمز[1]، ۲۰۰۸). چغندرقند گیاهی دوساله است که در سال اول دارای رشد رویشی بوده و ریشه‌ی ذخیره‌ای حاوی مواد غذائی تولید می‌نماید و برای ورود به مرحله‌ی زایشی در سال دوم، نیازمند سرمای ۱۰-۲ درجه‌ی سانتیگراد است که به بهاره‌سازی یا ورنالیزاسیون[2] معروف می‌باشد (کوک و اسکات[3]، ۱۳۷۷). سرمای نابهنگام بهاره موجب القای گلدهی در برخی ژنوتیپ‌ها می‌شود که نیاز سرمایی کمتری به بهاره‌سازی دارند. ریشه‌ی بوته‌های به ساقه رفته ساکارز خود را از دست داده و به شدت خشبی می‌گردند که تاثیر منفی روی میزان قند دارد. به ساقه رفتن تعداد زیادی بوته در مزرعه‌ی تولید ریشه در سال اول که در اصطلاح ساقه‌روی یا بولتینگ[4] نامیده می‌شود، باعث نقصان محصول ریشه و در نهایت محصول شکر خواهد شد. بذور حاصل از گیاهان به ساقه رفته یک منبع بزرگ آلوده‌ی علف‌های هرز به حساب می‌آیند (ابوالوفا[5] و همکاران، ۲۰۱۱). در این میان برخی ژنوتیپ‌های چغندرقند در برابر این پدیده مقاومت بیشتری را نشان می‌دهند و برخی ژنوتیپ‌ها حساس می‌باشند (کوک و اسکات، ۱۳۷۷). از آنجایی که دوره‌ی ذخیره‌ی قند محدود نیست و عملکرد ریشه تا وقتی ساقه‌روی صورت نگرفته در حال افزایش است، ادامه یافتن فصل رشد چغندرقند در پاییز یک هدف بنیادی برای افزایش محصول قند است (ابوالوفا و همکاران، ۲۰۱۱). از مزایای کشت چغندرقند در پاییز می‌توان به ذخیره‌سازی مناسب رطوبت در خاک، صرفه‌جویی در مصرف آب و عدم استفاده از ماشین‌آلات کشاورزی ودر نتیجه تخریب حداقل اراضی اشاره نمود. علاوه بر این، کشت چغندرقند در پاییز به دلیل افزایش طول دوره‌ی رشدی آن اهمیت زیادی دارد که این امر مستلزم کشت گیاهانی است که بدون ساقه‌روی قادر به رشد در این فصول هستند. تولید ارقام مقاوم به بولتینگ یکی از اهداف مهم اصلاح چغندرقند است. در سند ملی راهبردی چغندرقند، تولید ارقام مقاومت به بولتینگ برای استان‌های آذربایجان غربی، همدان، فارس و منطقه‌ی دزفول در اولویت قرار دارد (فتح‌اله طالقانی و همکاران، ۱۳۸۹). غربال ژنوتیپ-های حساس و مقاوم به ساقه‌روی در برنامه‌های اصلاحی تولید ارقام مقاوم به بولتینگ از اهمیت

[1]-James
[2]- vernalization
[3]-Cook and Scott
[4]- Bolting
[5]- Abou-Elwafa

ویژه‌ای برخوردار است. هیبریدهای تجاری ارقام چغندرقند توسط شرکت‌های متعددی تولید و در اختیار کشاورزان در سرتاسر دنیا قرار می‌گیرد. این شرکت‌ها سالیانه ارقام جدیدی با صفات زراعی مطلوب‌تر معرفی می‌کنند. رقابت در تولید بذر این گیاه صنعتی موجب شده است که شرکت‌های تولیدکننده‌ی بذر این گیاه، بسیاری از اطلاعات در زمینه‌ی توسعه‌ی روش‌های اصلاحی و اطلاعات ژنومی این گیاه را منتشر نکنند (نصیری و همکاران، ۱۳۹۰). با شناسایی ژن-های کنترل‌کننده‌ی گلدهی و نیز مرتبط با نیاز بهاره‌سازی درگیاه چغندرقند، می‌توان عامل یا عوامل ژنتیکی کنترل کننده‌ی ساقه‌روی در این گیاه را مشخص نمود و زمینه را برای تولید ارقام مقاوم به ساقه‌روی فراهم کرد. در دهه‌های اخیر گیاه آرابیدوپسیس[1] به عنوان یک گیاه مدل در بسیاری از مطالعات مربوط به عمل گلدهی به کار رفته‌است. بسیاری از مسیرهای مربوط به گلدهی در این گیاه مشخص و تعریف شده‌است. در گیاهان مکانیسم کنترل گلدهی بویژه در دو لپه‌ایها مشابه است، به ویژه اینکه مشابه برخی ژنهای کنترل کننده‌ی گلدهی در گیاهان، در چغندر قند نیز شناسایی شده است. از طرفی توالی‌های زیادی مربوط به گیاه چغندرقند در پایگاه‌های اطلاعاتی ثبت شده است که عملکرد و نقش آنها ناشناخته می‌باشد. بیوانفورماتیک حوزه‌ای از علم است که در آن زیست شناسی، آمار، کامپیوتر و فناوری اطلاعات با هم آمیخته شده و نظام علمی جدیدی را ایجاد نموده است.هدف نهایی کشف چشم‌انداز های جدید زیست شناختی و ایجاد دورنمایی کلی است که بتوان در آن جرئیات اصول زیست شناختی را از هم تمییز داد (وسیلو[2] و همکاران، ۲۰۰۵). بیوانفورماتیک در پشتیبانی از علوم زیستی برای جمع‌آوری، تفسیر و مدیریت مقادیر زیادی از داده‌های زیست شناختی امکان پذیر شده است.این داده‌ها در قالب توالی نوکلئوتیدی و آمینواسیدی، دمین های پروتئینی و ساختارهای پروتئینی و الگوهای بیان ژن‌های مسیرهای متابولیکی و بیو شیمیایی می باشند (داگاستینو[3] و همکاران، ۲۰۰۵). تعیین توالی ژنومی یک موجود امکان شناسایی ژن‌های آن را با روش‌های مختلف فراهم می‌کند (نقوی و همکاران، ۱۳۸۸). هدف از این تحقیق شناسایی توالی‌های مرتبط با گلدهی در چغندرقند بر اساس مشابهت توالی با گیاه آرابیدوپسیس با استفاده از نرم‌افزارهای بیوانفورماتیک در میان توالی‌های ثبت شده از گیاه چغندرقند است. هدف دیگر شناسایی آزمایشگاهی ژن‌های کنترل‌کننده‌ی

[1]- *Arabidopsis thaliana*
[2]- D'Agostino
[3]- Vassilev

گلدهی در چغندرقند از طریق تکثیر برخی ژن‌های گلدهی به وسیله‌ی آغازگرهای طراحی شده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز[1] و تعیین توالی آنها می‌باشد.

[1]- Polymerase Chain Reaction (PCR)

فصل اول

بررسی منابع

۱- بررسی منابع

۱-۱- چغندرقند

چغندرقند به گونه‌ی *Beta Vulgaris* L. تعلق دارد (قوشچی، ۱۳۸۳). چغندرقند و نیشکر تامین کننده‌ی بیشترین مقدار قند (ساکارز) در جهان امروز هستند. پیشینه‌ی تامین قند از چغندرقند به حدود ۲۰۰ سال پیش برمیگردد و در این مدت از پیشرفت های ایجاد شده در زمینه‌های ژنتیک، زراعت و استخراج قند در کارخانجات در مورد این گیاه استفاده شده است. چغندرقند گیاهی ساخته‌ی دست بشر بوده و در تاریخ کشاورزی، گیاهی منحصر به فرد می‌باشد. تمام گونه‌های زراعی چغندر از چغندر دریایی[1] مشتق شده‌اند. در حقیقت، چغندر دریایی دارای برگ‌های سبز، لطیف و شیرین بوده و به عنوان غذا استفاده می‌شد (کونز[2]، ۱۹۳۶). این ویژگی‌های مهم در سایر جنس‌های Beta کمتر دیده شده است (بیانکاردی[3] و همکاران؛ ۱۳۸۷).

۱-۱-۱- گیاه شناسی چغندرقند

چغندر با نام علمی *Beta Vulgaris* گیاهی علفی (بیانکاردی و همکاران، ۱۳۸۷)، دولپه، شورپسند[4] و دیپلوئید (۲x=۲n=۱۸) با ۹ کروموزوم پایه و اندازه‌ی ژنومی ۷۵۸ Mb در سطح هاپلوئیدی بوده و از خانواده‌ی تاج‌خروسیان[5] می‌باشد (کوک و اسکات، ۱۳۷۵). این گیاه گونه‌ای بسیار متنوع و شامل چهار گروه اصلی است که در کشاورزی اهمیت دارند: چغندر برگی، چغندر باغی یا لبویی، چغندر علوفه‌ای و چغندرقند (کوک و اسکات، ۱۳۷۵). خانواده‌ی تاج‌خروسیان دارای گل‌های متقارن، بدون گلبرگ و میوه‌ی خشک می‌باشد. چغندرقند یک گیاه دوساله است. در سال اول به دلیل جوانه‌زنی برون زمینی[6] تولید یک دسته از برگ‌های سبزتیره، صاف و براق با رگبرگ‌های نمایان و دمبرگ‌های قوی می‌کند. تولید برگ در اولین فصل رشد ادامه داشته و این در حالی است که ریشه متورم شده و ساکارز ذخیره می‌نماید. محصول ریشه معمولا قبل از یخبندان زمستانه برداشت می‌شود (کوک و اسکات، ۱۳۷۷). جهت گلدهی گیاه چغندرقند در سال دوم رشد، بهاره کردن ضروری می‌باشد. این پدیده معمولا در زمستان و در آخر سال اول کشت گیاه صورت می‌گیرد. لیکن پس از استقرار گیاه جوان نیز سرما می‌تواند موجب بهاره شدن

1- Sea beet
2- Coons
3- Biancardi
4 - Haophytes
5- *Amaranthaceae*
6- Epigeal

گیاه شود. در این صورت بوته‌هایی به ساقه می‌روند که جهت گلدهی نیاز کمتری به بهاره‌سازی دارند. ریشه‌های بوته‌های به ساقه رفته، ساکارز خود را از دست داده و به شدت خشبی می‌گردند بنابراین به ساقه رفتن تعداد زیادی بوته در مزرعه‌ی تولید ریشه، باعث نقصان محصول ریشه و در نهایت محصول شکر خواهد شد. بعد از بهاره شدن، ساقه طویل شده و گلدهی و تکامل بذر انجام می‌گردد. بذر توسط پوشش گل که به مرور سفت و چوبی می‌شود در داخل تخمدان محافظت می‌گردد. گل‌های مرکب به صورت دسته‌های دو تا هفت تایی ظاهر می‌شوند (کوک و اسکات، ۱۳۷۷).

۱-۱-۲- اهمیت چغندرقند

در مقیاس جهانی چغندرقند یک منبع مهم شکر است و محصولی است که نزدیک به هفت میلیون هکتار از اراضی زراعی را هر ساله در سطح جهان به خود اختصاص می‌دهد. صنعت قند با تکیه بر آثار مثبت و کارآیی که در اشتغال‌زایی، ایجاد امنیت غذایی، کشاورزی پایدار، صرفه-جویی ارزی در تحقق جامعه‌ی مستقل و قدرتمند دارد، همواره سهم قابل ملاحظه‌ای از سیستم‌های تولید را به خود اختصاص داده است. طی ۳۸ سال گذشته میانگین سطح زیر کشت چغندرقند در ایران معادل ۱۶۶۵۵۵ هکتار بوده است. کشور ایران با داشتن اراضی مناسب و تنوع آب و هوایی در مناطق مختلف و نیز سازگاری گیاه چغندرقند با این شرایط، دارای محیط مناسبی برای زراعت این گیاه است (فتح‌اله طالقانی، ۱۳۸۹).

۱-۱-۳- بهاره‌سازی

چغندرقند گیاهی دوساله است و چرخه‌ی زندگی کامل آن شامل دوره‌ای از رشد رویشی، بهاره شدن در دماهای پایین، تولید ساقه‌ی گلدار و تولید بذر است. نیاز به بهاره شدن اجباری است و جوانه‌های گیاه چغندر بهاره نشده بدون رشد طولی ساقه، می‌توانند چند سال متوالی به تولید برگ‌های تازه ادامه دهند. با این حال برای بهاره شدن دوره‌ی جوانی وجود ندارد و بذر و گیاهچه هر دو می‌توانند واکنش نشان دهند. مانند بسیاری از گونه‌ها دمای مطلوب برای بهاره شدن ۵ تا ۱۰ درجه‌ی سانتیگراد است (کوک و اسکات، ۱۳۷۵). درجه حرارت بیش از ۱۰ درجه‌ی سانتیگراد ممکن است بخشی را بهاره کند و درجه حرارت کمتر از ۵ درجه‌ی سانتیگراد بسته به سن گیاه و

مقدار دما برای گیاه مضر باشد. لغو بهاره شدن[1] در گیاهان چغندرقند تا مدت طولانی که گیاه در مسیر رشد طولی واقعی ساقه پیشرفت نکرده امکانپذیر است (اسمیت[2]، ۱۹۸۳). بعد از بهاره شدن، به تناوب نوری یا فتوپریود[3] نیز نیاز است و باید این نکته را در نظر داشت که چغندرقند گیاهی روزبلند است (کمپل و راسل[4]، ۱۹۶۵).

۱-۱-۴- ساقه‌روی و گلدهی

در گیاهان عالی تغییر از مرحله‌ی رویشی به زایشی را گلدهی می‌گویند. گلدهی توسط فاکتورهای داخلی مثل مرحله‌ی رشدی و محرک‌های محیطی مانند نور و دما کنترل می‌شود (ناکاگاوا و کومدا[5]، ۲۰۰۴). گیاه در مرحله‌ی رویشی بطور مرتب برگ، ساقه و ریشه‌ی جدید می‌سازد ولی آغاز گلدهی مستلزم بروز یک تغییر اساسی در الگوی تمایز جوانه‌ی انتهایی ساقه است که منجر به ایجاد و توسعه‌ی اندام‌های گل یعنی کاسبرگ، گلبرگ، پرچم و برچه‌ها می‌شود. گلدهی آرایش پیچیده‌ای از ساختارهای بسیار تخصصی را به نمایش می‌گذارد که شکلشان کاملا متفاوت با ساختار دوران رویشی آنها است. بعضی از جمعیت‌های چغندرهای وحشی شمالی و نیز چغندرهای تجارتی گیاهان دوساله هستند. آنها نیاز به ترکیبی از محرک‌های محیطی برای به ساقه رفتن و گلدهی دارند که شامل شرایط روزبلندی و قبل از آن یک دوره‌ی دمای پایین (بهاره‌سازی) است. شرایط روزکوتاهی با دمای زیاد بعد از عمل بهاره‌سازی گیاه را دوباره به شرایط رشد رویشی برمی‌گرداند (لغو بهاره شدن). به ساقه رفتن ممکن است بدون گلدهی نیز اتفاق بیفتد (بیانکاردی و همکاران ، ۱۳۸۷). مدت زمان بهاره‌سازی توسط عوامل ژنتیکی تعیین می‌شود، اگر این دوه خیلی کوتاه باشد، ساقه‌ی بذری ممکن است در درجه حرارت پایین در بهار سال اول بوجود آید که به این پدیده ساقه‌روی می‌گویند (کوک و اسکات، ۱۳۷۷).

۱-۱-۵- تنظیم ساقه رفتن و گلدهی

انتقال از رشد رویشی به دوره‌ی زایشی از تحولات مهم در زندگی گیاهان است. برای طولانی تر کردن مرحله‌ی رویشی، زمان اهمیت داشته و این امر با شرایط محیطی مناسب تنظیم می‌شود. بنابراین به ساقه رفتن و گلدهی یک عمل چند فاکتوری و تحت تاثیر عوامل ژنتیکی بوده و

[1]- Devernalisation
[2]- Smit
[3]- Photoperiod
[4]- Campbell and Russel
[5]- Nakagava and Komeda