واحد بین الملل

پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد در رشته‌ی

اصلاح نباتات

انتقال ژن رمز کننده بتاگلوکورونیداز به جو به واسطه اگروباکتریوم

به کوشش

فریبا پیرویان کازرونی

استاد راهنما

دکتر عباس عالم‌زاده

اسفند ۱۳۹۲

بسم الله الرحمن الرحيم

به نام خدا

اظهارنامه

اینجانب فریبا پیرویان کازرونی (۹۰۹۳۷۰) دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی کشاورزی گرایش اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی اظهار می‌کنم که این پایان نامه حاصل پژوهش خود بوده و در جاهایی که از منابع دیگران استفاده کرده‌ام نشانی دقیق و مشخصات کامل آن را نوشته‌ام. همچنین اظهار می‌کنم که تحقیق و موضوع پایان نامه‌ام تکراری نیست و تعهد می‌نمایم که بدون مجوز دانشگاه دستاوردهای آن را منتشر ننموده و یا در اختیار غیر قرار ندهم. کلیه حقوق این اثر مطابق با آیین نامه مالکیت فکری و معنوی متعلق به دانشگاه شیراز است.

نام و نام خانوادگی

تاریخ و امضا

به نام خدا

انتقال ژن رمز کننده بتاگلوکورونیداز به جو به واسطه اگروباکتریوم

به کوشش

فریبا پیرویان کازرونی

پایان نامه ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه شیراز به عنوان بخشی از فعالیت‌های تحصیلی لازم برای اخذ درجه کارشناسی ارشد

در رشته‌ی

اصلاح نباتات

از دانشگاه شیراز

شیراز

جمهوری اسلامی ایران

ارزیابی کمیته پایان نامه، با درجه: عالی

دکتر عباس عالم زاده، استادیار بخش زراعت و اصلاح نباتات (استاد راهنما) .....

دکتر هومن راضی، استادیار بخش زراعت و اصلاح نباتات (استاد مشاور) .....

دکتر حسن پاک نیت، دانشیار بخش زراعت و اصلاح نباتات (استاد مشاور) .....

دکتر الهه توکل، استادیار بخش زراعت و اصلاح نباتات (داور متخصص داخلی) .....

اسفند ماه ۱۳۹۲

تقدیم به

همسر عزیزم:

که در طول این مدت همچون کوهی استوار از من حمایت کرد و مشوق من بود.

ثمین و سینا:

دو فرشته‌ی کوچک زندگی من که در عین کوچکی، بزرگی و صبوری را به من هدیه کردند.

مادر مهربانم:

سنگ صبورم که حضور ایشان مرا به ادامه راه دعوت می‌کرد و همواره آرامش‌بخش من بود.

هدیه به روح شاد پدر عزیزم:

یاد و خاطره این اسوه انسانیت همیشه در خاطر ما زنده خواهد بود.

و به تمامی خواهران و برادران عزیزم که الگوی من در زندگی هستند.

سپاسگزاری

سپاس خدایی را که نیکویی‌های آفرینش را برایمان برگزید و سیاهی ندانستن را از ما زدود و توفیق رسیدن به این مرحله را به من عطا فرمود. به جاست قدردان زحمات عزیزانی باشم که مرا در این مهم یاری کردند. زحمات فراوان و ارزشمند استاد راهنمای ارجمند، جناب آقای دکتر عباس عالم زاده، که علاوه بر علم، درس زندگی را به من آموختند به هیچ وجه قابل جبران نیست. از اساتید محترم مشاور، آقایان دکتر حسن پاک نیت و دکتر هومن راضی که دلسوزانه مرا در تمامی مراحل این پژوهش یاری کردند، کمال تشکر را دارم. از اساتید محترم بخش اصلاح نباتات، جناب آقایان دکتر اسماعیل ابراهیمی، دکتر بهرام حیدری، دکتر نورعلی دادخدایی، دکتر محسن عدالت و سرکار خانم دکتر الهه توکل و جناب آقای دکتر سید عبدالرضا کاظمینی ریاست محترم بخش زراعت و اصلاح نباتات که در مدت تحصیلم از آموزش‌ها و همکاری آن‌ها بهره بردم، کمال تشکر را دارم. صمیمانه از همکاری‌های دلسوزانه و بی شائبه‌ی آقایان مهندس متقی و مهندس ایزدی تشکرمیکنم. سزاوار است تا از زحمات آقایان پوست فروش، نوری و شفیعی وسرکار خانم حسنلی کمال تشکر را داشته باشم. در این دوره با دوستانی آشنا شدم که جز خوبی، محبت و مهربانی چیزی از خود به یادگار نگذاشتند. یاد و خاطره دوستانی که در این دوره به من یاری رسانده اند، مهندس کتایون حمیدی، مهتاب لطیفی، شبنم کامیاب، مرجان شیبانی، عادله غریبی، آیدا آزاد، مینا سیفایی، مرضیه شبانی، زینب سی‌سختی، مهسا محمدپور، زهرا زکی‌پور، طیبه مشکانی، حدیثه باقری، زهرا زینتی، الهام اشرفی، فاضل سلطانی، محسن جم، محمود احمدی، هومن رفیعی، مصطفی رحیم پور، هادی پیرسته انوشه، علیرضا میرزایی، علی طالع، سیروس طهماسبی، رامین ساعد، افشار استخر، احمد طهماسبی و سایر دوستانی که در این کوتاه، مجال پرداختن به آن ها نیست، همیشه در خاطرم زنده خواهد ماند. تشکر ویژه خودم را به دو عزیزی هدیه میکنم که در طول این دوران حضور آنها گرمی بخش خاطر من بود، سرکار خانم مهندس نجمه برخورداری که علاوه بر علم، درس محبت و ازخودگذشتگی را به من آموخت و جناب آقای مهندس شاملو که جملات، شایسته تشکر از محبت‌های ایشان نیست.

چکیده

انتقال ژن رمز کننده بتاگلوکورونیداز به جو به واسطه اگروباکتریوم

به کوشش

فریبا پیرویان کازرونی

در این پژوهش روشی جدید برای انتقال ژن به جو به واسطه اگروباکتریوم و بدون نیاز بـه کـشت بافـت مـورد بررسی قرار گرفت. به همین منظور جوهای شش ردیفه رقم ریحان و دو ردیفه رقم ارس در گلخانه کشت شد و ارقام شش ردیفه Aydanhanim، Maris otter و Maris trojan کشت شده در مزرعه برای انتقـال ژن انتخـاب شدند. با استفاده از سرنگ‌های بسیار نازک انسولین، باکتری‌های آگروباکتریوم حاوی پلاسـمید pBI121 دارای ژن *gus* به ناحیه تخمدان گیاه جو تزریق شد. عملیات تزریق در چهار مرحله انجام گرفت که عبـارت بودنـد از مرحله (۱) زمانی که سنبله به طور کامل در غلاف برگی قرار داشت، مرحله (۲) زمانی‌که یک سوم از ریشک‌ها از غلاف برگی خارج شده بودند، مرحله (۳) زمانی‌که دو سوم ریشک‌ها از غلاف برگی خارج شده بودند و مرحله (۴) زمانی که سنبله به طور کامل از غلاف برگی خارج شده بود. پس از پایان دوره پرشدگی بذرها، بذرها کشت شدند و با رسیدن گیاهچه جو به مرحله دو تا سه برگی، اسـتخراج دی‌ان‌ای از بافـت بـرگ صـورت گرفـت. بـا استفاده از واکنش زنجیره‌ای پی‌سی‌آر برای ژن *gus*، وجود یا عدم وجود این ژن در گیاهـان نـسل اول بررسـی شد. پس از کاشت بذرهای تراریخته نسل اول، تمامی مراحل بالا جهت بررسی انتقال ژن به نسل دوم نیز انجام شد که در این تحقیق ۳۶ نمونه نسل اول و ۱۰ نمونه نسل دوم مورد بررسی قرار گرفت. نتـایج نـشان داد کـه تمامی بذرهای به دست آمده از گیاهانی که در آنها تزریق انجام شده بود تراریخته هستند. تحقیق انجام شـده در این پژوهش منتج به معرفی روشی سریع و آسان برای انتقال ژن به جو بدون نیاز به کشت بافت و با کارآیی انتقال ژن بسیار زیاد شد. مشخص شد که این روش هیچ محدودیتی در ژنوتیپ‌های مختلف جو ندارد و فراوانی انتقال ژن در تمام ارقام استفاده شده برابر بود.

کلیدواژگان: انتقال ژن، اگروباکتریوم، پلاسمید، ژن *gus*

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه

۱- ۱- جو ۲
۱-۲- ویژگی‌های گیاه‌شناسی جو ۳
۱-۳- کشورهای تولید کننده جو ۴
۱-۴- سطح برداشت، میزان تولید و عملکرد جو در ایران ۵
۱-۵- انتقال ژن ۷
۱-۶- انتقال ژن مستقیم ۷
۱-۶-۱- روش‌های فیزیکی انتقال ژن ۷
۱-۶-۱-۱- الکتروپوریشن ۸
۱-۶-۱-۲- بمباران ذره‌ای ۹
۱-۶-۱-۳- درشت تزریقی ۹
۱-۶-۱-۴- ریز تزریقی ۱۰
۱-۶-۱-۵- انتقال ژن با استفاده از ماوراء صوت ۱۰
۱-۶-۱-۶- انتقال ژن از طریق دانه گرده ۱۰
۱-۶-۲- روش‌های انتقال شیمیایی ژن ۱۱
۱-۶-۲-۱- انتقال ژن با استفاده از PEG ۱۱
۱-۶-۲-۲- رسوب با فسفات کلسیم ۱۱
۱-۶-۲-۳- استفاده از DMSO ۱۱
۱-۶-۳- جذب دی‌ان‌ای توسط سلول‌ها، بافت‌ها و اندام‌ها ۱۲
۱-۷- مزیت‌های انتقال مستقیم ژن ۱۲۱
۱-۸- معایب انتقال ژن بطور مستقیم ۱۲
۱-۹- انتقال ژن به صورت غیر مستقیم و با واسطه اگروباکتریوم ۱۳
۱-۹-۱- اگروباکتریوم ۱۳
۱-۹-۱-۱- بیوتیپ ۱ اگروباکتریوم ۱۴
۱-۹-۱-۲- بیوتیپ ۲ اگروباکتریوم ۱۵

عنوان **صفحه**

۱-۱۰- چگونگی عملکرد اگروباکتریوم ۱۵
۱-۱۰-۱- مزایای انتقال ژن به واسطه اگروباکتریوم ۱۶
۱-۱۰-۲- معایب انتقال ژن با واسطه اگروباکتریوم ۱۶
۱-۱۱- بیان ژن‌های گزارشگر در گیاهان تراریخته ۱۷
۱-۱۲- کشت بافت ۱۷
۱-۱۲-۱- انواع کشت ۱۸
۱-۱۳- اهداف پژوهش ۱۸

فصل دوم: مروری بر پژوهش‌ها

۲- ۱- افزایش جمعیت و نیاز به غلات ۲۰
۲-۲- انتقال ژن ۲۱
۲- ۲-۱- تولید گیاهان تراریخت ۲۲
۲-۳- مشکلات انتقال ژن به گیاهان تک لپه ۲۲
۲-۳-۲- انتقال ژن به غلات ۲۳
۲-۳-۲-۱- زیست پرتابی (بمباران ذره‌ای) ۲۴
۲-۴- انتقال ژن به جو ۲۴
۲-۴-۱- انتقال ژن به جو با واسطه آگروباکتریوم ۲۵

فصل سوم: مواد و روش‌ها

۳-۱- کاشت ۲۹
۳-۱-۱- کاشت جو ۲۹
۳-۱-۲- شرایط نگهداری ۳۰
۳-۲- تهیه باکتری ۳۱
۳-۲-۱- تهیه آگروباکتریوم حاوی ژن گزارشگر ۳۱
۳-۲-۲ - نگهداری باکتری حاوی ژن ۳۱
۳-۲-۳- تهیه محیط کشت LB جامد و مایع ۳۲
۳-۳ – انتقال ۳۳
۳-۳-۱- انتخاب مراحل ۳۳
۳-۳-۲ - انتقال باکتری ۳۴
۳-۳-۳- مراقبت پس از تزریق ۳۵

عنوان **صفحه**

۳-۳-۴- برداشت بذرها ۳۵
۳-۴- استخراج پلاسمید باکتری به روش لیز قلیایی ۳۶
۳-۵- استخراج دی‌ان‌ای به روش *CTAB* ۳۸
۳-۵-۱- پودر کردن نمونه‌ها ۳۸
۳-۵-۲- تهیه بافر استخراج ۳۸
۳-۵-۳- مراحل اصلی استخراج دی‌ان‌ای ۳۹
۳-۶- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۴۰
۳-۶-۱- گردیانت پی‌سی‌آر ۴۱
۳-۷- طراحی آغازگر ۴۱
۳-۸- بافر TAE (۵۰x) ۴۳
۳-۹- ژل آگاروز ۱٪ ۴۳
۳-۱۰- محلول Tris ۴۴
۳-۱۱- محلول اتیلن دی آمین تترا استیک اسید EDTA ۴۴

فصل چهارم: نتایج و بحث

۴-۱- کیفیت دی‌ان‌ای استخراج شده ۴۶
۴-۲- کیفیت پلاسمید استخراج شده ۴۷
۴-۳- تکثیر ژن *gus* طی واکنش پی‌سی‌آر ۴۸
۴-۴- تائید گیاهان تراریخته نسل اول (T_0) با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پی‌سی‌آر ۴۹
۴-۴-۱- تکثیر قطعه با دمای بهینه گردیانت ۵۱
۴-۵- بررسی وجود ژن ***gus*** در گیاهان تراریخته نسل اول و دوم ۵۲
۴-۶- تکثیر قطعه‌ای از ژن *Vir* با استفاده از پی‌سی‌آر ۵۳
۴-۷- نتیجه‌گیری ۵۴
۴-۸- پیشنهادات ۵۶

فهرست منابع

منابع فارسی ۵۷
منابع انگلیسی ۵۹

فهرست جدول ها

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۱- تولید جو بر حسب تن در کشورهای همسایه ایران مابین
سال‌های ۲۰۰۷ تا ۲۰۱۰. ۵
جدول ۳-۱- اجزاء تشکیل دهنده محیط کشت LB. ۳۲
جدول ۳-۲- تهیه‌ی محلول شماره‌ی یک ۳۶
جدول ۳-۳- تهیه‌ی محلول شماره‌ی دو ۳۷
جدول ۳-۴- تهیه‌ی محلول شماره‌ی سه ۳۷
جدول ۳-۵ مواد لازم جهت ساخت ml ۲۲۰ محلول بافر استخراج. ۳۸
جدول ۳-۶- نوع و مقدار مواد مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پی‌سی‌آر. ۴۰
جدول ۳-۷- چرخه حرارتی واکنش پی‌سی‌آر. ۴۰
جدول ۳-۸- چرخه‌ی حرارتی واکنش زنجیره‌ای پلی مراز ۴۱
جدول ۳-۹- اسامی و توالی آغازگرهای طراحی شده با نرم افزار ClC Genomic و
41FAST PCR به منظور بررسی بیان ژن گزارشگر *gus*. ۴۲
جدول شماره ۳-۱۰- مواد تشکیل دهنده بافر TAE ۴۳

فهرست شکل ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱- قسمت‌های گوناگون گلچه‌ی جو ۳
شکل ۱-۲- میزان تولید جو در استان‌های مختلف ایران در سال زراعی ۸۸- ۱۳۸۷..... ۶
شکل ۱-۳- اگروباکتریوم..... ۱۴
شکل ۳-۱- کشت بذور جو در گلدان‌ها و رشد آن‌ها در گلخانه بخش زراعت
و اصلاح نباتات..... ۳۰
شکل ۳-۲- پلاسمید pBI121 حاوی ژن گزارشگر *gus*..... ۳۱
شکل ۳-۳- کشت باکتری در محیط جامد..... ۳۲
شکل ۳-۴- باکتری کشت داده شده بر محیط کشت جامد..... ۳۲
شکل ۳-۵- مراحل انتخابی جهت انتقال ژن..... ۳۴
شکل ۳-۶- سرنگ انسولین مورد استفاده جهت تزریق..... ۳۴
شکل۳-۷- بذرهای جمع‌آوری شده..... ۳۵
شکل۴-۱- دی‌ان‌ای استخراج شده از برگ جو با استفاده از روش CTAB..... ۴۶
شکل ۴-۲- نقشه فیزیکی پلاسمید pBI121..... ۴۷
شکل ۴-۳- استخراج پلاسمید حاوی ژن *gus*..... ۴۸
شکل ۴-۴- تکثیر ژن *gus* درون پلاسمید استخراج شده طی واکنش پی‌سی‌آر با آغازگر
اختصاصی F و R..... ۴۹
شکل ۴-۵- تکثیر قطعه ۳۸۵ جفت بازی از ژنوم گیاهان تراریخته نسل T_0 ..... ۵۰
شکل ۴-۶- تکثیر قطعه ۳۸۵ جفت بازی طی واکنش گردیانت پی‌سی‌آر. ۵۱
شکل ۴-۷- تکثیر قطعه ۳۸۵ جفت بازی با دمای بهینه گردیانت (۶۶/۵ درجه سانتی‌گراد)..... ۵۲
شکل ۴-۸- تکثیر قطعه۳۸۵ جفت بازی با دمای بهینه گردیانت. ۵۳
شکل ۴-۹- تکثیر قطعه۳۸۵ جفت بازی با دمای بهینه گردیانت..... ۵۳
شکل ۴-۱۰- تکثیر قطعه‌ای از ژن *Vir* با استفاده از پی‌سی‌آر ۵۴

فصل اول

مقدمه

۱- ۱- جو

دانشمندان گیاه‌شناس عقیده دارند که جو از قدیمی‌ترین گیاهان روی زمین است. نام جو در ایران از کلمه جاو[1] که در زبان پهلوی جو گفته می‌شده گرفته شده است (خدابنده، ۱۳۶۲). پیشینه کشت این گیاه به ۵ تا ۷ هزار سال پیش از میلاد می‌رسد. خاستگاه جو همانند گندم، همان منطقه‌ی هلال حاصلخیز [2] می‌باشد (امام، ۱۳۸۲).

جو از اولین محصولات کشاورزی است که از خویشاوندان وحشی خود در حدود ۱۰۰۰۰ سال پیش به شکل اهلی در آمده است و به دلیل دارا بودن دوره زندگی کوتاه و خصوصیات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و ژنتیکی خاص خود، مدل مناسبی برای انجام کارهای تحقیقاتی می‌باشد. این گیاه در رتبه چهارم جهانی محصولات کشاورزی قرار گرفته و به دلیل استفاده برای غذای انسان‌ها، حیوانات و نیز خاصیت مالتینگ مورد اهمیت می‌باشد (Bothmer, 1992). بر اساس آمار ارائه شده، جو هنوز یکی از مهمترین غلات غذایی در بسیاری از نقاط جهان از جمله هند، چین و اتیوپی به شمار می‌رود (OECD, 2004).

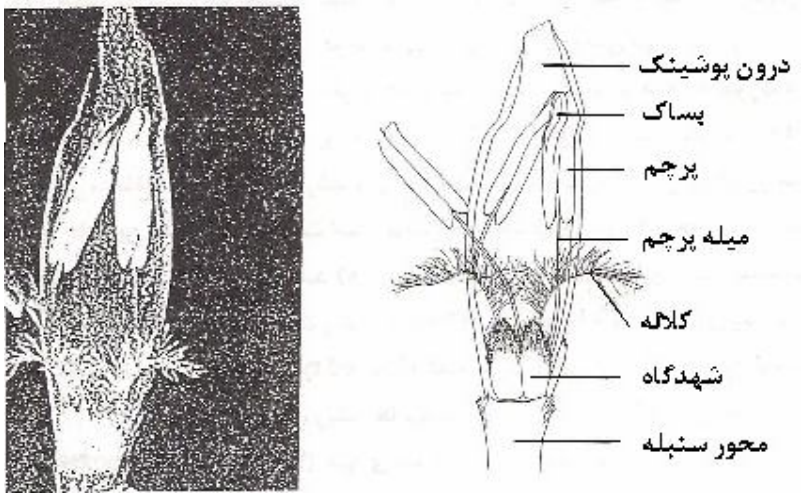
جو متعلق به خانواده گندمیان بوده و از جنس *Hordeum* گونه *vulgare* می‌باشد. گونه *vulgare* به دو زیرگونه *H. vulgare* L. subsp.*vulgare* و *H. vulgare* L. subsp. *spontaneum* (C. Koch) تقسیم می‌شود. این گیاه زراعی کم‌توقع ترین و قانع ترین گیاه زراعی است که دامنه‌ی سازگاری و پراکنش آن از سایر گیاهان زراعی گسترده‌تر است و متحمل‌ترین گیاه زراعی نسبت به شوری است. جو چهارمین غله‌ی مهم دنیا بوده که پس از برنج، گندم و ذرت مهمترین ماده‌ی غذایی به شمار می‌رود (امام، ۱۳۸۲).

1 . JAV
2 . Fertile crescent

۱-۲- ویژگی‌های گیاه‌شناسی جو

شباهت ظاهری زیادی بین گندم و جو وجود دارد. تفاوت برگ جو با گندم در گوشوارک‌هاست[1] که در جو بزرگ و بدون کرک، ولی در گندم کوچک و کرک‌دار است. افزون بر این، نوک برگ اول جو قدری پهن است که در گندم تیز می باشد (امام، ۱۳۸۲). ساقه جو مانند دیگر گندمیان، توخالی بوده و ارتفاع آن بر حسب شرایط محیطی، بین ۳۰ تا ۱۲۰ سانتی‌متر است. این ساقه بین ۵ تا۱۰ برگ دارد که به طور متناوب در دو طرف ساقه قرار گرفته‌اند.

برگ جو هم مانند دیگر گندمیان، دارای غلاف، پهنک، زبانک و گوشواره است. غلاف علاوه بر انجام فعالیت فتوسنتزی، در استحکام ساقه هم نقش دارد و در امتداد ساقه، محور سنبله قرار دارد. سنبله از مجموع سنبلچه‌ها و هر سنبلچه از یک گلچه تشکیل یافته است که دانه، داخل گلچه تشکیل می‌شود. گلچه جو در شکل ۱-۱ نمایش داده شده است (امام، ۱۳۸۲). پوشینک‌های داخلی و خارجی گلچه، هنگام رسیدن دانه به آن چسبیده و حتی موقع برداشت هم جدا نمی‌شوند.



شکل ۱-۱- قسمت‌های گوناگون گلچه‌ی جو (امام، ۱۳۸۲)

1 Auricles

هر گلچه‌ی جو دارای سه پرچم و یک کلاله دو شاخه‌ای است که در شکل کـاملا مـشخص مـی‌باشـد. دو شهدگاه[1] در قاعده تخمدان می باشد که با تورم در هنگام گرده افشانی باعث آسان شدن ایـن عمـل مـی‌شـوند. جو تقریبا گونه‌ی خودگشن بوده و دگرگشنی آن نسبت به گندم کمتر است. پس از تلقیح گل‌هـا پوشـش‌هـای گلچه (برون پوشینک[2] و درون پوشینک[3]) در خـلال پرشـدن دانـه بـه بـذر مـی‌چـسبند کـه در نتیجـه جـو پوشیده[4] را ایجاد می‌کنند (امام، ۱۳۸۲).

زمانی که دانه به تدریج رطوبت خود را از دست می‌دهـد، حجـم آن کـم شـده و پوشـینک داخلـی چـین مـی‌خـورد. میـزان ایـن چـین خـوردگی، مرغوبیـت محـصول جـو را نـشان می‌دهد، بدین ترتیب که هر چه چین‌ها بیشتر باشد به همان اندازه پوشینک نازک‌تر است و در نتیجه بهتر می‌توان از این نوع دانه جـو در صـنایع تخمیـر اسـتفاده نمـود چـون نـرم‌تـر اسـت (Williams-Carrier *et al*., 1997).

۱-۳- کشورهای تولید کننده جو

بر اساس آمار ارائه شده FAO در سال ۲۰۱۱ ایران جایگـاه ۱۱ تولیـد جـو در دنیـا را دارد و در بین کشورهای منطقه بعد از روسیه، اوکراین و ترکیه در جایگاه چهارم قرار دارد که جدول ۱-۱ میزان تولید جو بر حسب تن در بـین شـش کـشور مـذکور از سـال ۲۰۰۷ تـا ۲۰۱۰ را نـشان می‌دهد.

1 Lodicule
2 Lemma
3 Palea
4 Hulled barley

جدول ۱-۱- تولید جو بر حسب تن در کشورهای همسایه ایران مابین سال‌های ۲۰۰۷ تا ۲۰۱۰.

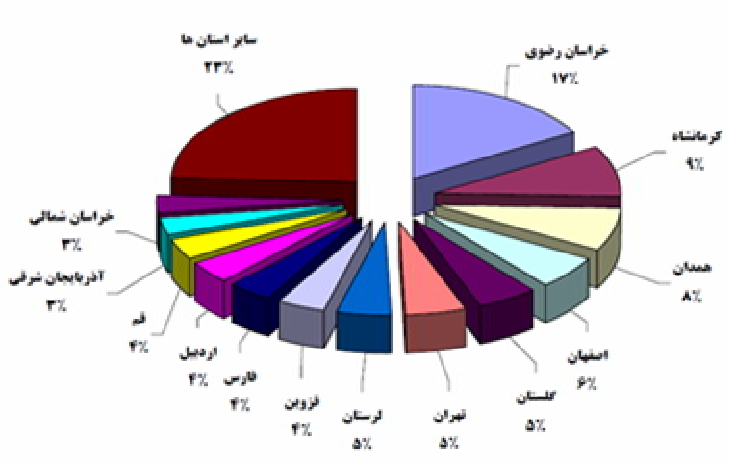
سال / کشور	۲۰۰۷	۲۰۰۸	۲۰۰۹	۲۰۱۰
اوکراین	۵۹۸۰۸۰۰	۱۲۶۱۱۵۰۰	۱۱۸۳۳۱۰۰	۸۴۸۸۴۹۰
روسیه	۱۵۵۵۹۱۰۰	۲۳۱۴۸۵۰۰	۱۷۸۸۰۸۰۰	۸۳۵۰۰۲۰
ترکیه	۷۳۰۶۸۰۰	۵۹۲۳۰۰۰	۷۳۰۰۰۰۰	۷۲۵۰۰۰۰
ایران	۳۱۰۳۹۸۰	۱۵۴۷۳۹۰	۳۴۴۶۲۳۰	۳۵۷۹۵۹۰
هند	۱۳۳۰۰۰۰	۱۲۰۰۰۰۰	۱۶۸۹۱۰۰	۱۳۵۴۷۰۰
افغانستان	۳۷۰۰۰۰	۳۳۳۰۰۰	۴۸۶۰۰۰	۴۳۷۰۰۰
پاکستان	۹۳۰۰۰	۸۷۴۰۰	۸۱۵۰۰	۷۱۴۰۰

۱-۴- سطح برداشت، میزان تولید و عملکرد جو در ایران

بر اساس آمار بدست آمده از طرح آمارگیری نمونه‌ای گندم و جو دفتر آمار و فناوری اطلاعات وزارت جهاد کشاورزی سطح برداشت شده جو کشور در سال زراعی ۸۸-۱۳۸۷ حدود ۱/۶۸ میلیون هکتار برآورد شده که ۴۳/۱۶ درصد آن آبی و ۵۶/۸۴ درصد دیم بوده است. در این سال استان خراسان رضوی بیشترین و استان هرمزگان کمترین سطح کشت این محصول را به خود اختصاص داده‌اند.

میزان تولید جو درکشورحدود ۳/۴۵ میلیون تن برآورد شده که ۶۹/۱۰ درصد آن از اراضی آبی و ۳۰/۹۰ درصد ازکشت دیم حاصل شده است که استان خراسان رضوی با ۱۸/۶۸ درصد از تولید جو کشور همانند سطح برداشت، مقام نخست را به خود اختصاص داده است. متوسط عملکرد جو آبی درکشور۳۲۹۳ کیلوگرم در هکتار بوده است که استان‌های کرمانشاه و خوزستان به ترتیب بیشترین و کمترین عملکرد را به خود اختصاص داده‌اند . متوسط عملکرد جو دیم درکشور۱۱۱۷ کیلوگرم در هکتار می‌باشد که بیشترین مقدار به استان تهران و کمترین مقدار به استان بوشهر تعلق دارد (دفتر آمار و فناوری اطلاعات وزارت جهاد کشاورزی، ۱۳۸۸). میزان

تولید جو استان‌ها نسبت به کل کشور در سال زراعی ۸۸-۱۳۸۷ در شکل شماره ۱-۲ آمده است که نشان می‌دهد استان فارس ۴ درصد میزان تولید جو را به خود اختصاص داده است که بر اساس آمار ارائه شده، در استان فارس از ۶۹۴۵۵ هکتار در سال زراعی ۸۸- ۸۷ سطح زیر کشت جو، ۵۸/۷۹ درصد مربوط به کشت آبی و ۴۱/۲۱ درصد آن به کشت دیم اختصاص داشته است. بنابراین از ۱۳۸۲۴۵ تن تولید جو در این سال، ۷۹/۴۲ درصد آن مربوط به کشت آبی و ۲۰/۵۸ درصد آن مربوط به کشت دیم می‌باشد (دفتر آمار و فناوری اطلاعات وزارت جهاد کشاورزی، ۱۳۸۸).



شکل ۱-۲- میزان تولید جو در استان‌های مختلف ایران در سال زراعی ۸۸- ۱۳۸۷

(دفتر آمار و فناوری اطلاعات وزارت جهاد کشاورزی، ۱۳۸۸).

۱-۵- انتقال ژن[1]

قابلیت انتقال ژن از منابع مختلف به ژنوم گیاه یکی از مسائل اساسی در تولیدگیاهان تراریخته[2] می‌باشد. انتقال ژن فرآیندی است که طی آن یک ژن خاص همراه با نواحی تنظیمی بالا دست و پایین دست، با استفاده از فنون مهندسی ژنتیک به ژنوم یک موجود زنده منتقل می‌شود که به موجود زنده دریافت کننده ژن خارجی تراریخته گفته می‌شود (جعفری منش، ۱۳۸۸). تاکنون روش‌های زیادی برای انتقال ژن به گیاهان ابداع و توسعه یافته‌اند که می‌توان آنها را به دو گروه روش‌های انتقال مستقیم (بدون واسطه) و غیرمستقیم (با واسطه) تقسیم کرد (جعفری منش، ۱۳۸۸).

۱-۶- انتقال ژن مستقیم

در روش مستقیم، سازه ژنی بدون واسطه باکتری یا حامل زنده دیگری، به طور مستقیم به بافت و سلول گیاهی منتقل می‌شود. این روش از روش‌های ساده و موثر جهت انتقال ژن خارجی به سلول گیاهی بوده که به سه زیر گروه تقسیم می‌شود (چاولا، ۱۳۸۲):

الف) روش‌های فیزیکی انتقال ژن

ب) روش شیمیایی انتقال ژن

ج) جذب دی‌ان‌ای توسط سلول‌ها، بافت‌ها و اندام‌ها

۱-۶-۱- روش‌های فیزیکی انتقال ژن

این روش غیر وابسته به گونه و ژنوتیپ بوده که هیچ حد واسط طبیعی در آن دخالتی ندارد. می‌توان آن را از روش‌های انتقال ژن مبتنی بر انتقال مستقیم ژن به سلول گیاهی دانست. این

1 Transformation

2 Transgenic

روش‌ها عبارتند از:

- ✓ الکتروپوریشن[1]
- ✓ بمباران ذره‌ای، زیست پرتابی[2] یا تفنگ ژنی[3]
- ✓ درشت تزریقی[4]
- ✓ ریز تزریقی[5]
- ✓ انتقال ژن با استفاده از فیبر سیلیکون کرباید
- ✓ انتقال ژن با استفاده از ماوراء صوت[6]

۱-۶-۱-۱- الکتروپوریشن

در این روش سلولها در معرض ولتاژهای بالا قرار می‌گیرند که در اثر شوک الکتریکی منافذ کوچکی در سطح غشای سلولی به طور موقت ایجاد شده که به آن خاصیت نفوذ پذیری نسبت به اسید نوکلئیک می‌بخشد اما به دلیل ضرورت استفاده از پروتوپلاست سلولی و مشکلاتی که در سر راه کشت پروتوپلاست و باززایی آن وجود دارد آینده این روش در هاله‌ای از ابهام وجود دارد (اسلاتر و همکاران، ۱۳۹۱). انتقال ژن پایدار با استفاده از الکتروپوریشن در سال ۱۹۹۳ توسط ژو و همکارانش گزارش شد که اولین گزارش انتقال ژن پایدار به پروتوپلاست گندم می‌باشد. بررسی عوامل موثر بر الکتروپوریشن نشان می‌دهد که ولتاژ مورد استفاده، مدت پالس، مقدار بافر الکتروپوریشن، محیط، اسمولیت‌های موجود در بافر، اسمولیت‌های محیط قبل از الکتروپوریشن، مدت زمان انتقال به محیط کشت بعد از الکتروپوریشن و دما از مهم‌ترین عوامل تاثیر گذار در کارایی الکتروپوریشن هستند (Zaghmout., 1994). سوروکین و همکارانش موفق شدند با کارایی ۰/۴ درصد ژل مورد نظر را با این روش به جنین های نابالغ منتقل نمایند (Sorokin *et al*., 2000).

1. Electroporation
2 Biolistic
3 Gene gun
4 Macro injection
5 Ultra sound