مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
دوره اول، شماره ۲، پاییز و زمستان ۱۳۹۱
صفحه ۷۳-۸۲

بررسی افزایش بیان ژن *BnFUL* در گیاهان تراریخته کلزا

سمیرا کهک[۱]، علی محمد شکیب[۲*]، جلال صبا[۳]، سیامک اسدی[٤]، مانا احمد راجی[٥]

۱- دانشجوی کارشناسی‌ارشد اصلاح نباتات دانشگاه زنجان
۲- دانشیار پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران
۳- دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان
٤ و ٥- به‌ترتیب کارشناس ارشد و کارشناس پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران
* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:a_shakib@abrii.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۱/۱/۲۱ - تاریخ پذیرش: ۹۱/۸/۹)

چکیده

کلزا یکی از گیاهان مهم روغنی است که در سال‌های اخیر کشت آن در ایران توسعه زیادی پیدا کرده است. یکی از مشکلات کلزا ریزش دانه قبل و در حین برداشت است که بسته به شرایط آب و هوایی می‌تواند تا ۵۰ درصد باعث کاهش محصول شود. تولید گیاهان متحمل به ریزش دانه می‌تواند موجب افزایش عملکرد شود. عوامل ژنتیک و محیطی متعددی برروی این صفت اثر دارند. از جمله عوامل ژنتیک وجود ژن *FUL* در این گیاهان است که افزایش بیان آن می‌تواند مانع از بازشدن غلاف و ریزش دانه شود. ژن *FUL* که از کلزا رقم Quantum جداسازی و به سه رقم مختلف گیاهان تراریخته کلزا انتقال داده شده بود در این پژوهش استفاده شد. بررسی‌های مولکولی روی گیاهان تراریخته در نسل T_2 با استفاده از آزمون‌های پی‌سی‌آر، لکه‌گذاری‌سادرن و Real Time-PCR انجام گرفت. آزمون پی‌سی‌آر نشان داد که علاوه بر ژن داخلی گیاه، تراژن *BnFUL* نیز در گیاهان تراریخته وجود دارد. آزمون لکه‌گذاری سادرن نشان داد که در گیاهان تراریخته حداقل یک نسخه از تراژن وجود دارد. آزمون Real Time-PCR نشان داد که بیان ژن *BnFUL* در گیاهان تراریخته در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش یافته است. همچنین سطح بیان این ژن در لاین‌های مختلف نیز اختلاف نشان دادند. بخشی از این تفاوت در بیان می‌تواند ناشی از تعداد نسخه‌های مختلف تراژن و یا اثرهای محل ورود تراژن در ژنوم باشد.

واژه‌های کلیدی

کلزا
گیاه تراریخته
بیان ژن *BnFUL*
تعداد نسخه
ریزش دانه

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-02]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1391.1.2.2.1]

مقدمه

روغن گیاهی یکی از کالاهای مصرفی در سبد غذایی مردم است. کلزا یک گیاه مهم روغنی است و در میان گیاهان روغنی مقام دوم را به خود اختصاص داده است (MacLeod and Ogilvy, 1982). کلزا[1] گیاهی متعلق به خانواده براسیکاسه[2]، یکساله و خودگشن با حدود ۳۰ درصد دگرگشنی است. گیاهان خانواده براسیکاسه به‌طور معمول دانه‌های خود را به‌وسیله سازوکار شکستن غلاف پراکنده می‌کنند. اگرچه باز شدن غلاف یک سازوکار مفید برای پراکندگی دانه‌ها در طبیعت است، اما یکی از مشکلات مهم زراعت کلزا است. در صورتی‌که برداشت به تاخیر بیافتد ریزش دانه می‌تواند تا ۵۰ درصد عملکرد محصول را کاهش دهد (Child and Evans, 1989; Prince et al., 1996). علاوه‌براین، دانه‌های کلزای ریخته شده، برروی زمین باقی می‌مانند و در تناوب با گیاه بعدی به‌عنوان علف هرز باعث ایجاد مشکلاتی می‌شوند (Gulden et al., 2003). باز شدن غلاف از نظر ریخت‌شناسی[3] به شکل منطقه شکوفایی وابسته است. منطقه شکوفایی شامل یک لایه‌ی چند سلولی است که دیواره میانی[4] را از مرز پریکارپ[5] پوشش غلاف جدا می‌سازد، (شکل ۱) (Wang et al., 2007). در گیاه آرابیدوپسیس تعدادی ژن شناسایی شده‌اند که در شکل‌گیری و تنظیم منطقه باز شدن غلاف شرکت دارند (Gu et al., 1998; Lilgegren et al., 2000; Dinneny and Yanofsky, 2005). ژن‌های مشابه به احتمال زیاد در نمو غلاف و مقاومت به ریزش دانه در کلزا نیز شرکت دارند زیرا که شباهت‌های زیادی بین نمو و ساختار غلاف در کلزا و آرابیدوپسیس وجود دارد (Spence et al., 1996; Roberts et al., 2002). این ژن‌ها شامل *FUL*، *SHP1*، *SHP2*، *ALC*، *IND* و *RPL* هستند. بعضی از این ژن‌ها با اثر برروی منطقه شکوفایی باعث تشدید ریزش دانه می‌شوند. که ژن‌های *SHP1*، *SHP2*، *IND* و *ALC* از این جمله هستند. در مقابل ژن‌های *FUL* و *RPL* با اثر برروی سلول‌های منطقه شکوفایی باعث کاهش ریزش دانه می‌شوند (Dinneny and Yanofsky, 2005). ژن *FUL* متعلق به خانواده ژنی MADS-box است که برای انبساط و تمایز پوسته‌های میوه پس از باروری مورد نیاز است. افزایش بیان تراژن *FUL* در گیاه *Brassica juncea* باعث کاهش توسعه ناحیه حاشیه پوسته غلاف شده که می‌تواند برای کاهش ریزش دانه استفاده شود (Ostergaard et al., 2006). در این پژوهش بیان ژن *BnFUL* پس از انتقال به گیاهان کلزا مورد ارزیابی قرار گرفته است.

1- *Brassica napus* L.
2- Brassicaceae
3- morphology
4- replum
5- valve margin

مواد و روش ها

انتقال ژن و تولید گیاهان تراریخته

ژن *BnFUL* قبلا از کلزا رقم Quantum جداسازی (Seifi and Shakib, 2005) و به روش انتقال توسط اگروباکتریوم و با استفاده از ناقل پلاسمیدی pABAS204 حاوی ژن *BnFUL* به گیاهان کلزا از سه رقم Okapi، Licord و RGS003 منتقل شد (Asadi, 2008).

کشت گیاهان تراریخته

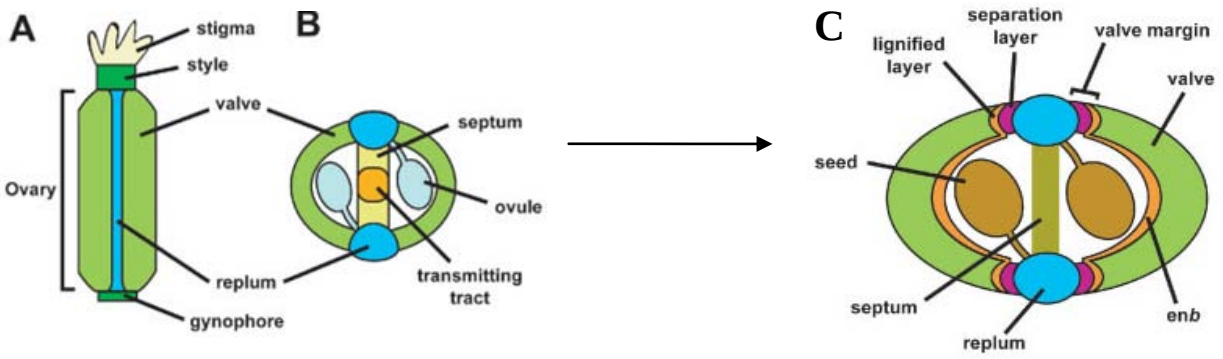
این پژوهش در سال ۹۰-۱۳۸۹ در پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران[6] انجام گرفت. بذور گیاهان تراریخته نسل T_2 کلزا از رقم Okapi، Licord و RGS003 حاوی تراژن *BnFUL* به‌همراه گیاهان شاهد غیرتراریخته در گلخانه کشت شدند. در مرحله پنج برگی گیاهان ارقام پاییزه (Okapi , Licord) برای سرمادهی به‌مدت دو ماه به فیتوترون با دمای ٤ درجه سانتی‌گراد منتقل و پس از آن برای ادامه رشد در شرایط کنترل شده داخل گلخانه قرار گرفتند.

استخراج دی‌اوکسی‌نوکلئیک اسید (دی.ان.ای) ژنومی

نمونه‌برداری از برگ گیاهان تراریخته و شاهد (غیرتراریخته) انجام گرفت. نمونه‌ها بلافاصله پس از جدا کردن از گیاه در ازت مایع قرار گرفتند. سپس برگ‌ها در هاون استریل با استفاده از ازت مایع پودر شدند. استخراج دی.ان.ای به روش دلاپورتا و همکاران (۱۹۹۸) انجام گرفت. کیفیت و کمیت دی.ان.ای‌های استخراج

6- Agricultural Biotechnology Institute of Iran (ABRII)

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-02]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1391.1.2.2.1]



شکل ۱- شماتیک غلاف و قسمت‌های مختلف آن

A- ساختار بیرونی غلاف. **B**- برش عرضی غلاف. **C**- برش عرضی غلاف بالغ (Dinneny and Yanofsky, 2004).

Figure 1- Schematic view of pod.
A-Exterior structure of pod. **B**- Transverse cross section of pod. **C**- Transverse cross section of mature pod (Dinneny and Yanofsky, 2004)..

شده، بوسیله بارگذاری در ژل آگارز و با استفاده از دستگاه نانودراپ (Nanodrop 2000) تعیین شدند.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (آزمون پی.سی.آر)

آزمون پی.سی.آر با استفاده از دی.ان.ای‌های استخراج شده و آغازگرهای اختصاصی ژن *BnFUL* که کمترین اختصاصیت را با ژن‌های خانواده MADS-box دارا هستند (با توالی F:AAGATAGAGAGATGGGAAG و R:CGCGAGGTAACCCAATCAACGACGATGTAC) انجام گرفت.

آزمون لکه‌گذاری‌سادرن

برای این منظور دی.ان.ای‌ها توسط آنزیم *Hind* III به مدت یک شب مورد هضم قرار گرفتند و سپس در ژل آگارز یک درصد بارگذاری شدند. مراحل انتقال به غشا، شستشو و رنگ‌آمیزی با استفاده از دستورالعمل سمبروک و راسل (۲۰۰۱) انجام گرفت.

استخراج ریبونوکلئیک اسید (آر.ان.ای) و ساخت دی.ان.ای مکمل (cDNA)

نمونه‌برداری از غلاف، ٤ هفته پس از گرده‌افشانی انجام گرفت. نمونه‌ها بلافاصله پس از جدا کردن از گیاه در ازت مایع قرار گرفتند، سپس در هاون استریل با استفاده از ازت مایع پودر شدند. استخراج آر.ان.ای کل از گیاهان فوق با استفاده از RNasy Mini Kit شرکت QIAGEN انجام گرفت. به منظور اطمینان از کیفیت و کمیت آر.ان.ای استخراج شده، جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۲٦۰ و ۲۸۰ نانومتر با استفاده از دستگاه نانودراپ (Nanodrop 2000) خوانده شد. آر.ان.ای‌های استخراج شده بوسیله بارگذاری در ژل آگارز نیز تعیین کیفیت شدند. آر.ان.ای‌ها با آنزیم DNase I تیمار شدند. ساخت cDNA با استفاده از کیت (BIO-RAD, iScript cDNA synthesis kit) انجام گرفت.

آزمون Real Time-PCR

بیان ژن مورد نظر توسط Real Time-PCR در سه تکرار آزمایشی با استفاده از کیت (BIO-RAD, iQ Syber Green Supermix) و دستگاه (iCycler iQ realtime-PCR, Bio-Rad) بررسی شد. درون هر چاهک از پلیت ۹٦ خانه‌ای، ۱۲/۵ میکرولیتر از محلول کیت به همراه یک میکرولیتر از هر آغازگر و یک میکرولیتر cDNA و ۹/۵ میکرولیتر آب مقطر ریخته شد. ابتدا جهت آزمون Real Time-PCR منحنی‌های استاندارد رسم شد. بر این اساس و با استفاده از آغازگرهای ژن *BnFUL* و آغازگرهای ژن گلیسرول ۳- فسفات دهیدروژناز *GAPDH*[7] (با توالی

7- Glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-02]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1391.1.2.2.1]

F:AGAGCCGCTTCCTTCTTCAACATCAT و R:TGGGCACACGGAAGGACATACC) بـــه‌عنـــوان ژن خانه‌دار[8] نمودارهای تکثیر و ذوب رسم شدند و آزمون سطح بیان ژن انجـام گرفـت. میـزان بیـان ژن بـا اسـتفاده از روش $2^{-\Delta\Delta C_T}$ (Livak et al., 2001) محاسبه شد. در این روش، همه داده‌هـا بـا حدود آستانه ژن *GAPDH* نرمال شده و سپس میزان تغییرات بیان ژن در گیاهان تراریخته نسبت به شـاهد (غیرتراریختـه) سـنجیده شد.

نتایج و بحث

بررسی گیاهان تراریخته فرضی با اسـتفاده از آزمـون پـی.سـی.آر، حضور تراژن در گیاهان تراریخته از هر سه رقم را تایید کـرد. بـا توجه به شکل ۲ دو سری باند مشاهده می‌شود، یکسری بانـد کـه در تمام گیاهان (اعم از تراریخته و شاهد) مشاهده می‌شود مربوط به ژن *BnFUL* داخلی گیاه است که به دلیـل حضـور اینتـرون‌هـا قطعه بزرگ‌تری را نسبت بـه ژن *BnFUL* وارد شـده بـه گیاهـان تراریخته دارد و سری دوم که کوچکتر اسـت قطعـه تکثیـری ژن وارد شده به گیاهان تراریخته (تراژن) اسـت. قطعـه تکثیـری اول مربوط بـه ژن داخلـی گیـاه در گیاهـان تراریختـه و شـاهد قابـل مشاهده است در صورتی‌که در پلاسمید مشاهده نمی‌شـود. قطعـه تکثیری دوم مربوط به ژن وارد شده به گیاهان تراریخته است کـه در گیاهان تراریخته و پلاسمید قابل مشاهده است. قابل ذکر است که اندازه قطعه تکثیری ژن داخلی در گیاهـان شـاهد و تراریختـه یکسان اسـت و انـدازه قطعـه تکثیـری ژن وارد شـده در گیاهـان تراریخته و پلاسمید یکسـان اسـت (شـکل ۲). ایـن نتـایج نشـان می‌دهند که گیاهان تراریخته علاوه‌بـر ژن *BnFUL* داخلـی دارای تراژن *BnFUL* نیز هستند در حالی‌که گیاهان شاهد تنها دارای ژن *BnFUL* داخلی هستند. این آزمون اولـین گـام در اثبـات حضـور تراژن در گیاهان تراریخته است.

نتایج آزمون لکه‌گذاری‌سادرن نشان داد که گیاهان تراریخته‌ی رقم Okapi دارای حداقل سه نسخه از تراژن، گیاهان تراریخته از رقـم RGS003 یک نسخه از تراژن و گیاهان تراریخته از رقـم Licord دو نسـخه از تـراژن را دارا هسـتند (شـکل ۳). از آنجـایی‌کـه در پروژه‌های ایجاد گیاهان تراریخته لایـن‌هـای حـاوی تـک نسـخه تراژن مطلوب هستند تا در نسل‌های بعدی از ثبات ژنتیکی بهتری برخوردار باشند این موضوع می‌تواند در ادامه ایـن بررسـی مـورد توجه قرار گیرد.

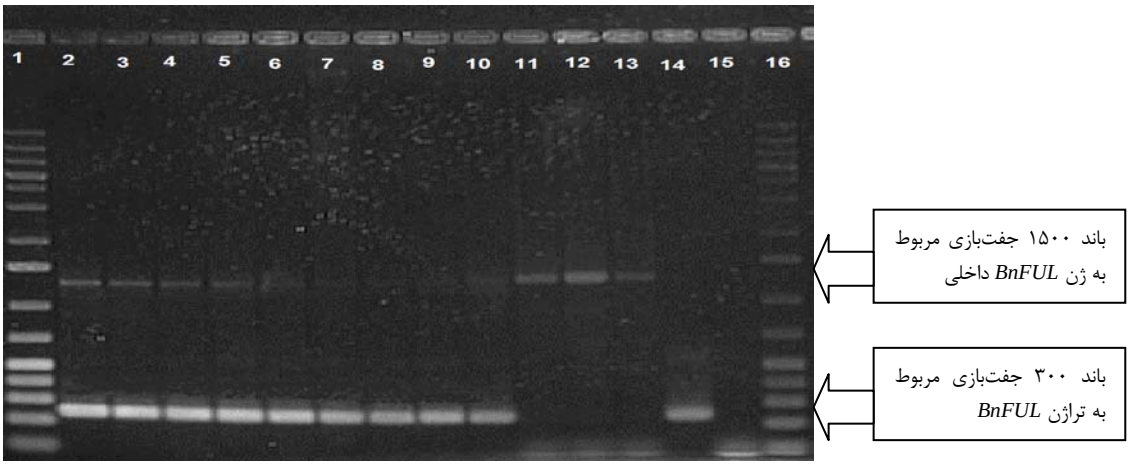
نمودارهـای ذوب آزمـون Real Time-PCR نشـان دادنـد کـه آغازگرهای ژن‌های *BnFUL* و *GAPDH* بـه‌صـورت اختصاصـی عمل کرده‌اند زیراکه در نمودارهای ذوب برای هر ژن یـک نقطـه اوج اختصاصی مشاهده می‌شود و نمودارهای تکثیر نشـان دادنـد که میزان بیان در نمونه های مختلف متفاوت است. بـه‌طـور کلـی نتایج آزمون Real Time-PCR نشان داد کـه بیـان ژن *BnFUL* در گیاهان تراریخته از هر سه رقم نسبت بـه گیاهـان شـاهد افـزایش یافته است. در گیاهان تراریخته رقم Licord بیشترین افزایش بیان مشاهده می‌شود و گیاهان تراریخته رقـم‌هـای Okapi و RGS003 به ترتیب پس از Licord مقام‌های دوم و سوم را دارند (شکل ۹). این نتایج نشان می‌دهد که حضور نسخه‌ی یا نسخه‌های جدیـدی از ژن *BnFUL* در گیاه کلزا باعث افزایش بیان این ژن شـده و بـا توجه به گزارش استرگارد و همکاران در سال ۲۰۰۶ می‌توانـد در کاهش ریزش دانه موثر باشد.

اثر تعداد نسخه تراژن بر سطح بیـان ژن پیچیـده اسـت. هـرچنـد انتظار می‌رود که افزایش تعداد نسخه ژن باعث افزایش بیان شود، اما به تجربه دیده می‌شود که گاهی تعداد نسخه‌هـای زیـاد باعـث هـم‌فرونشـانی[9] و خاموشـی ژن[10] مـی‌شـود (Vaucheret et al., 1998). تعداد نسخه تراژن می‌تواند به‌طور مثبت یا منفی با میـزان بیان تراژن ارتباط داشـته باشـد (Hobbs et al., 1993). در برخـی مـوارد، یـک نسـخه منفـرد از تـراژن مـی‌توانـد خـاموش شـود (Elmayan et al., 1996). به‌طور کلی، فرض می‌شود که انتخـاب گیاهان با تعداد نسخه کمتـر پدیـده هـم‌فرونشـانی ژن را کـاهش خواهد داد (Dai et al., 2001). دایـی و همکـاران در سـال ۲۰۰۱ بیان کردند که گیاهان بـرنج تراریختـه‌ای کـه تعـداد نسـخه‌هـای زیادتری از تراژن را داشـتند سـطح فعالیـت ژن گـاس[11] کمتـری داشـتند و پیشـنهاد کردنـد کـه بیـان کـم ژن ممکـن اسـت بـه خـاطر مکانیسـم خاموشـی ژن باشـد (Dai et al., 2001).

8- housekeeping gene

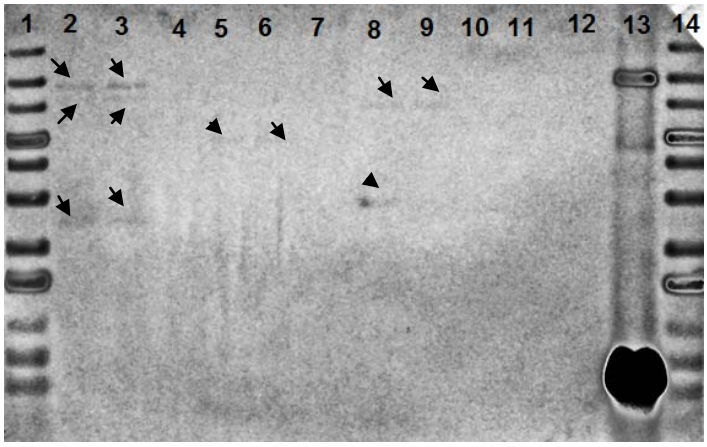
9- co-suppression
10- gene silencing
11- GUS activity

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-02]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1391.1.2.2.1]



شکل ۲- تکثیر ژن *BnFUL* در گیاهان تراریخته و غیرتراریخته با استفاده از آزمون پی.سی.آر
(چاهک‌های ۱ و ۱٦ 1 kb plus ladder ؛ چاهک‌های ۲ تا ۱۰ گیاهان تراریخته ؛ چاهک‌های ۱۱ تا ۱۳ گیاهان شاهد ؛ چاهک ۱٤ پلاسمید و چاهک ۱۵ کنترل منفی با آب)

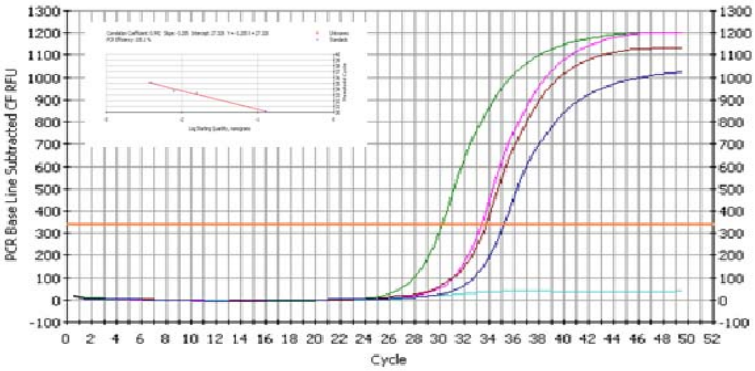
Figure 2- Amplification of *BnFUL* gene in transgenic and nontransgenic plants using PCR.
(wells 1 and 16 1 kb plus ladder; wells 2 to 10 transgenic plants; wells 11 to 13 wild type plants; well 14 plasmid and well 15 negative control of water)



شکل ۳- نتیجه آزمون لکه‌گذاری‌سادرن.
(چاهک‌های ۱ و ۱٤ 1 kb plus ladder؛ چاهک‌های ۲ و ۳ هضم آنزیمی دی.ان.ای گیاه تراریخته از رقم Okapi؛ چاهک ٤ دی.ان.ای گیاه تراریخته از رقم Okapi؛ چاهک‌های ۵ و ٦ هضم آنزیمی دی.ان.ای گیاه تراریخته از رقم RGS003، چاهک ۷ دی.ان.ای گیاه تراریخته از رقم RGS003، چاهک ۸ و ۹ هضم آنزیمی گیاه تراریخته از رقم Licord، چاهک ۱۰ دی.ان.ای گیاه تراریخته از رقم Licord، چاهک ۱۱ هضم آنزیمی گیاه شاهد، چاهک ۱۲ دی.ان.ای گیاه شاهد و چاهک ۱۳ هضم آنزیمی پلاسمید)

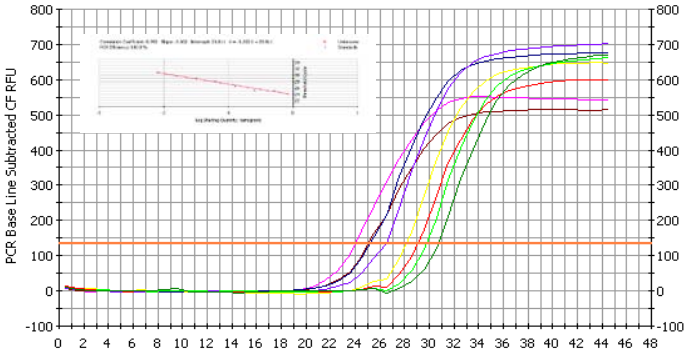
Figure 3- Southern blot analysis results.
(1 and 14 wells: 1 kb plus ladder; 2 and 3: digested DNA from transgenic plants of Okapi cultivar; 4: DNA from transgenic plant of Okapi cultivar; 5 and 6: digested DNA from transgenic plants of RGS003 cultivar; 7: DNA from transgenic plant of RGS003 cultivar; 8 and 9: digested DNA from transgenic plants of Licord cultivar; 10: DNA from transgenic plant of Licord cultivar; 11: digested DNA from ctr. Plant; 12: DNA of ctr. Plant and 13:digested DNA from Plasmid)

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-02]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1391.1.2.2.1]



شکل ٤- نمودار استانداردسازی آزمون realtime-PCR برای ژن *BnFUL*

Figure 4- Standard Curves in realtime_PCR for *BnFUL* gene.



شکل ٥- نمودار استانداردسازی آزمون realtime-PCR برای ژن *GAPDH*

Figure 5- Standard Curves in realtime-PCR for *GAPDH* gene

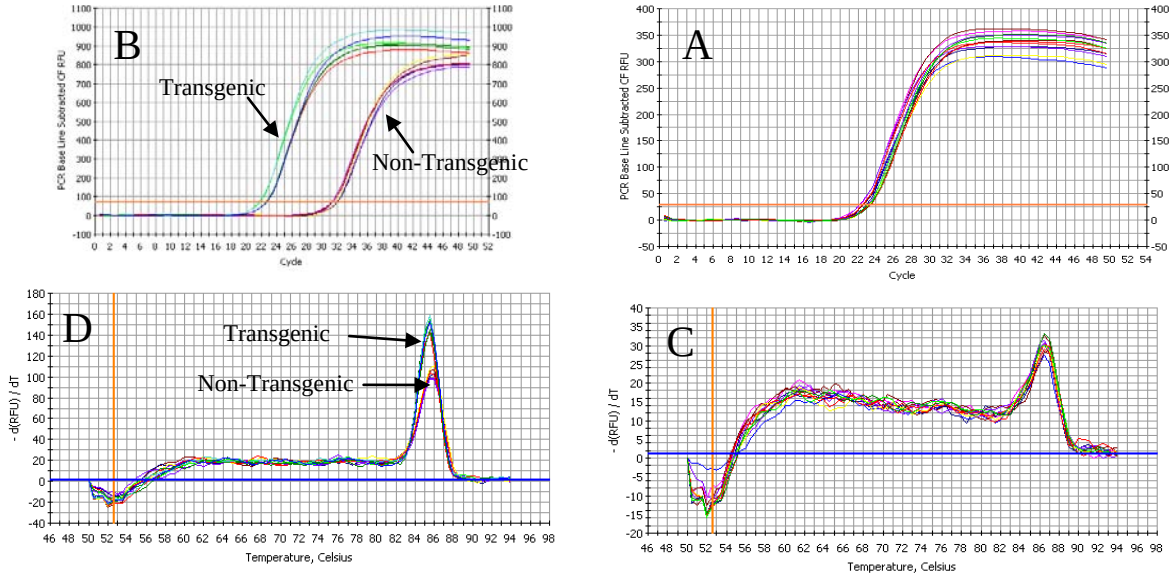
در انتقال‌های مستقل، تراژن در محل‌های متفاوتی در ژنوم گیاه وارد می‌شود. این موضوع باعث می‌شود که سطوح بیان تراژن در انتقال‌های منفرد با تعداد نسخه یکسان از تراژن، متفاوت باشد. در نتیجه، تفاوت‌های کمّی در بیان تراژن به تفاوت اثرهای دی.ان.ای کروموزومی مجاور تراژن نسبت داده می‌شود. این تفاوت‌های کمّی که به محل ورود تراژن در ژنوم بستگی دارند با عنوان اثر محل[12] شناخته می‌شوند (Blundy et al., 1991; Dean et al., 1988; Melynarova et al., 1994; Peach and Veltern, 1991). ساختار کروماتین در اطراف هر محل تراژن[13] متفاوت است و ممکن است باعث تفاوت در دسترسی عوامل رونویسی شود (Dean et al., 1998).

در پژوهش حاضر، با توجه به نتایج آزمون لکه‌گذاری سادرن تعداد نسخه متفاوتی از تراژن در گیاهان تراریخته رقم‌های مختلف مشاهده می‌شود. در گیاهان تراریخته رقم RGS003 تعداد یک نسخه تراژن وارد شده است و در نتایج آزمون Real Time-PCR می‌بینیم که این گیاهان نسبت به گیاهان تراریخته رقم‌های دیگر بیان کمتری دارند. در صورتی‌که بیان ژن را در گیاهان دو رقم دیگر مقایسه کنیم خواهیم دید که گیاهان تراریخته رقم Okapi با تعداد نسخه تراژن بیش‌تر نسبت به گیاهان تراریخته رقم Licord بیان کمتری را دارند. این موضوع به احتمال زیاد با اثر محل ورود تراژن در ژنوم گیاهان تراریخته ارتباط داد.

با توجه به نتایج این پژوهش انتظار می‌رود لاین‌های تراریخته تولید شده قادر باشند در شرایط نامناسب محیطی تحمل بهتری به ریزش نشان دهند. در این زمینه بررسی‌های فنوتیپی برای ارزیابی تحمل آنها به ریزش دانه در شرایط تنش ضروری است.

12- position effect
13- transgene locus

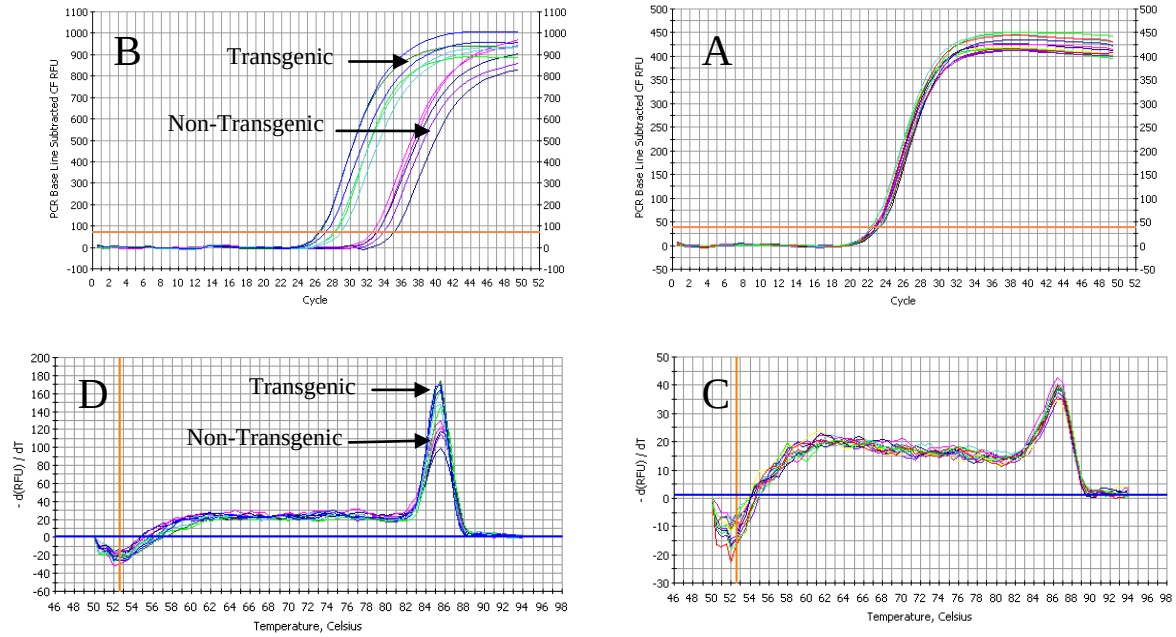
[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-02]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1391.1.2.2.1]



شکل ٦- نمودارهای تکثیر و ذوب مربوط به گیاهان تراریخته و شاهد رقم Licord.

A-نمودار تکثیر ژن *GAPDH*. **B**-نمودار تکثیر ژن *BnFUL*. **C**-نمودار ذوب ژن *GAPDH*. **D**-نمودار ذوب ژن *BnFUL*.

Figure 6- Amplification Curves and Melt Curves of transgenic and non-transgenic plants of Licord cultivar.
A-Amplification Curve of *GAPDH* gene. **B**-Melt Curve of *BnFUL* gene. **C**- Amplification Curve of *GAPDH* gene. **D**-Melt Curve of *BnFUL* gene.

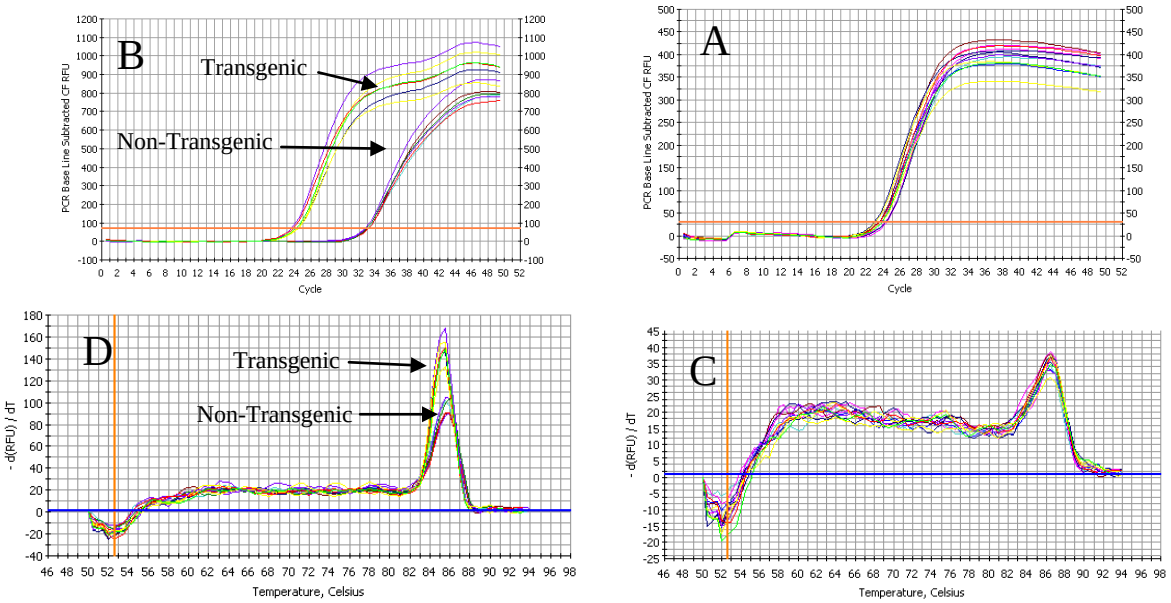


شکل ٧- نمودارهای تکثیر و ذوب مربوط به گیاهان تراریخته و شاهد رقم RGS.

A-نمودار تکثیر ژن *GAPDH*. **B**-نمودار تکثیر ژن *BnFUL*. **C**-نمودار ذوب ژن *GAPDH*. **D**-نمودار ذوب ژن *BnFUL*.

Figure 7- Amplification Curves and Melt Curves of transgenic and non-transgenic plants of RGS cultivar.
A-Amplification Curve of *GAPDH* gene. **B**-Melt Curve of *BnFUL* gene. **C**- Amplification Curve of *GAPDH* gene. **D**-Melt Curve of *BnFUL* gene.

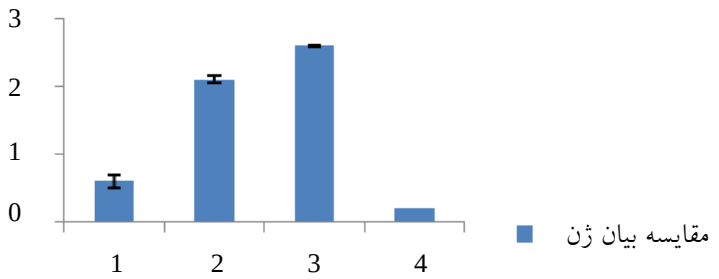
[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-02]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1391.1.2.2.1]



شکل ۸– نمودارهای تکثیر و ذوب مربوط به گیاهان تراریخته و شاهد رقم Okapi.

A–نمودار تکثیر ژن *GAPDH*. **B**–نمودار تکثیر ژن *BnFUL*. **C**–نمودار ذوب ژن *GAPDH*. **D**–نمودار ذوب ژن *BnFUL*.

Figure 8- Amplification Curves and Melt Curves of transgenic and non-transgenic plants of Okapi cultivar.
A-Amplification Curve of *GAPDH* gene. **B**-Melt Curve of *BnFUL* gene. **C**- Amplification Curve of *GAPDH* gene. **D**-Melt Curve of *BnFUL* gene.



شکل ۹– نمودار مقایسه بیان ژن *BnFUL* در گیاهان شاهد و تراریخته

(ستون شماره ۱ مربوط به گیاهان شاهد، ستون شماره ۲ مربوط به گیاهان تراریخته رقم Licord، ستون شماره ۳ مربوط به گیاهان تراریخته رقم RGS003، ستون شماره ٤ مربوط به گیاهان تراریخته رقم Okapi)

Figure 9- Comparing in gene expression for *BnFUL* gene in transgenic and non-transgenic plants.
(The first Colum is related to non-transgenic plants, The second Colum is related to transgenic plants of licord Cultivar, The third Colum is related to transgenic plant of RGS003 cultivar, The forth Colum is related to transgenic plants of Okapi cultivar.)

منابع

1. Asadi S. 2008. Study over-expression of the *FUL* gene in oilseed rape. M Sc. Thesis, University of Zabol.
2. Blundy KS, Blundy MAC, Carter D, Wilson F, and Park WD. 1991. The expression of class I patatin gene fusions in transgenic potato varies with both gene and cultivar. Plant Molecular Biology 16, 153-160.
3. Child RD, and Evans DE. 1989. Improvement of recoverable yields in oilseed rape (*Brassica napus*) with growth retardants. Aspect Applied Biology. 23:135-144.
4. Dinneny JR, and Yanofsky MF. 2005. Drawing lines and borders: how dehiscent fruit of *Arabidopsis* is patterned. BioEssays 27:42-49.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-02]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1391.1.2.2.1]

5. Dai Sh, Zheng P, Marmay Ph, Zhang Sh, Tian W, Chen Sh, Beachy RN, and Fauquet C. 2001. Comparative analysis of transgenic rice plants obtained by *Agrobacterium*- mediated transformation and particle bombardment. Molecular Breeding, 7:25-33.
6. Dean C, Jones J, Favreau M, Dunsmuir P, and Bedbrook J. 1998. Influence of flanking sequences on variability in expression levels of an introduced gene in transgenic tobacco plants. Nucleic Acid Research 16, 9267-9283.
7. Dellaporta SL, Wood J, and Hicks JB. 1983. A plant DNA minipreparation version II. Plant Molecular Biology, 1:19-21.
8. Elmayan T, and Vaucheret H. 1996. Expression of single copies of a strongly expressed 35s transgene can be silenced post-transcriptionally. Plant Journal. 9:787-797.
9. Gu Q, Ferrandiz C, Yanofsky MF and Martienssen R. 1998. The *FRUITFULL* MADS-box gene mediates cell differentiation during *Arabidopsis* fruit development. Development. 125:1509-1517.
10. Hobbs ShLA, Warkentin TD, and DeLong CMO. 1993. Transgene copy number can be positively or negatively associated with transgene expression. Plant Molecular Biology, 21: 17-26.
11. Lijegren SJ, Ditta GS, Eshed Y, Savidge B, Bowman JL, and Yanofsky MF. *SHATTERPROOF* MADS-box genes control seed dispersal in Arabidopsis. 2000. Nature. 404:766-770.
12. MacLeod J, and Ogilvy S. 1982. Harvesting winter oilseed rape. Journal of Scientific Food Agriculture. 33:1265-1266.
13. Mlynarova LA Loonen, Heldens J, Jansen RC, Keizer P, Stiekema WJ, and Nap JP. 1994. Reduced position effect in mature transgenic plants conferred by the chicken lysozume matrix- associated region. Plant Cell, 6:417-426.
14. Ostergaard L, Kempin ShA, Bies D, Klee HJ, and Yanofsky MF. 2006. Pod shatter-resistant *Brassica* fruit produced by ectopic expression of the *FRUITFULL* gene. Biotechnology Journal. 4:45-51.
15. Peach C, and Velten J. 1991. Transgene expression variability position effect of CAT and Gus reporter genes driven by linked divergent T-DNA promoters. Plant Molecular Biology, 17:49-60.
16. Price JS, Hobson RN, Neale MA and Bruce DM. 1996. Seed losses in commercial harvesting of oilseed rape. Journal of Agriculture Engineering Research. 65:183-191.
17. Robles P, and Pelaz S. 2002. Flower and fruit development in *Arabidopsis thaliana*. Int. Dev. Biot. 49:633-643.
18. Seifi AR, Shakib AM. 2005. Construction of a cDNA library and its isolation. Final Reports, Agricultural Research, Education and Training Organization, 84/1469.
19. Shakib AM, Seif, A, Ahmad Raji M, Oroojloo M. 2007. Cloning of BnSHP gene on suitable vector and transferring into oilseed rape. Final Reports, Agricultural Research, Education and Training Organization, 86/1199.
20. Spence J, Vercher Y, Gates P, and Harris N. 1996. Pod shatter in *Arabidopsis thaliana*, *Brassica napus* and *B. juncea*. Journal of Microscopy. 2:195-203.
21. Sambrook J, and Russel D. 2001. Molecular Cloning, A Laboratory Manual. 3rd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press. USA.
22. Vaucheret H, Beclin C, Elmayan T, Feuerbach F, Godon C, Morel JB, Mourrain P, Palauqui JC, and Vernhettes S. 1998. Transgene-induced gene silencing in plants. Plant Journal. 16:651-659.
23. Wang R, Ripley VL and Rakow G. 2007. Pod shatter resistance evalution in cultivars and breeding lines of *Brassica napus*, *B. juncea* and *Sinapis alba*. Plant Breeding. 126:588-595.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-02]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1391.1.2.2.1]