خبرنامه

شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

سال چهارم، شماره ۴۱، فروردین ۱۳۹۴

نوروز ۱۳۹۴

فهرست:

سخنی کوتاه..... صفحه ۳

کمبود گوگرد در کلزا..... صفحه ۵

بیماری های آفتابگردان..... صفحه ۶

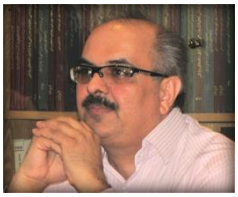
خواص دارویی تخمه و روغن کدو..... صفحه ۸

ابزار تولیدبذر..... صفحه ۹

آفتابگردان غیرروغنی..... صفحه ۱۱

پروتکل استخراج DNA کلزا..... صفحه ۱۳

پیام تسلیت..... صفحه ۱۶



مهندس کامبیز فروزان
مدیر بذر، تحقیقات و آموزش
شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

سخنی کوتاه

عمر مثل برق و باد می‌گذرد. انگار همین دیروز بود که مشغول نوشتن سخنی کوتاه برای خبرنامه فروردین ماه ۱۳۹۳ بودم. اما طبع روزگار همین است و گریزی از آن نیست. برای بنده که علاوه بر مسئولیت در حوزه فعالیت‌های تحقیقاتی دستی هم بر عملیات اجرایی دارم سال ۱۳۹۳ سالی پر از فراز و نشیب بود. شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی در حوزه-های تحقیقاتی به موفقیت‌هایی دست یافت. ارائه یک رقم سویا به نام آرین و ۴ رقم کلزا به اسامی زمان ، موج، مهتاب و فروزان به موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال برای ثبت به نام شرکت اقدامی زیر بنایی بوده که انشا ا... در آینده نه چندان دور، مزایای ناشی از آن، زمینه در آمد قابل ملاحظه‌ای را فراهم خواهد نمود.

راه اندازی تارنمای مجتمع تحقیقات کاربردی و تولید بذر (تکاتو) به عنوان یک منبع علمی معتبر قابل تکیه از دیگر اقداماتی بود که در سایه تلاش همکارانم در حوزه تحقیقات اجرایی و عملیاتی گردید وجود تالار تخصصی دانه‌های روغنی در این تارنما زمینه هم اندیشی همه دست اندرکاران را فراهم نموده و امید داریم که خود بتواند راه‌گشای اهداف کشور در زمینه خودکفایی را فراهم نماید.

از دیگر اقداماتی که در حوزه تحقیقات در سال ۱۳۹۳ به آن دست یافتیم ورود به عرصه ملکولی برای تولید هیبریدهای کلزا بوده است، این عملیات با استخراج DNA ژنومی جهت شناسایی ژن‌های رستورر برای تولید هیبریدهای کلزا آغاز گردیده و امید داریم نتایج این اقدامات در آینده نه چندان دور زمینه خودکفایی نسبی در زمینه بذور هیبرید کلزا را فراهم نماید. بهره‌برداری بهینه از بانک ژن شرکت، زمینه انتخاب ژنوتیپ‌های برجسته‌ای را در نباتات کتان و بادام زمینی فراهم نموده است که چنانچه خداوند متعال زمینه خدمتگزاری را در سال ۱۳۹۴ برای اینجانب و تیم تحقیقاتی شرکت فراهم نماید می تواند نوید بخش حرکتهایی جدید در این عرصه‌ها باشد.

زمینه‌های گوناگونی برای نوشتن وجود دارد و فراز ونشیب‌ها بسیار، ولی حیف که عنوان این مطلب سخنی کوتاه است و من چاره‌ای جز رعایت معنی لغوی آن ندارم.

اما در خاتمه بر خود لازم می دانم از تمامی همکارانم در اقصی نقاط کشور اعم از بازرسین کشت، مسئولین مناطق، روسای نمایندگی‌ها، همکارانم در مجتمع تکاتو، مدیران و کارشناسان ستادی به پاس یکسال تلاش بی وقفه سپاسگزاری و قدردانی نمایم و از صمیم قلب از درگاه ایزدمنان روزگاری خوش، درآمدی قابل تکیه و بدنی سالم را در سال ۱۳۹۴ خورشیدی برای آنها و خانواده شان مسئلت نمایم.

ایام به کامتان، نوروزتان پیروز

مهندس علی زمان میرآبادی
رئیس مجتمع تحقیقات کاربردی و تولید بذر
شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

کمبود گوگرد در کلزا

علائم کمبود گوگرد در شکل و بافت برگی گیاه کلزا بسیار مشهودتر از سایر کمبودها می‌باشد.

در ابتدا رشد برگ‌ها و گیاه بدون هر گونه تغییری در ظاهر کاهش می‌یابد اما با پیرتر شدن گیاه علائم مشخصی نمایان می‌شود. برگ‌های دارای کمبود گوگرد به زرد مایل به سبز تغییر رنگ داده و نسبت به برگ‌های سالم ضخیم‌تر می شوند. حالت دندانه‌ای در لبه‌های برگ به طور مشخص در اثر کمبود این عنصر مشاهده می‌شود.

به تدریج رنگدانه‌های ارغوانی ممکن است در قسمت بالای برگ مشاهده گردد. با گذشت زمان و تشدید شرایط کمبود گوگرد ممکن است رنگدانه‌های ارغوانی با شدت بیشتری در قسمت‌های زیرین برگ مشاهده شود. همچنین با گذشت زمان و تدوام شرایط کمبود گوگرد برای گیاه، بر ضخامت برگ‌ها افزوده و آنها حالت لوله ای به‌خود می گیرند.

گیاهان دارای علائم کمبود گوگرد، نسبت به گیاهان سالمی که کنوپی به حالت ایستاده و عمودی دارند، به صورت افتاده و خوابیده قابل مشاهده هستند.

در شرایط حادتر، رگبرگ میانی هم در قسمت زیرین به بنفش تغییر رنگ می‌دهد.

قسمت دوم

مهندس آیدین حسن زاده
کارشناس مجتمع تحقیقات کاربردی و تولیدبذر
شرکت توسعه کشت دانه های روغنی

بیماری‌های آفتابگردان

بیماری ساق سیاه آفتابگردان

یکی از عوامل خسارت‌زای مهم و خطرناک گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus*) بیماری ساق سیاه (Black stem) است که به وسیله *Phoma macdonaldii* از قارچ‌های پیکنیددار ایجاد می‌شود. شکل جنسی این قارچ *Leptosphaeria lindquistii* از رده آسکومیست‌ها می‌باشد. عامل این بیماری تقریبا در تمام جهان مشاهده شده است. قارچ مذکور دارای گونه‌های متعددی است که روی گیاهان زراعی مهم از جمله کلزا نیز خسارت اقتصادی ایجاد می‌نماید.

علائم بیماری:

عامل این بیماری یک قارچ خاکزاد بوده که به صورت میسلیوم و پیکنید زمستان‌گذرانی می‌کند. معمولا آلودگی از برگ‌ها شروع شده و به ساقه منتقل می‌گردد. پیشروی بیماری در گیاه از برگ‌های پائینی به سمت بالاست. از علائم مشخصه این بیماری ظهور لکه‌های نکروزه (بافت مرده) سیاه رنگ به قطر ۲ تا ۵ سانتی‌متر در اطراف محل اتصال دمبرگ به ساقه می‌باشد (شکل ۱ و ۲) و در محل طوقه، این لکه‌ها دور ساقه را فرا می‌گیرند. در محل اتصال طبق آفتابگردان به ساقه نیز این نکروز گسترش می‌یابد. معمولا نکروز از دمبرگ شروع و به طرف ساقه پیشروی کرده و ساقه را در ارقام حساس فرا می‌گیرد. بلوغ زودرس در آفتابگردان آلوده به فوما، خسارت ۱۰ تا ۳۰ درصدی به دنبال خواهد شد. همچنین کاهش میزان روغن و وزن هزار دانه گیاه در این بیماری گزارش شده است. این قارچ با تولید میسلیوم‌های درون سلولی و برون سلولی خسارات کمی و کیفی فراوانی وارد می‌کند. شرایط رطوبتی طولانی مدت، حشرات ناقل، بقایای آفتابگردان‌های کشت قبل و دوره تناوب کوتاه مدت در گسترش بیماری موثرند. در آفتابگردان‌های آلوده به فوما ممکن است به طور همزمان علائم شانکر ساقه، ناشی از قارچ *Phomopsis helianthi* مشاهده شود (شکل ۳)، به همین دلیل ممکن است علائم این دو بیماری با هم اشتباه گرفته شوند. وجه تمایز علائم این دو بیمارگر در رنگ لکه‌هاست که در ساق سیاه فوما، لکه‌ها سیاه رنگ و متمرکز در ناحیه دمبرگ و در شانکر ساقه فوموپسیز لکه‌ها قهوه‌ای و کشیده روی ساقه هستند.

کنترل بیماری:

دوره تناوب طولانی مدت، مبارزه با حشرات ناقل و دفن بقایای آفتابگردان در کنترل بیماری موثر است. اگر چه استفاده از سموم شیمیایی از روش‌های مبارزه با این بیماری می‌باشد ولی استفاده از ارقام مقاوم مناسب‌ترین راه مقابله با این بیماری است. ژنوتیپ‌های مختلف آفتابگردان در مقابل این بیماری مقاومت‌های نسبی متفاوتی دارند.

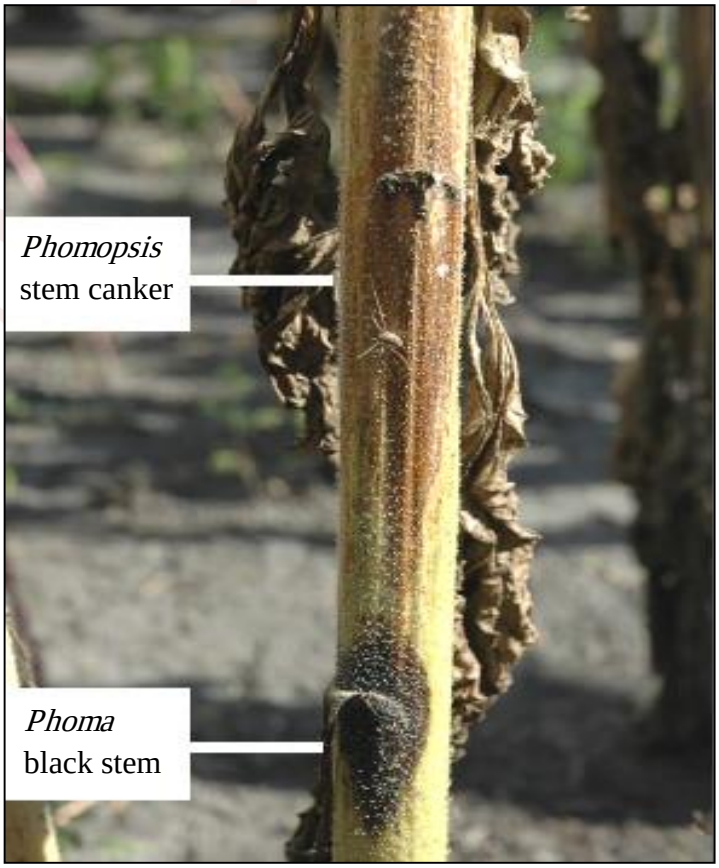
منابع:

Markell, S. 2010. Sunflower disease diagnostic series. North Dakota State University. Pages: 7-8.

Quiroz, F. J., Molina, J. E., & Dosio, G. A. A. (2014). Black stem by Phoma macdonaldii affected ecophysiological components that determine grain yield in sunflower (Helianthus annuus L.). Field Crops Research, 160, 31-40.

شکل۱: لکه نکروز سیاه رنگ در محل اتصال دمبرگ به ساقه

شکل۲: گیاه خشک شده در اثر آلودگی به *Phoma macdonaldii*



شکل۳: علائم قارچ فوما (لکه سیاه پائینی) و قارچ فوموپسیز (لکه قهوه‌ای بالایی) به طور همزمان روی یک ساقه

مهندس رضا پور مهدی علوارلو
کارشناس مجتمع تحقیقات کاربردی و تولیدبذر
شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

خواص دارویی تخمه و روغن کدو

با توجه به اثرات جانبی داروهای شیمیایی، سال‌های اخیر توجه به داروهای گیاهی و طب سنتی اهمیت بیشتری پیدا نموده است، در نقاط مختلف دنیا استفاده از ترکیبات گیاهی بمنظور درمان بیماری‌های بشر رو به رشد می‌باشد. یکی از گیاهانی که از گذشته دور اثرات دارویی آن شناخته شده و اخیرا نیز مورد توجه واقع شده کدو (بویژه تخم و روغن آن) می باشد که در زیر به برخی از خواص مهم آن اشاره می گردد:

۱. پیشگیری و درمان تورم خوش خیم پروستات:

تورم غده پروستات درمردان بالای ۵۰ سال شایع است که در اثر رشد زیاد سلول ها بوجود می آید. از روغن تخم کدو برای ساخت دارو جهت درمان ورم خوش خیم غده پروستات در مراحل اولیه و ثانویه استفاده می گردد که از جمله میتوان به قطره پروستاتان که به صورت تجاری در بازار وجود دارد اشاره کرد.

۲. پیشگیری از ایجاد سنگ کلیه و مثانه:

مصرف تخمه و روغن کدو از طریق پایین آوردن سطح کلسیم و کریستال‌های اُگزالات کلسیم، خطر ابتلاء به سنگ کلیه و مثانه را کاهش می‌دهد.

۳. از بین بردن انگل‌ها:

از تخمه و روغن کدو در طب سنتی خیلی از کشورها به عنوان داروی کرم کش و دفع کننده کرم‌های انگل مانند آسکاریس استفاده شده است.

٤. پیشگیری از سرطان:

تخمه و روغن کدو به دلیل وجود کارتنوئیدها، فیتواسترول‌ها و ویتامین E، باعث افزایش قدرت سیستم ایمنی بدن شده و خطر ابتلا به انواع سرطان‌ها را کاهش می‌دهد.

٥. کاهش دهنده کلسترول:

یکی از ترکیبات مفید موجود در روغن کدو، فیتواسترول‌ها هستند که ساختار شیمیایی مشابه با کلسترول دارند و باعث کاهش میزان کلسترول در خون می‌شوند.

٦. محافظت از استخوان‌ها:

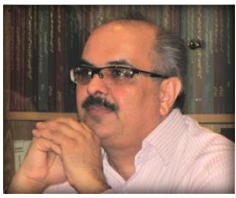
مصرف تخمه کدو و روغن آن با توجه به داشتن عناصر معدنی مختلف از جمله روی و منیزیوم، باعث می‌شود که استخوانها از تراکم مناسب برخوردار بوده و از پوکی استخوان جلوگیری شود.

روغن کدو برای اینکه خواص اصلی خود را حفظ نماید باید از طریق پرس سرد استخراج شود و مصرف خوراکی آن نیز باید به صورت خام و در سالاد یا بعد از پخت غذا در آن استفاده شود.

منابع:

www.healthdiaries.com/
Www.keshavarzi2020.ir/

قسمت چهل و یکم



مهندس کامبیز فروزان
مدیر بذر تحقیقات و آموزش
شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

ابزار تولید بذر

هشت دامی که در مسیر سودآوری یک شرکت بذری وجود دارد و باید از آن پرهیز کرد

۱. هزینه خیلی بالای کالای فروخته شده:

آیا هزینه تولید کالایی که تولید کرده‌اید از قیمتی که آنرا می‌فروشید بالاتر است ؟ اگر این چنین است به طور دقیق عواملی که باعث بالا رفتن هزینه تولید کالای فروخته شده می‌شود را بررسی نمایید عواملی مانند:

مدیریت ضعیف مزرعه و عملیات برداشت

انتخاب سهوی پیمانکاران ضعیف

عملکردهای پایین ناشی از شرایط اقلیمی

از بین رفتن بذور ناشی از انبارداری ضعیف

عدم توجه پیمانکاران به قرارداد تولید

عدم ثبت و آنالیز هزینه‌های تولید

۲. هزینه های بیش از حد توزیع بذور:

آیا مناطق توزیع (فروشندگان محصولات شرکت) بیش از حد پراکنده‌اند که امکان سرویس دهی به آنها نیست

۳. جمع آوری ضعیف مبالغ فروش:

آیا شما کار سخت تولید محصول و تحویل به فروشندگان را خودتان انجام می‌دهید ولی در آمد خود را جمع آوری نمی-کنید. اگر چنین است شما باید توجه کافی به لیاقت و شایستگی فروشندگان خود در جمع آوری وجوهات حاصل از فروش را داشته باشید.

٤. کیفیت پایین محصول:

اگر شما محصول تولیدی خود را زیر شرایط استاندارد به مشتریان خود تحویل دهید فروش شما در سال بعد به طور منفی تحت تاثیر قرار می‌گیرد و اگر کشاورز گزینه‌های دیگری برای تامین بذر خود داشته باشد ممکن است این ضایعه هیچگاه جبران نشود.

۵. تولید محصول نادرست:

اگر شما در زمینه شناسایی تقاضای مشتری خود دچار خطا شوید و محصول نادرستی را تولید کنید شما با ماندگاری بذور

در انتهای فصل فروش مواجه خواهید بود. برای مثال شما بذر سورگوم می فروشید در حالیکه تقاضا برای ذرت بالاتر است. ماندگاری بذور هزینه‌های سنگینی را در زمینه نگهداری و تست مجدد تحمیل می‌نماید و در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری این موضوع حادتر است و در صورت نگهداری بذور برای مدت طولانی در صورت عدم وجود شرایط استاندارد هزینه معدوم کردن را تحمیل می نماید.

٦. قیمتهای مختلف فروش:

بسیاری از فروشندگان تصمیم می گیرند تا با ارائه قیمت‌های مختلف، تجارتی برای خود دست و پا کنند. اگر این افراد شناسایی و کنترل نشوند می‌تواند اثر قابل ملاحظه ای بر روی درآمد و سود شرکت داشته باشند.

۷. کند بودن عملیات فراوری بذر:

اگر فراوری بذر به تاخیر بیافتد و یا با تقاضای کشاورزان، هم خوانی نداشته باشد قطعا فروش را از دست می‌دهید. توجه داشته باشید هزینه توزیع لحظه آخری به مراتب بالاتر از مقادیر مورد نیاز می باشد.

۸. عدم اطلاع از قیمت بازار:

چگونگی قیمت گذاری یکی از سخت‌ترین کارهایی است که یک شرکت بذری باید با آن درگیر شود. تصمیمات قیمت گذاری بر اساس ترکیبی ا ز عوامل، مانند ارزش کالای عرضه شده، ساختار هزینه های شرکت، اهداف مورد نظر در سود آوری و قیمت رقابتی اتخاذ می گردد.

مهندس مهتاب صمدی
کارشناس مجتمع تحقیقات کاربردی و تولید بذر
شرکت توسعه کشت دانه های روغنی

آفتابگردان غیرروغنی

آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) گیاهی گلدار بوده که بذور آن حاوی روغن خوراکی ارزشمند است. این گیاه بومی شمال امریکا است و توسط سرخپوستان آمریکایی به عنوان منبع غذایی پر انرژی استفاده می‌شد. کاشفان اسپانیایی آن را به اروپا برده و کشاورزان روسیه اولین هیبرید زراعی این گیاه را ایجاد کردند و بوسیله مهاجران روسی و آلمانی به آمریکا بازگشت. آفتابگردان در آمریکا به عنوان یک محصول مهم زراعی در دهه ۱۹۵۰ با شروع کشت در داکوتای شمالی و مینه سوتا مطرح شد. دانه‌های آفتابگردان بهترین منبع غذایی از لحاظ ویتامین E و آنتی اکسیدان بوده که برای سلامت انسان بسیار مهم می‌باشد. با توجه به گزارش بانک اطلاعات غذایی USDA، یک اونس از دانه آفتابگردان بو داده ۷۶ درصد از ویتامین E مورد نیاز در رژیم غذایی را فراهم می‌کند.

آفتابگردان دارای دو نوع تیپ رشدی است. تیپ روغنی که دانه کوچک، سیاه و سفید و روغن بسیار بالایی دارد که به صورت روغن آفتابگردان و کنجاله فرآوری می شود. تیپ غیر روغنی (آفتابگردان آجیلی) دارای پوسته ضخیم است. همچنین دانه این تیپ رشدی بزرگتر بوده و روغن و پروتئین پایین دارد. آفتابگردان غیر روغنی به طور طبیعی سیاه با خطوط سفید می‌باشد که به عنوان میان وعده خوشمزه و مغذی مورد استفاده قرار می‌گیرد. دانه آفتابگردان آجیلی به دو صورت دانه در پوسته و مغز دانه به مصرف کنندگان ارائه می‌شود. در واقع تفاوتی بین دانه در پوسته و مغز دانه وجود ندارد. در حالت دانه در پوسته، دانه هنوز دست نخورده و در پوسته باقی مانده است، که به طور معمول بو داده و به عنوان تنقلات مصرف می شود. در ارائه بشکل مغز دانه پوسته دانه آفتابگردان طی مراحل فرآوری بطور مکانیکی حذف می‌شود و در نتیجه مغز دانه در یک شکل مناسب به صورت خام یا بو داده به فروش می‌رسد.

دانه آفتابگردان آجیلی با توجه به مراحل زیر فرآوری می‌شود:

- آماده سازی بذر و تمیز کردن
- درجه بندی دانه با توجه اندازه بزرگ، متوسط و کوچک

• عرضه به بازار بصورت دانه در پوسته

• بسته بندی و فروش دانه بصورت مغز

• ذخیره سازی

صنعت آفتابگردان همچنان به ظرفیت فرآوری مناسب و کافی برای پاسخگویی به خواسته‌های بازارهای داخلی و بین المللی وابسته است. ایالات متحده بالاترین کیفیت محصولات آفتابگردان را در اختیار دارد. چین به طور سنتی مصرف کننده بزرگ دانه‌های آفتابگردان بوده است. در این کشور مردم در تمام سطوح اجتماعی و درآمدی از این محصول استفاده می‌کنند. دلایل اصلی برای محبوبیت دانه آفتابگردان در چین، سنت خوردن و قیمت مقرون به صرفه آن در مقایسه با آجیل های دیگر است. اهداف اصلاحی مرتبط با آفتابگردان غیر روغنی تا حد زیادی به تقاضای بازار وابسته است. فرآوری کنندگان، آفتابگردان آجیلی را بر اساس اندازه به فروش می‌رسانند. بزرگترین اندازه آن بصورت دانه در پوسته به عنوان تنقلات به بازار می آید، که بذر سالم و دست نخورده باقی می‌ماند. دانه متوسط معمولا برای بازار پوست کنی می‌شود. کوچکترین اندازه برای پرنده و حیوان خانگی به بازار می‌آید. البته قابل ذکر است که اندازه دانه در درجه اول تحت تاثیر ژنتیک گیاهی، سپس تراکم کاشت و آب و هوا است. همچنین در بعضی از خاک‌ها آفتابگردان غلظت های اضافی کادمیوم را در مغز دانه ذخیره می‌کند که مشکلی برای آفتابگردان آجیلی می‌باشد. از این جهت از اصلاح برای کاهش جذب کادمیوم به داخل مغز حمایت می شود.

منابع

1. www.soyatech.com

2. www.sunflowernsa.com

3. Miller, J. F., Green, C. E., Li, Y. M. and Chaney, R. L. (2006) Registration of three low cadmium (HA448, HA449, and HA450) confection sunflower genetic stocks. Crop Sci. 46, 489–490.

مهندس مصطفی حق پناه
کارشناس مجتمع تحقیقات کاربردی و تولیدبذر
شرکت توسعه کشت دانه های روغنی

پروتکل استخراج DNA کلزا

روش‌های مختلفی برای استخراج DNA ژنومی از گیاهان وجود دارد و بسته به گیاه و میزان کمیت و کیفیت، DNA مورد نیاز متفاوت است. به طور معمول در گیاه کلزا از دو روش دلاپورتا و همکاران (۱) و روش CTAB (۲) استفاده می‌شود. در این مطلب سعی می‌شود روش بهینه شده CTAB در گیاه کلزا مورد بررسی قرار گیرد.

۱) حدود ۱-۳ گرم از نمونه برگی گیاه کلزا در یک هاون چینی به همراه نیتروژن مایع به خوبی پودر و ۰/۱ گرم از آن به ویال ۲ میلی‌لیتری منتقل شود. بافت گیاهی انتخاب شده باید جوان و شاداب باشد و بعد از نمونه برداری باید بلافاصله فریز شود. هرچقدر نمونه گرفته شده بیشتر در دمای محیط بماند احتمال استخراج DNA با کیفیت و کمیت مطلوب کمتر می‌شود. هنگام پودر کردن بافت باید توجه داشت که بافت پودر شده تیره رنگ نشود و بعد از پودر شدن بهتر است بلافاصله از بافر استخراج استفاده شود.

۲) ۷۰۰ میکرولیتر از بافر استخراج (CTAB) گرم شده(جدول ۱) در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد در حمام بن ماری به همراه ۲۱ میکرولیتر مرکاپتواتانول (به ازای هر ۱۰۰ میکرو لیتر بافر ۳ میکرو لیترمرکاپتو) به هر ویال اضافه و به مدت ۱ دقیقه هر ویال را به آرامی تکان داده شود. نسبت حجم بافت استفاده شده به بافر بسیار مهم است و بهتر است بافر حدود ۷ تا ۱۰ برابر بافت پودر شده باشد.

۳) نمونه‌ها داخل حمام بن ماری با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه قرار گرفتند و هر ۱۵ دقیقه به آرامی تکان داده شود.

۴) به هر ویال استخراج حدود ۶۰۰ میکرولیتر محلول کلروفرم:ایزوآمیل الکل (۲۴:۱) اضافه و بعد از تکان داده ویال‌ها در دستگاه سانتریفوژ با سرعت ۱۳۴۰۰ دور در دقیقه (rpm) به مدت ۵ دقیقه قرار گیرد. و پس از تشکیل ۳ فاز آبی، میانی، آلی، فاز بالایی که فاز آبی می باشد را با استفاده از سمپلر به آرامی برداشته و به ویال‌های جدید منتقل شود.

۵) به منظور جلوگیری از رنگی شدن پلت DNA، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محلول CTAB، ۱۰٪ (حل شده در NaCl ۰/۷ مولار) به هر ویال اضافه گردد و به آرامی تکان داده شود.

۶) مرحله ۴ در اینجا تکرار گردد.

۷) جهت رسوب DNA، هم حجم نمونه ایزو پروپانول سرد به هر ویال اضافه و جهت تشکیل کلاف DNA چندین بار به آرامی وارونه و به مدت ۵ دقیقه در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد یا ۲۰ دقیقه در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد یا ۴۰ دقیقه در یخچال ۴ درجه سانتی گراد قرار داده شود.

۸) برای تشکیل پلت DNA از فاز آبی، نمونه با سرعت rpm ۱۳۴۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ و سپس محلول رویی دور ریخته شود.

۹) جهت شستن نمک‌ها وسایر آلودگی‌ها، پلت DNA با اتانول ۷۰٪ دوبار شستشو گردد. باید توجه داشت هنگام شستن پلت به آن ضربه وارد نشود زیرا DNA به شدت شکننده است و در حین شستشو حتما پلت باید از دیواره ویال جدا شود.

۱۰) جهت حل کردن پلت DNA مقدار ۱۰۰ میکرولیتر محلول TE به هر ویال اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال ۴ درجه قرار داده شود.

تعیین کمیت و کیفیت DNA

کیفیت و کمیت DNA ژنومی استخراج شده، با استفاده از دو روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز روی ژل آگارز۰/۷ درصد مورد بررسی قرار گیرد. برای کیفیت سنجی به روش اسپکتروفتومتری نمونه های DNA پس از رقیق شدن در طول موج ۲۶۰ نانومتر(طول موج جذب اسیدهای نوکلئیک) اندازه‌گیری شود و با فرمول:

ضریب رقت (۵۰) × عکس رقت × مقدار جذب در ۲۶۰ نانومتر = غلظت DNA(نانو گرم در میکرولیتر)

غلظت آنها تعیین گردد.

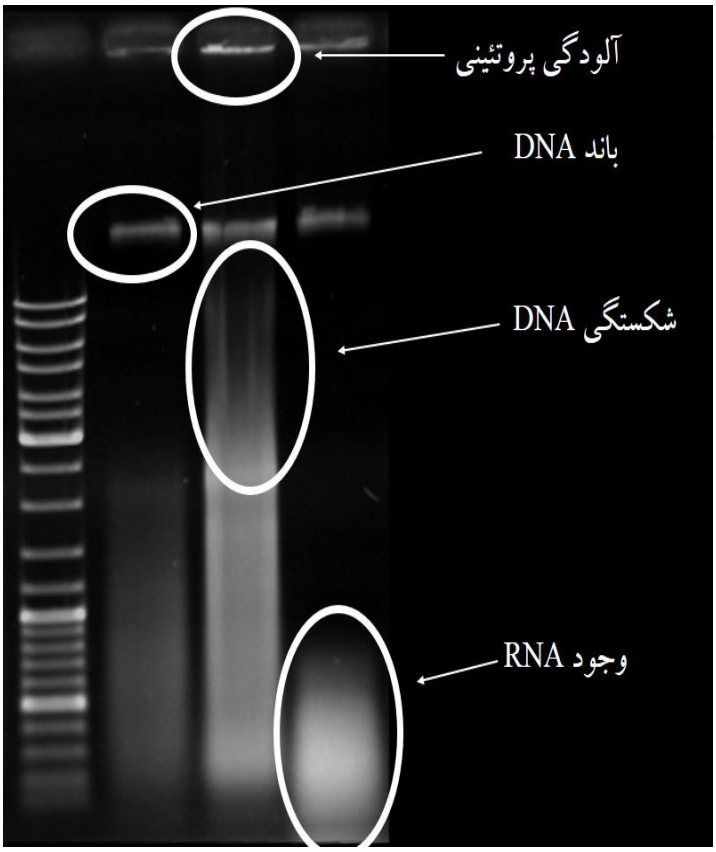
از آنجائیکه هر واحد جذب در طول موج ۲۶۰ نانومتر معادل ۵۰ میکروگرم در میکرولیتر DNA دو رشته‌ای است اگر نسبت مقدار جذب محلول DNA در طول موج ۲۶۰ نانومتر به مقدار جذب در طول موج ۲۸۰ نانو متر در محدوده بیش از ۱/۸ باشد نشان دهنده این است که جذب عمدتا توسط اسیدهای نوکلئیک صورت گرفته و کیفیت DNA حاصله مطلوب بوده و از خلوص لازم بر خوردار است.

با استفاده از الکتروفورز DNA روی ژل آگارز ۰/۷٪ کیفیت باند هر نمونه مشخص شود. برای هر نمونه ۴ میکرولیتر DNA استخراج شده با ۲ میکرولیتر بافر بار گذاری(Loading Dye) مخلوط گردد و در چاهک های ژل آگار در شرایط بافری TBE یا TAE تخلیه گردد. ژل آگارز به مدت یک ساعت با ولتاژ ثابت ۶۵ الکتروفورز گردد. ولتاژ بالاتر می تواند سبب کشیدگی DNA درون ژل شود. پس از رنگ آمیزی باید به نکات زیر توجه شود.

DNA ژنومی استخراج شده باید، تک باندی پر رنگ بوده و هرچه شدت باند بیشتر باشد کمیت DNA استخراجی بیشتر است. وجود موادی قابل مشاهده در چاهک‌ها به دلیل آلودگی پروتئینی است و می‌تواند در مراحل بعدی آزمایشات بازدارنده باشد. اگر این آلودگی بسیار زیاد بود توصیه می‌شود در مرحله ۳ از فنول، کلروفورم، ایزو آمیل الکل با نسبت (۱:۲۴:۲۵)استفاده شود. وجود کشیدگی (smear) در انتهای چاهک دلیل بر وجود RNA می‌باشد که اگر آزمایشات بعدی خیلی حساس نباشد می‌توان وجود آن را نادیده گرفت در هر صورت با استفاده از آنزیم RNase می‌توان آن را حذف کرد. لازم به ذکر است بعد از استفاده از RNase حتما باید مرحله تکرار شود.

جدول ۱. بافر استخراج DNA (۱۰۰ میلی لیتر)

ماده مورد نظر	مقدار مورد نیاز	pH
CTAB	۲ گرم	-
۱ مولار Tris	۱۰ میلی لیتر	pH 8
۰/۵ مولار EDTA	۴۰ میلی لیتر	pH 8
۵ مولار NaCl	۲۸ میلی لیتر	-

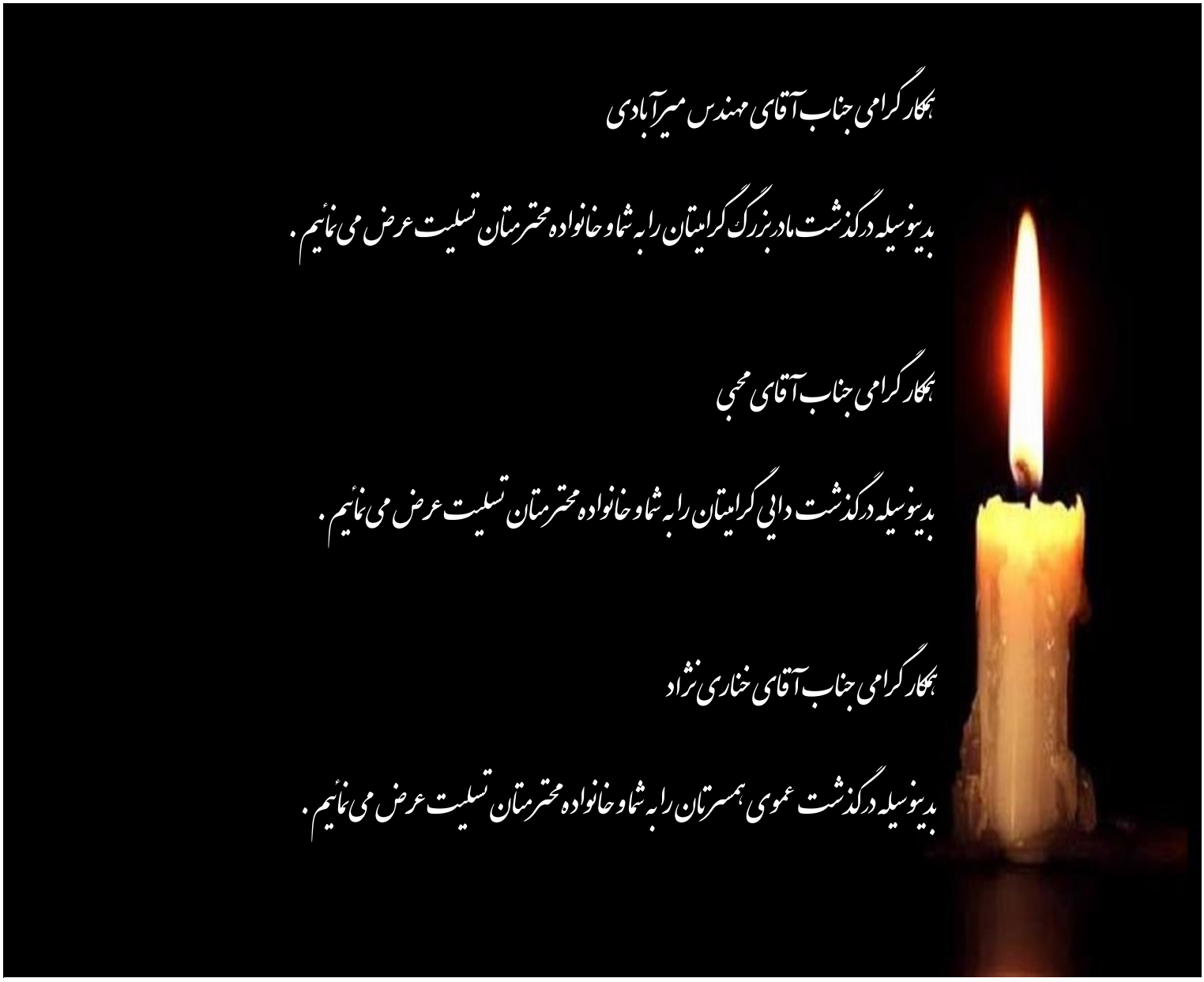


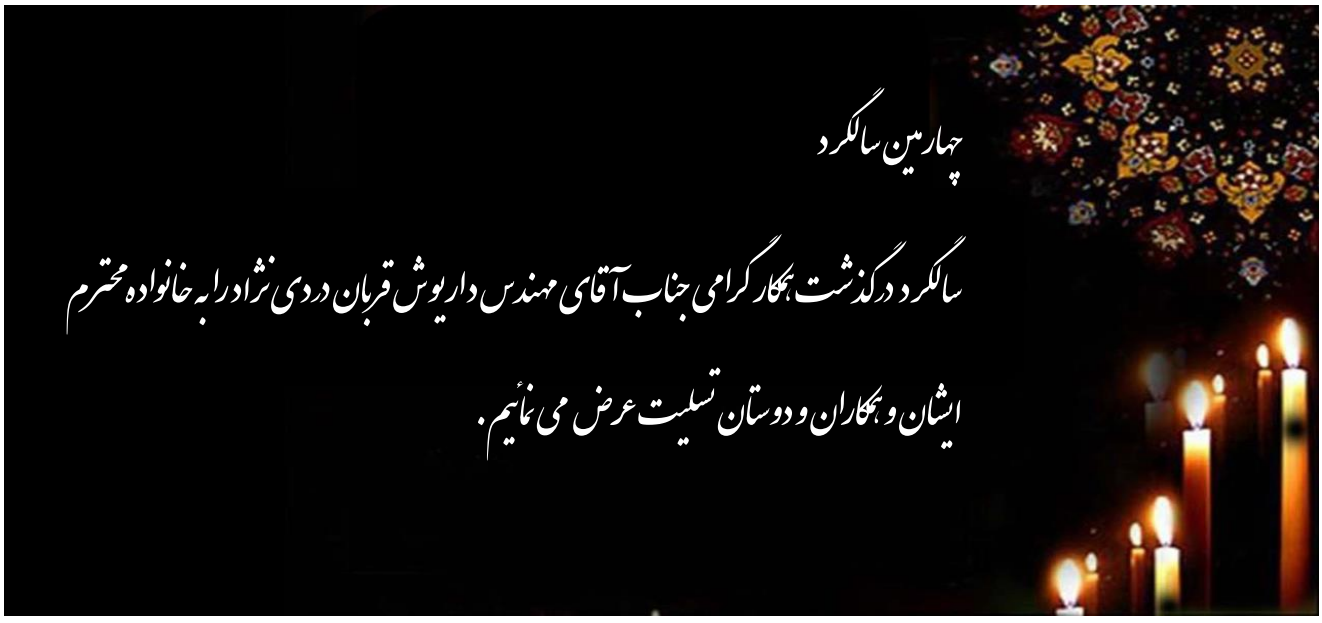
شکل ۱. کیفیت سنجی DNA استخراجی

منابع:

1. Dellaporta, S. L., Wood, J., & Hicks, J. B. (1983). A plant DNA minipreparation: version II. Plant molecular biology reporter, 1(4), 19-21.

2. Doyle J.J. and J.L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem. Bull 19:11–15.


همکار گرامی جناب آقای مهندس میرآبادی
بدینوسیله درگذشت مادر بزرگ گرامیتان را به شما و خانواده محترمتان تسلیت عرض می نمائیم .
همکار گرامی جناب آقای محبی
بدینوسیله درگذشت دایی گرامیتان را به شما و خانواده محترمتان تسلیت عرض می نمائیم .
همکار گرامی جناب آقای خناری نژاد
بدینوسیله درگذشت عموی همسرتان را به شما و خانواده محترمتان تسلیت عرض می نمائیم .


چهارمین سالگرد
سالگرد درگذشت همکار گرامی جناب آقای مهندس داریوش قربان دردی نژاد را به خانواده محترم
ایشان و همکاران و دوستان تسلیت عرض می نمائیم .

ORDC.ir
ARC-ORDC.ir