بولتن ماهانه تحقیقات دانه‌های روغنی

(علمی خبری، کشاورزی - دانه‌های روغنی)

سال ششم شماره ۷۷ فروردین ماه ۱۳۹۷

دیباچه ۱

کامبیز فروزان

برخی فعالیت‌های انجام شده در مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر در سال ۹۶..... ۲

علی‌زمان میرآبادی

اندوفیت‌ها..... ۴

آیدین حسن‌زاده

ارزیابی پروتئین‌ها با روش SDS-PAGE ۷

آیدین حسن‌زاده

بیوتکنولوژی براسیکا..... ۹

مهتاب صمدی

تحلیل مولفه های اصلی..... ۱۱

سجاد طلایی

مدیریت آفات بادام زمینی..... ۱۴

رضاپور مهدی‌علمدارلو

کنترل علف‌های هرز در زراعت سویا..... ۱۵

کامبیز فروزان

جوامع نقشه یابی ۱۷

مصطفی حق‌پناه

هیئت تحریریه این شماره:

مهندس کامبیز فروزان

مهندس علی زمان میرآبادی

مهندس مهتاب صمدی

مهندس آیدین حسن‌زاده

مهندس رضاپور مهدی علمدار لو

مهندس سجاد طلایی

مهندس مصطفی حق پناه

دیباچه

Preface

کامبیز فروزان
Kforoozan@ordc.ir
مدیر بذر، تحقیقات و آموزش - کارشناس ارشد زراعت، شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

در چشم بر هم زدنی سال ۱۳۹۶ نیز گذشت و سال ۱۳۹۷ خورشیدی فرا رسید. سالی پر از کوشش در عرصه‌های مختلف، سالی که در آن شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی تلاش نمود تا در تمامی حوزه‌ها با تکیه بر کادر توانمند و سوابق طولانی مدت خود در عرصه تولید دانه‌های روغنی موفق و کوشا باشد. در سال ۱۳۹۶ در حوزه مدیریت بذر، تحقیقات و آموزش تلاش‌های ارزنده همکارانم، باعث گردید تا شرکت در ایفای تعهدات خود در عرصه‌های تولید بذور کلزا، گلرنگ، سویا موفق و به بهترین نحو این وظایف تبیین شده را اجرایی نماید. برقراری ارتباط با سایر شرکت‌های تولیدکننده بذر نظیر کشت و صنعت شهید رجایی، بنیان کشت و ... زمینه انجام عملیات کارگزاری فروش بذور هیبرید کلزا و آفتابگردان تولید داخل را برای شرکت به ارمغان آورد. در این سال به دنبال سیاست‌های مؤسسات تحقیقات دولتی بر پایه قرارداد منعقده با موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال بذر، امتیاز تولید رقم سویا کتول به عنوان عمده‌ترین رقم بذری سویا به شرکت واگذار گردید که خود فصل نوینی از فعالیت‌های شرکت را از سال ۱۳۹۷ رقم خواهد زد. در عرصه تحقیقات، معرفی دو رقم کتان روغنی برای طی مراحل نهایی ثبت در فهرست ملی ارقام کشور، از دستاوردهای دیگر بوده است. در عرصه آموزش نیز برگزاری کلاس آموزشی به سفارش شرکت مادر تخصصی بازرگانی دولتی ایران برای کارشناسان کنترل کیفی آن شرکت در مرکز پژوهش‌های غلات از دیگر اقدامات انجام‌شده در این حوزه می‌باشد.

بر این باوریم که با نو شدن طبیعت ما نیز باید در تمامی عرصه‌ها در کنار یکدیگر فصل‌های جدیدی از فعالیت‌ها را برای شرکت رقم بزنیم.

بر خود لازم می‌دانم در این نخستین ماهنامه تخصصی منتشر شده در سال ۱۳۹۷ از صمیم قلب برای تمامی همکاران عزیزم و خانواده محترمشان شادکامی، شاد زیوی و سالی پر از برکت از درگاه ایزد منان مسئلت نمایم.

باد نوروزی همی در بوستان بت گر شود
تا ز صنعش هر درختی لعبتی دیگر شود

"در این بهار دل‌انگیز، مزرع سینه‌تان از سبزه‌ی محبت، سبز و خرم باد"

برخی فعالیت‌های انجام شده در مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر در سال ۹۶

علی زمان میرآبادی
Zaman.a@arc-ordc.ir
رئیس مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر، شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

آخرین لحظات سال ۹۵ بود که تلاش‌های ۸ ماهه این مرکز و دفتر مرکزی در فروش ملک قبلی و خرید مرکز جدید به ثمر نشست و فضایی جدید برای فعالیت و البته با نگرانی‌هایی آغاز گردید. زمان به سرعت می‌گذشت و حجم فعالیت‌ها و کارهای مرکز که می‌بایست به نحو احسنت انجام می‌گردید در ذهن همهمه و در دل نگرانی را ایجاد می‌کرد. اما با توکل بر خدا و همراهی دوستان عملیات استقرار در مرکز جدید از ۱۴ فرودین ماه ۹۶ آغاز گردید. حدود ۵ ماه به‌طور مستمر این فعالیت‌ها به طول انجامید که به‌طور خلاصه به بخشی از آن‌ها اشاره می‌گردد. ایجاد و بهینه نمودن سیستم‌های روشنایی، نصب سیستم و دوربین‌های مداربسته، مجموعه فعالیت‌های ساختمانی (ایجاد ساختارهای جدید، ترمیم بناهای موجود و یا تخریب برخی از آن‌ها در راستای اهداف پیش‌بینی شده، دیوار یا فنس‌کشی و...) ایجاد استانداردهای حداقل و اولیه برای ایجاد آزمایشگاه‌های مجهز و تفکیک شده (گیاه‌پزشکی، مولکولی، به نژادی و به زراعی) و البته با مقیاس و سطحی بزرگ‌تر، ایجاد بانک بذری به‌مراتب بزرگ‌تر از نظر مساحت و با امکانات بیشتر از گذشته، ایجاد بخش‌های جدید در قالب بیومتری، کتابخانه، بانک میکروارگانیسم‌ها و هرباریوم، اختصاص سوله‌های موجود برای فعالیت‌های زراعی مرکز، آماده‌سازی و تسطیح زمین زراعی موجود، ایجاد کابینت‌ها و سکوهای آزمایشگاهی برای بخش‌های مختلف، محوطه‌سازی، رسیدگی به باغ (تقویت و کاشت درختان)، ایجاد بخش آموزشی در قالب ساخت یک سالن همایش و دهها و بلکه صدها فعالیت دیگر که مجموعاً در اسناد این مرکز مشتمل و بالغ بر بیش از ۱۰۰۰ فعالیت بوده، علی‌رغم کاستی‌ها از نظر تأمین به موقع منابع، عدم در اختیار داشتن نیروی کافی، همپوشانی فعالیت‌های اجرایی با طرح‌های تحقیقاتی جاری و... خوشبختانه در حد توان انجام گردید و نهایتاً در قالب افتتاحیه این مرکز در تاریخ ۹۶/۶/۸ به‌طور رسمی این مرکز فعالیت‌های خود را آغاز به کار نمود. اگرچه برخی فعالیت‌های دیگر به‌گونه‌ای بوده که حتی دو تا سه ماه بعد از پایان مراسم به اتمام رساندن آن‌ها به طول انجامید.

این جابجایی و مشکلات بودجه‌ای باعث گردید برخی از طرح‌ها به آن گونه‌ای که در برنامه بوده محقق نشود و برخی کنسل گردیدند. نیمه دوم سال ۹۶ برخی مشکلات مالی و اداری و تغییرات مدیریتی نیز باعث شد علی‌رغم برنامه‌ریزی کارها باز مجدداً سرعت فعالیت‌ها آنچنان که باید محقق نشود ولی تا حد توان و بیش از انتظارات مجموعه سعی گردید مدیریت فعالیت‌ها و کارهای در پیش رو با برنامه‌ریزی و سرعت و تلاش بیشتر محقق گردد.

ارسال درخواست ثبت دو رقم کتان که از سال ۸۹-۸۸ عملیات کاشت و مدیریت آن انجام شده بود، کاشت قریب به ۱۷۰ ژنوتیپ آفتابگردان برای اولین بار در مجموعه و ادامه سایر طرح‌های تحقیقاتی (پیشبرد نسل‌های در حال تفکیک سویا، بادام‌زمینی، کنجد، کتان و کلزا)، ارتقا سرعت و سطح مطالب علمی سایت علمی تخصصی تکاتو، بازنشر ۱۲ شماره از خبرنامه، به همراه برخی تغییرات در فرمت و انتشار مطالب علمی آن در ماه‌های اخیر، اقدام به تهیه کتابچه

کلکسیون بانک بذر سویا، شرکت در ده‌ها همایش، کارگاه و کنفرانس علمی، پذیرش چاپ ۲ مقاله علمی در خصوص گلرنگ و کنترل بیولوژیک، شروع همکاری بین‌المللی با برخی دانشگاه‌های معتبر در خصوص برخی طرح‌های منطقه‌ای و ملی، شروع برخی فعالیت‌های درآمدزایی در ماه‌های اخیر (که جزئیات بیشتر آن در سال آتی اطلاع‌رسانی خواهد شد)، تهیه برنامه جامع و بودجه‌بندی ۵ ساله مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر، عقد تفاهم‌نامه همکاری با دانشگاه علوم کشاورزی مازندران و پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری طبرستان در اجرای طرح‌های کاربردی در حوزه دانه‌های روغنی،کسب موفقیت‌های اولیه در شناسایی منابع رستورر، به ثمر نشستن اولین محصول تولیدی سویا رقم آرین برای عرضه و توزیع در سال ۹۷، برنامه‌ریزی برای تکثیر ارقام مهتاب و زمان و تشکیل مزارع اولیه و تکثیری دو رقم کتان در دست معرفی، توسعه میکروارگانیسم‌های موجود در بانک میکروارگانیسم‌ها و ده‌ها مورد دیگر خلاصه‌ای از مجموعه فعالیت‌های انجام شده مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر در سال ۹۶ بوده است.

برنامه‌های سال ۹۷ این مرکز شامل پیگیری بودجه عملیاتی در سال مذکور، ارزیابی لاین‌های جدید سویا در مناطق مختلف، تکثیر مجدد ارقام معرفی‌شده مرکز (سویا آرین و ارقام مهتاب و زمان کلزا)، پیگیری بررسی مجدد مواد بیولوژیک موجود، ارتقا سطح همکاری‌های داخلی و بین‌المللی در سطح تحقیقات مشترک در راستای استراتژی موجود، ورود و ادامه برخی فعالیت‌های درآمدزایی جدید، ارزیابی لاین‌های جدید کلزای بهاره و پاییزه، پیشبرد نتاج در حال تفکیک سویا، کلزا، بادام‌زمینی، کنجد و کتان، پیگیری ثبت دو رقم کتان و تشکیل مزارع بذری آن، تکمیل بانک میکروارگانیسم‌ها و تهیه شناسنامه مولکولی برای بخشی از آن‌ها در حد امکانات موجود، ادامه انتشار ماهنامه تحقیقات دانه‌های روغنی، تهیه مقالات علمی معتبر از یافته‌های مرکز، توسعه سطح همکاری‌های با سایر مؤسسات و سازمان‌های خصوصی و دولتی و ... از جمله برنامه‌های اصلی این مرکز می‌باشد.

انتظار می‌رود با تلاش و پیگیری تمام دوستان در مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر، دفتر ستادی و سایر نمایندگی‌ها سال ۹۷ به مراتب بتوانیم بهتر در صحنه عمل حضور داشته باشیم و به برداشت نتایج فعالیت‌های گذشته در سال ۹۷ و پیشبرد اهداف مد نظر در دست اقدام در راستای برنامه ۵ ساله همت گماریم.

اندوفیت‌ها (قسمت دوم: کلنیزاسیون بافت‌ها توسط اندوفیت‌ها)

Endophytes (Part 2: Colonisation of tissues with Endophytes)

آیدین حسن‌زاده

Hasanzadeh.i@arc-ordc.ir

کارشناس ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر، شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

باوجود این واقعیت که باکتری‌ها پروکاریوت و قارچ‌ها یوکاریوت هستند اما هر دو میکروارگانیسم به روش‌های مختلف اجتماعاتی را با گیاهان میزبان از جمله کلنیزاسیون بافت‌های ریشه به‌صورت درون سلولی و بین سلولی و اغلب سیستمیک تشکیل می‌دهند (جدول ۱)، اما روش‌های کلنیزاسیون آن‌ها با هم تا حدودی متفاوت است. باکتری‌ها در مرحله اول به‌صورت درون سلولی، بافت میزبان را کلنیزه می‌کنند (Hinton and Bacon, 1995; Hallmann *et al*., 1997)، هر چند بعضی از آن‌ها مانند *Azoarcus* sp. به‌صورت بین‌سلولی نیز یافت شده‌اند (Hurek *et al*., 1994). اغلب باکتری‌ها، در بافت‌های آوندی گیاه میزبان یافت می‌شوند (Kobayashi and Palumbo, 2000)، که به پخش شدن آن‌ها در میزبان کمک می‌کند در حالی که قارچ‌ها به‌صورت درون سلولی و بدون ایجاد علائم، تمام ریشه گیاه میزبان را کلنیزه می‌کنند، اگرچه در مواردی کلنی اندوفیت‌های دیواره سیاه (Dark Septate Endophytes) در تعاملات با میزبان، بدون آنکه علائمی داشته باشند، از بافت آوندی جداسازی شده‌اند (Barrow, 2003)، که چنین کلنیزاسیونی اغلب با بیماری‌زایی همراه است (Bacon and Hinton, 1996; Schulz and Boyle, 2005). اجتماعات قارچی متنوعی ریشه گیاهان را کلنیزه می‌کنند (Vandenkoornhuyse *et al*., 2002). رشد درون‌رست قارچ‌ها در داخل ریشه‌ها به نسبت رشد آنها در اندام‌های هوایی گیاه، بیشتر است (Stone *et al*., 2000; Schulz and Boyle, 2005).

جدول ۱. ویژگی‌های تعاملات اندوفیت‌های باکتریایی در مقابل اندوفیت‌های قارچی با ریشه‌های گیاهی

ویژگی	باکتری‌ها	قارچ‌ها
طیف میزبان	گسترده، بر اساس زیستگاه، میزبان، فصل	گسترده، بر اساس زیستگاه، میزبان، فصل
حالت و محل عفونت	غیرفعال: از طریق زخم‌ها و دیگر بافت‌های باز و یا فعال با آنزیم‌ها و یا ناقلین مانند حشرات	فعال: از طریق روزنه، دیواره سلولی و یا زخم‌ها
منبع تغذیه در اولین مرحله عفونت	تراوشات میزبان، سلول‌های مرده پوست، بقایای گیاهی	مواد ذخیره شده در هاگ‌ها، سلول‌های مرده پوست، بقایای گیاهی، تراوشات میزبان
منبع تغذیه در کلنیزاسیون	ترکیبات سیم‌پلاست و آپوپلاست	ترکیبات سیم‌پلاست و آپوپلاست
رشد در داخل ریشه	ـ یا بین سلولی، رشد کند، پرگنه‌های کوچک	درون و یا بین سلولی، اغلب پرگنه‌های گسترده

رشد از ریشه به داخل ساقه	بله	گاهی اوقات
رشد سیستماتیک در داخل ریشه‌ها	امکان‌پذیر می‌باشد	امکان‌پذیر می‌باشد
بافت کلنیزه شده	درون سلولی، بافت آوندی	معمولاً در بافت آوندی حضور ندارند
ساختارهای ویژه برای دستیابی به غذا	گره و غده	گاهی اوقات
وضعیت فیزیولوژیکی	اطلاعات کمی وجود دارد	آنتاگونیسم متعادل، تعامل فعال
نتیجه تعامل	هم‌سفرگی، همیاری و یا بیماری‌زایی نهفته	هم‌سفرگی، همیاری و یا بیماری‌زایی نهفته
مزایا برای همزیست میکروبی	یک منبع غذایی مطمئن، محفاظت در برابر تنش‌های محیطی، انتقال غیرفعال و گسترش بین میزبان‌ها از طریق ناقلین، مانند حشرات	یک منبع غذایی مطمئن، محفاظت در برابر تنش‌های محیطی، همچنین دارای مزایایی برای تولیدمثل و کلنیزاسیون در پیری میزبان
مزایای بالقوه برای همزیست گیاهی	افزایش مقاومت، بهبود رشد (تثبیت ازت، هورمون‌های گیاهی) سنتز متابولیت‌های آنتاگونیستی علیه بیمارگرها و انگل‌های گیاهی	افزایش مقاومت، بهبود رشد (هورمون‌های گیاهی، بهبود دسترسی به مواد معدنی و غذایی)، سنتز متابولیت‌های آنتاگونیستی برای شکارگرها و آنتاگونیست‌ها
تولیدمثل	معمولاً از طریق انتقال غیرفعال و گسترش بین میزبان‌ها به وسیله ناقلین مانند حشرات، همچنین به شیوه انتقال فعال مانند سودوموناداها (Pseudomonads)	بصورت فعال و غیرفعال با توجه به مرحله رشدی میزبان، گاهی با ناقلین

کلنیزاسیون ریشه می‌تواند به هر دو شکل بین سلولی و درون سلولی باشد و ریسه‌ها اغلب مارپیچ‌های بین سلولی تشکیل می‌دهند، مانند اندوفیت‌های دیواره سیاه (Jumpponen and Trappe, 1998; Stone *et al*., 2000; Sieber, 2002)، قارچ‌های بازیدیومیست *Piriformospora indica* (Varma *et al*., 2000)، *Oidiodendron maius* و *Heteroconium chaetospira* (Usuki and Narisawa, 2005). اندوفیت‌های دیواره سیاه ممکن است ساختارهایی مشابه با اکتو-اندومیکوریز (Lubuglio and Wilcox, 1988) و شبه اکتومیکوریز تشکیل دهند (Wilcox and Wang, 1987; Fernando and Currah, 1996; Kaldorf *et al*., 2004). ریشه بسیاری از ارکیدها به‌صورت سیستمیک به‌وسیله قارچ‌هایی مانند *Rhizoctonia* sp. (Ma *et al*., 2003) و *Leptodontidium* sp. (Bidartondo *et al*., 2004) کنیزه شده‌اند. در مورد *Fusarium verticillioides* (*F. moniliforme*)، کلنیزاسیون نژاد غیربیماری‌زا به‌صورت سیستمیک و درون‌سلولی انجام می‌شود در حالی‌که نژادهای بیماری‌زا به‌صورت بین‌سلولی توسعه

می‌یابند (Bacon and Hinton, 1996). برخی بیمارگرهای نهفته مانند *Cryptosporiopsis* sp. ممکن است در دستجات آوندی نفوذ کنند (Kehr, 1992; Verkley, 1999) (Schulz and Boyle, 2005). باکتری‌های اندوفیت معمولاً به‌صورت غیرفعال و از محل زخم‌های روی ریشه و یا محل خروج ریشه‌های جانبی به ریشه حمله نموده (Kobayashi and Palumbo, 2000) و به‌صورت سیستمیک کلنیزه می‌کنند (Hallmann *et al*., 1997). اگرچه تراکم جمعیت باکتری‌های اندوفیت غیربیماری‌زا به اندازه جمعیت باکتری‌های بیمارگر است ولی تراکم باکتری‌های اندوفیت غیربیمارگر در ریشه بالاتر است که ممکن است به این دلیل باشد که ریشه نخستین، محل ورود و عفونت آن‌ها می‌باشد (Kobayashi and Palumbo, 2000; Hallmann *et al*., 1997).

منابع

Bacon C.W. and Hinton N.S. (1996) Symptomless endophytic colonisation of maize by *Fusarium moniliforme*. Can J Bot 74:1195-1202.

Barrow J.R. (2003) A typical morphology of dark septate fungal root endophytes of *Bouteloua* in arid southwestern USA rangelands. Mycorrhiza 13:239-247.

Bidartondo M.L., Burghardt B., Gebauer G., Bruns T.D. and Read D.J. (2004) Changing partners in the dark: isotopic and molecular evidence of ectomycorrhizal liaisons between forest orchid sand trees. Proc R Soc London B 271:1799-1806.

Fernando A.A. and Currah R.S. (1996) A comparative study of the effects of the root endophytes *Leptodontidium* and *Phialocephala fortinii* (Fungi imperfecti) on the growth of some subalpine plants in culture. Can J Bot 74:1071-1078.

Hallmann J., Quadt-Hallmann A., Mahaffee W.F. and Kloepper J.W. (1997) Bacterial endophytes in agricultural crops. Can J Microbiol 43:895-914.

Hinton D.M. and Bacon C.W. (1995) *Enterobacter cloacae* is an endophytic symbiont of corn. Mycopathologia 129:117-125.

Hurek T., Reinhold-Hurek B., Van Montagu M. and Kellenberger E. (1994) Root colonization and systemic spreading of *Azoarcus* sp. Strain BH72 in grasses. J Bacteriol 176:1913-1923.

Jumpponen A. and Trappe J.M. (1998) Performance of *Pinus contorta* inoculated with two strains of root endophytic fungus, *Phialocephala fortinii*: effects of synthesis system and glucose concentration. Can J Bot 76:1205-1213.

Kaldorf M., Renker C., Fladung M. and Buscot F. (2004) Characterization and spatial distribution of ectomycorrhizas colonizing aspen clones released in an experimental field. Mycorrhiza 14:295-306.

Kehr R.D. (1992) Pezicula canker of *Quercus rubra* L, caused by *Pezicula cinnamomea* (DC) Sacc II Morphology and biology of the causal agent. Eur J For Pathol 22:29-40.

Kobayashi D.Y. and Palumbo, J.D. (2000) Bacterial endophytes and their effects on plants and uses in agriculture. In: Bacon C.W., White J.F. (eds) Microbial endophytes. Dekker, New York, pp199-236.

Lubuglio K.F. and Wilcox H.E. (1988) Growth and survival of ectomycorrhizal and ectoendomycorrhizal seedlings of *Pinus resinosa* on iron tailings. Can J Bot 66:55-60.

Ma M., Tan T.K. and Wong S.M. (2003) Identification and molecular phylogeny of *Epulorhiza* isolates from tropical orchids. Mycol Res 107:1041-1049.

Schulz B. and Boyle C. (2005) The endophytic continuum. Mycol Res 109:661-687.

Sieber T.N. (2002) Fungal root endophytes In: Waisel Y, Eshel A, Kafkafi U (eds) The hidden half. Dekker, NewYork, pp 887-917.

Stone J.K., Bacon C.W. and White J.F. (2000) An overview of endophytic microbes: endophytism defined. In: Bacon C.W., White J.F. (eds) Microbial endophytes. Dekker, New York, pp3-30.

Usuki F. and Narisawa K. (2005) Formation of structures resembling ericoid mycorrhizas by the root endophytic fungus *Heteroconium chaetospira* within roots of *Rhododendron obtusum* var. kaempferi. Mycorrhiza 15:61-64.

Vandenkoornhuyse P., Baldauf S.L., Leyval C., Straczek J. and Young J.P.W. (2002) Extensive fungal diversity in plant roots. Science 295:2051.

Verkley G. (1999) A monograph of the genus *Pezicula* and its anamorphs. Stud Mycol 44:5-171.

Wilcox H.E. and Wang C.J.K. (1987) Ectomycorrhizal and ectendomycorrhizal associations of *Phialophora finlandia* with *Pinus resinosa*, *Picea rubens*, and *Betula alleghaniensis*. Can J For Res 17:976-990.

ارزیابی پروتئین‌ها با روش SDS-PAGE

Evaluation of proteins by SDS-PAGE method

آیدین حسن‌زاده

Hasanzadeh.i@arc-ordc.ir

کارشناس ارشد بیماری شناسی گیاهی، مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر، شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

تکنیک SDS-PAGE یک روش کم هزینه، سریع و تکرارپذیر جهت مطالعه اولیه پروتئین‌ها می‌باشد. معمولا از این روش برای بررسی مراحل خالص‌سازی، محاسبه مقدار نسبی و تعیین وزن مولکولی پروتئین‌ها بکار می‌رود. اساس این روش تفکیک پروتئین‌ها بر اساس وزن مولکولی است. در تکنیک SDS-PAGE به دلیل استفاده از سدیم دودسیل سولفات (SDS) و ژل پلی‌اکریل‌آمید، قدرت تفکیک پروتئین‌ها مناسب می‌باشد. شوینده‌ای آنیونی SDS با اتصال به نواحی هیدروفوب پروتئین‌ها، آنها را دناتوره می‌کند. مولکول SDS با اتصال به پروتئین‌ها، بار طبیعی آنها را می‌پوشاند و توزیع یکنواختی از بارهای منفی روی آن ایجاد می‌نماید، در نتیجه، جداسازی پروتئین‌ها تنها بر اساس وزن مولکولی آنها صورت می‌گیرد. جهت خطی نمودن مولکول‌های پروتئینی و از بین بردن باندهای دی‌سولفید، آنها را به مدت پنج دقیقه در محلول SDS و حرارت ۹۵ درجه سلسیوس قرار می‌دهند. در این هنگام با بارگذاری پروتئین‌ها در الکتروفورز، جداسازی آنها تنها بر اساس وزن مولکولی صورت می‌پذیرد.

پروتئین‌ها دارای چهار ساختار متفاوت می‌باشند که واحدهای سازنده همه آنها، اسیدهای آمینه هستند. واحد اندازه‌گیری پروتئین، دالتون می‌باشد.

در روش SDS-PAGE برای ارزیابی پروتئین از الکتروفورز عمودی استفاده می‌گردد. اساس الکتروفورز، ایجاد میدان الکتریکی است.

از انواع ژل مورد استفاده در مطالعات زیست‌شناسی مولکولی می‌توان به نشاسته، آگارز و پلی‌اکریل‌آمید اشاره نمود که در روش SDS-PAGE از ژل پلی‌اکریل‌آمید استفاده می‌شود.

ژل پلی‌اکریل‌آمید از دو جز اصلی شامل اکریل (C_3H_5NO) و بیس اکریل ($C_7H_{10}N_2O_2$) تشکیل شده است. پلی‌اکریل‌آمید به دو روش Native-PAGE و Denatured-PAGE ساخته می‌شود. در روش Native-PAGE از SDS در هیچ‌یک از مراحل استفاده نمی‌شود و ساختار دوم پروتئین حفظ می‌گردد ولی در Denatured-PAGE از SDS در تهیه بافر و ژل استفاده شده و در نتیجه ساختار دوم پروتئین توسط SDS شکسته می‌شود.

روش Denatured-PAGE همان روش SDS-PAGE است. در این روش با افزودن SDS و گرما دادن، پروتئین‌ها ساختارهای دوم و سوم خود را از دست داده و به‌صورت خطی درمی‌آیند و بدین ترتیب بر

اساس وزن و اندازه از هم جدا می‌شوند. پروتئین در این حالت دارای بار منفی شده و در نتیجه در فرآیند الکتروفورز به سمت قطب مثبت بسته به اندازه و وزن مولکولی در درون ژل حرکت کرده و از یکدیگر تفکیک می‌شوند.

در روش SDS-PAGE، ژل اکریل‌آمید از دو بخش ژل بالا (Stacking gel) و ژل پائین (Seprating gel) تشکیل می‌شود (شکل ۱). غلظت اکریل‌آمید این دو ژل متفاوت بوده و در ژل پائین غلیظ‌تر است، بنابراین در ژل بالا که غلظت آن کم است (معمولا ۵ درصد)، پروتئین‌ها فقط به شکل خطی درآمده و مرتب می‌شوند تا در ژل پائین با غلظت بیشتر از هم تفکیک شوند. درصد ژل بالا و پائین متغیر بوده و به اندازه پروتئین موردنظر بستگی دارد، هر مقدار وزن مولکولی پروتئین مورد بررسی بزرگ‌تر باشد می‌بایست ژل با درصد کمتر تهیه شود.

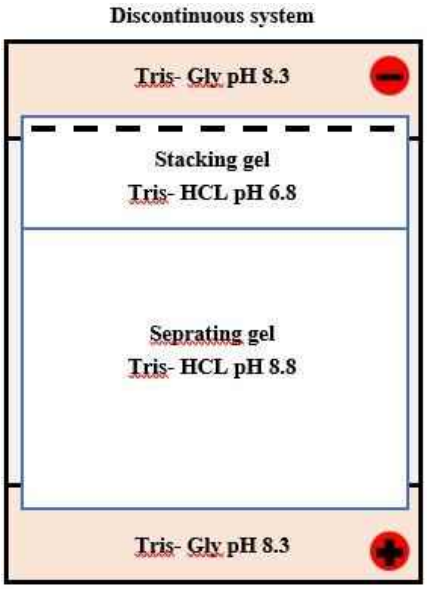
جدول ۱. مواد و مقادیر مورد نیاز برای تهیه کوماسی‌بلو

ماده	مقدار
متانول	۴۰۰ میلی‌لیتر
کوماسی‌بلو	۱ گرم
اسید استیک	۱۰۰ میلی‌لیتر
آب مقطر	۵۰۰ میلی‌لیتر

اجزای تشکیل‌دهنده ژل اکریل‌آمید شامل آب‌مقطر (که خلوص آن بسیار مهم است)، مخلوط اکریل و بیس‌اکریل، تریس ۱/۵ مولار (Tris, pH 8.8)، SDS ۱۰ درصد، آمونیوم پرسولفات (APS) ۱۰ درصد و TEMED می‌باشد. در تهیه ژل باید توجه نمود که APS و TEMED باید در آخرین مرحله به سایر مواد اضافه شوند، زیرا به سرعت سبب پلیمره (سفت) شدن ژل خواهند شد.

برای خروج گازها و جلوگیری از تشکیل حباب در ژل، می‌بایست از پمپ خلا استفاده نمود.

در ساخت ژل ابتدا باید ژل پائین تهیه و به کاست منتقل گردد. برای یکنواخت شدن سطح ژل و کاهش تماس آن با هوا، روی ژل می‌توان مقدار کمی ایزوپروپانول افزود و پس از پلیمره شدن ژل، آن را تخلیه نمود. سپس ژل بالا تهیه شده و به داخل کاست و روی ژل پائین افزوده و شانه در محل خود جایگذاری می‌شود. پس از تهیه ژل پلی‌اکریل‌آمید و بافر و خارج کردن شانه از روی ژل، کاست حاوی ژل به داخل تانک منتقل و بافر به داخل تانک افزوده می‌گردد. در این مرحله نمونه‌های پروتئین بارگذاری می‌شوند. ولتاژ دستگاه الکتروفورز برای ژل بالا در حدود ۵۰ ولت با شدت جریان حدود ۲۰-۱۸ میلی‌آمپر تنظیم می‌شود، زیرا همان‌طور که پیش‌تر گفته شد، در ژل بالا قطعات پروتئین می‌بایست به آرامی به شکل خطی درآیند تا در ژل پائین از هم تفکیک شوند. با رسیدن قطعات پروتئین به ژل پائین (با Dye قابل تشخیص است)، ولتاژ دستگاه را می‌توان تا ۱۲۰-۱۰۰ ولت افزایش داد.

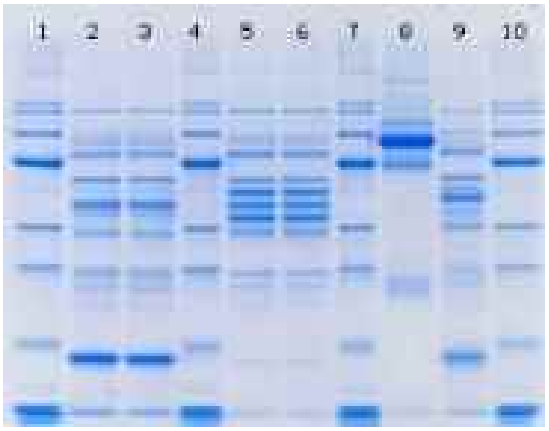


شکل ۱. نمایی از ژل پلی‌اکریل‌آمید

یکی از روش‌های رنگ‌آمیزی ژل استفاده از کوماسی‌بلو (Coomassie blue) است (جدول ۱). پس از اتمام مرحله الکتروفورز، ژل با احتیاط خارج و به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه در محلول کوماسی‌بلو غوطه‌ور می‌گردد. سپس ژل را از محلول کوماسی‌بلو خارج و برای رنگ‌بری، به مدت ۶۰-۴۵ دقیقه در محلول دی‌استین (Diacetin) قرار می‌گیرد (جدول ۲). با پایان این مرحله، ژل آماده ارزیابی و تفسیر نتایج خواهد بود (شکل ۲).

جدول ۲. مواد و مقادیر مورد نیاز برای تهیه دی‌استین

ماده	مقدار
متانول	۲۰۰ میلی‌لیتر
اسید استیک	۱۰۰ میلی‌لیتر
آب مقطر	۷۰۰ میلی‌لیتر



شکل ۲. نمایی از ژل رنگ‌آمیزی شده با کوماسی بلو

منبع

Schägger, H., & Von Jagow, G. (1987). Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. Analytical biochemistry, 166(2), 368-379.

بیوتکنولوژی براسیکا: پیشرفت در بیولوژی سلولی و مولکولی (قسمت دوم)

Brassica Biotechnology: progress in cellular and molecular biology (part 2)

مهتاب صمدی
Samadi.m@arc-ordc.ir
کارشناس ارشد بیوتکنولوژی گیاهی، مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر، شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

امتزاج سلول سوماتیکی (Somatic Cell Fusion)

با امتزاج پروتوپلاستی می‌توان ترکیبات هیبرید یا سیبرید (cybrid) از گونه‌های ناسازگار جنسی ایجاد نمود، بنابراین انتقال ژن از یک گونه خویشاوند به گونه دیگر ناسازگار از نظر جنسی بدون تغییر ژنتیکی تسهیل می‌شود. این فن آوری نه تنها امکان دورگ‌گیری درون جنسی، بلکه تولید هیبریدهای بین جنسی و سیبریدها را فراهم کرده است.

صفات مطلوب مختلفی از والدین به هیبرید و سیبریدها با استفاده از این تکنولوژی منتقل شده است. یکی از موفقیت‌های امتزاج پروتوپلاستی تولید هیبرید مقاوم در برابر بیماری بوده است. هیبریدهای سوماتیکی که به پوسیدگی نرم باکتریایی مقاوم هستند بوسیله امتزاج پروتوپلاست‌های *B . rapa* و *B. oleracea* ایجاد شده است. هیبریدهای مقاوم به عامل ساق سیاه (*Leptosphaeria maculans*) بوسیله امتزاج پروتوپلاست‌های *B. napus* و *Sinapis arvensis*، (خویشاوند وحشی *B. napus*) ایجاد شده‌اند که کاملا بارور بوده‌اند. هیبریدهای بین‌گونه‌ای *B. juncea* و *B. spinescens* نیز بوسیله ترکیب پروتوپلاست‌های مزوفیل به وجود آمدند. هیبریدها ویژگی‌های ریخت شناسی و کروموزومی هر دو والدین را داشتند، اما دارای گرده عقیم بودند.

در بررسی‌های انجام شده، لاین‌های *B. napus* با دوره رشد سریع از طریق امتزاج پروتوپلاست بین دو گونه *B. oleracea* و *B. rapa* ایجاد شده‌اند که بذور آنها دارای ترکیبات اسید چرب جدید بوده است.

دورگ‌گیری سوماتیکی بین دو گونه *B. napus* و *Thlaspi caerulescens* هیبریدی با توانایی تجمع بالا فلزات ایجاد کرده است که سطوح بالای روی را تحمل می‌کند. یا در تحقیقی دیگر هیبریدهای سوماتیکی بین جنسی با استفاده از ترکیب پروتوپلاست مزوفیلی *Trachystoma ballii* و *B. juncea* تولید شده است و هیبریدهای حاصله از نظر ریخت‌شناسی بینابین والدین خود بودند. هرچند با بک‌کراس هیبریدهای دارای گرده عقیم با *B. juncea* بذر سالم به دست آمد. در مطالعات دیگر توانسته‌اند هیبریدهای سوماتیکی بین *B. napus* و *Lesquerella fendleri* توسط امتزاج پروتوپلاست تولید نمایند.

امتزاج پروتوپلاست بین دو گونه *B. oleracea* و *Moricandia nitens*، سبب ایجاد یک سیستم فتوسنتزی بینابینی C3-C4 در گونه وحشی هیبرید بین جنسی شد که بیان کننده صفت تبادل گاز در والدین بوده است. یکی دیگر از کاربردهای مهم امتزاج پروتوپلاست، تولید لاین نر عقیم است.

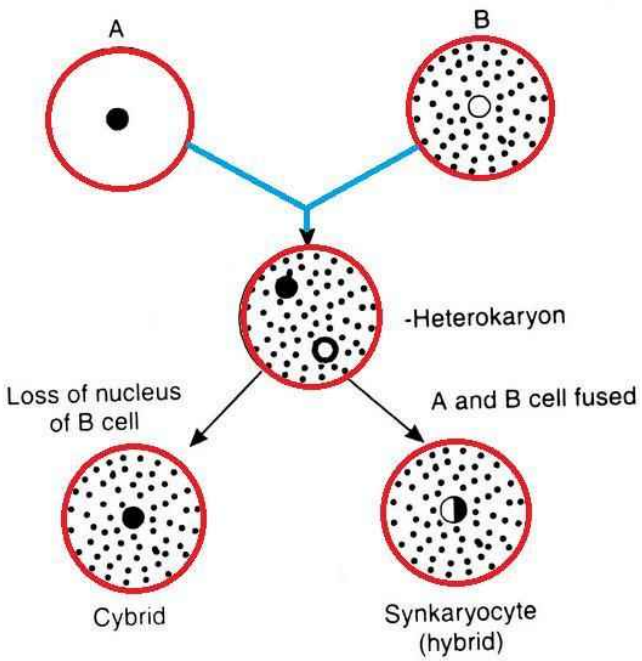
هیبریدهای سوماتیکی نرعقیم مقاوم در برابر سرما، *B. napus*، بوسیله امتزاج اینبرد لاین حساس به سرما و نرعقیم Ogura (*B. oleracea* var. botrytis) و کانولا بارور مقاوم به سرما (*B. rapa* cv. Candle) ایجاد شده است. سیبریدهای نرعقیم نیز توسط ترکیب پروتوپلاست‌های *B. napus* و *B. tournefortii* ایجاد گردیده‌اند.

سیبرید نرعقیمی سیتوپلاسمی از گونه *B. oleracea* بوسیله انتقال سیتوپلاسم عقیم Anand (گونه‌وحشی *B. tournefortii*) از *B. rapa* به *B. oleracea* تولید شده است. نر عقیمی سیتوپلاسمی (CMS) متحمل به سرما کلم (*B. oleracea* spp. Capitate) از طریق ترکیب پروتوپلاست‌های برگ از کلم بارور و بروکلی مقاوم به سرما و نرعقیم Ogura تولید شده است. دیگر کاربرد جالب امتزاج پروتوپلاستی، ترکیب سیستم‌های نرعقیم و بازگرداننده باروری برای تولید هیبریدهای هتروتیک است. این فن آوری در *B. juncea* با استفاده از امتزاج پروتوپلاست با *Moricandia arvensis* با عملکرد بازگرداننده باروری در *B. juncea* بکار گرفته شد. با این حال، این لاین‌های CMS کلروتیک بودند. امتزاج پروتوپلاست نرعقیم *B. juncea* با *B. juncea* نرعقیم سبز منجر به تولید گیاهان نرعقیم سبز شد. امتزاج پروتوپلاست بین *Arabidopsis thaliana* و *B. napus* هیبریدهای نامتقارن ایجاد کرد که سه تا از این هیبریدها نرعقیم بودند. گیاهان نرعقیم نامزدهای مناسب برای مطالعه ژن‌های درگیر در CMS خواهند بود زیرا ژنوم *A. thaliana* توالی یابی شده است و از طرفی عملکرد ژنومی هیبریدهای سوماتیکی گونه‌های *A. thaliana* و *Brassica* spp. شناخته شده است.

تنوع سوماکلونی (Somaclonal Variation)

تنوع ژنتیکی در بهبود محصولات زراعی و ایجاد واریته‌های جدید بسیار مهم است. تنوع سوماکلونال ابزار ارزشمندی در اصلاح گیاهان است که در آن تنوع حاصله در گیاهان باززایی شده کشت بافت از سلول‌های سوماتیکی می‌تواند در ایجاد محصولات با صفات جدید استفاده شود. با استفاده از فشار انتخاب در طول کشت بافت ایجاد سوماکلونی‌های مقاوم در برابر تنش‌های زنده و غیر زنده نیز امکان پذیر شده است. تنوع سوماکلونال همراه با تغییرات در تعداد و ساختار کروموزوم، موتاسیون نقطه‌ای و متیلاسیون DNA است. تنوع سوماکلونال حاصل از مریستم‌های ریشه نابه‌جا در گل کلم و گیاهان هاپلوئید حاصل از کشت بساک در *Brassica napus* مشاهده شده است. در گیاهان حاصل از کشت بساک *B. juncea* var. Rai-5، تنوع در خصوصیات زراعی، محتوای روغن و ترکیب اسید چرب مشاهده شده است. همچنین واریته‌های با رنگ زرد بذر در نتاج گیاهان باززایی شده از ریزنمونه‌های کوتیلدونی *Brassica juncea* cv. TM-4 بدست آمده است.

در آزمایشی تنوع سوماکلونال در گیاهان نسل R1 خردل هندی (*B. juncea* cv. Prakash) ایجاد شده از طریق جوانه حاصل از کالوس‌های کوتیلدونی مورد بررسی قرار گرفتند. گیاهان خردل هندی حاصله تنوع زیادی در تمام خصوصیات مورد ارزیابی داشتند. برخی از گیاهان عملکرد بیشتر نشان دادند و از نظر سایر خصوصیات زراعی مهم در مقایسه با گیاهان شاهد قابل توجه بودند. تنوع سوماکلونال منجر به انتخاب لاین‌های پاکوتاه جهش یافته و لاین اصلاحی true در نسل R2 شدند. تنوع سوماکلونال در *B. Juncea* عملکرد بالا و مقاومت زیادی در برابر ریزش غلاف داشته که پس از انتخاب بطور تجاری معرفی گردیدند. همچنین بررسی‌ها و تلاش‌ها در فشار انتخاب در مطالعات in vitro سوماکلونال‌های مقاوم به نمک در *B. juncea* نتایج مثبتی داشته است.



منبع

Cardoza, V., & Stewart Jr, C. N. (2004). Invited review: Brassica biotechnology: progress in cellular and molecular biology. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, *40*(6), 542-551.

تحلیل مولفه‌های اصلی (قسمت ۱)

Principal Component Analysis (Part 1)

سجاد طلایی
Talaei.s@arc-ordc.ir
کارشناس ارشد اصلاح نباتات، مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر، شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

به طور کلی به مجموعه روش‌هایی که به کاهش ابعاد داده‌ها کمک می‌کند تحلیل عاملی می‌گویند. یکی از این روش‌ها تحلیل مولفه‌های اصلی است که اولین بار توسط پیرسون در سال ۱۹۰۱ بکار گرفته شد و در سال ۱۹۳۳ توسط هتلینگ گسترش یافت (فرشادفر، ۱۳۸۹). کاربرد این روش چند متغیره آماری در کشاورزی بسیار زیاد است. وقتی در آزمایشات زیستی با حجم بالایی از متغیرها و اندازه‌گیری‌ها مواجه هستیم این روش کاربرد زیادی دارد. با افزایش تعداد متغیرها، تعداد ضرایب همبستگی نیز زیاد می شود. از روش تجزیه به مولفه‌های اصلی در جهت ابعاد اطلاعات موجود استفاده می‌شود. تجزیه به مولفه‌های اصلی واریانس بین داده ها را تبدیل به مولفه‌هایی می‌کند که این مولفه‌ها کاملا از هم مستقل هستند. نحوه کار این روش به این صورت است که سعی می شود تا آنجا که ممکن است تغییرات داده ها در مولفه اول توجیح شوند. مولفه دوم بعد از مولفه اول بقیه تغییرات و تنوع را توجیه می کند و به همین صورت تا مولفه آخر همه تغییرات تبین می شوند. تعداد کل مولفه‌ها با تعداد کل متغیرها برابر است. اما معمولا به چند مولفه اول که تغییرات بیشتر را تبیین می‌کنند بسنده می شود.

محاسبات:

برای انجام محاسبات تجزیه به مولفه‌های اصلی از روش ریاضی تجزیه به مقادیر منفرد به کمک ماتریس‌ها صورت می‌گیرد.

فرض کنید ماتریس A میانگین تکرار داده‌های اندازه‌گیری شده می‌باشد.

ارتفاع بوته	وزن هزار دانه	عملکرد دانه	ژنوتیپ
۱۰۵	۵	۲۵	۱
۱۱۰	۷	۲۹	۲
۹۰	۱۰	۳۵	۳

فرض کنید ماتریس داده ها (A) را برابر با ماتریس L باشد.

$$A = L$$

اکنون هر دو طرف معادله را در یک ماتریس دیگری به نام V ضرب می‌شود. (البته به شرط اینکه ماتریس V صفر نباشد). لذا فرمول مذکور بصورت زیر در می‌آید:

$$A\,V = L\,V$$

$$A=\begin{pmatrix} ۲۵ & ۵ & ۱۰۵ \\ ۲۹ & ۷ & ۱۱۰ \\ ۳۵ & ۱۰ & ۹۰ \end{pmatrix}$$

دو مقدار مجهول L و V بدست می‌آید که باید مقادیر آنها محاسبه گردد.

$$L\,V - A\,V = 0$$

از ماتریس V فاکتور گرفته می شود: $V(L-A)=0$

برای حل معادله فوق از دترمینان استفاده می‌شود: $Det(V(L-A))=0$ که بصورت زیر در می‌آید:

$$Det\,(L-A)I = 0$$

ماتریس I یک ماتریس با قطر ۱ می باشد که ماتریس همانی گفته می شود.

$$Det = \begin{pmatrix} 25-L_1 & 5-0 & 105-0 \\ 29-0 & 7-L_2 & 110-0 \\ 35-0 & 10-0 & 90-L_3 \end{pmatrix} = 0$$

اگر دترمینان حل شود مقادیر L بدست می‌آیند. این مقادیر L مقادیر ویژه نامیده می‌شوند. با توجه به اینکه سه متغیر در نظر گرفته شده بود، پس سه مقدار ویژه نیز برای آن وجود دارد.

با استفاده از دستور زیر در نرم افزار SAS می توان مقادیرL یا بردار ویژه را بدست آورد (Little *et al.*, 2006).

```
PROC IML;
A={105  5    25,
    110  7    29,
     90  10  35 };
  call svd  (LEFT, L, RIGHT ,A);
  print L;       run;
```

خروجی نرم افزار بصورت زیر ارائه شده است. مقادیر بدست آمده همان مقادیر ویژه (eigen value) می‌باشند.

L_1 184.29
L_2 11.22
L_3 0.40

همانطور که ملاحظه می‌شود مقدار عددی مقادیر ویژه کاهشی است.

محاسبه تعداد مولفه‌های اصلی:

برای پاسخ به این سوال که چند مولفه باید محاسبه گردد، می‌توان بصورت زیر عمل کرد:

184.29+ 11.22+ 0.40 = 195.91 ⟵ جمع کل مولفه‌ها

(184.29÷195.91)*100= 94% ⟵ سهم مولفه اول

(11.22 ÷ 195.91)*100 = 5.73% ⟵ سهم مولفه دوم

(0.4 ÷ 195.91)*100 = 0.2 % ⟵ سهم مولفه سوم

سهم مولفه‌های اول (۹۴ درصد) و دوم (۵/۷۳ درصد) بدست آمد. محققین معمولا سهم مولفه‌ها را حساب می‌کنند. معمولا وقتی سهم مولفه‌های ابتدایی از ۷۰ درصد بیشتر می‌شود سهم بقیه مولفه‌ها در نظر گرفته نمی‌شود زیرا دارای اطلاعات غیرضروری است. در مثال ارائه شده مولفه اول به تنهایی ۹۴ درصد از واریانس تغییرات را توجیه می نماید. بنابراین استفاده از همین یک مولفه اطلاعات زیادی را توجیه می نماید. در این زمینه بین صاحب نظران اختلاف نظر وجود دارد. آزمون‌های آماری برای بررسی کفایت تعداد مولفه با استفاده از شبیه سازی بصورت پارامتریک و غیرپارامتریک انجام شده است که با استفاده از آن شبیه سازی‌ها می‌توان بصورت دقیق‌تر تعداد مولفه را مشخص کرد (Forkman and Piehpho, 2014). اگر همبستگی بین متغیر بالا باشد با تعداد مولفه کمتری سهم بیشتری از تغییرات تبیین می‌گردد. ولی اگر همبستگی متغیرها پایین باشد تعداد مولفه‌های بیشتری باید محاسبه شوند. وقتی مولفه‌های اول نتوانند سهم زیادی از تنوع موجود در داده‌ها را تبیین کنند تفسیر نتایج مشکل می‌شود. در این صورت بهتر است از تجزیه خوشه‌ای استفاده گردد.

منابع:

فرشادفر، ع (۱۳۸۹). اصول و روش های تجزیه و تحلیل های آماری چند متغیره. انتشارات دانشگاه رازی کرمانشاه. ۷۳۴ص.

Forkman, J., and Piepho, H.P. (2014). Parametric bootstrap methods for testing multiplicative terms in GGE and AMMI models. Biometrics, 70(3), 639-647.

Littell, R.C., Milliken, G.A., Stroup, W., Wolfinger, R.D., and Oliver, S. (2006). SAS for Mixed Models. SAS Institute. 828 P.

مدیریت آفات بادام زمینی

Peanut pest management

رضاپور مهدی علمدارلو
Alamdarlou.r@arc-ordc.ir
کارشناس ارشد بیماری شناسی گیاهی، مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر، شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

مرحله‌رشدی بادام زمینی / آفت	گیاهچه	رشد رویشی	گلدهی	غلاف‌بندی	دانه‌بندی	نحوه مبارزه با آفت
لارو طوقه‌بر		*Agrotis segetum*				تناوب، شخم عمیق و یخ‌آب زمستانه، استفاده از طعمه مسموم (مخلوط حشره کش و سبوس گندم) و یا سمپاشی با سم دورسبان در انتهای روز
راب و حلزون		*Parmacella ibera* *Agriolimax agrestis*				تناوب، مدیریت علف‌های هرز، استفاده از طعمه‌های مسموم متالدهید، متیوکارب یا فسفات آهن به میزان ۲۵-۲۰ کیلوگرم در هکتار
تریپس			*Thrips palmi, Frankliniella* spp.			کشت به موقع، آبیاری متعادل، کنترل آفت در صورت نیاز با یکی از سموم فسفره و یا ایمیداکلوپراید (کنفیدور)
شته				*Aphis crassivora*		تناوب، مدیریت علف‌های هرز، کنترل آفت با سموم پریمیکارپ (پریمور)، ایمیداکلوپراید (کنفیدور)
مینوز برگ				*Aproaerema modicella*		تناوب، کشت به موقع، آبیاری متعادل، کنترل آفت در صورت نیاز با دورسبان یا آبامکتین
کنه دو نقطه‌ای			*Tetranychus urticaea*			آبیاری متعادل، مدیریت علف‌های هرز، کنترل شیمیایی با کنه‌کش‌های مختلف مانند بروموپروپیلات (نئورون) و هگزی‌تیازوکس (نیسورون)
زنجرک				*Empoasca* spp.		کشت به موقع، مدیریت علف های هرز، ارقام متحمل، مبارزه شیمیایی با ایمیداکلوپراید (کنفیدور) یا مالاتیون
لاروهای برگ‌خوار			*Spodoptera* spp.			تناوب، شخم عمیق و یخ‌آب زمستانه، مدیریت علف‌های هرز، کنترل آفت در مراحل اولیه لاروی با استفاده از سموم تیودیکارپ (لاروین)، ایندوکساکارب (آوانت) و ...
کرم غوزه			*Helicoverpa armigera*			تناوب، شخم عمیق و یخ‌آب زمستانه، مدیریت علف‌های هرز، کنترل آفت در مراحل اولیه لاروی با استفاده از سموم ایندوکساکارب (آوانت) یا کلرفلوآزورون (آتابرون)
کرم سفید ریشه			*Holotrichia* spp.			جمع‌آوری مکانیکی، شخم بعد از برداشت، شخم و یخ‌آب زمستانه، کنترل آفت با استفاده از سموم دیازینون یا دورسبان

کنترل علف‌های هرز در زراعت سویا (قسمت ۶)

Weeds control in soybean (Part 6)

کامبیز فروزان
Kforoozan@ordc.ir
مدیر بذر، تحقیقات و آموزش، کارشناس ارشد زراعت، شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

عکس‌العمل علف‌های هرز در برابر علف‌کش‌ها

اتخاذ یک برنامه مناسب جهت کنترل علف‌های هرز به شناسایی گونه‌های علف‌های هرز وابسته است. بسیاری از علف‌کش‌ها قادرند بیش از یک گونه از علف‌های هرز را کنترل نمایند ولی گاهی لازم است برای کنترل کامل علف‌های هرز پهن‌برگ، بیش از یک علف‌کش استفاده نمود. برای کنترل علف‌های هرز ممکن است از اختلاط انواع مختلف سموم استفاده شود ولی این اختلاط‌ها باید بر پایه نوشته‌های بر روی برچسب‌های آن‌ها صورت پذیرد. کنترل علف‌های هرز به‌وسیله علف‌کش‌ها با توجه به شرایط محیطی متفاوت است مثلاً در علف‌کش‌های خاک مصرف بارندگی دو هفته بعد از سم‌پاشی مناسب خواهد بود. فعالیت علف‌کش‌های postemergence که به‌وسیله علف‌های هرز جذب می‌شوند بر اساس رطوبت مناسب خاک، رطوبت نسبی هوا و دمای زیاد متغییر است. معمولاً برچسب‌های سموم علف‌کش بر مبنای میزان مصرف سیستم اختلاط و... در نظر گرفته شده است.

حرکت علف‌کش‌ها خارج از طیف پوشش گیاهی

کلیه علف‌کش‌ها در مجاورت هوا دارای قابلیت رانده شدن می‌باشند که این خاصیت موجبات صدمه‌دیدگی گیاهان اطراف را فراهم می‌آورد. حرکت علف‌کش‌ها می‌تواند به‌صورت حرکت در مجاورت باد و یا تبخیر باشد (واژه تبخیر به معنی حرکت علف‌کش‌ها از سطح هدف است).

پخش شدن سموم به‌صورت باد بردگی Drift

پخش شدن علف‌کش‌ها در زمان مصرف می‌تواند تحت تأثیر عواملی نظیر ۱. اندازه ذرات پاشش ۲. ارتفاعی که ذرات پاشیده می‌شوند و ۳. سرعت باد باشد.

ذرات درشت کمتر در برابر باد تمایل به حرکت دارند. در مورد نازل‌هایی که کوچکند و با فشار زیاد سم‌پاش، مورد استفاده قرار می‌گیرند طراحی نازل‌ها و کیفیت آن‌ها می‌تواند اندازه ذرات را مشخص کند. لذا یکی از روش‌ها برای جلوگیری از بادبردگی توجه به فشارهای توصیه‌شده و نازل‌های مشخص‌شده بر روی ظرف علف‌کش است.

فاکتور مهم دیگر کشش سطحی مایع است. به‌طور کلی مایعات با کشش سطحی زیاد (مانند آب) قطرات درشت‌تری را در مقایسه با مایعات با کشش سطحی کم (برای مثال آب + سورفکتانت) ایجاد می‌کند. در این حالت فاصله و زمان موردنیاز برای رسیدن قطرات سم به هدف با افزایش ارتفاع نازل‌ها زیادتر شده و درنتیجه مقدار بیشتری از سم به بیرون از محدوده هدف پاشیده می‌شود، ضمن آنکه سرعت باد نیز معمولاً با افزایش ارتفاع از سطح زمین افزایش می‌یابد.

قابلیت تبخیر و باد بردگی بخار

قابلیت تبخیر توانایی یک ماده شیمیایی برای تبخیر و پراکنش آن در هوا مانند یک گاز است.

یک علف‌کش با بخار بالا دارای قابلیت تبخیر بیشتری نسبت به انواع آن با فشار بخار پایین‌تر می‌باشد. فشار

بخار علف‌کش بستگی به وزن مولکولی و قطبیت علف‌کش دارد و وزن مولکولی پایین (تعداد اتمی که تولید مولکول می‌کند) به همراه قطبیت کم (قابلیت انحلال بیشتر در روغن یا حلال‌های آلی نسبت به آن) شرایط را برای تبخیر خوب فراهم می‌کند و به همین دلیل استر بوتیل D ۴-۲ دارای دامنه تبخیر بیشتری نسبت به نمک آمین D ۴-۲ دارد. علف‌کش‌های خاک مصرف معمولاً نسبت به‌اندازه ذرات خاک توانایی تبخیر خود را کاهش می‌دهند. بسیاری از علف‌کش‌ها قابلیت تبخیر دارند ولی میزان تبخیر آن‌ها بستگی به اثر مستقیم درجه حرارت دارد. در تابستان درجه حرارت خاک ممکن است به بیش از ۶۰ درجه سلسیوس در روزهای صاف برسد که شدیداً بر روی قابلیت تبخیر و پراکنش مؤثر است.

فاکتورهای موثر بر فعالیت و نحوه عمل علف‌کش

عوامل مختلفی بر روی طرز عمل علف‌کش‌ها مؤثرند. بعضی از این فاکتورها انسانی هستند و قابل مدیریت می‌باشند درحالی‌که بعضی دیگر از آن‌ها محیطی و غیرقابل کنترل هستند. اصل هر برنامه کنترل علف هرز بر پایه انتخاب علف‌کش یا مخلوطی از علف‌کش‌ها است که بتواند مشکل کنترل گونه‌های مختلف علف هرز را در مزارع سویا حل نماید. میزان و زمان مصرف، یکنواختی پاشش، پاشش مناسب و تصمیم بر استفاده یا عدم استفاده از فاکتورهای قابل‌کنترل از اهمیت بیشتری نسبت به فاکتورهای غیرقابل‌کنترل محیطی برخوردار می‌باشند.

بارندگی، درجه حرارت، رطوبت و تنوع خاک و اسیدیته خاک و ... بر روی فعالیت علف‌کش‌ها مؤثر است و می‌تواند موجب خسارت به گیاه را فراهم آورد. علف‌کش‌های خاک مصرف بر روی جوانه‌زنی بذر و گیاه‌چه‌های جوان اثر می‌گذارند. از آنجایی که بسیاری از علف‌های هرز در عمق ۱/۵ تا ۲/۵ سانتی‌متری خاک جوانه می‌زنند، در این محدوده علف‌کش‌های قبل از کاشت، بعد از جوانه‌زنی مورداستفاده قرار می‌گیرد. بارندگی‌های بیش از حد معمول بعد از مصرف علف‌کش ممکن است موجب شستشوی علف‌کش‌ها در اعماق زیاد خاک شود. که این حالت ممکن است سبب بروز خسارت به گیاه گردد. شستشوی علف‌کش‌ها در بافت‌های درشت خاک‌های شنی دیده می‌شود. شستشوی علف‌کش‌ها و تجزیه بیولوژیکی آن در طی دوره خشکی خاک کمتر صورت می‌گیرد. به‌طور نسبی مقادیر مصرف علف‌کش‌ها با افزایش مواد آلی خاک افزایش می‌یابد. در خاک‌های با بیش از ۲۰٪ مواد آلی تنها علف‌کشی که برای سویا توصیه می‌گردد، لاسو می‌باشد اگرچه اسیدیته خاک هم بر روی فعالیت علف‌کش‌ها مؤثر است. در pH کمتر از ۴/۵ تا ۴/۸ فعالیت برخی علف‌کش‌ها کاهش می‌یابد.

حساسیت علف‌های هرز و گیاهان زراعی بیشتر در برابر علف‌کش‌های پس رویشی، در هوای گرم و مرطوب بیشتر می‌باشد. بنابر این در این شرایط می‌توان مقادیر کمتری از سموم را استفاده نمود. به‌کارگیری برخی از مواد افزودنی بر سموم پس رویشی بسیار معمول است. این مواد افزودنی سبب افزایش فعالیت علف‌کش‌ها بر روی کنترل علف‌های هرز می‌گردد. در بسیاری از موارد این مواد افزودنی باعث کاهش مقاومت گیاه شده که این حالت به‌خصوص در هنگام مصرف سموم در هوای گرم و مرطوب بیشتر است. از افزودنی‌های معمول می‌توان به سورفکتانتهای غیر یونی، روغن‌های گیاهی و محلول‌های کودی اشاره نمود. بر روی برچسب‌های علف‌کش‌های پس رویشی میزان افزودن و مصرف هریک از مواد مشخص شده است.

جوامع نقشه یابی (قسمت چهارم)

Mapping Populations (part four)

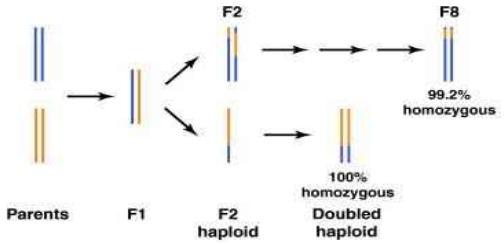
مصطفی حق‌پناه

Haghpanah.m@arc-ordc.ir

کارشناس ارشد اصلاح نباتات، مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر، شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

جوامع دابل هاپلوئید

گیاهان دابل هاپلوئید (DH) از دو برابر شدن کرموزم گیاه هاپلوئید حاصل می‌شوند و معمولا از تکنیک کشت بساک و گرده گیاهان F_1 برای تولید آن استفاده می‌گردد (شکل ۱).



شکل ۱. مقایسه خلوص ژنتیکی لاین دابل هاپلوئید و نسل‌های در حال تفرق

در برخی از گونه‌های گیاهان زراعی با استفاده از تلاقی بین گونه‌ای یک هاپلوئید بوجود می‌آید. برای مثال در تلاقی گیاه جو یا گندم با علف شال دم (*Hordeum bulbosum*) در طی تکامل جنین به تدریج کرموزم‌های علف شال دم حذف می‌شود و به دلیل بروز مشکلاتی که در تقسیم سلولی بوجود می‌آید می‌بایست از تکنیک نجات جنین جهت تولید گیاه هاپلوئید استفاده شود. یکی از روش‌های متداول در تولید گیاهان هاپلوئید در ذرت استفاده از گونه‌های القاء کننده گرده افشانی است. در این روش جمعیت دابل هاپلوئید ذرت با استفاده از گرده افشانی بوته‌های F_1 و یک گونه القاء کننده مانند RWS پدید می‌آید. بذور حاصله دارای جنین هاپلوئید و آندوسپرم طبیعی تری‌پلوئید (3N) می‌باشند. کرموزم‌های گونه القاء کننده در طی مراحل تکامل جنین حذف می‌شوند.

بذور هاپلوئید بر اساس رنگ جنین و آندوسپرم قابل تشخیص می‌باشند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که ژن *Rnj*، دخیل در رنگ متمایز بذور هاپلوئید ذرت می‌باشد. الل غالب ژن مذکور (*Rnj*) سبب ایجاد رنگ بنفش و الل مغلوب سبب بی رنگ شدن جنین و آندوسپرم می‌شود. والد ماده در این مثال (F_1) می‌بایست هموزیگوت مغلوب (*rnj rnj*) و القاء کننده می‌بایست هموزیگوت غالب (*Rnj Rnj*) در این ژن باشد. بذر هاپلوئید حاصل از این تلاقی دارای آندوسپرم بنفش و جنین بی‌رنگ است. اما بذور دیپلوئید هیبرید دارای آندوسپرم و جنین رنگی (بنفش) می‌باشند و این در حالی است که بذور دیپلوئید حاصل از خودگشنی این هیبریدها دارای جنین و آندوسپرم بی‌رنگ است. میانگین موفقیت تولید بذور هاپلوئید در این روش حدود هشت تا ۱۰ درصد است و این وابسته به عواملی نظیر، گونه القاء کننده، استفاده القاء کننده به عنوان والد ماده، روش گرده افشانی و شرایط محیطی می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهد توانایی القاء والد مادری هاپلوئید یک صفت پلی‌ژنیک است.

از ماده کلشی‌سین برای تولید گیاهان دابل‌هاپلوئید استفاده می‌شود، این آلکالوئید با تاثیر بر رشته‌های دوک در جریان تقسیم سلولی سبب دو برابر شدن تعداد کرموزم‌ها می‌شود. بذور تولید شده از هرگیاه دابل‌هاپلوئید به عنوان یک لاین دابل هاپلوئید در نظر گرفته شده و جداگانه برداشت و نگهداری می‌شوند. یک لاین دابل هاپلوئید از نظر ژنتیکی در تمامی جایگاه‌های ژنی (Locus) کاملا خالص بوده و دارای خطای هتروزیگوتی نمی‌باشند. این در حالی است که خطای هتروزیگوسیتی در لاین‌های خالص نوترکیب (RIL) قابل مشاهده است. اگر هیچ انتخابی در تشکیل این جمعیت وجود نداشته باشد انتظار می رود جمعیت دابل هاپلوئید بصورت تصادفی شامل تمامی لاین‌های هموزیگوت حاصل از یک تلاقی باشد. نسبت ژنی مورد انتظار در یک جامعه دابل هاپلوئید ۱:۱ است بدون در نظر گرفتن اینکه نشانگرهای غالب و یا همبارز باشد (به دلیل اینکه افراد DH خالص می‌باشند نحوه تفرق نشانگرهای همبارز و غالب مشابه است). جمعیت DH مشابه جمعیت F_2 حاصل از یک چرخه میوز در F_1 می‌باشد. اما نرخ نوترکیبی در یک جمعیت DH نسبت به F_2 مشابه بالاتر است، نرخ نوترکیبی در جمعیت DH برابر است با r در حالی که در جمعیت F_2 برابر است با $r-(r^2/2)$، در این فرمول r نرخ نوترکیبی بین دو جایگاه‌ژنی یا نشانگر می‌باشد. جمعیت DH مانند لاین‌های خالص نوترکیب از لحاظ ژنتیکی تفرق نمی‌یابند و قابل تکثیر می‌باشند. از این رو می‌توان بذور آنها را با سایر محققین و آزمایشگاه‌ها به اشتراک گذاشت. از جمعیت دابل هاپلوئید می‌توان در آزمایشات تکراردار استفاده کرد و از این نظر برای نقشه‌یابی صفات کمی و کیفی مناسب می‌باشد. ساخت یک جمعیت DH از نظر تعداد سال زراعی مشابه یک جمعیت F_2 می‌باشد، اما ایجاد این جمعیت نیازمند به استفاده از تکنیک کشت بافت و امکانات گلخانه‌ای است. از این رو برای ساخت یک جمعیت دابل هاپلوئید، نسبت به سایر جمعیت‌های نقشه‌یابی، دانش فنی بیشتری لازم می‌باشد. علاوه بر این روش‌های تولید گیاهان دابل هاپلوئید در برخی از گونه‌های زراعی کاربرد ندارند و برخی از ژنوتیپ‌های یک گونه زراعی قابل کشت بافت کردن نمی‌باشند و یا کشت بافت آنها مشکل است. باید در نظر گرفت در کشت بساک ممکن است کلشی‌سین سبب بروز تنوع ژنتیکی گردد. علاوه بر این با استفاده از جمعیت DH تنها می‌توان اثر افزایشی و اثر متقابل افزایشی×افزایشی ژنها را در افراد هموزیگوت بررسی کرد. بنابراین نمی‌توان از این جمعیت برای نقشه‌یابی QTLهای هتروزیس استفاده کرد. اهمیت استفاده از جمعیت دابل هاپلوئید در نقشه یابی گیاهانی نظیر فلفل، گندم، جو، برنج و بسیاری گیاهان دیگر به اثبات رسیده است.

منبع:

Singh, B. D., & Singh, A. K. (2015). Marker-assisted plant breeding: principles and practices. New Delhi, India: Springer.

Monthly Bulletin of Oilseeds Research

No. 77 April 2018

Preface ……...……..…1
Kambiz Foroozan

Some of performed activities during 2017-2018 in ARSPC ...…..……...2
Ali Zaman Mirabadi

Endophytes ……..……..…4
Aydin Hassanzadeh

Evaluation of proteins by SDS-PAGE method ……..…7
Aydin Hassanzadeh

Brassica Biotechnology ……..……...10
Mahtab Samadi

Principal Component Analysis ……..…..……...……13
Sajad Talaee

Peanut pest management ……...……..……16
Rezapoor Mehdi Alamdarlou

Weeds control in soybean ……..……..…….17
Kambiz Foroozan

Mapping Populations ……...……..……19
Mostafa Haghpanah