بولتن ماهانه تحقیقات دانه‌های روغنی

(علمی خبری، کشاورزی - دانه‌های روغنی)

سال ششم　　شماره ۸۰　　تیر ۱۳۹۷

کاربرد روش های تصمیم گیری چند معیاره در صنعت کشاورزی ۱
سجاد طلایی

گزارشی کوتاه از شرکت در دوره آموزشی NGS ۵
علی‌زمان میرآبادی

اندوفیت‌ها(مروری) ۷
آیدین حسن‌زاده

پروتئین کلزا: فرصت های آینده و دستورالعمل ها ۱۹
مهتاب صمدی

مدیریت آفات ۲۲
رضاپور مهدی‌علمدارلو

سیتوژنتیک گیاهی ۲۳
یاسمین عنایتی

جوامع نقشه یابی ۲۵
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

یاسمین عنایتی

مهندس مصطفی حق‌پناه

کاربرد روش‌های تصمیم گیری چند معیاره در صنعت کشاورزی

Application of Multiple Criteria Decision Analysis (MCDA) in Agricultural Industry

سجاد طلایی

Talaei.s@arc-ordc.ir

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

روش‌های مختلفی برای ارزیابی عوامل مؤثر در تعیین بهترین روش تولید محصول وجود دارد که یکی از این روش‌ها، اولویت‌بندی بر اساس فرآیند رتبه‌بندی است. اساس فرآیند تحلیل سلسله‌مراتبی بر مناسبات زوجی یا دودویی گزینه‌ها و معیارهای تصمیم‌گیری استوار است (قدسی پور، ۱۳۹۱). انجام چنین مقایسه‌هایی، مستلزم جمع‌آوری اطلاعات و آمار از بهره‌برداران و تصمیم‌گیرندگان می‌باشد. این عمل به تصمیم‌گیرنده این امکان را می‌دهد که مستقلاً و بدون تأثیر مشکلات بیرونی و با مقایسه دو معیار تمرکز نماید. به‌علاوه به سبب سنجش دودویی عوامل، در عمل عوامل دیگری تأثیری ندارند. ازاین‌رو اطلاعات مفیدی را برای حل منطقی مسائل در اختیار می‌گذارد (ساعتی، ۱۹۹۴). در همین راستا قدسی پور (۱۳۹۱) فرآیند تحلیل سلسله‌مراتبی را در شش مرحله اصلی شامل تشکیل درخت سلسله‌مراتبی، تعیین معیارها، زیرمعیارها و جایگزین آن‌ها، جمع‌آوری داده‌ها، پردازش داده‌ها، تحلیل حساسیت و نرخ ناسازگاری ترسیم و اجرا نمود. همچنین در این روش کارشناسان و افراد خبره، قضاوت‌های مقایسه‌ای زوجی ساده‌ای را از طریق سلسله‌مراتب ایجادشده تا رسیدن به اولویت‌هایی برای تمامی گزینه انجام می‌دهند(امینی فسخودی، ۱۳۸۳).برای جمع‌آوری داده‌های فرآیند تحلیل سلسله‌مراتبی و وزن سطوح و زیر سطح‌ها از پرسش‌نامه AHP استفاده‌می‌گردد. این پرسش‌نامه‌ها دربرگیرنده مقایسات مشترکی در بین کلیه عوامل تأثیرگذار در مطالعه می‌باشد. پس از گردآوری پرسش‌نامه‌ها، وزن‌بندی آن‌ها به‌وسیله نرم‌افزار Expert Choice تجزیه‌وتحلیل می‌شوند. مقایسات زوجی در این مطالعه به‌صورت جدول ۳، در قالب ماتریس‌های زوجی و بر مبنای طیف ۹ قسمتی ساعتی انجام می‌گیرد(قدسی پور، ۱۳۸۹).

جدول مقادیر ترجیحی مقایسات زوجی

وزن یا ارزش	وضعیت مقایسه(قضاوت شفاهی)
۱	مطلوبیت یکسان
۳	کمی مطلوب‌تر
۵	مطلوبیت قوی
۷	مطلوبیت خیلی قوی
۹	کاملاً مطلوب‌تر
۸، ۶، ۴ و ۲	ترجیحات بین فواصل مذکور

تصمیم‌گیری چندمعیاره توسط جوامع علمی به‌عنوان روشی مؤثر و انعطاف‌پذیر جهت تسهیل در تصمیم‌گیری مسائل پیچیده، پذیرفته‌شده است (الکرمی و مصطفی، ۱۹۹۳). کاربرد این روش در تجزیه‌وتحلیل داده‌های کشاورزی و مخصوصاً تصمیم‌گیری‌های کلان می‌تواند استفاده شود. در زیر به برخی از تحقیقاتی که در این زمینه صورت گرفته اشاره‌شده است:

حیدرپور و همکاران(۱۳۹۶) در تحقیقی به‌منظور امکان‌سنجی اجرای کشاورزی حفاظتی در حوضه مارون استان خوزستان از روش چند معیاری تاپسیس در محیط

سامانه اطلاعات جغرافیایی استفاده گردید. از این رو تمام لایه‌های اطلاعاتی مکانیزاسیونی-زراعی شامل ماشین (سطح مکانیزاسیون، ضریب بهره‌وری، خاک‌ورز مرکب و کارنده)؛ اقلیم (دما و بارش)؛ توپوگرافی (شیب و ارتفاع)؛ خاک (بافت، اسیدیته خاک، شوری، فسفر و کربن آلی) به همراه منابع آبی (پتانسیل و شوری) جمعاً ۱۷ لایه برای تناوب محصولات کلزا، نخود و گندم تهیه و پس از وزن دهی با روش تحلیل سلسله مراتبی و رتبه‌بندی با روش تاپسیس، با همدیگر همپوشانی و بر اساس دستورالعمل فائو در پنج طبقه بسیار مناسب، مناسب، تناسب متوسط، تناسب کم و نامناسب طبقه‌بندی کردند. نتایج نشان‌داد که ۱/۶ و ۱۴/۵ درصد از کل سطح اراضی آبی موجود در محدوده مطالعاتی، به ترتیب در طبقات بسیار مناسب و مناسب برای اجرای کشاورزی حفاظتی، قرار گرفتند.

صفر نژاد و همکاران (۱۳۹۶) در تحقیق به بررسی عوامل مؤثر بر تولید سویا به‌منظور ارائهٔ یک رتبه‌بندی و تعیین مناسب‌ترین رقم سویا در منطقه شرق استان گلستان جهت افزایش تولید و بهره‌وری پرداخته است .جامعه آماری موردنظر در این پژوهش منطقه علی‌آباد کتول در استان گلستان بوده‌است. اطلاعات موردنیاز پژوهش بر اساس مصاحبه و تجربیات کارشناسان منطقه مشخص‌شده و با استفاده از روش تحلیل سلسله‌مراتبی (AHP) ارزش وزنی، ۹ رقم مختلف سویا شامل ارقام ویلیامز، سحر، گرگان سه، کتول، ساری، Habit x TN ، 654 Davis x Williams ، Pershing x Epps 4 و Williams x Essex محاسبه گردید .تحلیل داده‌های مسئله با استفاده از نرم‌افزار اکسپرت چویس صورت گرفت. نتایج بررسی‌های آن‌ها نشان داد که معیار عملکرد در هکتار دارای بیشترین تأثیر در انتخاب رقم سویا است و رقم Hobit x TN654 به‌عنوان بهترین رقم برای کشت در منطقه علی‌آباد گلستان، شناخته شد. میزان ناسازگاری کلی مدل ۰/۶ به دست آمد که نشان‌دهنده سازگاری مناسب تصمیمات است.

یورداکول(۲۰۰۴) تحلیل سلسله‌مراتبی را به‌عنوان یک راهبرد در تصمیم سازی برای انتخاب ابزارهای ماشینی معرفی نمود. در منطقه تربت‌جام استان خراسان رضوی در شرق ایران نیز، در تحقیقاتی جهت تعیین الگوی کشت با استفاده از تحلیل سلسله‌مراتبی، مشخص گردید شناخت باورهای ذهنی و معیارهای تصمیم‌گیری کشاورزان راهنمایی خوب برای معرفی الگوی کشت می‌باشد که ضمن تثبیت درآمد کشاورزان، میزان برداشت منابع آبی را کاهش می‌دهد(محمدیان و همکاران، ۱۳۸۸).

ترابی و همکاران (۱۳۹۲) نیز جهت اولویت‌بندی عوامل مؤثر در عملکرد گندم در گرگان از روش فرآیند سلسله‌مراتبی استفاده نمودند و نتایج حاصله از آن را، عدم مدیریت در زمان آبیاری، عدم استفاده از ارقام اصلاح‌شده و استفاده نامناسب از نهاده‌های کشاورزی مثل کود سرک، اعلام‌نمودند. کاظمی و صادقی (۱۳۹۳)، در ارزیابی تناسب اراضی شهرستان آق‌قلا جهت کشت نخود دیم از منطق بولین و فرآیند تحلیل سلسله‌مراتبی در محیط سامانه اطلاعات جغرافیایی استفاده و مناسب‌ترین پهنه را انتخاب نمودند. چن و همکاران (۲۰۱۰) بررسی جامعی در استان هنان چین جهت کشت تنباکو بر پایه سامانه اطلاعات جغرافیایی انجام دادند. آن‌ها در این تحقیق از ۱۷ شاخص مرتبط به اقلیم، خاک و شکل زمین استفاده کردند. وزن این شاخص‌ها از پرسش‌نامه‌های فرآیند تحلیل سلسه‌مراتبی به دست‌آمد.

رحمان و ساها (۲۰۰۸) نیز با استفاده از ارزیابی چند معیاره فضایی، سامانه اطلاعات جغرافیایی، سنجش از دور و نیز فرآیند تحلیل سلسله‌مراتبی به تدوین الگوی مناسب کشت

برای منطقه سیل‌خیز بوگرا در بنگلادش پرداختند. تودیس و یگیتر (۲۰۱۰) با استفاده از سامانه اطلاعات جغرافیایی بر پایه فرآیند تحلیل سلسله‌مراتبی در منطقه زلزله‌خیز ادانا در ترکیه کار آمایش سرزمینی انجام دادند. همچنین تناسب اراضی کشاورزی منطقه یوسوفلی در شهر آرتوین ترکیه، با استفاده از Gis و Ahp توسط آکسینی و همکاران در سال ۲۰۱۳ ارزیابی شد.

نتایج پهنه‌بندی بوم‌شناختی اراضی کشاورزی شهرستان گرگان جهت کشت آفتابگردان با روش Ahp توسط کاظمی (۱۳۹۲ الف) نشان داد که به ترتیب ۷۱/۳۸ و ۱۳/۸۵ درصد زمین‌های زراعی شهرستان گرگان جهت تولید آفتاب‌گردان در پهنه‌های بسیار مستعد و مستعد قرار دارند. در مطالعه دیگری مصطفی و همکاران (۲۰۱۱) تناسب اراضی منطقه‌ای در هند را برای کشت برخی محصولات زمستانه و تابستانه ارزیابی کردند. آن‌ها در این ارزیابی از تلفیق Gis و Ahp استفاده کردند.

نتایج ارزیابی هوشیار و همکاران (۲۰۱۴) با بهره‌گیری از روش‌های Ahp و منطق فازی در ترکیب با Gis در منطقه مرکزی استان فارس، تناسب اراضی را جهت کشت ذرت علوفه‌ای بررسی نمودند. نتایج نشان‌داد که ۷۳/۴۷ درصد از اراضی موردمطالعه بسیار مناسب و تنها ۷/۳۶ درصد تناسب ضعیف دارند. ران استور و کانگاس (۲۰۰۱) در مطالعه‌ای با استفاده از داده‌های GIS و تحلیل فضایی همراه با تکنیک‌های مدرن تصمیم‌گیری برای بهبود ارزیابی مناسبت زیستگاه‌ها در مناطق بزرگ استفاده‌کردند. در پژوهش آن‌ها GIS به‌عنوان یک بستر برای مدیریت، ترکیب و نمایش داده‌های مربوط به معیارها و همچنین به‌منظور ابزاری برای تولید داده‌های جدید (مخصوصاً به‌وسیله‌ی توابع تحلیل فضایی) بکار گرفته‌شد. در این پژوهش استانداردسازی، وزن دهی و ترکیب معیارها به‌وسیله‌ی روش ارزیابی چند معیاره انجام‌شد.

حیدری و همکاران (۱۳۸۹) در بررسی انتخاب مناسب‌ترین نوع کمباین برداشت غلات در یزد با استفاده از تحلیل سلسله‌مراتبی، از بین کمباین‌های مرسوم کمباین کلاس را انتخاب نمودند. سرخیل و نوید نیز در سال ۱۳۸۹ با بهره‌گیری از تکنیک تحلیل سلسله‌مراتبی، چهار نوع تراکتور را در محدوده توان ۹۰-۳۰کیلووات مورد ارزیابی قراردادند. در این تحقیق از پنج معیار قیمت، خدمات پس از فروش، امکانات و تجهیزات، ایمنی و کاربرد آسان استفاده‌گردید و تراکتور ساخت شرکت تراکتورسازی تبریز انتخاب‌شد.

گری هیگس (۲۰۰۶) در پژوهشی بر روی مزایا و فواید استفاده از روش ارزیابی چند معیاره یکپارچه‌شده با GIS در بالابردن مشارکت عمومی بحث می‌کند. او به‌منظور نشان دادن این مزایا، چالش‌ها و فرصت‌هایی را که تصمیم‌گیران در رابطه با افزایش مشارکت عمومی در مراحل فرآیند مدیریت مواد زائد با آن‌ها مواجه هستند، بیان‌کرده و درنهایت نتیجه‌گیری می‌کند که استفاده از روش ارزیابی چندمعیاره مبتنی بر GIS می‌تواند کارایی بسیاربالایی در افزایش مشارکت عمومی در این طرح‌ها داشته باشد.

منابع:

الماسی، م.، ش. کیانی و ن. لویمی.۱۳۸۷. مبانی مکانیزاسیون کشاورزی. چاپ چهارم. انتشارات جنگل.

امینی فسخفودی ع. و م. ملاقاسمی. ۱۳۸۳. تعیین ضرایب وزنی مناسب برای مولفه های خلاقیت با استفاده از تکنیک و AHP یک مدل OR ، رویکردی قطعی و فازی. مجموعه مقالات پنجمین کنفرانس سیستم های فازی ایران. دانشگاه امام حسین(ع). تهران

ترابی ب.، ا. سلطانی، س. گالشی، ا. زینلی و م. کاظمی .۱۳۹۲. اولویت بندی عوامل ایجاد کننده خلاء عملکرد گندم در منطقه گرگان. مجله الکترونیکی تولید گیاهان زراعی. سال ششم. شماره ۱.

حیدرپور ن.، بهرامی ه.، منصوری ی.، حجتی س (۱۳۹۶) امکان سنجی اجرای کشاورزی حفاظتی با روش چند معیاری تاپسیس در محیط سامانه اطلاعات جغرافیایی (مطالعه موردی حوضه مارون استان خوزستان).مهندسی بیوسیستم ایران. ۴۸(۴). ۵۵۱-۵۳۹.

حیدری م. د.، س. ح. پیشه گر کومله و م. امید. ۱۳۸۹. پنجمین همایش ملی ایده های نو در کشاورزی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان(اصفهان). ۲۸-۲۷ بهمن.

صفرنژاد م.، قدسی پور ح.، منصوری ی.، رئیسی س (۱۳۹۶) رتبه‌بندی ارقام تجاری و جدید سویا با استفاده از تکنیک فرآیند تحلیل سلسله مراتبی؛ مطالعه موردی :منطقه علی‌آباد گلستان. سومین کنفرانس بین المللی توسعه پایدار، راهکارها و چالش ها با محوریت کشاورزی ، منابع طبیعی ، محیط زیست و گردشگری، تبریز،

قدسی پور سید ح.، ۱۳۹۱. فرآیند تحلیل سلسله مراتبی. مرکز نشر دانشگاه صنعتی امیرکبیر. ویرایش اول. چاپ دهم.

کاظمی ح.، ۱۳۹۲ الف. پهنه بندی بوم شناختی اراضی کشاورزی شهرستان گرگان جهت کشت آقتاب گردان. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی به شماره ۹۰-۳۶۰-۹۱ . دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

کاظمی ح. و س. صادقی. ۱۳۹۳. ارزیابی تناسب اراضی شهرستان آق قلا جهت کشت نخود دیم با استفاده از منطق بولین و فرآیند تحلیل سلسله مراتبی. نشریه زراعت دیم. جلد ۲. شماره ۱.

محمدیان ف.، ن. شاهنوشی، م. قربانی و ح. عاقل. ۱۳۸۸. انتخاب الگوی کشت بالقوه محصولات زراعی براساس روش فرآیند تحلیل سلسله مراتبی(دشت تربت جام). مجله دانش کشاورزی پایدار. جلد ۱۹/۱. شماره ۱. ص ۱۸۷-۱۷۱.

Akinci H, Ozalp AY, Turgut B .2013. Agricultural land use suitabilit y analysis using GIS and AHP technique. Computers and Electronics in Agriculture. 97. 71-82.

Chen HS, Liu GS, Yang YF, Ye XF, Shi Zh .2010. Comprehensive evaluation of tobacco ecological suitability of Henan province based on GIS. Agricultural Science in China. 9(4):583-592

Elkarmi, F. and Mustafa, I. 1993. Increasing the utilization of solar energy technologies (SET) in Jordan: Analytical Hierarchy Process. Journal of Energy Policy 21: 978–984.

Gary Higgs., 2006. Integrating multi-criteria techniques with geographical information systems in waste facility location to enhance public participation, Journal of Waste Management & Research, volume24, pp 105-117

Mustafa AA, Singh M, Sahoo RN, Ahmed N, Khanna M, Sarangi, and Mishra, AK .2011. Land suitabilit y analysis for different crops: a mult i criteria decision making approach using remote sensing and GIS .Researcher. 3(12): 61-84

Rahman R., Saha SK. 2008. Remote sensing, spatial multi criteria evaluation (SMCE) and analytical hierarchy process (AHP) in optimal cropping pattern planning for a flood prone area. Journal of Spatial Science. 53(2): 161-177.

Saaty T.L., 1994. Highlights and Critical Points in the theory and application of the Analytical

Tudes S, Yigiter, ND .2010. Preparation of land use planning model using GIS based on AHP: Case study Adana-Turkey. Bulletin of Geology and Environment engineering .69:235-245

Yurdakul m., 2004. Ahp as a strategic decision-making tool to machine tool selection. Journal of materials processing technology. No. 146. Pp. 365-376.

گزارشی کوتاه از شرکت در دوره آموزشی NGS در تاریخ ۴ و ۵ بهمن‌ماه ۱۳۹۶ در انستیتو پاستور ایران

short report from the NGS A training course on January 2018 at the Pasteur Institute of Iran

علی زمان میرآبادی

Zaman.a@arc-ordc.ir

رئیس مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر، شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

پیرو مطالب قبلی اراده شده در خصوص دوره آموزشی miRNA و بعد از مطالب عنوان شده توسط آقای دکتر عبدالله زاده در مابین صحبتهای ایشان آقای دکتر سلامی مدیر تخصصی امیکس مطالبی را در خصوص میکرو ار ان ای عنوان نمودند که بنده در اینجا خلاصه ایی از مطالب ایشان را آورده ام.

Small RNA کمتر از ۲۰۰ نوکلئوتید بوده، به صورت غیربیانی Non coding و یکی از نقش های آنها را در خاموشی بیان ژن Silencing می دانند. در واقع نقش آنها را به‌عنوان Negative regulatory system نیز میدانند. در ادامه ایشان به انواع و مراحل پیشرفت توالی‌یابی ژنوم اشاره نمودند و ۳ مرحله را برای این اقدامات انجام‌شده در نظر گرفتند. اولین گم در مسیر توالی‌یابی روش سنگر بودکه به نام زنجیره انتهایی یا Chain termination نیز معروف است مرحله دوم از پیشرفتهای انجام شده که تحت‌عنوان Next Generation مربوط به reversible termination، pyrosequencing و ligation بود که به ترتیب توسط تکنولوژیهای Illumina/Solexa Hi-Seq، Genome analyzer و Technologies SOLiD انجام گردید. مرحله سوم از توسعه این تکنولوژی که تحت‌عنوان Next-Next Generation نامیده می‌شود در سه رده از تکنولوژیهای Fluorescence، Electonic و Atomic می‌باشد.

NGS کابردهای زیادی دارد که می‌تواند در مطالعاتی همچون Genome resequencing، Metagenomics، Chip-seq، Methyl-seq epigenetics، Gene expression، mRNA sequencing، mRNA map، Rare mutation detection و نهایتا Small RNA sequencing که موضوع این سرفصل دوره می‌باشد.

چارت کاری NGS را می‌توان در ۳ بخش آماده سازی نمونه ها و تهیه کتابخانه، توالی‌یابی و نهایتا تجزیه و تحلیل داده‌ها خلاصه نمود. برای تهیه نمونه ابتدا کل RNA استخراج و توسط کیت‌های مخصوص mRNA جداسازی می‌گردد بسته به روش استفاده‌شده به ۵ تا ۱۰ میکروگرم RNA با یک غلظت ۲۰۰ نانوگرم در میکرو مول نیاز می‌باشد. برای توالی‌یابی میزان RNA integrity number (RIN) بهتر است بیشتر از ۷ باشد و برای مقادیر کمتر از ۵ می‌بایست دوباره چک گردد. در مطالعات miRNA ما چالش‌هایی داریم به عنوان مثال دم پلی A نداریم، مقدار mRNA کم بوده و در حدود ۰۱. درصد کل RNA می‌باشد و معمولا به صورت Cluster می‌باشد. در میزان GC انها تفاوتهایی وجود دارد و دارای انواع مختلفی تحت عنوان isomiR هستند. miRNA می‌توانند یا به صورت منفرد نقش خود را ایفا کنند یا به صورت چندتایی مثل حالت Co-expressed . برای استفاده و باز خوانی اطلاعات پس از استخراج miRNA و تعیین میزان کمیت و کیفیت نمونه ها برای تعیین پروفایل نمونه ها از سه روش می‌توان استفاده نمود. RNA seq، Microarray، qRT-PCR. برای افزایش دقت آزمایشات نیاز است بعضا تکرارهای بیولوژیکی Biological replication داشته باشیم که دو مرتبه نمونه برداری می

بایست انجام گیرد و گاهی نیازمند تکرار تکنیکی Technical replication هستیم بدینصورت که نمونه ها در داخل دستگاه دوبار خوانش یا Run می شوند. تفکیک و تعیین این دو روش در آزمایشات بسیار مهم است. زمانیکه ما به دنبال قطعات جدید Novel باشیم ضروری است که خوانش ها عمیق تر انجام گیرند. مگر آنکه به دنبال پروفایلینگ باشیم که در این صورت عمق خیلی مهم نیست. برای توالی‌یابی و ساخت کتابخانه ژنی Library construction چند مرحله وجود دارد که به ترتیب شامل استخراج کل RNA و تفکیک و جداسازی size fractionation قطعات ۱۷ تا ۲۵ نوکلئوتیدی اتصال آداپتور ها Adaptor ligation به هر دو انتهای فسفات ۵ و هیدورکسل ۳، رونویسی معکوسpcr و نهایتا توالی‌یابی قطعات CDNA.

ادامه دارد...

اندوفیت‌ها (مروری)

Endophytes(Review)

آیدین حسن‌زاده

Hasanzadeh.i@arc-ordc.ir

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

۱.جمعیت و تنوع قارچ‌های اندوفیت ریشه

جمعیت و تنوع قارچ‌های اندوفیت، به عوامل مختلفی شامل نوع اندام گیاه (Kumar & Hyde, 2004; Foyer & Shigeoka, 2011)، نوع میزبان (Fisher et al., 1992; Kumar & Hyde, 2004; Arnold & Lutzoni, 2007; Huang et al., 2008; Naik et al., 2008)، سن گیاه میزبان (Wang & Gou, 2007)، وضعیت ژنتیکی قارچ و گیاه میزبان، مرحله رشدی گیاه، وضعیت تغذیه‌ای و شرایط محیطی و عوامل غیرزنده از قبیل دما و رطوبت (Arnold et al., 2003; Schulz & Boyle, 2006; Lana et al., 2011) بستگی دارد. قارچ‌های اندوفیت ریشه ممکن است علاوه بر گیاه میزبان با دیگر موجودات زنده مانند قارچ‌های میکوریز و حیوانات نیز تعامل داشته‌باشند و برای مثال قارچ‌های نماتدخوار که در همه خاک‌ها یافت‌می‌شوند، نه‌تنها می‌توانند برای تغذیه از نماتدها، از مرحله ساپروفیتی به مرحله پارازیتی تغییر کنند، بلکه در ریشه‌های گیاه نیز می‌توانند به‌صورت اندوفیت رشد نمایند (Schulz & Boyle, 2006). تنوع گونه‌های اندوفیت و فعالیت زیستی آنها، هم به گونه گیاه و هم به ناحیه نمونه‌برداری بستگی دارد (سپهری و همکاران، ۱۳۸۸). فری‌من و رودریگوز (۱۹۹۳) نقش ژنتیک در تعاملات اندوفیتی را تشریح و بیان نمودند تنها یک جهش منجر به از دست دادن یک فاکتور بیماری‌زایی و تبدیل گونه *Colletotrichum magna* به یک قارچ اندوفیت شده است (Freeman & Rodriguez, 1993). تمامی موجوداتی که به عنوان اندوفیت از بافت‌های گیاهی بدون علائم بیماری شناسایی شده‌اند، شامل میکروارگانیسم‌هایی با استراتژی‌های متفاوت زندگی هستند. اندوفیت‌ها به هر دو شکل فردی و گروهی، زنجیره‌ای از اجتماعات متغیر شامل همزیستی، همیاری، بیماری‌زایی نهفته و انگلی تشکیل‌می‌دهند. این تعاملات اغلب بسته به وضعیت ژنتیکی دو شریک تعامل، مرحله رشدی، وضعیت تغذیه‌ای و عوامل محیطی متغیر هستند (Schulz & Boyle, 2006).

۲. تعامل قارچ‌های اندوفیت با ریشه گیاهان

نتایج بسیاری از مطالعات نشان‌داده‌است که قارچ‌های اندوفیت در بافت سالم گیاه میزبان حضورداشته و هیچ‌گونه علائم بیماری در بافت میزبان ایجاد نمی‌کنند (Arnold & Lutzoni, 2007; Hyde & Soytong, 2008; Ghimire et al., 2011; Rhocha et al., 2011; Tadych et al., 2012; Douanla-Meli et al., 2013). در تعاملات همیاری، قارچ‌هایی که به‌صورت اندوفیت، ریشه‌های گیاه را کلنیزه می‌کنند، شریک میکروبی از یک منبع غذایی مطمئن و حفاظت در برابر تنش‌های محیطی سود خواهد برد. در مقابل، مزایای این تعامل برای گیاه میزبان شامل بهبود رشد و نمو، مقاومت القایی، کنترل بیولوژیکی نماتدها و قارچ‌های بیمارگر گیاهی و سنتز متابولیت‌های آنتاگونیستی است (Schulz et al., 2002; Schulz & Boyle, 2005). بهبود رشد و نمو گیاه نتیجه سنتز هورمون‌های گیاهی (Tudzynski, 1997; Tudzynski & Sharon, 2002; Kobayashi & Palumbo, 2000)، دسترسی به مواد معدنی و مغذی خاک (Caldwell et al., 2000; Barrow, 2003)

و تثبیت ازت است (Reinhold-Hurek & Hurek, 1998). در جوامع تثبیت کننده ازت و تعاملات میکوریزی، برخی از مولکول‌های سیگنالی (Lapopin & Franken, 2000; Martin et al., 2001; Mirabella et al., 2002; Imaizumi-Anraku et al., 2005) و پروتئین‌های غشایی پلاستید (Imaizumi-Anraku et al., 2005)، برای ورود میکروارگانیسم به ریشه گیاه میزبان و تشکیل همزیستی بسیار مهم می‌باشند. در ارزیابی پتانسیل گونه *Piriformospora indica* برای کاهش خسارت نماتد سیست (SCN) *Heterodera glycines*، به گیاهچه‌های سویا (*Glycine max*)، نتایج نشان داد تلقیح خاک با این قارچ اندوفیت ریشه، سبب کاهش تراکم تخم نماتد خواهدشد. همچنین گیاهچه‌های کشت‌شده در خاک تلقیح‌شده با اندوفیت، رشد بیشتری داشتند و میزان گلدهی در گیاهان بالغ افزایش یافت (Bajaj et al., 2015). نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش سپهری و همکاران (۱۳۸۸)، در بررسی تأثیر قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر رشد و مقاومت گیاه جو تحت تنش شوری، بیانگر اهمیت برقراری ارتباط همزیستی این گونه قارچی با گیاه جو در تحریک رشد گیاه و درنتیجه افزایش عملکرد آن است. قارچ‌های اندوفیت همزیست با گیاهان، به‌صورت بین‌سلولی در برگ‌ها، ساقه، مریستم‌های جوانه و بذرهای میزبان رشد می‌کنند و هیچ‌گونه علائم بیماری در میزبان ایجاد نمی‌کنند (Leuchtman & Schardl, 1998) و ریسه‌ها به ندرت در آوندهای چوبی و آبکش یافت‌می‌شوند (Schulz & Boyle, 2006). نقش مؤثر قارچ‌های اندوفیت در برابر حشرات و حیوانات علف‌خوار گزارش شده‌است (Vega et al., 2008). تنوع زیادی در میان اندوفیت‌های گیاهان علفی از نظر تولید آلکالوئید وجوددارد که باعث ایجاد اختلال در سلامتی حیوانات تغذیه‌کننده می‌شود و ممکن است باعث مقاومت این گیاهان به حشرات آفت شوند. تولید متابولیت‌هایی نظیر آلکالوئیدهای پرآمین و لولین باعث حفاظت میزبان علیه آفات و آلکالوئیدهایی نظیر لولیترم B و ارگووالین باعث مسمومیت حیوانات تغذیه‌کننده می‌شوند (Leuchtman & Schardl, 1998; Bacon & White, 1994). اندوفیت‌ها باعث افزایش فتوسنتز و رشد ریشه گیاه میزبان می‌شوند (Belesky & Fedders, 1995) و عملکرد گیاهان میزبان را افزایش می‌دهند (Marshall et al., 1999). گیاهان آلوده به اندوفیت، عملکرد خوبی در شرایط کمبود ترکیبات نیتروژن نسبت به گیاهان غیرآلوده دارند (دهقانپور و همکاران، ۱۳۸۵). نتایج ارزیابی تأثیر قارچ‌های اندوفیت ریشه بر تحمل گیاه ذرت به فلزات سنگین نشان‌داد که تلقیح ریشه این گیاه با گونه *Exophiala pisciphila*، با جلوگیری از جابه‌جایی یون‌های فلزات سنگین از ریشه به شاخه‌های ذرت، اثرات منفی آنها را کاهش و رشد گیاه میزبان را در خاک آلوده افزایش داده‌است (Li et al., 2011). مشاهدات نشان می‌دهد که در بین قارچ‌ها، یک قارچ میکوریز می‌تواند به‌صورت اندوفیت درون ریشه‌های یک گیاه غیرمیزبان رشد نماید (Villarreal-Ruiz et al., 2004). تنوع و تراکم کلنی‌سازی قارچ‌های اندوفیت در خلال رشد رویشی گیاه میزبان افزایش می‌یابد (Smalla et al., 2001). در فصل پائیز و در پایان مرحله رویشی گیاه میزبان، اسپوردهی غیرجنسی قارچ اندوفیت افزایش خواهدیافت. اندوفیت‌های یک میزبان ممکن است همه‌جازی باشند و یا میزبان اختصاصی داشته باشند (Carroll, 1988; Petrini, 1996; Stone et al., 2000; Berg et al., 2002; Cohen, 2004). برای میکروارگانیسم‌هایی که فقط یک میزبان را کلنیزه می‌کنند از اصطلاح تخصص میزبانی (Schulz & Boyle, 2005) و برای اندوفیت‌های همه‌جازی از اصطلاح ترجیح میزبانی (Carroll, 1999) و یا انحصار میزبانی استفاده‌می‌شود

(Zhou & Hyde, 2001). بنابراین تعامل نشان‌دهنده یک سازگاری بین میزبان و اندوفیت به‌صورت خاص، ترجیحی و یا انحصاری است. سازگاری ممکن است فقط با یک میزبان خاص نباشد اما در رشد اندوفیتی در یک اندام گیاه مانند ریشه‌ها و شاخه‌ها می‌تواند اختصاصی باشد (Petrini, 1991; Hallmann et al., 1997; Sieber, 2002; Schulz & Boyle, 2005).

نتایج تحقیق روی نقش گونه *Veronaeopsis simplex* به عنوان قارچ اندوفیت ریشه نشان‌داد که این گونه با ایجاد یک توده گسترده از میسلیوم خود در اطراف ریشه کلم و همچنین القا مکانیسم مقاومت در آن، اثرات مخرب گونه *Fusarium oxysporum* را به میزان ۷۱ درصد کاهش داده‌است (Khastini et al., 2012).

نتایج بررسی میزان رشد و تأثیر گونه‌های مختلف قارچ‌های اندوفیت و میکوریز در رشد گیاهان میزبان در طیف‌های مختلف pH خاک‌های جنگلی، نشان‌داد که در pH پائین خاک، اندوفیت‌ها جایگزین میکوریزها شده و می‌توانند اثرات منفی اسیدیته بالای خاک را برای گیاهان میزبان خود کاهش دهند. همچنین مشاهده‌شد که قارچ‌های اندوفیت می‌توانند از میزبان خود در برابر ترکیبات سمی خاک مثل آلومینیم حفاظت نمایند (Postma et al., 2007).

در ارزیابی قارچ اندوفیت *Phialocephala europaea* در کنترل گونه‌های *Phytophthora spp.*، نتایج نشان داد که این جدایه اندوفیت توانسته در شرایط آزمایشگاهی با تولید متابولیت‌های ثانویه، میزان رشد گونه *Phytophthora citricola* را کاهش دهد (Telenbach et al., 2013).

به منظور بررسی تأثیر قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر برخی خصوصیات جو در شرایط تنش خشکی، آزمایش گلخانه‌ای صورت گرفت. نتایج نشان‌داد که این قارچ سبب افزایش زیست توده اندام‌های هوایی و ریشه گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان شاهد شد، به طوری که وزن خشک اندام هوایی و ریشه در گیاهان تلقیح شده نسبت به شاهد به ترتیب ۳۹ و ۴۶ درصد افزایش نشان داد. در شرایط تنش، محتوای نسبی آب گیاهان تلقیح شده بالاتر بود. همچنین نتایج نشان‌داد با توجه به امکان کشت این قارچ در محیط کشت مصنوعی و بدون حضور میزبان، امکان استفاده از این قارچ به عنوان عامل محرک رشد گیاه در تولید کود بیولوژیک برای انواع گیاهان زراعی وجود دارد و این قارچ می‌تواند نقش مهمی در نیل به کشاورزی پایدار ایفانماید (قبولی و همکاران، ۱۳۸۹).

در بررسی اثرات تلقیح قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* و ریزوباکتری‌های افزاینده رشد گیاه *Azospirillum sp.* بر رشد و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه گندم تحت تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه انجام‌شد. تیمارهای آزمایشی شامل پنج سطح میکروارگانیسم‌های اندوفیت (قارچ، باکتری، قارچ و باکتری با هم و شاهد)، چهار سطح شوری آب آبیاری (۰/۲، ۴، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) بود. نتایج نشان‌داد که این قارچ تأثیر مثبت و معنی‌داری بر رشد، میزان زی‌توده تر و خشک اندام‌های هوایی، کلروفیل و محلول‌های اسمولیت در گیاهان گندم تلقیح شده تحت شرایط شور و غیر شور داشت، به طوری که کاربرد قارچ منجر به کاهش اثرات شوری و بهبود رشد گیاه گندم گردید. گیاهان تلقیح شده با باکتری نیز از میزان زی‌توده، تجمع اسمولیت‌ها و کلروفیل بیشتری برخوردار بودند. تلقیح با سویه سازگار به شوری باکتری، تأثیر مطلوب‌تری بر کلروفیل و میزان زی‌توده داشت. نتایج این تحقیق نشان‌داد که تحت شرایط شوری می‌توان از میکروارگانیسم‌های اندوفیت در جهت افزایش رشد و

عملکرد گیاه گندم استفاده نمود (حاجی‌نیا و همکاران، ۱۳۹۰).

نتایج پژوهش بررسی جدایه‌های اندوفیت قارچی خانواده سرو نشان‌داد که گونه‌های جنس پنی‌سیلیوم شامل *Penicillium aurantiogriseum*، *P. chrysogenum*، *P. commune*، *P. echinulatum*، *P. expansum* و *P. viridicatum* دارای بیشترین فراوانی در بین تمامی گونه‌های جداسازی شده بودند. نتایج حاکی از آن بود که تنوع گونه‌های اندوفیت و فعالیت زیستی‌شان هم به گونه گیاه و هم به ناحیه نمونه‌برداری بستگی دارد. بررسی‌های بیشتر نشان‌داد که گونه‌های پنی‌سیلیوم جداسازی‌شده دارای اثرات زیستی قابل‌توجهی بودند (حسینی مقدم و همکاران، ۱۳۹۲).

۳. روش‌های ردیابی قارچ‌های اندوفیت

برای ردیابی قارچ‌های اندوفیت، از دو روش کلاسیک و مولکولی استفاده‌می‌شود.

۳-۱. روش کلاسیک

روش کلاسیک بر اساس مشاهده مستقیم، استفاده از محیط‌های کشت و استفاده از روش‌های بیوشیمیایی انجام‌می‌شود. در مشاهده مستقیم، ساختارهای قارچ اندوفیت در اندام زنده گیاه با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی مورد بررسی قرارمی‌گیرد و این روش برای قارچ‌های خاص در اندام‌های خاص (Stone, 1987) و قارچ‌های بیوتروف کاربرد دارد (Deckert et al., 2001; Lucero et al., 2011). در روش تشخیص کلاسیک با استفاده از محیط‌های کشت، نمونه بافت گیاه مورد بررسی، پس از ضدعفونی برای حذف میکروارگانیسم‌های سطحی از جمله قارچ‌های اپی‌فیت، بسته به نوع اندام گیاه (Hallmann et al., 2006)، روی محیط‌های مغذی مانند PDA و MEA (Gonzalez & Tello, 2011; Brum et al., 2012; Douanla-Meli et al., 2013)، کشت می‌شود. این روشی ساده برای جداسازی طیف وسیعی از قارچ‌ها می‌باشد (Stone, 1987). در روش‌های بیوشیمیایی از اسیدهای چرب و مارکرهای بیوشیمیایی استفاده‌می‌گردد (Kubicek & Druzhinina, 2007). ردیابی قارچ‌های اندوفیت در گیاهان علفی از طریق رنگ‌آمیزی با رزبنگال (Saha et al., 1988)، با استفاده از آزمون ELISA (Johnson et al., 1982)، اختلاف آنزیمی با استفاده از آنزیم‌های مختلف برای گروه‌بندی قارچ‌های اندوفیت و استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال برای ردیابی گونه‌های *Neotyphodium sp.* به عنوان قارچ اندوفیت انجام شده است (Hiatt et al., 1997).

۳-۲. روش مولکولی

در روش مولکولی از انگشت‌نگاری DNA (Pancher et al., 2012)، مارکرهای DGGE[1] (Gotz et al., 2006)، SSR[2]، RAPD[3] (Burgess et al.,; Liang et al., 2005) و ردیابی‌ژنی با طراحی آغازگرهای اختصاصی بر اساس یک ژن 2001خاص (Gao et al., 2005; Duong et al., 2006; Uren et al., 2009; Sun & Guo, 2012)، استفاده‌می‌شود. در این روش پس از نمونه‌گیری از بافت موردنظر و استخراج DNA جدایه قارچی، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی به بررسی وجود قارچ در بافت میزبان پرداخته‌می‌شود. جداسازی و شناسایی قارچ‌های اندوفیت، فرآیندی انتخابی و وابسته به روش است و قارچ جداسازی‌شده از بافت گیاهی تحت‌تأثیر روش ضدعفونی کردن سطحی، شرایط انکوباسیون و توانایی اسپوردهی جدایه قارچی در محیط

[1] Denaturing Gradient Gel Electrophoresis

[2] Simple Sequence Repeat

[3] Random Amplified Polymorphic DNA

کشت قرارمی‌گیرد (Guo et al., 2001; Hyde & Soytong, 2008).

۴. روش‌های شناسایی قارچ‌های اندوفیت

شناسایی قارچ‌های اندوفیت به دو روش مبتنی بر ویژگی‌های مورفولوژیک و مبتنی بر توالی‌یابی مولکولی صورت می‌گیرد.

۴-۱. روش‌های مبتنی بر ویژگی‌های مورفولوژیکی

شناسایی مورفولوژیکی جدایه‌های قارچی با استفاده از کلیدهای معتبر شناسایی و بر اساس ویژگی‌های ماکروسکوپی پرگنه شامل رنگ سطح و پشت پرگنه، نحوه رشد، تشکیل اندام باردهی، حضور یا عدم حضور رنگدانه، چین‌دار بودن یا نبودن پرگنه، وجود یا عدم وجود هاله، قطر و شکل پرگنه و ویژگی‌های میکروسکوپی پرگنه مانند مشخصات ریسه و اسپور صورت می‌گیرد (Su et al., 2010; Ghimire et al., 2011; Gonzalez & Tello, 2011; Rhocha et al., 2011). اساس شناسایی مورفولوژیکی، خصوصیات اسپور قارچ می‌باشد و با توجه به این‌که برخی از قارچ‌های اندوفیت اسپور تولید نمی‌کنند، بر این اساس این قارچ‌ها را به دو دسته دارای اسپور و فاقد اسپور تقسیم‌بندی می‌کنند. در مطالعات مبتنی بر خصوصیات مورفولوژیکی، قارچ‌های فاقد اسپور را Mycelia sterilia نام‌گذاری کرده‌اند (Petrini, 1991; Johnson & Whitney, 1992). مطالعات زیادی برای تحریک قارچ‌های اندوفیت به اسپوردهی صورت گرفته‌است (Guo et al., 1998; Wang et al., 2004).

۴-۲. روش‌های مبتنی بر توالی‌یابی مولکولی

برای شناسایی قارچ‌های اندوفیت و به‌ویژه قارچ‌های فاقد اسپور، از روش شناسایی مولکولی استفاده می‌شود. در این روش توالی اسیدهای نوکلئیک و فرآورده آن (پروتئین‌ها)، بررسی می‌گردد (Koko et al., 2011).

۴-۲-۱. ژن‌های مورداستفاده در تاکسونومی مولکولی قارچ‌های اندوفیت

ژن‌های مورداستفاده در تاکسونومی مولکولی قارچ‌ها شامل سه گروه DNA ریبوزومی هسته، DNA میتوکندریایی و مطالعه ژن‌های پروتئینی است (خداپرست، ۱۳۸۹؛ Berbee & Taylor, 2001).

۴-۲-۱-۱. DNA ریبوزومی هسته

یکی از قسمت‌های مهم ژنوم قارچ‌ها مورداستفاده در مطالعات فیلوژنتیکی و تاکسونومیکی، DNA تکرارشونده است. مهم‌ترین DNA تکرارشونده در قارچ‌ها، DNA ریبوزومی است که در همه قارچ‌ها وجود دارد. هر واحد rDNA از سه زیر واحد ژنی 5.8s، 18s و 28s تشکیل شده است. بین این سه زیر واحد، دو بخش جداکننده داخلی ITS1 و ITS2 قرار گرفته‌است که نواحی بیان‌شونده را از هم جدا کرده‌است. این سه زیر واحد همواره به دنبال همدیگر روی کروموزوم قرار می‌گیرند و به‌صورت یک واحد بیان می‌شوند. هر یک از نسخه‌های ژنی، به وسیله جداکننده بین ژنی IGS از واحد بعدی جدا می‌شود. ژن دیگری به نام *5s* وجود دارد که در قارچ‌های شاخه بازیدیومیکوتا به دنبال این سه زیر واحد قرار گرفته‌اند ولی در سایر قارچ‌ها، روی کروموزوم‌های متفاوتی قراردارند. در این توالی‌های تکرارشونده فرآیندی اتفاق می‌افتد که نسخه‌های متعدد آن را در یک فرد به طرف یکنواختی و همولوژی سوق می‌دهد و آنها را برای مطالعه آسان می‌کند. از سوی دیگر، وجود تکرارهای زیاد در این ژن‌ها، امکان استخراج، دسترسی و تکثیر آنها را به وسیله واکنش‌زنجیره‌ای‌پلیمراز فراهم می‌سازد. سرعت تغییر و جهش این نواحی یکسان نیست.

ژن‌های *5.8s* به دلیل ثبات بسیار زیاد، کارایی بالایی ندارند. هر چه سرعت جهش کمتر باشد از آن ژن می‌توان برای شناخت روابط تکاملی و تاکسونومیکی آرایه‌های بالاتر استفاده‌نمود. ژن *18s* در بررسی روابط فیلوژنتیکی راسته‌ها، خانواده‌ها و آرایه‌های بالاتر، استفاده‌می‌شود. ژن‌های *28s* برای جنس‌ها و آرایه‌های بالاتر و گاهی گونه‌های یک جنس استفاده‌می‌شوند (خداپرست، ۱۳۸۹). نواحی ITS و IGS دارای تنوع بیشتری نسبت به بخش‌های دیگر هستند و برای بررسی روابط فیلوژنتیک گونه‌های یک جنس و یا داخل گونه‌ای استفاده می‌شوند (Schoch et al., 2012).

۴-۲-۱-۲. DNA میتوکندریایی

ژنوم میتوکندریایی نیز واجد ژن‌های ریبوزومی است. یکی از این ژن‌های مورد استفاده در مورد برخی از قارچ‌ها، ژن سیتوکروم اکسیداز می‌باشد (Berbee & Taylor, 2001).

۴-۲-۱-۳. مطالعه ژن‌های پروتئین‌های خاص

تعدادی از ژن‌هایی که برای مطالعات تاکسونومیکی و فیلوژنتیکی استفاده‌شده‌است شامل EF-a1، ژن کیتین، ژن آلفا توبولین، ژن‌های کیتین سنتتاز، ژن زیر واحد بزرگ پلی‌مراز I (RPB1) و ژن زیر واحد بزرگ پلی‌مراز II (RPB2) می‌باشد. ژن‌های آلفا و بتا توبولین در قارچ‌ها و میکروسپوریدیا (Keeling, 2003) به استثنای کیتریدیومیست‌ها، تنوع ژنتیکی بالایی نشان‌می‌دهند (خداپرست، ۱۳۸۹).

۴-۲-۲. روش‌های استفاده از داده‌های مبتنی بر DNA

روش‌های استفاده از داده‌های مبتنی بر DNA شامل توالی‌یابی DNA، چند شکلی در طول قطعات برشی (RFLP)، PCR-RFLP، چند شکلی تکثیر تصادفی DNA (RAPD)، ساخت آغازگرهای اختصاصی بر اساس یک ژن خاص، PCR با آغازگرهای عمومی (UP-PCR) و نواحی تکثیرشده با توالی مشخص (SCAR) می‌باشد.

۴-۲-۲-۱. توالی‌یابی DNA

روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)، از جمله روش‌هایی است که مشابه روش سنتز DNA در سلول، در شرایط آزمایشگاهی برای تکثیر DNA بکار می‌رود (Pancher et al., 2012). در این روش، کل DNA تکثیر نمی‌شود و تنها بخش خاصی از ژن در داخل کل ژنوم، ردیابی و به مقدار زیاد تکثیر می‌شود. ابتدا DNA قارچ مورد نظر، استخراج می‌گردد (Raeder & Broda, 1985; Prabha et al., 2012). سپس در شرایط آزمایشگاه، مواد اولیه ساخت DNA شامل نوکلئوتیدها، آغازگرها و شرایط فعالیت آنزیم در یک محلول مناسب و در داخل لوله‌آزمایش فراهم می‌شود. در طی چهار مرحله، در دستگاه ترموسایکلر، تعداد رشته‌های DNA به‌صورت تصاعدی افزایش می‌یابد و ژن مورد نظر به میزان کافی به تعداد میلیون‌ها نسخه تکثیر می‌شود. این چهار مرحله شامل واسرشت‌سازی، اتصال آغازگر، بسط و تولید رشته DNA و بسط‌نهایی است. در نهایت، توالی بدست‌آمده بر اساس داده‌های‌موجود در پایگاه بانک‌های اطلاعاتی ژن، نظیر NCBI[4]، DDBJ[5] و EMBL[6] مقایسه می‌شود (Watanabe et al., 2010; Zhang et al., 2010) که شناسایی دقیق‌تر را می‌توان با استفاده از نرم‌افزارهایی از قبیل MEGA، Splits Tree، UGENE و BioEdit انجام‌داد. این نرم‌افزارها امکان رسم درخت

[4] National Center for Biotechnology Information

[5] DNA Data Bank of Japan

[6] European Molecular Biology Laboratory

فیلوژنی نزدیک‌ترین خویشاوندی را با گونه‌های مشابه در پایگاه اطلاعاتی فراهم می‌نمایند.

۵. فیلوژنی

فیلوژنی مولکولی و مقایسه تکاملی بین گونه‌های نزدیک، نزدیک‌ترین روابط قارچی را تعیین و گروه‌های طبیعی را در داخل قارچ‌های حقیقی تعریف می‌کند. مارکرهای مولکولی روی بیولوژی جمعیت قارچ‌ها تأثیر داشته و به تعیین گونه‌های ناشناخته کمک می‌کنند و مشکلات موجود در بیولوژی، مورفولوژی و اکولوژی قارچ‌ها را توضیح می‌دهد (James et al., 2006). استفاده از آنالیز چند ژن در مطالعات فیلوژنیک مرسوم شده‌است (Hakizimana et al., 2011). آنالیز لوکوس‌های مختلف می‌تواند بسیاری از مشکلات فیلوژنی را بر طرف نماید (De Jong et al., 2001).

۶. بارکدگذاری DNA برای تشخیص گونه در قارچ‌ها

بارکدگذاری DNA برای شناسایی گونه‌های قارچی بر اساس توالی کوتاه یک یا چند ژن ابداع شد. به منظور ایجاد یک روش مولکولی استاندارد برای تشخیص گونه‌های یوکاریوت، پروژه بارکدگذاری حیات زنده، نخستین‌بار در دانشگاه گلف شروع شد (IBOL:www.ibol.org).

۷. نواحی ژنی مورد مطالعه

تمام ناحیه ITS در قارچ‌های آسکومیکوتا و بازیدیومیکوتا در حد متوسط ۵۰۰ الی ۶۰۰ جفت باز می‌باشد و مابقی قارچ‌ها در محدوده ۶۰۰ جفت می‌باشد (Porter & Brian Golding, 2011). **ITS** از جمله ژن‌هایی است که در قارچ‌ها برای بارکدگذاری DNA به‌طور گسترده مورد استفاده قرار گرفته‌است (Debeeck et al., 2014). بیشتر پرایمرهایی که برای شناسایی قارچ‌ها استفاده‌شده شامل پرایمرهای ITS1، ITS2، ITS3 و ITS4 (White et al., 1990)، پرایمرهای ITS1F و ITS4B (Gardes & Bruns, 1993)، پرایمرهای ITS86F و ITS4 (Debeeck et al., 2014) و پرایمرهای ITS4 و ITS5 (Ahmed et al., 1999; Bellemain et al., 2010) بوده‌است. مطالعات زیادی در رابطه با جفت پرایمرهای نواحی ITS انجام شده‌است (Jumpponen & Jones, 2009; Tedersoo et al., 2010) تا جفت پرایمرهای مناسب را معرفی نمایند.

در تحقیقی به منظور بررسی روش‌های کلاسیک و آغازگرهای اختصاصی در ردیابی قارچ‌های اندوفیت در گیاهان علفی تیره گندمیان، بیست جدایه قارچ از چهار میزبان مرتعی جداسازی‌شد. نتایج نشان‌داد که با توجه به تفسیر دندوگرام، قارچ‌های اندوفیت در هر میزبان مشابه بودند. در این تحقیق، DNA قارچ‌های اندوفیت پس از استخراج، با استفاده از یک گروه آغازگر عمومی ITS1 و ITS4 و دو گروه آغازگر اختصاصی IS1 و IS3، طی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز تکثیر شده و حضور قارچ اندوفیت *Neotyphodium sp.* در آنها مورد بررسی قرارگرفت. تمام نمونه‌ها با آغازگرهای ITS1 و ITS4 ایجاد باندی بین bp ۷۵۰–۵۵۰ نمودند که این باند براساس منابع موجود، نشانه وجود قارچ اندوفیت است. آغازگرهای 1-11 و 2-11 با برخی نمونه‌ها ایجاد باند bp ۱۰۰۰ نمودند که این باند مختص جنس *Neotyphodium sp.* است (گنجعلی و همکاران، ۱۳۸۳).

در بررسی قارچ‌های اندوفیت، با کاربرد مقایسه‌ای الگوهای PCR-RFLP مناطق ITS و ژن *5.8S* در تاکسونومی قارچ‌های اندوفیت *Neotyphodium*، قارچ‌های اندوفیت از میزبان‌های گیاهی *Festuca ovina*، *F. pratensis*، *F. arundinacea*، *Bromus tomentellus*، *Melica persica* و *Lolium prenne* جداسازی و شناسایی شد. پس از استخراج

ژنومی این جدایه‌ها، به منظور تائید حضور گونه‌های اندوفیت، از سه جفت آغازگر ITS1/ITS4، IS1I/S3 و $11_1/11_2$ استفاده گردید. نتایج حاصل از PCR نشان داد که اکثر جدایه‌های مورد استفاده در این پژوهش، از گروه قارچ‌های اندوفیت و از جنس *Neotyphodium* بودند. نتایج PCR-RFLP نشان داد که جز در چند مورد، نتایج حاصل از هضم آنزیمی با نتایج حاصل از بررسی خصوصیات مورفولوژیکی و انجام واکنش PCR با سه جفت آغازگر مذکور هم‌خوانی داشت (دهقانپور و همکاران، ۱۳۸۵).

کریمی و همکاران (۱۳۸۸) در پژوهشی مشابه، تنوع ژنتیکی قارچ‌های اندوفیت از جنس *Neotyphodium* در گندمیان *Festuca arundinacea*، *F. pratensis* و *Lolium prenne* با استفاده از نشانگرهای مولکولی AFLP مورد بررسی قراردادند. بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی، قارچ‌های اندوفیت جنس *Neotyphodium* انتخاب‌گردید. ترکیب آغازگری IS1/IS3 با قارچ‌های انتخابی، باند ۴۴۴ bp که اختصاصی جنس *Neotyphodium* است تکثیر نمود که موید شناسایی درست مورفولوژیک جنس قارچ‌های مورد نظر بود.

منابع

حاجی‌نیا، س.، زارع، م.، محمدی گل‌تپه، ا. و رجالی، ف. (۱۳۹۰). بررسی سودمندی قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* و باکتری *Azospirillum* sp. درافزایش تحمل گندم رقم سرداری (*Triticum aestivum*) به تنش شوری. تنش‌های محیطی در علوم زراعی، جلد ۴ (۱)، صفحات ۳۱-۲۱.

حسینی‌مقدم، م.، سلطانی، ج.، باب‌الحوائجی، ف.، حمزه‌ای، ج.، ناظری، س. و میرزایی، س. (۱۳۹۲). فعالیت‌های زیستی پنی‌سیلیوم‌های اندوفیت گیاهان خانواده سرو. بیماری‌های گیاهی، جلد ۲ (۴)، صفحات ۴۴۵-۴۳۳.

خداپرست، س.ا. (۱۳۸۹). سلسله قارچ‌ها. دانشگاه گیلان.

دهقانپور، س.، شریف‌نبی، ب. و میرلوحی، آ. (۱۳۸۵). کاربرد مقایسه‌ای الگوهای PCR-RFLP مناطق ITS و ژن *5.8S* در تاکسونومی قارچ‌های اندوفیت *Neotyphodium*. رستنیها، جلد ۷ (۱)، صفحات ۱۵-۱.

سپهری، م.، صالح‌راستین، ن.، حسینی‌سالکده، ق. و خیام‌نکویی، م. (۱۳۸۸). بررسی تأثیر قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر بهبود رشد و افزایش مقاومت گیاه جو به تنش شوری. مرتع، سال ۳ (۳)، صفحات ۵۱۸-۵۰۸.

قبولی، م.، شهریاری، ف.، سپهری، م.، مرعشی، ح. و حسینی‌سالکده، ق. (۱۳۸۹). تأثیر قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر برخی خصوصیات جو در شرایط تنش خشکی. بوم‌شناسی کشاورزی، جلد ۳ (۳)، صفحات ۳۳۶-۳۲۸.

کریمی، س.، میرلوحی، آ.، سیدطباطبایی، ب. و شریف‌نبی، ب. (۱۳۸۸). تنوع ژنتیکی قارچ‌های اندوفیت از جنس *Neotyphodium* در سه گونه از گندمیان ایران با استفاده از نشانگرهای مولکولی AFLP. رستنیها، جلد ۱۰ (۱)، صفحات ۴۸-۳۸.

گنجعلی، ر.، شریف‌نبی، ب. و میرلوحی، آ. (۱۳۸۳). روش‌های کلاسیک و آغازگرهای اختصاصی در ردیابی قارچ‌های اندوفیت در برخی گرامینه‌های علفی. رستنیها، جلد ۵ (۱)، صفحات ۵۱-۳۷.

Ahmed, A.O., Mukhtar, M.M., Kools-Sijmons, M., Fahal, A.H., De Hoog, S., Van De Ende, B.G., Zijlstra, E.E., Verbrugh, H., El Sir, A. and Elhassan, A.M. (1999). Development of a species-specific PCR-restriction fragment length polymorphism analysis procedure for identification of *Madurella mycetomatis*. Journal of clinical microbiology 37 (10):3175-3178.

Arnold, A.E., Mejia, L.C., Kyllo, D., Rojas, E.I., Maynard, Z., Robbins, N. and Herre, E.A. (2003). Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. Proceedings of the national academy of sciences 100 (26):15649-15654.

Arnold, A.E. and Lutzoni, F. (2007). Diversity and host range of foliar fungal endophytes: are tropical leaves biodiversity hotspots? Ecology 88 (3):541-549.

De Beeck, M.O., Lievens, B., Busschaert, P., Declerck, S., Vangronsveld, J. and Colpaert, J.V. (2014). Comparison and validation of some ITS primer pairs useful for fungal metabarcoding studies. PLOS One 9 (6):1-11.

Deckert, R.J., Melville, L.H. and Peterson, R.L. (2001). Structural features of a *Lophodermium* endophyte during the cryptic life-cycle phase in the foliage of *Pinus strobus*. Mycological Research 105 (8):991-997.

De Jong, S.N., Levesque, C.A., Verkley, G.J., Abeln, E.C., Rahe, J.E. and Braun, P.G. (2001). Phylogenetic relationship among *Neofabraea* species causing tree cankers and bull's-eye rot of apple based on DNA sequencing of ITS nuclear rDNA, mitochondrial rDNA and the β-tubulin gene. Mycological Research 105 (6):658-669.

Douanla-Meli, C., Langer, E. and Mouafo, F.T. (2013). Fungal endophyte diversity and community patterns in healthy and yellowing leaves of *Citrus limon*. Fungal Ecology 6 (3):212-222.

Duong, L.M, Jeewon, R., Lumyong, S. and Hyde, K.D. (2006). DGGE coupled with ribosomal DNA gene phylogenies reveal uncharacterized fungal phytotypes. Fungal Diversity 23 (1):121-138.

Fisher, P., Petrini, O. and Scott, H.L. (1992). The distribution of some fungal and bacterial endophytes in maize (*Zea mays* L.). New Phytologist 122 (2):299-305.

Foyer, C.H. and Shigeoka, S. (2011). Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis. Plant physiology 155 (1):93-100.

Freeman, S. and Rodriguez, R.J. (1993). Genetic conversion of a fungal plant pathogen to a nonpathogenic, endophytic mutualist. Science 260:75-78.

Gao, X.X., Zhou, H., Xu, D.Y., Yu, C.H., Chen, Y.Q. and Qu, L.H. (2005). High diversity of endophytic fungi from the pharmaceutical plant, *Heterosmilax japonica* Kunth revealed by cultivation-independent approach. FEMS Microbiology letters 249 (2):255-266.

Gardes, M. and Bruns, T.D. (1993). ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes application to the identification of mycorrhizae and rust. Molecular Ecology 2 (2):113-118.

Ghimire, S.R., Charlton, N.D., Bell, J.D., Krishnamurthy, Y.L. and Craven, K.D. (2011). Biodiversity of fungal endophyte communities inhabiting switchgrass (*Panicum virgatum* L.)

Bacon, C. and White, J. (1994). Biotechnology of endophytic fungi of grasses. CRC press, Inc. 47-56.

Bajaj, R., Hu, W., Huang, Y., Chen, S., Prasad, R., Varma, A. and Bushley, K.E. (2015). The beneficial root endophyte *Piriformospora indica* reduces egg density of the soybean cyst nematode. Bio Control. 90:193-199.

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

Belesky, D.P. and Fedders, J.M. (1995). Tall fescue development in response to *Acremonium coenophialum* and soil acidity. Crop sci. 35:529-553.

Bellemain, E., Carlsen, T., Brochmann, C., Coissac, E., Taberlet, P. and Kauserud, H. (2010). ITS as an environmental DNA barcode for fungi: an *in silico* approach reveals potential PCR biases. BMC Microbiology 10:189.

Berbee, M.L. and Taylor, J.W. (2001). Fungal molecular evolution: gene trees and geologic time. Systematics and Evolution, Springer, pp. 229-245.

Berg, G., Roskot, N., Steidle, A., Eberl, L., Zock, A. and Smalla, K. (2002) Plant-dependent genotypic and phenotypic diversity of antagonistic rhizobacteria isolated from different *Verticillium* host plants. Appl Environ Microbiol 68:3328-3338.

Brum, M.C., Araujo, W.L., Maki, C.S. and Azevedo, J.L. (2012). Endophytic fungi from *Vitis labrusca* L. (Niagara Rosada) and its potential for the biological control of *Fusarium oxysporum*. Gen. Mol. Res. 11 (4):4187-4197.

Burgess, T., Wingfield, M.J. and Wingfield, B.W. (2001). Simple sequence repeat markers distinguish among morphotypes of *Sphaeropsis sapinea*. Applied and Environmental Microbiology 67 (1):354-362.

Caldwell, B.A., Jumpponen, A. and Trappe, J.M. (2000). Utilization of major detrital substrates by dark-septate, root endophytes. Mycologia 92:230-232.

Carroll, G.C. (1988). Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiont. Ecology 69:2-9.

Carroll, G.C. (1999). The foraging Ascomycete. XVI International Botanical Congress, St Louis, MN.

Cohen, S.D. (2004). Endophytic-host selectivity of *Discula umbrinella* on *Quercus alba* and *Quercus rubra* characterized by infection, pathogenicity and mycelial compatibility. Eur J Plant Pathol 110:713-721.

crucial for symbiotic fungal and bacterial entry into plant roots. Nature 433:527-531.

James, T.Y., Kauff, F., Schoch, C.L., Matheny, P.B., Hofstetter, V., Cox, C.J., Celio, G., Gueidan, C., Fraker, E. and Miadlikowska, J. (2006). Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. Nature 443 (7113):818-822.

Johnson, M., Pirone, T., Siegel, M. and Varney, D. (1982). Detection of *Epichloe typhina* in tall fescue by means of enzyme-linked immunosorbent assay. Phytopathology 72 (6):647-650.

Johnson, J. and Whitney, N. (1992). Isolation of fungal endophytes from black spruce (*Picea mariana*) dormant buds and needles from New Brunswick, Canada. Canadian Journal of Botany 70 (9):1754-1757.

Jumpponen, A. and Jones, K. (2009). Massively parallel 454 sequencing indicates hyperdiverse fungal communities in temperate *Quercus macrocarpa* phyllosphere. New Phytologist 184 (2):438-448.

Keeling, P.J. (2003). Congruent evidence from α-tubulin and β-tubulin gene phylogenies for a zygomycete origin of microsporidia. Fungal Genetics and Biology 38 (3):298-309.

Khastini, R.O., Ohta, H. and Narisawa, K. (2012). The role of a dark septate endophytic fungus, *Veronaeopsis simplex* Y34, in *Fusarium* disease suppression in Chinese cabbage. The microbiology. 50 (4):618-624.

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.

Koko, T.W., Stephenson, S.L., Bahkali, A.H. and Hyde, K.D. (2011). From morphology to molecular biology: can we use sequence data to identify fungal endophytes? Fungal Diversity 50 (1):113-120.

Kubicek, C.P. and Druzhinina, I.S. (2007). Environmental and microbial relationships. The mycota IV. Springer Berlin Heidelberg NewYork, pp. 215.

Kumar, D.S. and Hyde, K.D. (2004). Biodivrsity and tissue-recurrence of endophytic fungi in *Tripterygium wilfordii*. Fungal Divers 17:69-90.

Lana, T., Azevedo, J., Pomella, A., Monteiro, R., Silva, C. and Araujo, W. (2011). Endophytic and pathogenic isolates of the cacao fungal pathogen *Moniliophthora perniciosa* (Tricholomataceae) are growing in the native tallgrass prairie of northern Oklahoma. Fungal Diversity 47 (1):19-27.

Gonzalez, V. and Tello, M.L. (2011). The endophytic mycota associated with *Vitis vinifera* in central Spain. Fungal Diversity 47 (1):29-42.

Gotz, M., Nirenberg, H., Krause, S., Wolters, H., Draeger, S., Buchner, A., Lottmann, J., Berg, G. and Smalla, K. (2006). Fungal endophytes in potato roots studied by traditional isolation and cultivation-independent DNA-based methods. FEMS microbiology ecology 58 (3):404-413.

Gou, L.D., Hyde, K.D. and Liew, E.C. (1998). A method to promote sporulation in palm endophytic fungi. Fungal Diversity 1:109-113.

Gou, L.D., Hyde, K.D. and Liew, E.C. (2001). Detection and taxonomic placement of endophytic fungi within frond tissues of *Livistona chinensis* based on rDNA sequences. Molecular phylogenetics and evolution 20 (1):1-13.

Hakizimana, J., Gryzenhout, M., Coutinho, T. and Van Den Berg, N. (2011). Endophytic diversity in *Persea americana* (avocado) trees and their ability to display biocontrol activity against *Phytophthora cinnamomi*. Proceeding VII World Avocado Congress, Cairns, Australia, pp. 1-10.

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

Hallmann, J., Berg, G. and Schulz, B. (2006). Isolation procedures for endophytic microorganisms. Microbial Root Endophytes. Schulz B.E., Boyle C.C. and Sieber T., Springer Berlin Heidelberg. 9:299-319.

Hiatt, E., Hill, N., Bouton, J. and Mims, C. (1997). Monoclonal antibodies for detection of *Neotyphodium coenophialum*. Crop Science 37 (4):1265-1269.

Huang, W., Cai Y., Hyde, K., Corke, H. and Sun, M. (2008). Biodiversity of endophytic fungi associated with 29 traditional Chinese **medicinal plants. Fungal divers 33:61-75.**

Hyde, K. and Soytong, K. (2008). The fungal endophyte dilemma. Fungal Divers 33:163-173.

Imaizumi-Anraku, H., Takeda, N., Charpentier, M., Perry, J., Miwa, H., Umehara, Y., Kouchi, H., Murakami, Y., Mulder, L., Vickers, K., Pike, J., Downie, J.A., Wang, T., Sato, S., Asamizu, E.E., Tabata, S., Yoshikawa, M., Murooka, Y., Wu, G., Kawaguchi, M., Kawasaki, S., Parniske, M. and Hayashi, M. (2005). Plastid proteins

grasses and woody plants. APS, St Paul, MN, pp87-100.

Porter, T.M. and Brian Golding, G. (2011). Are similarity or phylogeny based methods more appropriate for classifying internal transcribed spacer (ITS) metagenomics amplicons? New Phytologist 192 (3): 775-782.

Postma, J.W., Olsson, P.A., Falkengren-Grerup, U. (2007). Root colonisation by arbuscular mycorrhizal, fine endophytic and dark septate fungi across a pH gradient in acid beech forests. Soil biology and biochemistry, 39:400-408.

Prabha, T., Revathi, K., Vinod, M., Shanthakumar, S. and Bernard, P. (2012). A simple method for total genomic DNA extraction from water moulds. Curr. Sci. 104:345-347.

Raeder, U. and Broda, P. (1985). Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. Letters in Applied Microbiology 1 (1):17-20.

Reinhold-Hurek, B. and Hurek, T. (1998). Life in grasses: diazotrophic endophytes. Trends Microbiol 6:139-144.

Rhocha, A.C., Garcia, D., Uetanabaro, A.P., Carneiro, R.T., Araujo, I.S., Mattos, C.R. and Goes-Neto, A. (2011). Foliar endophytic fungi from *Hevea brasiliensis* and their antagonism on *Microcyclus ulei*. Fungal Diversity 47 (1):75-84.

Saha, D., Jackson, M. and Johnson-Cicalese, J. (1988). A rapid staining method for detection of endophytic fungi in turf and forage grasses. Phytopathology 78 (2):237-239.

Schoch, C.L., Seifert, K.A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J.L., Levesque, C.A., Chen, W., Fungal Barcoding Consortium and Fungal Barcoding Consortium Author List (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal Dna barcode marker for Fungi. PNAS 109 (16):6241-6246.

Schulz, B., Boyle, C., Draeger, S., Römmert, A.K. and Krohn, K. (2002). Endophytic fungi: a source of biologically active secondary metabolites. Mycol Res 106:996-1004.

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

Schulz, B. and Boyle, C. (2006). What are Endophytes? Soil biology, Volume 9, pp 1-13.

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

Smalla, K., Wieland, G., Buchner, A., Zock, A., Parzy, J., Roskot, N., Heuer, H. and Berg, G. (2001). Bulk and rhizosphere soil bacterial indistinguishable based on genetic and physiological analysis. Gen. Mol. Res. 10:326-334.

Lapopin, L. and Franken, P. (2000). Modification of plant gene expression. In: Kapulnik Y., Douds D.D. (eds) Arbuscular mycorrhizas: physiology and function. Kluwer, Dordrecht, pp69-84.

Leuchtman, A. and Schardl, C. (1998). Mating compatibility and phylogenetic relationships among two new species of *Epichloe* and other congeneric European species. Myco. Res. 102:1169-1182.

Li, T., Liu, M.J., Zhang, H.B., Sha, T. and Zhao, Z.W. (2011). Improved tolerance of maize (*Zea mays* L.) to heavy metals by colonization of a dark septate endophyte (DSE) *Exophiala pisciphila*. Science of the total environment. 409:1069-1074.

Liang, Y., Guo, L.D. and Ma, K.P. (2005). Population genetic structure of an ectomycorrhizal fungus Amanita manginiana in a subtropical forest over two years. Mycorrhiza 15 (2):137-142.

Lucero, M.E., Unc, A., Cooke, P., Dowd, S. and Sun, S. (2011). Endophyte microbiome diversity in micropropagated *Atriplex canescens* and *Atriplex torreyi* var griffithsii. PLOS One 6 (3):1-12.

Marshall D., Tunali B. and Nelson L. (1999) Occurrence of fungal endophytes in species of wild *Triticum*. Crop sci. 39:1507-1512.

Martin, F., Duplessis, S., Ditengou, F., Lagrange, H., Voiblet, C. and Lapeyrie, F. (2001). Developmental cross talking in the ectomycorrhizal symbiosis: signals and communication genes. New Phytol 151:145-154.

Mirabella, R., Franssen, H. and Bisseling, T. (2002). LCO signalling in the interaction between rhizobia and legumes In: Scheel D., Wasternack C. (eds) Plant signal transduction. Oxford University Press, Oxford, New York, pp250-271.

Naik, B.S., Shashikala, J. and Krishnamurthy, Y. (2008). Diversity of fungal endophytes in shrubby medicinal plants of Malnad region, Western Ghats, Southern India. Fungal Ecology 1 (2):89-93.

Pancher, M., Ceol, M., Corneo, P.E., Longa, C.M., Yousaf, S., Pertot, I. and Campisano, A. (2012). Fungal endophytic communities in grapevines (*Vitis vinifera* L.) respond to crop management. Appl. Environ. Microbiol. 78 (12):4308-4317.

Petrini, O. (1991). Fungal endophytes of tree leaves. In: Andrews J., Hirano S. (eds) Microbial ecology of leaves. Springer, New York Berlin Heidelberg, pp179-197.

Petrini, O. (1996). Ecological and physiological aspects of host specificity in endophytic fungi In: Redlin S.C., Carris L.M. (eds) Endophytic fungi in

neotropical pioneer tree: a case study for analysing fungal environmental samples. Mycol. Res. 113 (4):432-449.

Vega, F.E., Posada, F., Aime, M.C., Pava-Ripoll, M., Infante, F. and Rehner, S.A. (2008). Entomopathogenic fungal endophytes. Biological Control 46 (1):72-82.

Villarreal-Ruiz, L., Anderson, I.C. and Alexander, I.J. (2004). Interaction between an isolate from the *Hymenoscyphus ericae* aggregate and roots of *Pinus* and *Vaccinium*. New Phytol 164:183-192.

Wang, J., Ren, A., Xie, F., Wie, Y. and Gao, Y. (2004). Some methods in promoting sporulation of endophytic fungi in *Lolium perenne*. Mycosystema 24 (4):590-596.

Wang, Y. and Gou, L.D. (2007). A comparative study of endophytic fungi in needles, bark and xylem of *Pinus tabulaeformis*. Canadian journal of botany 85 (10):911-917.

Watanabe, K., Motohashi, K. and Ono, Y. (2010). Description of *Pestalotiopsis pallidotheae*: a new species from Japan. Mycoscience 51 (3):182-188.

White, T.J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR protocols: a guide to methods and applications 18:315-322.

Zhang, X., Ren, A., Ci, H. and Gao, Y. (2010). Genetic diversity and structure of *Neotyphodium* species and their host *Achnatherum sibiricum* in a natural grass-endophyte system. Microbial Ecology 59 (4):744-756.

Zhou, D. and Hyde, K. (2001). Host-specificity, host-exclusivity and host-recurrence in saprobic fungi. Mycol Res 105:1449-1457

communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: plant dependent enrichment and seasonal shifts. Appl Environ Microbiol 67:4742-4751.

Stone, J.K. (1987). Initiation and development of latent infections by *Rhabdocline parkeri* on Douglas-fir. Can J Bot 65:2614-2621.

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.

Su, Y.Y., Guo, L.D. and Hyde, K. (2010). Response of endophytic fungi of *Stipa grandis* to experimental plant function group removal in Inner Mongolia steppe China. Fungal Diversity 43 (1):93-101.

Sun, X. and Guo, L.D. (2012). Endophytic fungal diversity: review of traditional and molecular techniques. Mucology 3 (1):65-76.

Tadych, M., Bergen, M.S., Johnson-Cicalese, J., Polashock, J., Vorsa, N. and White, Jr, J.F. (2012). Endophytic and pathogenic fungi of developing cranberry ovaries from flower to maturefriut: diversity and succession. Fungal Diversity 54 (1):101-116.

Tedersoo, L., Nilsson, R.H., Abarenkov, K., Jairus, T., Sadam, A., Saar, I., Bahram, M., Bechem, E., Chuyong, G. and Koljalg, U. (2010). 454 Pyrosequencing and Sanger sequencing of tropical mycorrhizal fungi provide similar results but reveal substantial methodological biases. New Phytologist 188 (1):291-301.

Telenbach, C., Sumarah, M.W., Grunig, C.R. and Miller, J.D. (2013). Inhibition of *Phytophthora* species by secondary metabolites produced by the dark septate endophyte *Phialocephala europaea*. Fungal ecology. 6:12-18.

Tudzynski, B. (1997). Fungal phytohormones in pathogenic and mutualistic associations In: Carroll, G.C., Tudzynski, P. (eds) The mycota V. Springer, Berlin Heidelberg NewYork, pp167-184.

Tudzynski, B. and Sharon, A. (2002). Biosynthesis, biological role and application of fungal hormones. In: Osiewacz H.D. (ed) The mycota X Industrial applications, Springer, Berlin Heidelberg NewYork, pp 183-211.

Uren, J.M., Dalling, J.W., Gallery, R.E., Maddison, D.R., Davis, E.C., Gibson, C.M. and Arnold, A.E. (2009). Diversity and evolutionary origins of fungi associated with seeds of a

پروتئین کلزا: فرصت‌های آینده و دستورالعمل‌ها

Canola/Rapeseed Protein: Future Opportunities and Directions

مهتاب صمدی

Samadi.m@arc-ordc.ir

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

مقدمه

سازمان غذا و کشاورزی (*FAO*) سازمان ملل متحد پیش‌بینی کرده است تقاضای جهانی غذا به‌ویژه به گوشت و لبنیات تا سال ۲۰۵۰ بیش از دو برابر خواهد شد. مشخص‌شده است پروتئین به‌عنوان یک ماده مغذی محدودکننده برای امنیت غذایی جهانی است و *FAO* اعلام کرده که مقدار و کیفیت پروتئین کافی یک حق اساسی برای هر شهروند جهانی است. درحالی‌که تقاضای روزافزون برای پروتئین‌های حیوانی (گوشت، تخم‌مرغ، لبنیات (کازئین، پنیر) وجود دارد، فشارهای جمعیت، ملاحظات زیست‌محیطی و میزان بهره‌وری تکامل عقلانی از منابع پروتئین حیوانی به گیاهی برای تغذیه انسان پیشنهاد می‌شود. بنابراین ارزش تغذیه‌ای پروتئین گیاهی اهمیت حیاتی دارد و انتظار می‌رود که در سطح جهانی اهمیت یابد. کلزا (که به‌عنوان کانولا شناخته می‌شود)، دومین تولیدکننده روغن دانه در جهان است پس از سویا، کنجاله غنی از پروتئین در طول استخراج روغن تولید می‌کند. در حال حاضر مصرف کنجاله کانولا به‌طور عمده به بازار تغذیه حیوانات محدودشده است تا جایی که به دلیل مقدار بالای پروتئین آن به منبع تغذیه رقابتی برای حیوانات اهلی تبدیل‌شده است. البته حرکت به سمت تغذیه نشخوارکنندگان، آبزیان و محصولات زیستی امکان‌پذیر است، اما به تحقیق و انتقال فنّاوری به‌منظور به دست آوردن پذیرش تجاری نیاز است. پروتئین کانولا دارای یک فرصت برای تأمین منبع پروتئین انسانی باکیفیت بالا است. علی‌رغم تحقیقات گسترده در دهه‌های اخیر، استفاده از چندین فنّاوری توسعه‌یافته و تولید مقیاس وسیع محصولات قابل‌عرضه به بازار، هنوز هیچ پروتئینی تولیدی از کانولا به‌طور تجاری در دسترس نیست.

فرآوری (*Processing*)

فرآوری مرطوب(aqueous processing) پروتئین کانولا بیش از دیگر پروتئین‌های گیاهی (بذری) چندین چالش منحصربه‌فرد به همراه دارد. چالش اول وجود فنول‌های بذری است. اگر فنولی در بذر وجود داشته باشد اکسیداسیون در محیط آبی اجتناب‌ناپذیر است، درنتیجه عصاره و محصول پروتئین نهایی به دلیل اثر متقابل پروتئین-فنولیک دارای رنگ و طعم نامطلوب خواهد شد. چالش دوم میزان تولید پروتئین از کنجاله کانولا است. پروتئین کانولا دارای حلالیت کم در *PH* خنثی است بنابراین *PH* آلکالین یا مواد افزودنی مانند نمک برای بهبود میزان تولید پروتئین نیاز است. میزان تولید پروتئین کانولا در مقایسه با کل هزینه مصرفی تولید، کمتر از سویا است. میزان پروتئین کانولا (۳۶ درصد در مقابل ۴۸ درصد در کنجاله سویا) نسبتاً کم است بنابراین این مسئله تولید پروتئین از کانولا را ازنظر اقتصادی خیلی پایین می‌سازد. چالش سوم تغییرات فرآوری است که پروتئین کنجاله کانولا در طول استخراج روغن دریافت می‌کند. کنجاله کانولا تهیه‌شده به‌طور متعارف که از طریق *desolventizer-toaster* استخراج‌شده است یک ماده اولیه با نیاز به فرآیند گسترده برای بازیابی پروتئین است. کنجاله حاصله تحت پرس (*Expeller pressed*) ممکن است بیش‌ازحد دارای روغن باقی‌مانده باشد که استخراج کارآمد

پروتئین از آن به یک مرحله اضافی از حذف روغن نیاز دارد. بنابراین اکثر کنجاله کانولا موجود مواد خوراکی مناسب برای بازیافت پروتئین نیستند. مشخص‌شده است بذر کانولا حاوی فنول، گلوکوزینولات، فیتات و فیبر است که به‌عنوان مواد ضد تغذیه‌ای موردتوجه قرار می‌گیرند. برخی از این ترکیبات غیر پروتئینی بوده و در پوشش یا پوسته بذر متمرکز می‌شوند. چالش‌ها در فرآوری خشک کلزا شامل موفقیت محدود دربرداشتن مواد ضد مغذی، مشکل در حذف پوست و ادغام این مراحل در آماده‌سازی کنجاله و برنامه‌های فرآوری است. فرآوری خشک(dry processing) کانولا نسبت به فرآوری مرطوب کنسانتره‌های غنی‌شده با پروتئین باکیفیت پایین‌تر، مواد میکروبی بالاتر و عملکرد پروتئین پایین‌تر تولید می‌کند. در مقایسه با فرآوری سویا، پروتئین حاصل از کنسانتره کنجاله کانولا عملکرد پایین، رنگ تیره‌تر و خلوص پایین‌تر دارد که بخشی به دلیل کمبود پروتئین در کنجاله است. آماده‌سازی ایزوله‌های پروتئینی از طریق استخراج قلیا و ایزوالکتریک نیز معمول است که برای سویا استفاده می‌شود و در کانولا آزمایش‌شده است. همچنین پروتئین کانولا می‌تواند از طریق اولترافیلتراسیون/ دیافیلتراسیون جداسازی شود. اگرچه فنول‌ها، فیتات‌ها و گلوکوزینولات‌ها می‌توانند به‌وسیله این فرایند به‌اندازه معقول برداشته شوند، چالشی که در این مورد درکلزا وجود دارد ممکن است شامل انتخاب غشاء مناسب برای جداسازی مؤثر، مصرف آب بالا و هزینه واحد بالا باشد. به‌طورکلی فرآوری مرطوب پروتئین کانولا شامل مصرف آب و هزینه‌های انرژی بالا است که به ارزیابی اقتصادی برای پذیرش تجاری نیاز دارد. پیشرفت‌های اخیر در فن‌آوری ممکن است عملکرد و کیفیت پروتئین کانولا را بهبود بخشد و همچنین هزینه تولید را کاهش دهد. ازجمله فن‌آوری استفاده از سانتریفیوژها با نیاز انرژی پایین برای جداسازی مؤثرتر که باعث کاهش هزینه، خلوص بالا و کیفیت بالاتر می‌شود. اما هزینه فرآوری هنوز هم یک چالش است. چندین شرکت تجاری ازجمله *Burcon NutraScience*، بر تعدادی از این موارد چالش غلبه کرده است. در فرآوری مربوط به شرکت *Burcon*، استخراج مرطوب، همراه با فیلتراسیون غشایی محصولات پروتئین کانولا با قابلیت‌های متمایز تولید می‌شود. آن‌ها قادرند سه نوع مختلف پروتئین کانولا با عملکرد عالی و عطروطعم بی‌نظیر تولید کنند. به‌طورکلی برای هر یک از فرآیندهای فوق، بزرگ‌ترین چالش روبروی کانولا آسیب گرما به پروتئین‌ها در فرآیند استخراج روغن، و به‌ویژه در *desolventizer /toaster* است. آسیب‌های حرارتی در حلالیت، طعم و رنگ پروتئین تأثیر می‌گذارد. فشرده‌سازی سرد و دمای پایین *desolventizing* پیشنهاد یک راه حل ممکن است.

عملکرد (*Functionality*)

عملکرد پروتئین (از جمله خواص تغذیه‌ای) کیفیت و کاربرد آن را در محصولات غذایی تعیین می‌کند. خواص فیزیکی و شیمیایی پروتئین‌ها بر رفتار آن‌ها در محیط (معمولاً یک سیستم غذایی) در طول فرآوری، ذخیره‌سازی و مصرف اثر می‌گذارد. خواص عملکردی پروتئین‌های کانولا به نوع فرآوری و ماهیت مولکولی هر یک از پروتئین‌ها بستگی دارد. پروتئین‌های ذخیره‌ای عمده در بذر کانولا کروسیفرین (*Cruciferin*)و ناپین (*Napin*) هستند که ۹۰-۸۵ درصد کل پروتئین را تشکیل می‌دهند. کروسیفرین یک هترومر گلوبولین *S*۱۱ از ۳۵۰-۳۰۰ کیلو دالتون، پروتئین ذخیره‌ای غالب بذر است. ناپین آلبومین *S*۲ از ۱۶-۱۴ کیلو دالتون در مقادیر کمتر نسبت به کروسیفرین موجود است. بسیاری از محصولات پروتئینی به‌دست‌آمده از کلزا با استفاده از فن‌آوری‌های موجود مخلوط این دو نوع پروتئین در

نسبت‌های مختلف هستند. ازآنجاکه کروسیفرین و ناپین در بسیاری از موارد از جمله ترکیب آمینواسید، ساختار مولکولی، اندازه و خواص فیزیکی و شیمیایی متفاوت هستند، خواص عملکردی آن‌ها در شرایط مختلف متفاوت است. بنابراین خواص و ویژگی‌های محصولات پروتئین کانولا ممکن است بسته به سطح کروسیفرین و ناپین در محصول متفاوت باشد. حلالیت یک الزام کلیدی برای پروتئین‌های غذایی است. فرآوری محصولات پروتئینی بر حلالیت محصول نهایی تأثیر زیادی دارد. حلالیت می‌تواند توسط هیدرولیز کردن پروتئین‌ها بهبود یابد. در محصولات پروتئینی غنی از ناپین مقدار حلالیت در محدوده *pH 2* تا ۱۰ بیشتر از ۹۰ درصد است، که یک ویژگی منحصربه‌فرد برای پروتئین گیاهی (بذر) است. محصولات پروتئینی غنی از کروسیفرین در مقایسه با پروتئین غنی از ناپین در این *pH*، کاهش حلالیت نشان دادند. توانایی امولسیون روغن (یا سایر مولکول‌های غیر قطبی) بدون جداسازی در شرایط ذخیره‌سازی و فرآوری مختلف یکی دیگر از ویژگی‌های کلیدی پروتئین‌های غذایی است. پروتئین‌های با خواص امولسیون خوب در هر دو بخش غذایی (مواد غذایی مایع، گوشت فرآوری شده از امولسیون، سس‌ها) و غیر غذایی (محصولات بهداشتی) کاربرد دارند. ایزوله‌های پروتئینی کانولا که حاوی هر دو کروسیفرین و ناپین هستند عموماً توانایی امولسیون محدودی را نسبت به ایزوله‌های پروتئین سویا دارند. ناپین کانولا خواص امولسیونی ضعیف‌تر از پروتئین کروسیفرین نشان می‌دهد. ناپین ممکن است نقش منفی در خواص امولسیونی محصولات پروتئین کانولا حاوی هر دو کروسیفرین و ناپین داشته باشد. تشکیل ژل ناشی از حرارت، ضرورت پروتئین‌های غذایی برای ایجاد ساختار غذاهای فراوری‌شده در گرما است. محصولات غنی ناپین ژل‌های ضعیف در مقایسه با محصولات کروسیفرین تولید می‌کنند و این ممکن است با پایداری حرارتی بالا ساختار مولکولی ناپین با ۴ پیوند دی سولفید همبستگی داشته باشد. کروسیفرین گرایش قوی‌تر به تولید ژل ناشی از گرما نسبت به ناپین دارد.

ادامه دارد ...

Campbell, L. Rempel, C. B. and Wanasundara, J. P. D. 2016. Canola/Rapeseed Protein: Future Opportunities and Directions—Workshop Proceedings of IRC 2015. journal Plants, 5(17): 1-7 .

مدیریت آفات کتان

Flax pest managemente

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

مرحله‌رشدی کتان / آفت	کوتیلدونی	گیاهچه	رشد رویشی	گلدهی	دانه بندی	نحوه مبارزه با آفت
لارو طوقه‌بر		*Agrotis* spp				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.
کک نباتی		*Aphthona euphorbiae*				تناوب، کشت به موقع، آماده نمودن بسترکشت مناسب، تیمار بذر و سمپاشی با سموم مناسب
تریپس کتان			*Thrips linarius*			کشت به موقع، آبیاری متعادل، کنترل آفت در صورت نیاز با یکی از سموم فسفره و یا ایمیداکلوپراید (کنفیدور)
شته				*Macrosiphum euphorbiae,Myzus persicae*		تناوب، کنترل علفهای هرز، کنترل آفت با سموم پریمیکارپ (پریمور)، ایمیداکلوپراید (کنفیدور).
سن‌ها					*Lygus* spp	تنظیم تاریخ کشت، مدیریت و کنترل علف های هرز، سمپاشی با سموم دسیس، دیازینون یا کنفیدور در صورت نیاز.
مگس گالزا					*Dasineura lini*	شخم عمیق، مدیریت بقایا، کشت به موقع، در صورت نیاز سمپاشی با سموم دورسبان یا مالاتیون.
مینوز برگ				*Phytomyza horticola*		کشت به موقع، مبارزه با علف های هرز، ارقام متحمل، کنترل آفت در صورت نیاز با ایمیداکلوپراید (کنفیدور) یا آبامکتین (ورتی‌مک)
لاروهای برگ‌خوار			*Spodoptera* spp			تناوب، شخم عمیق و یخ‌آب زمستانه، کنترل علف‌های هرز، کنترل آفت در مراحل اولیه لاروی با استفاده از سموم تیودیکارپ (لاروین)، ایندوکساکارب (آوانت) و...

سیتوژنتیک گیاهی (قسمت اول)

Plant Cytogenetics (Part one)

یاسمین عنایتی

??????@arc-ordc.ir

کارشناس زیست شناسی سلولی و مولکولی - ژنتیک، مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر، شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

مقدمه

یک مقیاس مفید برای توضیح ژنتیک افراد بیان میکند که ژنوم به عنوان دانشنامه ای از دستورالعمل های مورد نیاز در جهت ساختن موجود زنده است. که هر ژن بیانگر یک دستورالعمل است. همانند دانشنامه سنتی ژنوم در میان چندین کتاب تقسیم شده است که به آن کروموزوم گویند این دانشنامه به طوری که داده ها به راحتی در دسترس هستند سازماندهی شده اند. کروموزوم ها باید به خوبی سازمان دهی شوند تا سلول بتواند در هر زمان و مکان به اطلاعات درست و کارآمد دسترسی پیدا کند، علم سیتوژنتیک به بررسی ساختمان کروموزوم می پردازد در این مطلب سعی می گردد تا به بخشی از مفاهیم این علم پرداخته شود.

حذف

حذف یک بخش از کروموزوم موجب کمبودو نقص می گردد زمانی که در سلول های دیپلوییید این اتفاق میفتد سبب هموزیگوس شدن آن سلول و دودمانش برای صفات تحت تاثیر بخش حذف شده خواهد گردید این تنها یک رونوشت از هر ژن یا لوکوس های موجود در کمبود می باشد زمانی که کل کروموزوم از بین می رود سلول حاصله بیان دارد که به حالت منوسومیک در می آید. لغت مونوسومیک برای بیان قطعات کروموزومی بزرگ که همولوگشان دچار حذف قطعات بزرگ میشود استفاده می گردد. ادامه این بحث بر روی حذف قطعاتی یا حذف همه ی کروموزوم میباشد یک نمونه و مثال ساده از نقص کروموزومی شکستگی بدون پیوستگی است. قطعه بدون سانترومر به سرعت توالی های چرخه سلولی اش را از دست میدهد و در نتیجه برای سلول های فرزندان تمامی نقاطی که دچار شکستگی شده اند این نقص و کمبود وجود دارد.

در گیاهانی که دارای سانترومراند شکستگی قطعه‌ای می‌تواند نگهدارندِ باشد و بر روی نقص تأثیری نداشته باشد پدیده‌ی شکستگی داخلی زمانی اتفاق می‌افتد که دو شکستگی به‌طور هم‌زمان در یک کروموزوم حاصل گردد و قطعات دور و نزدیک مجدداً به هم متصل می گردند و با از دست دادن قطعه داخلی همراه است. برخی محققین از اصطلاح حذف تنها برای توضیح فرمی از بیان نقص استفاده می کنند اما دو اصطلاحی که رایج است جابه‌جایی است اگرچه نقص به‌طور واضح آشکار است مشاهده‌ی نقص کوچک در مرحله پاکیتن(مرحله ایست در تقسیم سلولی) نیز دشوار است اما شکستگی‌های بزرگ قابل‌مشاهده‌اند. شکستگی‌هایی که اتفاق می‌افتند و دلایل آن نامشخص است بیان‌کننده‌ی خود به خودی بودن آن است شکستگی‌ها می توانند موجب آزمایشی شوند که در آن گرما ، پرتو پرانرژی و مواد شمیایی معین وجوددارند. اشعه ایکسی که موجب جهش کروموزومی می گردد یکی از دلایل اصلی نقص می باشد Mottinger در سال 1970 نتوانستند سند و مدرکی از اساس تغییرات را پیدا کند ولی تغییرات موتاسیون در هنگام استفاده از اشعه ایکس عنوان داشتند که ظاهرا این جهش‌ها حاصل نوعی کمبود قطعات کوچک کروموزومی می‌باشند هم چنین مشاهدات محققین نشان‌داد که برخی القاکننده ها

بر روی شکستگی قطعات موثراند. احتمال وقوع شکستگی به وسیله القاکننده های پرانرژی در نواحی سانترومری و هتروکروماتینی بیشتر از سایر نواحی کروموزومی است. در گیاهانی مانند ذرت و گوجه فرنگی بیشتر مشاهده‌شده‌است که موتاسیون‌های وابسته به اشعه ایکس در نواحی هتروکروماتینی یافت می شوند. کمبود ها می‌توانند توسط یکی از چندین شرایط ژنتیکی القا شوند برای مثال در ذرت یک آلل در جایگاه r1 که r-X1 نامیده می‌شود و القاکننده برخی کمبود های کروموزومی است که در مونوزومی و تریزومی ها ی ذرت شناخته‌شده تر می باشد این آلل خود یک حذف کوچک است و می تواند از مادران منتقل‌شود کمبودها همچنین می‌توانند در نتیجه عناصر قابل انتقال صورت گیرند از عوامل دیگری که سبب کمبود و نقص می‌شودکراسینگ اور نا برابر می‌باشد میزان بالای شکستگی‌های خودبه‌خودی و دیگر اختلالات کروموزومی در گروه های مختلف هیبریدی وجود دارد و به نظر می‌رسد به عنوان موانع ژنتیکی عمل می‌کنند برای مثال کروموزوم‌های خاص در برخی خویشاوندان وحشی گندم که دارای یک یا چند عامل می‌باشند که القاکننده شکستگی کروموزومی معمول در گندم است.کروموزوم هایی که تحمل‌کننده این فاکتورها هستند GC نامیده می‌شوند زیرا بلافاصله بعد از میوز تاثیرات‌شان رخ می‌دهد.در شرایط میوزی هر یک از اسپورهایی که فاقد GC می باشند تحت‌تاثیر شکستگی کروموزوم قرار میگیرندکه برای گامتوفیت کشنده می‌باشند اختلالات کروموزومی موجود در گامتوفیت‌های باقی‌مانده می‌توانند در نسل‌های بعد اسپروفیت منتقل و تثبیت‌گردند در نتجه کروموزوم‌های جی سی به عنوان ابزاری برای تجزیه تحلیل ژنتیکی مورداستفاده قرار می‌گیرند. کمبود و نقص معمولا منجر به مرگ در نسل‌های گامتوفیتی می‌شود و نمی‌تواند در نسل بعد تثبیت‌گردد مگر در موارد خاصی که گیاهان دیپلوییدی‌اند. کمبودهای کوچک برای گامتوفیت *Vicia faba L* کشنده‌اند.بر اساس مطالعاتی که بر روی گوجه فرنگی انجام‌شد تنهاکمبود قابل انتقال حذف‌های کوچکی در هتروکروماتین می‌باشد این کمبودها در یوکروماتین ها قابل‌انتقال نیستند محققین در سال ۱۹۴۴ بیان داشتند که بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۹ ذرت که از طریق جنس نر منتقل‌شده‌است کمبودی وجود ندارد اما در گامتوفیت جنس ماده از دست‌رفتن یک سوم دیستال بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۹ قابل‌انتقال است. پس از آن حذف های کوچک زیادی بر روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۹ که شامل *shrunken1* و *bronze1* بوده یافت‌شده که هم از جنس نر و هم ماده قابل‌انتقال است و در حالی که اسپوروفیت های هموزیگوت زنده بودند. کمبود haploviable در ذرت که نقص نسبتا بزرگی بر روی بازوی بلند کروموزوم شماره ۱۰ است . هم چنین این نقص از جنس نر قابل‌انتقال نمی باشد اما از جنس ماده قابل انتقال است و هم بر روی فنوتیپ گامتوفیت نر و هم ماده تاثیرگذار است. میزان نشاسته درنصف گرده‌دانه گیاهان هتروزیگوس که دارای نقص کوچکی هستند فراوان است.

ادامه دارد...

منبع:

Bass, H., & Birchler, J. A. (Eds.). (۲۰۱۱). Plant cytogenetics: genome structure and chromosome function (Vol. ۴). Springer Science & Business Media.

جوامع نقشه‌یابی (قسمت هفتم)

Mapping Populations (part seven)

مصطفی حق‌پناه
Haghpanah.m@arc-ordc.ir
کارشناس ارشد اصلاح نباتات، مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر، شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

لاین‌های خالص حاصل از تلاقی برگشتی

لاین‌های خالص حاصل از تلاقی برگشتی یا BILs (Backcross Inbred Lines) به‌وسیله تلاقی برگشتی نسل F_1 با یکی از والدین هموزیگوت برای رسیدن به BC_1F_1و پس از آن خویش‌آمیزی تا دستیابی به لاین‌های خالص ادامه می‌یابد. محققین در سال ۲۰۰۳ با استفاده از تلاقی دو رقم برنج Nipponbare (japonica) و Kasalath (indica) تعداد ۹۸ لاین BIL ایجاد کردند. در آن بررسی نسل F_1 با رقم Kasalath (indica) تلاقی برگشتی داده شد و نتاج آن برای پنج نسل (BC1F5) خودگشن شدند. به دلیل در دسترس نبودن روشی جهت بررسی BIL، داده‌های حاصل از جمعیت BIL با استفاده از روش آنالیز جمعیت F_2 تلاقی برگشتی تجزیه و تحلیل شد و افراد هتروزیگوت به‌عنوان داده‌های ازدست رفته برآورد گردیدند. مزیت BIL احتمال افزایش فراوانی آللی والدین مورد استفاده در تلاقی برگشتی می‌باشد. پس این روش می‌تواند برای والدین با ارزش بالا در صفت موردنظر جهت تلاقی برگشتی با F_1 ، مطلوب باشد.

لاین‌های پیشرفته اینترکراس

(Advanced Intercross Lines)

یک جمعیت لاین‌های پیشرفته اینترکراس (AIL) به‌واسطه تلاقی بین افراد F_2 حاصل از تلاقی و نسل‌های پس از آن پدید می‌آید. تلاقی بین نسل‌های در حال تفرق سبب می‌گردد تا هتروزیگوسیتی جامعه حفظ گردد و وقوع نوترکیبی بین QTLها و نشانگرهای پیوسته با آن‌ها در هر نسل (به‌واسطه تلاقی در هر نسل) سبب افزایش دقت نقشه‌یابی شود. برآورد گردیده است که فاصله اطمینان QTL با استفاده از جمعیت AIL پنج برابر نسبت به جمعیت F_2 کاهش می‌یابد. بررسی‌ها نشان می‌دهد که وضوح نقشه‌یابی با استفاده از جمعیتAIL تنها تا نسل هشتم افزایش می‌یابد در حالی وضوح نقشه‌یابی در جمعیت انتخاب دوره‌ای تلاقی برگشتی با هر نسل افزایش می‌یابد و هیچ‌گاه محدود نمی‌شود. همچنین روش‌ها و مدل‌های آماری مناسب نقشه‌یابی با استفاده از AILها در دسترس نیست.

جوامع تلاقی برگشتی حاصل از انتخاب دوره‌ای

در سال ۱۹۵۲ Wright ایده پیشرویی تحت عنوان روش انتخاب دوره‌ای تلاقی برگشتی (RSB) جهت جداسازی QTL های بزرگ اثر مطرح کرد. در این روش نسل F_1 حاصل تلاقی دو والد هموزیگوت، یکی با ارزش بالا (DP) و دیگری با ارزش پایین (RP) از نظر صفت مورد بررسی در QTL موردنظر، است که هر نسل با والد RP تلاقی برگشتی داده می‌شود. در هر نسل تلاقی برگشتی تعدادی از نتاج که از نظر صفت موردنظر ارزش بالایی دارند انتخاب و با والد RP تلاقی برگشتی

داده می‌شوند. به دلیل تعداد زیاد تلاقی برگشتی جهت ساخت RBS این روش برای نقشه‌یابی با دقت بالا پیشنهاد شده است. با توجه به حجم بالای کار بدیهی است که روش RBS نیاز به تلاش، زمان و منابع مالی فراوان دارد. همچنین، این روش برای مشخص کردنQTLهای بزرگ اثر مناسب می‌باشد، درحالی‌که صفات مهم کمی نظیر عملکرد عموماً تحت تأثیر چندین QTL با اثرات کم تا متوسط می‌باشد. انتخاب دوره‌ای تلاقی برگشتی به‌سرعت سبب هموزیگوت شدن تمامی آلل‌های والد RP غیرموثر بر صفت انتخابی می‌شود. با این‌حال در روش RBS خالص شدن آلل‌های درگیر و جایگاه‌های ژنی پیوسته با صفت موردنظر به‌کندی پیش می‌رود. از طرفی رانده شدن ژنتیکی موجب می‌گردد تا سرعت رسیدن به هموزیگوسیتی در جامعه تلاقی برگشتی افزایش یابد. انتظار می‌رود که با انتخاب فنوتیپی QTLهای بزرگ اثر حاصل از والد DP را نگه‌داشته و QTLهای کوچک و متوسط اثر حذف شوند. برای مثال اگر QTL والد DP ۵۰ درصد واریانس فنوتیپی را توجیح کند فراوانی آن بعد از ۵۰ نسل RBS تغییر نمی‌کند درحالی‌که اگر آن QTL حدود ۱۵ درصد واریانس فنوتیپی را توجیح کند بعد از ۳۰ نسل انتخاب از جمعیت حذف می‌شود.

بنابراین، QTLهای بزرگ اثر و نشانگرهای مولکولی پیوسته با آن‌ها در حالت هموزیگوت طی RBS باقی می‌مانند. همچنین، نوترکیبی بین QTLهای DP و نشانگرهای پیوسته با آن‌ها هر نسل رخ می‌دهد و سبب می‌شود با هر دروه انتخاب، سطح هتروزیگوسیتی در لوکوس‌های نشانگر کاهش یابد. علاوه برآن با هر نسل، نشانگرهای دورتر از جایگاهQTLهای DP به‌شدت بیشتری نسبت به نشانگرهای نزدیک‌تر هموزیگوت می‌شوند.

بنابراین، فراوانی هتروزیگوسیتی در لوکوس نشانگر را می‌توان به عنوان شاخصی جهت شناخت محل QTLها در نظر گرفت. مطالعات نظری و شبیه‌سازی‌شده نشان می‌دهد اگر تراکم نشانگر اطراف QTL موردنظر مطلوب باشد، RBS قادر به تشخیص نشانگرهای با فاصله کمتر از یک سانتی‌مورگان می‌باشد. در یک جمعیت با تعداد افراد ثابت، احتمال رانده شدن ژنتیکی در جمعیت با خانواده زیاد و افراد کم، نسبت به همان جمعیت با خانواده کم و افراد زیاد کمتر است ، هرچند این امر می‌تواند سبب کاهش وضوح نقشه‌یابی شود.

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. 80 July 2018

Application of Multiple Criteria Decision Analysis 1
Sajad Talaee

A short report from the NGS training course ……..…….…….... 5
Ali Zaman Mirabadi

Endophytes (Review)…….…….…….…….…… 7
Aydin Hassanzadeh

Canola/Rapeseed Protein: Future Opportunities and Directions …….…….... 19
Mahtab Samadi

Flax pest Management …….....…….…… 22
Rezapoor Mehdi Alamdarlou

Plant cytogenetics……...……..... 23
Yasamin Enayati

Mapping Populations ……..……..…….…….…... 25
Mostafa Haghpanah