

خبرنامه



شرکت توسعه کشت و دام های روغنی

سال چهارم، شماره ۳۹، بهمن ۱۳۹۳



2015

## فهرست:

|                                          |         |
|------------------------------------------|---------|
| سخنی کوتاه .....                         | صفحه ۳  |
| نشانه‌های کمبود ازت در کلزا .....        | صفحه ۵  |
| خداحافظی با همکاری از حوزه تحقیقات ..... | صفحه ۶  |
| بیماری‌های بادام زمینی .....             | صفحه ۸  |
| اصول داشت کلزا .....                     | صفحه ۱۰ |
| ابزار تولید بذر .....                    | صفحه ۱۲ |
| کشت بافت گیاهی .....                     | صفحه ۱۳ |
| نشانگرهای مولکولی .....                  | صفحه ۱۵ |



مهندس کامیاب فروزان

مدیر بزرگ، تحقیقات و آموزش

شرکت توسعه کشت دانه های روغنی

## سخنی کوتاه

برای هریک از شما بسته به جایگاه و موقعیتی که دارید ممکن است شرایطی ایجاد شده باشد که با نفر دیگر و یا مجموعه ای از نفرات جلسه مشترکی داشته باشید. معمولاً در هریک از این جلسات لازم است تا ضمن تبادل نظر در هر یک از موارد با برداشت صحیح از وضعیت طرف مقابل و عکس العمل های رفتاری آنها، سیاست های کاری خود را در برای رسیدن به هدف مورد نظر هدایت نمایید. این مسئله به ویژه می تواند در جلسات مهم برای شما و مجموعه کاری که در آن انجام وظیفه می نمایید حائز اهمیت باشد. معمولاً این عکس العمل ها در حرکات دست، حرکات با عینک، حرکات حین نشستن، حرکات و اشاره چشم ها در طرف مقابل از اهمیت ویژه ای برخوردار است که شما را برای مدیریت نحوه مذاکرات و یا شیوه ادامه کار راهنمایی می کند. در ادامه به بخشی از عکس العمل های رفتاری افراد در جلسات اشاره می گردد این موارد میتواند در دیسپلین های رفتاری شما در پیشبرد اهدافتان در جلسات مثمر ثمر واقع شود.

### الف: حرکات دست:

لمس گوش و یا خاراندن آن ..... مخالف آنچه می شنوند  
شست زیر چانه ..... موافق آنچه گفته می شود  
دست زیر چانه ..... از سخن خسته شده است  
دست کشیدن زیر بینی ..... شک و تردید در مطالب مطرح شده  
ضرب گرفتن روی میز ..... بی قراری یا کسل شدن از حرف های طرف مقابل  
دست به کمر زدن ..... نشانه برتری و حق داشتن  
خاراندن پشت سر ..... گوینده به حرف های خود ایمان ندارد  
لمس لب ..... مخالف سخن است اما نمی خواهد حرفی بزند  
لمس چانه {اگر سر به پایین باشد} ..... نشانه ارزیابی و تفکر است  
لمس چشم ..... مایل نیست کسی یا چیزی را ببیند  
دستها به سینه {گارد دستی} ..... عدم موافقت با مخاطب حالت تدافعی  
برج های انگشتی ..... اعتماد به مطالبی که گفته می شود  
قلاب کردن دست پشت سر ..... تکبر

بازی با گوش ..... نشانه تمایل به مخاطب  
دست کشیدن به موها ..... نمی داند چه بگوید  
کشیدن دست زیر چانه ..... نشانه تصمیم گیری  
دست‌های پنهان ..... مایل به ادامه ارتباط نیست

#### ب: حرکات با عینک :

برداشتن مداوم عینک ..... وقت خواستن برای تصمیم گیری  
قراردادن دوباره عینک ..... حقایق را دوباره ببینید  
از بالای عینک نگاه کردن ..... قضاوت یا تایید گفته‌ها

#### ج: حرکات حین نشستن :

قفل قوزک پا، پا روی پا انداختن .. تدافعی، منفی، تفاخر برابری، دفاع از موضع  
سوار صندلی شدن ..... سلطه جویی-حفاظت برای حمله به دیگران  
تکان یک پا ..... بی حوصلگی  
پا روی پا و دست‌ها پشت سر ..... اعتماد به نفس، برتری جویی، ادعای مالکیت  
یک پا روی دسته صندلی ..... خونسردی، مالکیت، راحتی خیال  
پا روی میز ..... تفوق، تسلط، تحقیر

#### د: حرکات و اشارات چشم‌ها:

مالش چشم‌ها ..... فریب و نیرنگ  
نگاه مکرر به اطراف ..... خجالت و علاقه  
حرکت به طرف بالا ..... خشم  
نگاه خیره ..... تهاجمی و تهدید آمیز  
نگاه ممتد ..... مایل به ارتباط  
چشم بسته ..... خسته‌ام کردی، دیگر حرف نزن

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

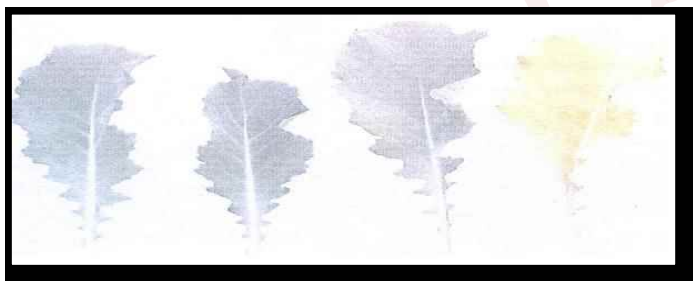


## نشانه های کمبود ازت در کلزا



شکل ۳

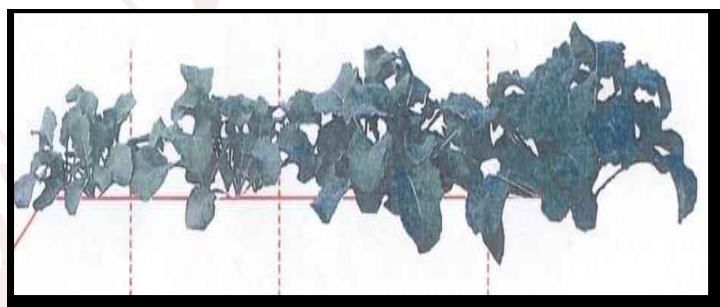
در طول این تغییر و تحولات، برگ های جوان رنگ شان تغییر نمی کند اگر چه اندازه کوچک تری نسبت به گیاهان فاقد تنش کمبود ازت دارند (شکل ۴).



شکل ۴

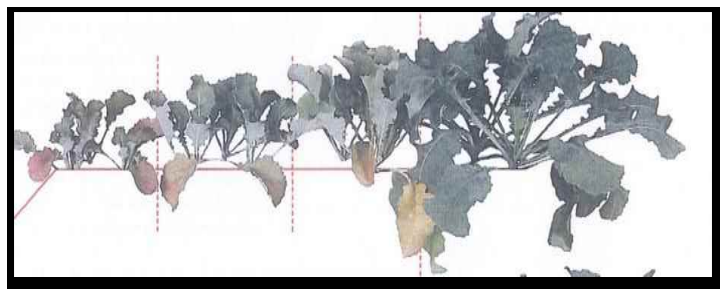
در شرایط بحرانی تر کلروز برگ های پیر از حاشیه شروع شده و به سمت رگبرگ میانی پیشروی می کند و نهایتاً منجر به ریزش برگ می شود.  
در گیاهان دارای تنش ازت، ساقه ها باریک و زمان گلدهی و تعداد گل ها و خورجین ها کاهش می یابد.

بدلیل سرعت حرکت نیتروژن در گیاه علائم کمبود معمولاً در برگ های پیرتر ظاهر می شود. اولین علائم کمبود ازت به صورت کاهش رشد بوته و تغییر رنگ برگ ها از تیره به روشن می باشد (شکل ۱).



شکل ۱

برگ ها، کوچک و به حالت تقریباً عمود می مانند. رگبرگ ها، حاشیه برگ ها و دم برگ ها به رنگ بنفش تغییر رنگ پیدا می کند (شکل ۲).



شکل ۲

با افزایش سن گیاه، رنگدانه های بنفش از نوک برگ ها به سمت دم برگ و در هر دو سطح رویی و پشتی برگ ها پراکنده می شوند و قبل از زرد شدگی کامل، برگ ها به صورتی تغییر رنگ می دهند (شکل ۳).

## خداحافظی با همکاری از حوزه تحقیقات



در ماه گذشته یکی از همکاران حوزه مدیریت بذر، تحقیقات و آموزش از مجموعه شرکت جدا شدند. آقای مهندس عباس خلخالی همکار خوبمان که مدت ۱۷ سال در مناطق مختلف مسئولیت‌های گوناگونی در مجموعه شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی بر عهده داشتند از شرکت منفک گردیدند تا در سنگری دیگر خدمات ارزنده خود را تداوم بخشند.

وی به مدت ۴ سال مسئول منطقه جویبار، ۳ سال به عنوان کارشناس کلزا استان مازندران، ۵ سال به عنوان ریاست نمایندگی استان گیلان و ۳ سال به عنوان ریاست نمایندگی قزوین با شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی همکاری کردند. ایشان در اواخر دوره خدمت خود به عنوان کارشناس حوزه بذر، تحقیقات و آموزش مسئولیت انتشار خبرنامه تخصصی را به عهده داشتند.

مدیریت و همکاران درحوزه بذر، تحقیقات و آموزش ضمن تقدیر از زحمات ایشان برای این دوست و همکار گرامی در تمامی مراحل زندگی و کار توفیقات روزافزون را مسئلت می‌نماید.



همکار محترم جناب آقای مهندس عباس خلخالی

چه غرور آفرینند آن عزیزانی که در کمال صداقت و در ستاری بهترین سال های عمر خود را به خدمت گذراندن و در جهت تحقق اهداف شرکت توسعه کشت دانه های روغنی، خالصانه از هیچ کوششی دریغ نورزیدند و بپذیرش غم و شادی و با توکل به ایند منان در کنار سایر همکاران از خود گذشتند، و اینک جایگاه والای خدمت را به دیگران می سپارند.  
پس بر ما واجب است تا به رسم یاد بود، قدردان زحمات شما باشیم.

به امید سرفرازی هرچه بیشتر شما و خانواده محترمان

مدیریت و پرسنل حوزه بذر، تحقیقات و آموزش



مهندس آیرین حسن زاده

کارشناس مجتمع تحقیقات کاربردی و تولید

شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی



## بیماری‌های بادام زمینی پوسیدگی‌های قارچی

### پوسیدگی ساقه

یکی از عوامل خسارت‌زای گیاهی از مرحله کاشت تا پایان برداشت در شرایط خشک، بیماری پوسیدگی ساقه *Rhizoctonia solani* می‌باشد. علائم این بیماری بر روی ساقه‌های رونده بادام زمینی به صورت فرورفتگی‌های سیاه رنگ مشاهده می‌شود (شکل ۱). در گیاه بیمار، پگ‌ها نیز آلوده شده و در آنها غلاف تشکیل نمی‌شود.



شکل ۱. مراحل اولیه عفونت قارچ *Rhizoctonia solani*

روی ساقه‌های جوان بادام زمینی آلوده به *Diplodia gossypina* جوش‌های مشاهده می‌شود که در اواخر فصل پاره شده و میسلیم‌ها از آن خارج می‌شوند. این قارچ

یک ساپروفیت معمول در خاک بوده و به عنوان یک انگل اختیاری در بادام زمینی شناخته می‌شود.

پوسیدگی ساقه بادام زمینی با عامل *Sclerotium rolfsii* که کپک سفید نامیده می‌شود یک بیماری آخر فصل بوده و تا نیمه فصل رشد که هنوز شاخ و برگ بادام‌ها چندان گسترش نیافته، ایجاد نمی‌شود. با گسترش شاخ و برگ بادام و افزایش دما و رطوبت، نخستین علائم بیماری شامل زردی و پژمردگی شاخه‌های جانبی، ساقه اصلی و در نهایت تمام گیاه ظاهر می‌شوند. غلاف‌ها نیز از میسلیم قارچ پوشیده شده و به رنگ سفید مشاهده می‌شوند. اسکروت‌های گرد و کوچک روی بخش‌های آلوده گیاه تشکیل می‌شوند و عامل بقای قارچ در خاک می‌باشند. اسکروت‌ها در ابتدا سفید بوده ولی به تدریج به قهوه‌ای تغییر رنگ می‌دهند.

### پوسیدگی ریشه، پگ و غلاف

دو گونه *Pythium aphanidermatum* و *P. myriotylum* عامل بیماری مرگ گیاهچه، پژمردگی آوندی و پوسیدگی ریشه بادام زمینی هستند. گونه *P. myriotylum* در شرایط گرم و مرطوب فعالیت بیشتری دارد. ریشه‌های جانبی بادام زمینی حساس بوده و با پوسیدگی آنها حجم ریشه کاهش می‌-

تراکم زیاد همراه با آب گرفتگی ردیف‌های کاشت، شرایط مرطوب و تهویه کم از عوامل تشدید کننده پوسیدگی هستند. در چنین شرایطی ممکن است بوته‌ها در ظاهر سالم به نظر برسند ولی غلاف‌ها در زیر خاک در حال پوسیدن می‌باشند. تغذیه نامتدها و لارو حشرات از غلاف‌ها به دلیل ایجاد زخم و ایجاد راه ورود برای عوامل بیماری‌زا، آنها را به پوسیدگی مستعد می‌سازد.

یابد و در نتیجه پژمردگی در اندام‌های هوایی ایجاد می‌شود (شکل ۲).



شکل ۲. علائم قارچ *Pythium spp.*

اگر پوسیدگی ریشه به بافت آوندی گسترش نیابد، با بهتر شدن شرایط محیطی، امکان گسترش ریشه‌های فرعی و بهبود گیاه وجود خواهد داشت.

پوسیدگی‌های پگ و غلاف بادام زمینی در اواخر فصل رویشی ظاهر شده و توسط سه گونه قارچ شامل *R. solani* AG2-2، *Pythium spp.* و *Fusarium spp.* ایجاد می‌شوند (شکل ۳).

منبع

Bellgard, S. 2004. Common diseases of peanuts in the top end of the NT. The American phytopathological society. No. 62.

مهندس رضا پور مهدی علدارلو

کارشناس جمع تحقیقات کاربردی و تولید بر

شرکت توسعه کشت دانه های روغنی



## اصول داشت کلزا (مدیریت بیماری ها)

زمان آلودگی به بیماری نیز در مرحله گلدهی کلزا و توسط هاگ های قارچ که از اندام های تولید مثلی قارچ (آپوتسیوم ها) آزاد شده و پس از پخش شدن در فضا روی گلبرگ ها و برگ های گیاه مستقر می شوند، صورت می گیرد. تشکیل آپوتسیوم های قارچ در مناطق شمالی اغلب در نیمه دوم زمستان بوده و ردیابی بیماری در این فصل اهمیت زیادی دارد. در صورت حضور قارچ، مبارزه شیمیایی با این بیماری باید در اوایل دوره گلدهی کلزا صورت گیرد. بیماری ساق سیاه توسط *Leptosphaeria maculans* ایجاد می شود (شکل ۲) که در بیشتر مناطق ایران انتشار دارد ولی اهمیت آن در مناطق مرطوب و پر باران از جمله نواحی شمالی بیشتر می باشد.



شکل ۲. علائم بیماری ساق سیاه فوما

یکی از عوامل کاهش راندمان تولید در زراعت کلزا خسارت مربوط به بیماری های گیاهی می باشد. بیماری های مختلف با عوامل قارچی، باکتریایی، ویروسی، نماتدی و ... به زراعت کلزا صدمه می رسانند که از این میان بیماری های قارچی در بیشتر نقاط دنیا از جمله ایران از اهمیت بیشتری برخوردار می باشند. بسته به منطقه جغرافیایی، شرایط اقلیمی و سابقه کشت، در هر ناحیه بیماری های خاصی از شیوع بیشتری برخوردار می باشند. از جمله بیماری های قارچی که در مناطق مختلف کشت کلزا در کشور انتشار بیشتری دارند، می توان پوسیدگی اسکروتینیایی، ساق سیاه فوما، سفیدک داخلی و لکه سیاه آلترناریایی را نام برد. پوسیدگی اسکروتینیایی توسط *Sclerotinia sclerotiorum* ایجاد می شود (شکل ۱) و در مناطق مرطوب شمالی از اهمیت بیشتری برخوردار است.



شکل ۱. علائم برگی مراحل اولیه پوسیدگی اسکروتینیایی.

بقا قارچ اغلب روی بقایای کلزا و یا علف‌های هرز می‌زبان می‌باشد و از این جهت مدفون کردن بقایا و کنترل به موقع علف‌های هرز اهمیت زیادی در مدیریت بیماری دارد. در بیشتر نقاط دنیا کنترل بیماری با تولید و کشت ارقام مقاوم صورت می‌گیرد و در ایران نیز برنامه‌هایی برای تولید ارقام مقاوم به بیماری پیگیری می‌شود.

عامل بیماری سفیدک داخلی، *Peronospora parasitica* می‌باشد. بیشتر در اوایل فصل رشد کلزا و در شرایط خنک و مرطوب و خصوصا در کشت‌های تاخیری و تراکم کشت بالا بروز می‌نماید. بهترین راه مدیریت بیماری، کشت به موقع، تراکم کشت مناسب، عدم تاخیر در کاشت و رعایت تناوب زراعی جهت جلوگیری از افزایش مایه تلقیح قارچ در خاک می‌باشد.

لکه سیاه آلترناریایی توسط گونه‌های مختلف قارچ آلترناریا (*Alternaria spp*) بروز می‌نماید. علائم بیماری به شکل لکه‌های تیره رنگ روی اندام‌های هوایی مختلف گیاه مثل برگ‌ها، ساقه، شاخه‌ها و غلاف‌ها دیده می‌شود (شکل ۲).



شکل ۲. علائم بیماری قارچی آلترناریا

در اوایل رشد کلزا معمولا علائم بیماری کمتر دیده می‌شود. توسعه بیماری اغلب در شرایط معتدل و مرطوب بهار و معمولا بعد از شروع غلاف بندی کلزا و بیشتر روی ارقام دیررس می‌باشد. کاشت به موقع کلزا و استفاده از ارقام زودرس‌تر جهت مدیریت این بیماری توصیه می‌شود. در صورت نیاز می‌توان با شروع علائم بیماری نسبت به کاربرد قارچکش مناسب اقدام نمود.

جهت مدیریت، کنترل به موقع و کاهش خسارت بیماری‌ها باید اطلاعات کافی از سابقه کشت زمین، سابقه آلودگی به بیماری‌ها، چرخه زندگی عامل بیماری و اثرات شرایط محیطی مختلف بر روی بیماری داشته باشیم و با بکارگیری تلفیقی از روش‌های مختلف زراعی، بیولوژیکی و شیمیایی نسبت به مدیریت بیماری و جلوگیری از خسارت اقتصادی آن اقدام نماییم.

موارد زیر نکات مهمی برای پیشگیری موثر اکثر بیماری‌های قارچی می‌باشد:

۱- آماده سازی مطلوب بستر کشت.

۲- استفاده از بذر سالم، گواهی شده و ضدعفونی شده با قارچکش.

۳- تاریخ کاشت به موقع، عمق کشت و تراکم مناسب.

۴- رعایت تناوب زراعی و عدم کشت متوالی کلزا در یک زمین.

۵- کنترل به موقع علف‌های هرز.

۶- مدفون کردن بقایا بعد از برداشت کلزا یا زراعت‌های دیگر

و...

مهندس کایمیز فروزان

مدیر بذر، تحقیقات و آموزش

شرکت توسعه کشت دانه های روغنی



## ابزار تولید بذر

راهنمایی برای تنظیم کردن عناوین و مسئولیت ها

مدیر امور مالی

مسئول روابط عمومی

عناوین قانونی:

عناوین قانونی ممکن است برای دلایل قانونی و یا استفاده های صنفی به کار گرفته شوند. این عناوین فقط مسئولیت های قانونی و یا مناصب رami رساند و مسئولیت های عملیاتی محسوب نمی شود. مانند:

مدیرعامل

نایب رئیس

مسئول امور مالی

دبیر

مدیر

عناوین تعهد آور مالی:

عناوین تعهد آور مالی مانند سهامداران و یا مالک تنها روابط قانونی سهامداران با شرکت را نشان می دهد. شما ممکن است مالک یک شرکت باشید ولی هیچگونه مسئولیتی در شرکت نداشته باشید. به طور کلی برای سهامدار شدن به یک سرمایه اولیه برای کار نیاز دارید، توجه به این نکته مهم است که سهام به عنوان مزد کاری که انجام شده واگذار می شود، نه کاری که باید انجام شود.

مدیران شرکت های نوپا معمولاً در مورد آنکه چگونه بنگاه اقتصادی خود را سازمان دهند با مشکل مواجه هستند. آنها واژه هایی را در روزنامه ها و یا مجلات اقتصادی خوانده اند:

"آقای الف، رئیس ..."

"خانم ب، مسئول امور مالی ..."

"آقای ج، نایب رئیس ..."

و بعداً به این فکر فرو می روند که نقش ها و عناوین حساس، حیات را در آن موسسه ایجاد می کند.

یک فرد آشنا به امور تجاری به خوبی می تواند تفاوت بین عناوین و مسئولیت ها در فعالیت های تجاری را تشخیص دهد و آنچه در نهایت در یک فعالیت تجاری موفق حائز اهمیت است آن چیزی است که یک فرد و یا یک مدیر انجام می دهد نه آن چیزی که با آن عنوان خوانده می شود.

با پیش آگاهی فوق بعضی از عناوین شغلی به شرح زیر است.

عناوین مشاغل عملیاتی:

عناوین مشاغل عملیاتی در واقع مسئولیت ها را به طور شفاف به افرادی که آن شغل به آنها محول شده است را نشان می دهد مانند:

مدیر تولید

تکنسین تولید

هماهنگ کننده بخش بازاریابی



مهندس مهتاب مری

کارشناس مجتمع تحقیقات کاربردی و تولید

شرکت توسعه کشت دانه های روغنی

## کشت بافت گیاهی

کننده های رشد گیاهی اثرات مهمی دارد که معمولا بین ۵/۸ - ۵/۴ تنظیم می شود. تنظیم کننده های رشد گیاهی نقش ضروری در تعیین مسیر تکاملی سلول و بافت گیاهی در محیط کشت دارند. اکسین ها، سیتوکنین ها و جیبرلین ها عمومی ترین تنظیم کننده های رشد گیاهی مورد استفاده در کشت بافت هستند. نوع و مقدار هورمون ها عمدتا به گونه گیاهی، بافت یا اندام کشت شده و موضوع آزمایش وابسته است. اکسین ها و سیتوکنین ها معمول ترین تنظیم کننده های رشد گیاهی در کشت بافت گیاهی بوده و میزان آنها باززایی کشت را تعیین می کند. غلظت بالای اکسین باعث القای ریشه زایی است، در حالی که غلظت بالای از سیتوکنین باززایی ساقه را سبب می شود. تعادلی از اکسین و سیتوکنین منجر به ایجاد توده ای از سلول های تمایز نیافته به نام کالوس می شود (شکل ۱). به طور کلی سیتوکنین تقسیم سلول و القاء تشکیل ساقه و تکثیر جوانه جانبی را افزایش می دهد.



شکل ۱. سلول های گیاهی تمایز نیافته (کالوس)

کشت بافت گیاهی به عنوان تکنولوژی نوظهور، از طریق ارائه گیاهان مورد نیاز، حتی با افزایش تقاضای جهانی تاثیر زیادی بر کشاورزی و صنعت داشته است. در سال های اخیر کشت بافت سهم قابل توجهی در پیشرفت علوم کشاورزی داشته و امروزه ابزاری ضروری در کشاورزی مدرن می باشد. از طریق کشت بافت، تولید و تکثیر مواد گیاهی خالص از نظر ژنتیکی و عاری از بیماری فراهم می شود. کشت درون شیشه ای سلول و بافت، ابزار مفیدی برای القاء تنوع سوماکلونال (تنوع حاصل از جهش های درون محیط کشت) است. تنوع ژنتیکی ناشی از کشت بافت می تواند به عنوان منبعی از تنوع برای به دست آوردن ارقام جدید پایدار استفاده شود. از طریق کشت بافت جنین بالغ و یا نابالغ، گیاهان سالم از تلاقی های بین جنسی بدست می آید. در کشت درون شیشه ای، سلول، بافت و اندام گیاهی در شرایط کاملا استریل و کنترل شده رشد داده می شوند. محیط کشت بافت شامل تمام مواد مغذی مورد نیاز برای رشد و نمو طبیعی گیاهان است. که عمدتا متشکل از درشت مغذی، ریزمغذی، ویتامین ها، دیگر اجزای آلی، تنظیم کننده های رشد گیاهی، منبع کربن و برخی از عوامل منعقد کننده برای محیط جامد است. محیط کشت موراشیک و اسکوگ (محیط Ms) رایج ترین محیط برای تکثیر رویشی بسیاری از گونه های گیاهی در شرایط آزمایشگاهی است. همچنین pH محیط کشت در رشد گیاهان و فعالیت تنظیم

### مرحله سوم: مرحله تشکیل ریشه

مرحله ریشه دهی ممکن است در همان محیط کشت تکثیر، اتفاق بیفتد. با این حال، در برخی موارد لازم است محیط تغییر کند که از آن جمله تغییر مواد غذایی و ترکیب تنظیم کننده رشد برای القا ریشه و نمو رشد قوی ریشه می باشد.



شکل ۲. ریشه دهی گیاه درون شیشه

### مرحله چهارم: سازگاری

در این مرحله، گیاهان رشد یافته در شرایط درون شیشه ای از محیط کشت جدا شده و برای قرار گرفتن در شرایط غیر آزمایشگاهی سازگار می شوند. سازگاری به تدریج از رطوبت بالا به کم و از شدت نور کم به شدت نور بالا انجام می شود. سپس گیاهان به بستر مناسب (شن و ماسه، کمپوست، کود و ...) منتقل و به تدریج تحت شرایط گلخانه ای سازگار می شوند.

یکی از تکنیک های کاربردی کشت بافت ریز ازدیادی بوده که با انتخاب بافت های گیاهی (ریز نمونه) از گیاه مادری سالم و با بنیه شروع می شود. هر بخش از گیاه (برگ، مریستم انتهایی، جوانه و ریشه) می تواند به عنوان ریز نمونه استفاده شود.

### مرحله صفر: آماده سازی گیاهی دهنده

هر بافت گیاه را می توان در شرایط درون شیشه ای (in vitro) کشت کرد. برای افزایش احتمال موفقیت می بایست گیاه مادری در شرایط بهینه کشت شود.

### مرحله اول: مرحله شروع

در این مرحله ریز نمونه ضد عفونی سطحی شده و به مواد مغذی منتقل می شود. همچنین مصرف ترکیبی از باکتری کش و قارچ کش پیشنهاد شده است. انتخاب آن به نوع ریز نمونه بستگی دارد. ضد عفونی سطحی ریز نمونه در محلول های شیمیایی، مرحله مهم برای حذف آلودگی ها با حداقل آسیب به سلول های گیاهی است. رایج ترین مواد ضد عفونی کننده هیپوکلریت سدیم، هیپوکلریت کلسیم، اتانول و کلرید جیوه می باشند. کشت ها در اتاق رشد در شرایط روشنایی یا تاریکی در انکوباتور قرار داده می شوند.

### مرحله دوم: مرحله تکثیر

هدف از این مرحله افزایش تعداد جوانه است که تا زمان دستیابی به تعداد گیاه مورد نظر با تکرار واکشت تکثیر صورت می گیرد.

منبع:

Hussain, A., Ahmed, I., Nazir, H., & Ullah, I. (2012). Plant tissue culture: Current status and opportunities. Recent advances in plant in vitro culture, 1-28.



مهندس مصطفی حق پناه

کارشناس مجتمع تحقیقات کاربردی و تولید

شرکت توسعه کشت داروهای روغنی

## نشانه‌های مولکولی

### نشانه‌های DNA

نشانه‌های DNA تفاوت افراد را در سطح مولکول DNA نشان می‌دهند و دارای چند شکلی بالا، توزیع تصادفی در ژنوم، عدم تأثیرپذیری از عوامل محیطی، خنثی بودن از نظر فنوتیپی، فراوانی زیاد، غیر وابسته بودن به مرحله رشد، بافت، اندام و قابل ارزیابی بودن در هر مرحله رشدی می‌باشند.

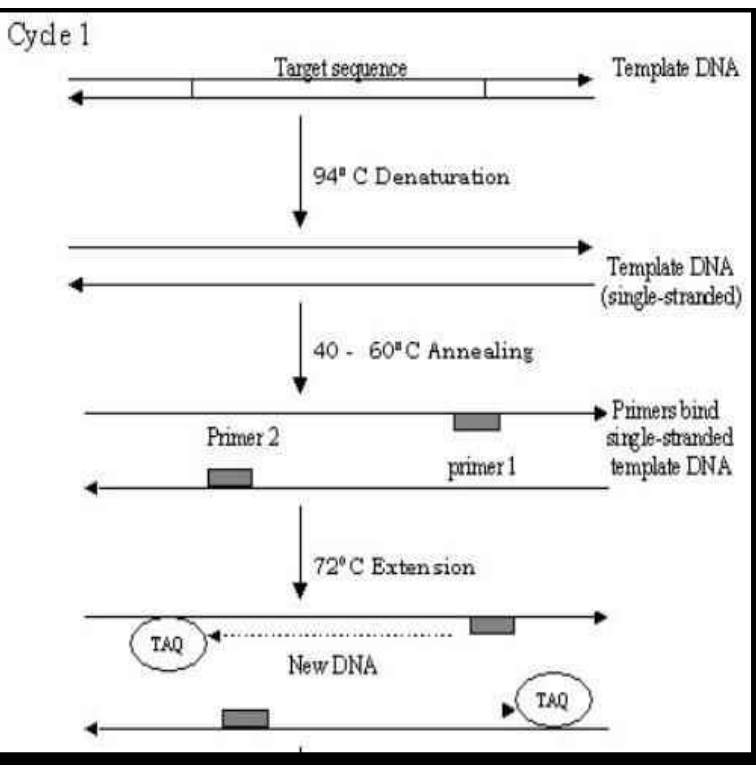
امروزه طیف وسیعی از نشانه‌های DNA هستند که در انتخاب آنها باید معیارهایی مانند محل ژنومی آنها (رمزکننده، غیررمزکننده)، توزیع نسبی آنها در ژنوم (نشانه‌هایی با محل ژنومی معین) در نظر گرفته شوند.

نشانه‌هایی از قبیل AFLP، SSR، RAPD، RFLP و ... به طور وسیعی در مطالعات تنوع ژنتیکی استفاده می‌شوند.

### واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز PCR

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) قطعات خاصی از مولکول DNA را با استفاده از آنزیم Tag polymerase و تغییرات دمایی در سه مرحله اصلی واکنش تکثیر می‌کند (شکل ۱):

۱. مرحله جدا سازی دورشته (حدود ۹۵ درجه سانتی‌گراد)
۲. مرحله اتصال آغازگر (بسته به پرایمرها ۴۰-۶۰ درجه سانتی‌گراد)
۳. مرحله بسط آغازگر (۷۲ درجه سانتی‌گراد).



شکل ۱. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز PCR

### انواع نشانه‌های DNA

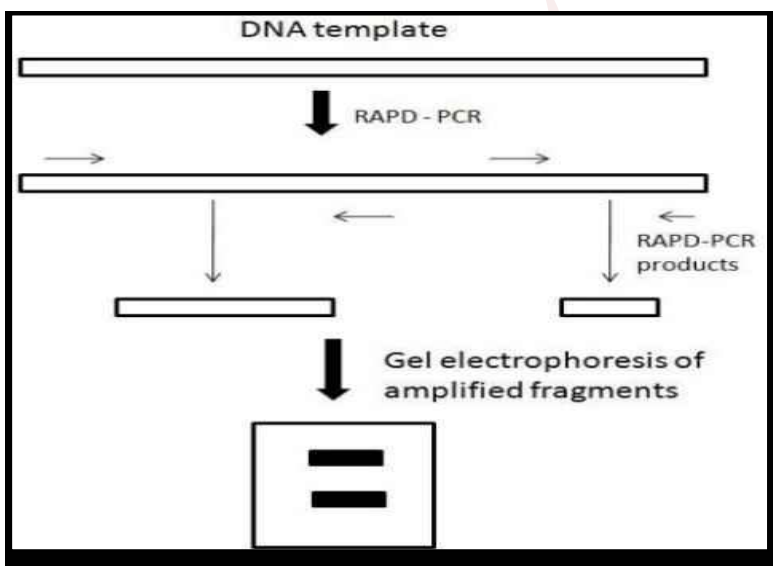
نشانه‌های DNA بر اساس نظر پوشندرا و همکاران به چهار گروه تقسیم می‌شوند.

- (i) نشانه‌های مبتنی بر هیبریداسیون
- (ii) نشانه‌های مبتنی بر PCR
- (iii) نشانه‌های مبتنی بر هیبریداسیون و PCR
- (iv) نشانه‌های مبتنی بر توالی یابی (SNPs) و تراشه DNA

### (i) نشانه‌های مبتنی بر هیبریداسیون

### PCR با استفاده از یک آغازگر

در این روش از یک توالی تصادفی یا اختیاری برای تکثیر یک قطعه خاص استفاده می‌نمایند به طوری که این توالی در دو محل از ژنوم هم به عنوان آغازگر رفت و هم به عنوان آغازگر برگشت عمل می‌کند. انواع روش‌های مبتنی بر آغازگرها عموماً در طول آغازگرها با هم متفاوت هستند به نحوی که AP-PCR از حدود ۲۰ نوکلئوتید، RAPD از حدود ۱۰ نوکلئوتید و DAF از حدود ۶ تا ۸ نوکلئوتید برخوردار می‌باشند (شکل ۳).



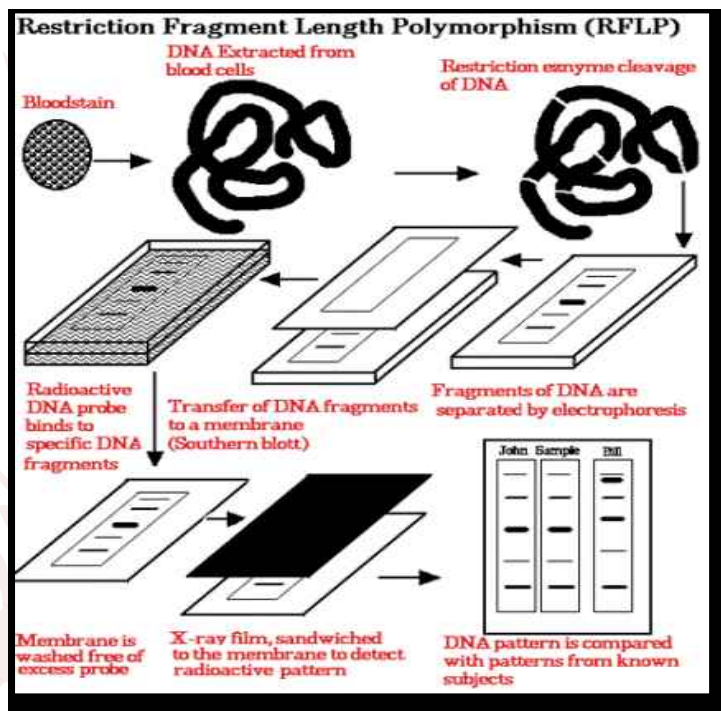
شکل ۳. مراحل تکثیر نشانگر RAPD

### PCR با استفاده از یک جفت آغازگر

این نوع نشانگرها انواع مختلف دارند که برخی از آنها عبارتند از، توالی نشان‌مند کننده نقاط یا STS که اصولاً یک توالی کوتاه و منحصر به فرد از DNA ژنومی به طول ۲۰۰ تا ۳۰۰ نوکلئوتید بوده که توالی مشابه آن در هیچ جای دیگر ژنوم یافت نمی‌شود طراحی آغازگرهای STS معمولاً از مکان نشانگرهای RAPD و RFLP منشاء می‌یابد.

نواحی تکثیر شده با توالی مشخص یا SCARs، نمونه‌ای دیگر از این نوع نشانگرها می‌باشد که آغازگرهای این نشانگر از روی

نشانگرهای مبتنی بر هیبریداسیون بدون استفاده از روش PCR تولید می‌شوند که بارزترین این دسته از نشانگرها چند شکلی طولی قطعات انحصاری RFLP می‌باشد (شکل ۲).



شکل ۲. نشانگر RFLP

### (ii) نشانگرهای مبتنی بر PCR

این گروه از نشانگرها از توالی الیگونوکلئوتیدی به عنوان آغازگر برای تکثیر قطعه خاصی از DNA استفاده می‌کنند. در این دسته از نشانگرهای مولکولی با بهره‌گیری از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز قطعه مورد نظر به تعداد بسیار زیادی که امکان ظهور آن بر روی ژل وجود داشته باشد تکثیر می‌شود. روش‌های مختلف در این گروه در طول و توالی آغازگرها، سختی شرایط PCR و روش‌های جداسازی قطعات از همدیگر متفاوت می‌باشند.

### (iii) نشانگرهای مبتنی بر هیبریداسیون و PCR

در این روش از محصول PCR نشانگر PARD/MP-RAPD به عنوان کاوشگر استفاده می‌گردد به نحوی که بعد از انجام PCR از محصول در مراحل الکتروفورز، لکه گذاری و هیبریداسیون با P32 یا SSR های نشان‌مند صورت می‌گیرد. این روش به نام‌های دیگری نظیر RAMPO، RAHM، RAMs نیز نام گذاری گردیده است.

### (iv) نشانگرهای مبتنی بر توالی‌یابی (SNPs) و تراشه DNA

چند شکلی تک نوکلئوتیدی یا SNP تنوع ناشی از جهش حذف یا اضافه در یک نوکلئوتید می‌باشد (شکل ۴). تشخیص فرآورده‌های SNP معمولاً به سه روش، مبتنی بر ژل، غیر مبتنی بر ژل (DASH, OLA, DNachip) و روش‌های غیر مبتنی بر PCR صورت می‌گیرند.

مکان‌های ژنی موجود در پروفایل‌های AP-PCR، RAPD، AFLP، SAMPL و... شناسایی و ساخته می‌شود.

### چند شکلی طولی قطعات تکثیری AFLP

چند شکلی طولی قطعات تکثیری یا AFLP، در واقع تلفیقی از روش PCR و RFLP بوده که با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز به تکثیر انتخابی قطعات هضمی DNA می‌پردازد و شامل مراحل هضم DNA، اتصال آداپتور به DNA، تکثیر پیش انتخابی و تکثیر انتخابی می‌باشد.

### ریز ماهواره‌ها

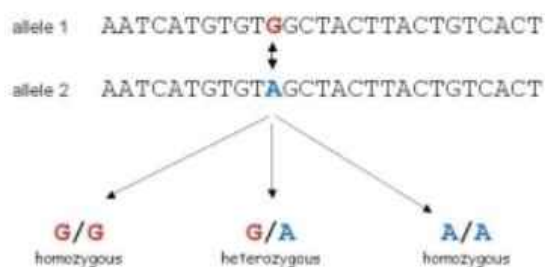
ریز ماهواره‌ها یا توالی تکراری ساده (SSRs) در واقع تکرارهای پیاپی از واحدهای منو، دی، تری و تترا نوکلئوتیدی نظیر (TC)<sub>n</sub>، (TAT)<sub>n</sub>، (GATA)<sub>n</sub>، (A)<sub>n</sub> می‌باشند که از فراوانی و چند شکلی بالایی در ژنوم یوکاریوت‌ها برخوردار بوده شناسایی و تشخیص آنها بوسیله طراحی آغازگرهای احاطه کننده این نواحی صورت می‌گیرد.

### تکنولوژی چند شکلی فضایی رشته‌ای منفرد SSCP

تکنولوژی چند شکلی فضایی رشته‌ای منفرد یا SSCP جهت تشخیص چندشکلی‌های محصول PCR که در یک یا چند نوکلئوتید نسبت به هم متفاوتند به کار می‌رود که نمایان سازی این تفاوت‌ها از طریق تک‌رشته‌سازی محصول PCR و حفظ ساختمان ثانویه و فرم فضایی آن در حین الکتروفورز صورت می‌گیرد.

منبع:

Gupt, p. and k.Prasad. (2002). Molecular markers: principle and methodology. Pp: 9-54.



چند شکلی تک نوکلئوتیدی SNP

