

علی زمان میرآبادی

Zaman.a@arc-ordc.ir

رئیس مرکز تحقیقات کاربردی

و تولید بذرها، شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

### گزارش فرصت تحقیقاتی در دانشگاه وسترن استرالیا بر روی بیماری ساق سیاه کلزا (بخش دوم) Research opportunity in University of Western Australia on Canola blackleg disease (part two)

قالب یک فرمت آکادمیک بررسی و تهیه شود که از این نظر نیز در ارتقاء سطح تهیه پروپوزال بی‌تأثیر نبود.

#### ۳. تصویب پروپوزال در دانشکده و سپس در دانشگاه و اخذ نمره زبان MSRT (۱/۵ ماه):

انجام فیلترهای مختلف از اساتید گروه، خارج از دانشگاه و سایر اعضای هیات علمی دانشگاه و نهایتاً کمیته درون دانشکده و دانشگاه و حمایت استاد راهنمای بنده سرکار خانم دکتر همتی از دیگر مراحل اجرایی تصویب پروپوزال بود. پروپوزال در سایت ایران داک ثبت و نهایتاً در دانشگاه نیز مورد تأیید قرار گرفت. اخذ مصوبه دانشگاه شرکت در آزمون MSRT از دیگر موضوعاتی بود که این مرحله به عنوان بخش مهمی از موضوع امکان استفاده از فرصت مطالعاتی خارجی تعیین‌کننده بود. لذا بنده نیز در این آزمون و بدون مطالعه و بر حسب اندوخته‌های و آشنایی نسبی از زبان انگلیسی شرکت و توانستم حداقل نمره مورد نیاز را کسب و از این طریق یک مرحله به اخذ فرصت مطالعاتی خارجی نزدیک‌تر شدم.

#### ۴. اخذ دعوت نامه از گروه بیولوژیک و دعوت نامه رسمی از واحد منابع انسانی دانشگاه UWA (۱/۵ ماه):

تا قبل از اقدام برای استفاده از ارز دانشجویی هنوز مسیر زیادی باقیمانده بود. می‌بایست براساس دعوت‌نامه غیررسمی از اساتید دانشگاه UWA یک دعوت‌نامه رسمی از اداره منابع

در ادامه مطلب قبلی و پس از اخذ دعوت‌نامه از پروفیسور بتلی بنده برای سایر مراحل اداری و علمی کار که تقریباً حدود یک سال طول کشید اقدام کردم که به شرح ذیل اقدامات مربوطه به تفکیک آورده شده است:

#### ۱. ارائه پروپوزال طرح به دانشگاه زنجان (سه ماه):

تهیه پروپوزال طرح به طوریکه از یک طرف نیازهای شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی برآورده شود، از یک طرف اهداف مد نظر دانشگاه زنجان و از طرفی مورد توجه و حمایت دانشگاه UWA قرار گیرد کاری بسیار دشوار بود ولی علی‌ایحال این موضوع صرف نظر دانشگاه UWA و در ابتدا با اولویت اهداف شرکت و حسب تجربه بنده نوشته شد که خوشبختانه در مراحل بعد مورد توجه پروفیسور دانشگاه UWA نیز قرار گرفت. اهداف اصلی این پروپوزال بررسی و شناسی تنوع ژنتیکی جدایه‌های مختلف قارچ عامل بیماری ساق سیاه کلزا به منظور اتخاذ تصمیم در روند شناسایی ارقام مقاوم هدف‌گذاری گردیده بود.

#### ۲. اصلاح و تأیید پروپوزال توسط اساتید راهنما

مشاور، دو استاد ناظر و یک استاد خارج از دانشگاه زنجان (۱/۵ ماه): انجام مراحل تأیید پروپوزال از نظر آکادمیک که بعضاً با اهداف علمی در بخش‌های دیگر مغایرت داشت باعث شد، تهیه این پروپوزال در نهایت به گونه‌ای انجام گردد که موضوع عملیاتی بودن آن ولی در

انسانی آن دانشگاه نیز اخذ شود لذا پیگیری‌ها و ده‌ها مکاتبه نیز در آخر منجر به صدور دعوت‌نامه رسمی از آن دانشگاه گردید که تصویر آن در ذیل آمده است.

نام و نام خانوادگی دانشجو: علی زمان میرآبادی شماره دانشجویی: ۹۵۱۸۶۱۰۱ رشته و گرایش تحصیلی: بیماری شناسی گیاهی، فارغ‌شناسی و بیماری شناسی گیاهی تاریخ: الف- عنوان پروپوزال:						
۱- فارسی: تنوع ژنتیکی و بیماری‌زایی قارچ عامل سیاه کلزا، <i>Leptosphaeria maculans</i> ، در حاشیه جنوبی فریای خزر و بررسی واکنش برخی ارقام کلزا						
۲- انگلیسی: Genetic and pathogenicity diversity of <i>Leptosphaeria maculans</i> , canola blackleg agent in southern coastwise of the Caspian Sea and evaluation of reaction in some canola cultivars						
ب- کمیته راهبردی (ستون آخر فقط برای استاد مشاور تکمیل گردد)						
نام و نام خانوادگی	سمت در پایان‌نامه	مرتب‌علمی	تخصص اصلی	تخصص جانبی	محل فعالیت	نوع همکاری مشاور
۱- رقیه همتی	رئیس	دانشیار	بیماری شناسی گیاهی		دانشگاه زنجان	
۲- ژاکلین بنلی	مشاور	استاد	ژنومیک و بیوانفورماتیک		دانشگاه وسترن استرالیا	
ب- مقدمه و تعریف مفاهیم: عمده کشت محصولات روغنی برای تولید روغن در داخل کشور (حدود ۷ درصد)، از طریق زراعت سویا و کلزا و بخش کم‌هم از طریق آفتابگردان، کلزنگ و کتجد تأمین می‌شود و در صورتیکه برای همین میزان محدود سطح زیر کشت، موانع و محدودیت‌هایی به وجود آید وابستگی کشور به تأمین روغن از طریق واردات از خارج کشور بیشتر خواهد شد. به عنوان مثال در خصوص کلزا که به عنوان مهم‌ترین محصول روغنی پاییزه محسوب می‌شود، عامل بیماری ساق سیاه کلزا به عنوان یکی از عوامل محدود کننده آن در جهان و داخل کشور به شمار می‌رود و با توجه به گزارشات قبلی مبنی بر توسعه حضور تپ‌های بیماری‌زایی آن در ایران، احتمال آید شدن این بیماری به ویژه در مناطق شمالی کشور و از طرفی نبود اطلاعات کافی در مورد تنوع ژنتیکی ژنهای بیماری‌زایی این عامل قارچی می‌بایست در خصوص مقابله با این بیماری برای مدیریت صحیح آن اقدام نمود. در مدیریت زراعی این بیماری استفاده از ارقام مقاوم در مقابله با ژن‌های فعال در منطقه بسیار حائز اهمیت است و برای این منظور چاره‌ای جز تعیین تنوع جمعیتی و ژنتیکی و حضور تپ‌های مهاجم با استفاده از مارکرها و تکنولوژی‌های روز دنیا (نظر به سرعت تغییرات جمعیتی قارچ با توجه به هتروپال بودن و تشکیل شکل جنسی آن در شمال کشور) وجود ندارد. منابع مقاومت در خصوص این بیماری خوشبختانه وجود دارد که می‌بایست از طریق روشهای اصلاحی کلاسیک و مدرن به ارقام رایج منتقل کرده ولی پیش زمینه آن اطلاعات همه‌جانبه در خصوص حضور و پراکنش ژنهای فرگیر در بیماری‌زایی ارقام و هیبریدهای رایج در منطقه می‌باشد. لذا این تحقیق با هدف شناسایی ساختار و تنوع جمعیتی و ژنتیکی قارچ عامل بیماری ساق سیاه کلزا و ژنهای بیماری‌زایی آن در جهت شناسایی منابع مقاومت در گونه‌های مختلف جنس <i>Brassica napus</i> با اولویت کلزا انجام می‌گردد.						
ج- اهداف تحقیق: ۱- تعیین تپ‌های بیماری‌زایی و ژن‌های قارچ عامل بیماری ساق سیاه کلزا در استانهای مازندران و گلستان ۲- مطالعه تنوع ژنتیکی در جمعیت قارچ با استفاده از Genotyping by sequencing و بوسیله SNPs Genotyping ۳- ردیابی ژنهای بیماری‌زایی در جمعیت مورد مطالعه و بررسی ارتباط آن با گروه‌های حاصل از SNPs Genotyping ۴- بررسی واکنش ارقام کلزا به جدایه‌های نماینده از هر گروه و ژن‌های موجود در منطقه ۵- ردیابی برخی ژنهای مقاومت در ارقام مورد مطالعه بند ۴						
د- روش تحقیق: ۱- نمونه برداری قارچ عامل بیماری ساق سیاه کلزا، جداسازی و نگه‌داری جدایه‌های قارچی نمونه برداری از مزارع کلزا در استانهای مازندران و گلستان در طول فصل رشد برای جداسازی، خالص‌سازی و ذخیره‌سازی نمونه‌ها انجام خواهد گرفت (Mengistu et al., 1993; Zaman Mirabadi et al., 2010) ۲- تکنیک گونه‌های مهاجم <i>Leptosphaeria maculans</i> و غیر مهاجم <i>L. biglobosa</i> پس از استخراج DNA جدایه‌های خالص برای تکنیک گونه‌های بیماری‌زایی و غیر بیماری‌زایی از پرایمرهای تحقیقات لیو و همکاران (Liu et al., 2006) و سایر مطالعات جدید در طول مراحل اجرای کار استفاده خواهند شد. ۳- ردیابی ژنهای بیماری‌زایی در جمعیت مورد مطالعه برای شناسایی ژنهای بیماری‌زایی در این تحقیق سعی می‌گردد حداقل برای دو ژن بیماری‌زایی AvrLm6 (Fudal et al., 2007b) و AvrLm1 (Gout et al., 2006b) که پرایمرهای آن طراحی شده، از طریق PCR انجام گیرد و در صورت وجود امکانات برای سایر ژنهای بیماری‌زایی از تحقیقات آنژرد و همکاران (۲۰۰۱) و ون دیو رو و همکاران (۲۰۱۰) استفاده می‌گردد. ۴- مطالعه تنوع ژنتیکی جدایه‌های مهاجم مورد مطالعه بعد از تالیابی ژنوم ناقص جدایه‌های منتخب مهاجم، برای شناسایی SNPs از روش ژاندر و همکاران (۲۰۱۳) استفاده می‌شود. در این روش با استفاده از						

ژنوم و فرنیس (Rouxel et al., 2011) و SOAPaligner 2 برای هم‌ردیفی استفاده می‌شود (Li et al., 2009) و برای پیش‌بینی SNPs از نرم‌افزار (Loren et al., 2012) SGSautoSNP استفاده می‌شود. رسم فن‌دروگرام‌های مربوط به SNP‌های جدا به‌همه و فرنیس ژنوم توسط نرم‌افزار R انجام می‌گیرد.

۵-۵-۰- آزمون‌های گنجانده‌ای

۵-۵-۱- تعیین تیپ بیماری‌زایی با نژاد (Pathogenicity group)

بدین منظور حداقل سه رقم اترقی به نامهای رقم رستار (رقم بهاره)، کویتا و کلاسیر (ارقام پالتیو) که از IPK آلمان سفارش داده خواهد شد برای تعیین تیپ بیماری‌زایی (PG) استفاده می‌گردد (Williams and Fitt, 1999; Zaman Mirabadi et al., 2010).

۵-۵-۲- نوزایی ارقام کلزا

در این مرحله از جدا به‌همه‌ای که در مرحله قبل به عنوان گروه مهاجم شناسایی شده‌اند استفاده خواهد شد و از شباهت بیماری‌زایی یا نژادهای شبیه در یک برمه با منطقه، یک جدا به‌همه نماینده به کار خواهد رفت. آزمون بیماری‌زایی بر روی ارقام رایج و کلکتیون بلر مرکز تحقیقات کاربردی شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی مربوط به ارقام و هیبریدهای رایج و برخی نتایج حاصل از تلاقی انجام می‌گیرد.

۵-۵-۳- ردیابی ژنهای مقاومت در ارقام مورد مطالعه

جهت شناسایی ژنهای مقاومت به بیماری ساق سیاه کلزا از مارکر مولکولی تحقیقات آنالگا و همکاران (۲۰۰۶)، تحقیقات دانسیناگاسانی و فرلندو (۲۰۰۸) و سال و همکاران (۲۰۰۴) استفاده خواهد شد.

۵-۵-۴- مکان و زمان تحقیق

استانهای مازندران و گلستان از دی ماه ۹۶ تا دی ماه ۹۷

۵-۵-۵- طرح آزمایش (پژوهش)، متغیرها

آزمایش برای ارزیابی ارقام و مقاومت آنها در قلب طرح کامل تصادفی در سه تکرار و هر تکرار شامل هفت گیاهچه کلزا در داخل گلخانه و یا اتاقک رشد انجام خواهد شد.

۵-۵-۶- جامعه، تعداد نمونه و روش نمونه‌گیری

جامعه مد نظر از استانهای مازندران و گلستان و در مناطق دارای مساحت بالای سطح زیر کشت کلزا و در طول فصل رشد و به صورت تصادفی بر حسب علایم مشاهده این انجام خواهد گرفت. حداقل ۵۰ نمونه از مزارع مختلف در استان مازندران و گلستان انتخاب می‌شود.

۵-۵-۷- ویژگی نوآوری

۱- بیماری ساق سیاه کلزا در ایران بیماری جدیدی است و تحقیق در تمامی ابعاد برای این بیماری، بویژه ژنهای بیماری‌زایی جمعیت‌های موجود قارچ که بهترین بیماری کلزا در جهان و همچنین در شمال ایران که به عنوان یکی از عوامل ممنوعیت تولید بذل کلزا در شمال کشور می‌باشد، از اهمیت بالایی برخوردار بوده و در نوع خود جدید می‌باشد.

۲- با توجه به تفرقات جمعیتی قارچ عامل بیماری ساق سیاه کلزا در هر دوره زمانی ۱ تا ۴ ساله، ردیابی تفرقات جمعیتی می‌بایست به طور پیوسته انجام شود که از ابتدای معرفی این قارچ در شمال کشور شروع ژنتیکی این قارچ برای شناسایی ژنهای بیماری‌زایی آن بررسی نشده است و لذا از این نظر این تحقیق جدید و ضروری می‌باشد.

اعضای دانشجو      اعضای استاد راهنما      اعضای مدیر گروه      اعضای داور ۱      اعضای داور ۲

نظر عضو شورای تحصیلات تکمیلی دانشکده:

۱- با تصویب پروپوزال موافقت می‌گردد

۲- تصویب پروپوزال منوط به انجام اصلاحات زیر می‌باشد

۱- تغییر عنوان پایان‌نامه مطابق با گرایش تحصیلی دانشجو	۱- تغییر روش اجرای پژوهش و طرح آزمایشی
۲- تغییر استاد (اساتید) راهنما مطابق با موضوع پیشنهادی	۲- ایجاد نوآوری در پایان‌نامه
۳- تغییر استاد (اساتید) مشاور مطابق با موضوع پیشنهادی	۳- تغییر حجم کار پایان‌نامه متناسب با زمان و مقطع تحصیلی
۷- سایر موارد:	

تاریخ جلسه شورای اعضای عضو شورا:



Human Resources

P/00099837

PERSONAL

15 May 2018

Mr Ali Zamanmirabadi  
Email: [a.zmirabadi@znu.ac.ir](mailto:a.zmirabadi@znu.ac.ir)

Dear Mr Zamanmirabadi,

VISITING APPOINTMENT

On behalf of the Vice-Chancellor, it is my pleasure to offer you an appointment as a Visiting Research Student in the School of Biological Sciences within the Faculty of Science at the University of Western Australia for a period of twelve months from 1 June 2018, or as soon as possible thereafter. The purpose of this visit is to Identify and distinguish different isolates of canola blackleg through markers and tests as PCR and NGS.

The University is unable to provide any remuneration for this visiting appointment.

You may be required to obtain a visa to take up this appointment. Please contact your nearest Australian Embassy or Consulate to determine if you will need to apply for a Temporary Activity (subclass 408 Class GG) visa (<http://www.dfat.gov.au/missions/>).

This visa will need to be applied for online using the information attached. You will need to create your own ImmiAccount via the Department of Immigration and Border Protection website to apply for this visa (<http://www.border.gov.au/Trav/Visa-1/408->).

Please sign and return this letter (as indicated below) to the email address below as soon as possible acknowledging your formal acceptance.

On the day you commence, please report to your sponsor to confirm your commencement and provide them with a copy of your visa.

I am sure that you will enjoy Perth and your time at the University. Should you wish to find out more about Working at UWA please visit our website at: <http://www.hr.uwa.edu.au/hr/careers@uwa/working@uwa>.

که بنده قادر به پرداخت آن نبودم. لذا مطالعات و جستجوهای بسیاری انجام دادم و دل را به دریا زدم و مستقیماً به سایت مهاجرت استرالیا رفتم. متون زیادی را خواندم و نهایتاً تقریباً دو هفته طول کشید تا مراحل اخذ یک ویزای فرصت مطالعاتی را طی کنم. در حین انجام کار مدارک زیادی را برای اداره مهاجرت می‌بایست ترجمه کنم از کارت ملی و شناسنامه تا مدارک تحصیلی، رزومه انگلیسی، سوابق کاری و بیمه و همچنین مدارک خانواده و ... از دیگر مدارک مهم برای اخذ ویزا موضوع بیمه بود. تحقیقات زیادی را انجام دادم

۵. تهیه بیمه و درخواست ویزا از طریق سامانه الکترونیک دفتر مهاجرت استرالیا (۱/۵ ماه):

پس از دریافت دعوت‌نامه رسمی می‌بایست برای ویزا اقدام می‌کردم. تعداد افرادی که برای فرصت مطالعاتی به خارج از استرالیا رفته بودند چندان زیاد نبود و لذا عملاً کسی نبود بنده را برای اخذ این نوع ویزا همراهی کند. از دفاتر و کالت بسیاری برای اخذ ویزا سوال گردید اما عملاً یا قادر به این کار نبودند و یا مبالغ هنگفتی از سه تا پنج میلیون درخواست

نهایتاً مدارک بارگزاری گردید و حدود دو ماه برای این موضوع با تلفن‌های مکرر و رفتن به سازمان امور دانشجویان در چهار نوبت باعث شد بنده نهایتاً در آخرین روزهای واگذاری ارز دانشجویی موفق شده و تأییدیه لازم برای اخذ ارز دانشجویی را برای یک هفته قبل از پرواز خود بگیرم که نهایتاً این ارز که حدود ۸ هزار دلار استرالیا به صورت بلاعوض بود تهیه گردید. از طرفی حدود ۴۰۰۰ دلار ارز دولتی نیز به بنده تعلق می‌گرفت که وجه آن نیز پرداخت گردید. همچنین برای مساعدت سفر نیز ۱۴ میلیون نیز از طریق شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی برای تأمین بخشی از نیاز اقامت از محل مصوبه طرح ساق‌سیاه کلزا که پیش از این در شرکت با مبلغ ۴۰ میلیون تومان مصوب گردیده بود تأمین گردید که از این نظر صرفه جوئی هزینه‌ایی بسیاری برای شرکت با مطالبی که در آینده عنوان خواهد شد نیز داشت.

با توجه به افزایش و تغییرات قیمت ارز از یک طرف و از طرفی ضرورت اختصاص امکانات و تجهیزات بیشتر برای فعالیت روی این قارچ و با توجه به پیش فاکتورهایی که بنده برای توالی‌یابی هر جدایه از این قارچ البته با قیمت قبل از سال ۹۷ گرفتم اگر می‌خواستیم فقط یک جدایه را توالی‌یابی کنیم با قیمت قبل از عید سال ۹۷ حدود ۵ میلیون تومان هزینه داشت و برای حداقل ۵۰ جدایه چیزی حدود ۲۵۰ میلیون تومان هزینه توالی‌یابی بعلاوه هزینه‌های اسکرین اولیه در حدود ۳۰۰ میلیون تومان خواهد شد و این مبلغ در زمان تهیه این گزارش به بیش از یک میلیارد تومان برای این تعداد جدایه رسیده بود. علی‌ایحال بنده با پروفیسور بتلی مذاکره کردم و همه چیز را با ایشان قرارداد نمودم و مقرر گردید ایشان صرفاً هزینه آزمایشگاهی و تجهیزاتی و دفتر کار را برای یک دوره یکساله در آزمایشگاهشان در دانشگاه UWA به‌طور رایگان در اختیار بنده قرار دهد. ادامه دارد ...

و به این نتیجه رسیدم که بیمه ایمن در استرالیا یکی از بیمه‌های خوب بوده اما چون باز بنده قادر به پرداخت آن نبودم از همین بیمه ملت خودمان با پوشش و زیر نظر بیمه رمد ترکیه و با یک سوم قیمت بیمه استرالیایی، خرید کردم. مدارک تکمیل شد و همه در سایت اداره مهاجرت استرالیا بارگزاری گردید. پس از ۲۵ روز نامه‌ایی دریافت کردم که می‌بایست یک فرم ۱۲۲۹ را نیز پر کنم. پر کردن آن فرم نیز با توجه به مشغله کاری بنده سه روزی طول کشید و آن را نیز بارگزاری کردم و نهایتاً یک هفته بعد و مجموعاً از ابتدای درخواست تا اخذ ویزا حدوداً ۳۰ روز بعد ویزای خودم را دریافت کردم.

#### **۶. موافقت شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی برای اعزام به این طرح:**

زمانیکه تمامی مدارک آماده گردید و لازم بود با شرکت توسعه کشت این موضوع مطرح گردید بنده برای قائم مقام شرکت جناب آقای مهندس فروزان نامه‌ایی تهیه کردم و پس از بحث و بررسی‌ها نامه برای تصمیم‌گیری به مدیریت عامل جناب آقای امیر عطایی فر ارجاع داده شد. ایشان پس از بررسی موضوع نیز با این سفر تحقیقاتی موافقت نمودند و لذا تا اقدام برای این سفر تحقیقاتی یک مرحله بیشتر باقی نمانده بود.

#### **۷. اقدام از طریق تهیه مدارک سازمان امور دانشجویان برای تأمین ارز فرصت مطالعاتی (۲ ماه):**

تمامی مراحل فوق که در یک کار فشرده و نفس‌گیر یکساله انجام گردید بسیار سخت و مشکل بوده و در این مسیر سختی‌های زیادی برای طی نمودن این مراحل با توجه به سایر مشکلات پیش‌رو متحمل گردیدم. زمان آن بود که پروپوزال، دعوت‌نامه و ویزای خودم را در سامانه سجاد وزارت علوم بارگزاری کنم. شرایط سختی بود. اوضاع ارزی کشور چندان وضعیت مناسبی نداشت و حرف و حدیث‌ها از متوقف شدن ارائه ارز دانشجویی حکایت می‌کرد. فشارها و استرس‌ها پس از پشت سر گذاشتن تمامی این مراحل بیشتر و بیشتر می‌شد.