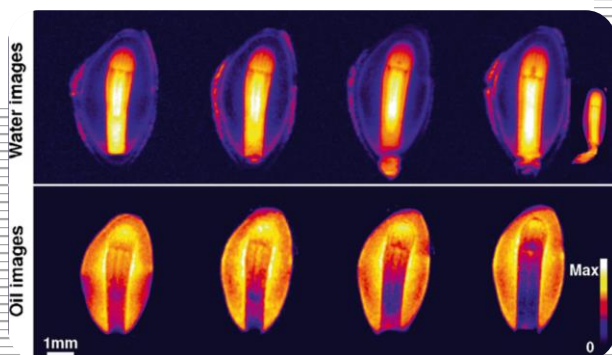


وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس

تکنولوژی های نوین ارزیابی غیر تخریبی در بذر



نویسندگان: سیاوش کریمی و
عبدالعظیم بهاری

نشریه فنی، شماره ۳۹، سال ۱۳۹۵



بسم الله الرحمن الرحيم

شورای انتشارات مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس

تکنولوژی‌های نوین ارزیابی غیرتخریبی در بذر

نگارش: مهندس سیاوش کریمی (موسسه تحقیقات ثبت و گواهی

بذر و نهال) و عبدالعظیم بهاری (کارشناس ناظر غلات بذری

استان فارس)

سال انتشار: ۱۳۹۵

وزارت جهاد کشاورزی

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس

عنوان نشریه	تکنولوژی‌های نوین ارزیابی غیرتخریبی در بذر
نگارش	سیاوش کریمی و عبدالعظیم بهاری
ناشر	مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس
سال انتشار	۱۳۹۵
شمارگان	۵۰
شماره ثبت مرکز اطلاعات و مدارک علمی کشاورزی	

نشانی: شیراز، بلوار جانبازان، خیابان استاد مردانی غربی، مرکز تحقیقات و

آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس

تلفن: ۳۷۲۰۹۳۳۲ (۰۷۱۱)، دورنگار: ۳۷۲۰۵۱۰۷ (۰۷۱۱)

پایگاه اطلاعاتی مرکز: <http://fars.arei.ir>

مخاطبان نشریه:

کلیه کارشناسان، مروجان، مهندسان ناظر و کشاورزان پیشرو

اهداف آموزشی:

شما خوانندگان گرامی در این نشریه با

– کاربرد فن‌آوری‌های غیر تخریبی در بحث فیزیولوژیک

– نحوه‌ی تسهیم مواد در قسمت‌های مختلف بذر به هنگام جوانه‌زنی

آشنا خواهید شد.

فهرست مطالب

۱.....	مقدمه
۳.....	مشاهده‌ی تسهیم آب با استفاده از روش MRI
۶.....	ردیابی پسایش آب با MRI
۹.....	مشاهده‌ی تسهیم چربی با استفاده از روش MRI



۱- مقدمه

با توجه به این که برخی ترکیبات درون سلولی (مانند آنزیم‌ها، هورمون‌ها و...) قدرت ماندگاری کمی در محیط آزاد دارند، تعیین مقدار کمی و کیفی آن‌ها در سلول‌ها و بافت‌های زنده، بدون تخریب بافت یکی از نیازهای مهم در تحقیقات بشمار می‌رود. در این رابطه روش‌هایی مانند رزونانس مغناطیسی هسته (NMR)^۱ و ریزعکس‌برداری با استفاده از رزونانس مغناطیسی هسته (MRI)^۲ از روش‌های نوین غیرتخریبی در تعیین واکنش‌ها و رخداد‌های درون سلولی بافتی به حساب می‌آیند. عکس‌برداری مغناطیسی (MRI) یکی از روش‌های عیب‌یابی مورد استفاده در بسیاری از کلینیک‌های پزشکی می‌باشد (شکل ۱). استفاده از این دستگاه‌ها در ابتدا در علوم انسانی و پزشکی بوده و با رشد علم از آن‌ها در علوم گیاهی، شیمی و کشاورزی و در مواردی هم‌چون تعیین کمی و کیفی اسیدهای چرب، آنزیم‌ها، هورمون‌ها و هم‌چنین تعیین مسیر حرکت این ترکیبات و تغییرات ایجاد شده در

¹ Nuclear magnetic resonance

² Magnetic Resonance Imaging



آن‌ها در طی حرکت به مکان‌های متفاوت سلول استفاده گردید [1]. دستگاه‌های دارای دقت بالا، که دارای کیفیتی بین ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ برابر بیش از MRI استاندارد هستند را می‌توان در بررسی مواد مورد استفاده قرار داد، همچنین با افزایش فرکانس می‌توان در علم فیزیولوژی گیاهی نیز از آن‌ها بهره برد. دیده شده است که H-MRI^۳ می‌تواند اطلاعاتی در نمونه‌های با اندازه‌ی یک میلی‌متر و یا کوچک‌تر را تهیه نماید. همچنین استفاده از این روش برای عکس‌برداری از فرایندهای آب-گیری، جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه نیز استفاده می‌شود [2]. هدف از این مطالعه استفاده از روش MRI در عکس‌برداری مسیرهای حرکت و تسهیم آب در بذر می‌باشد.

³ High-resolution MRI

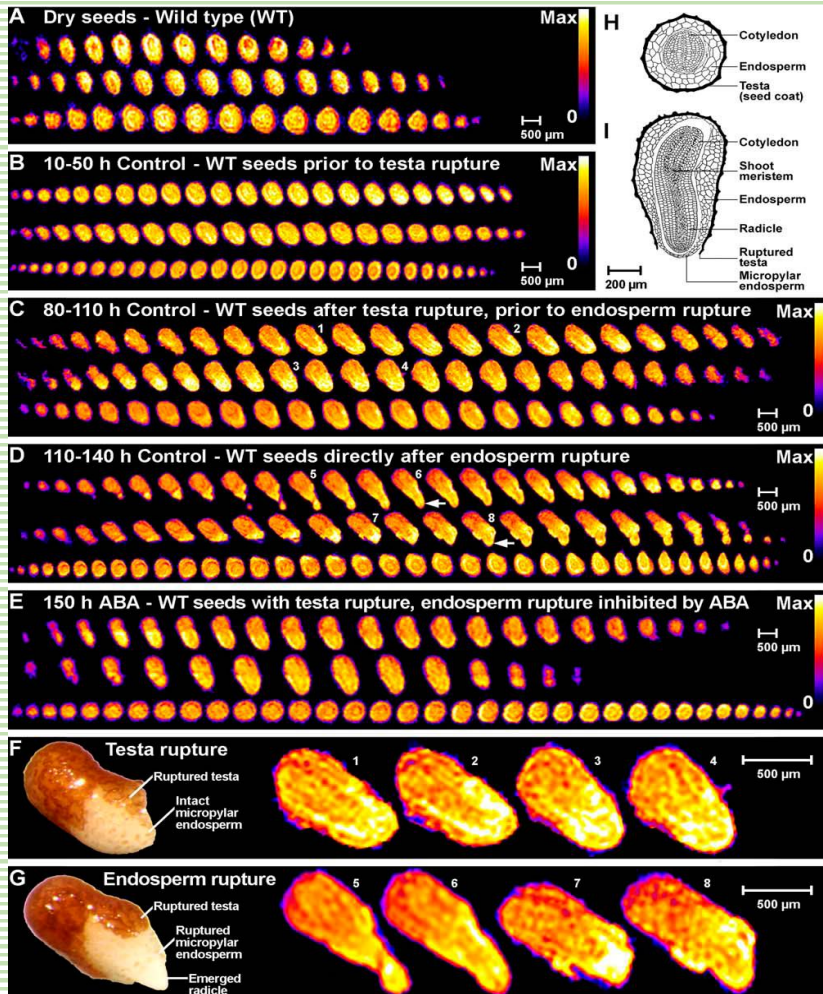


شکل ۱- تصویر دستگاه MRI



۲-مشاهده‌ی تسهیم آب با استفاده از روش‌های غیرتخریبی

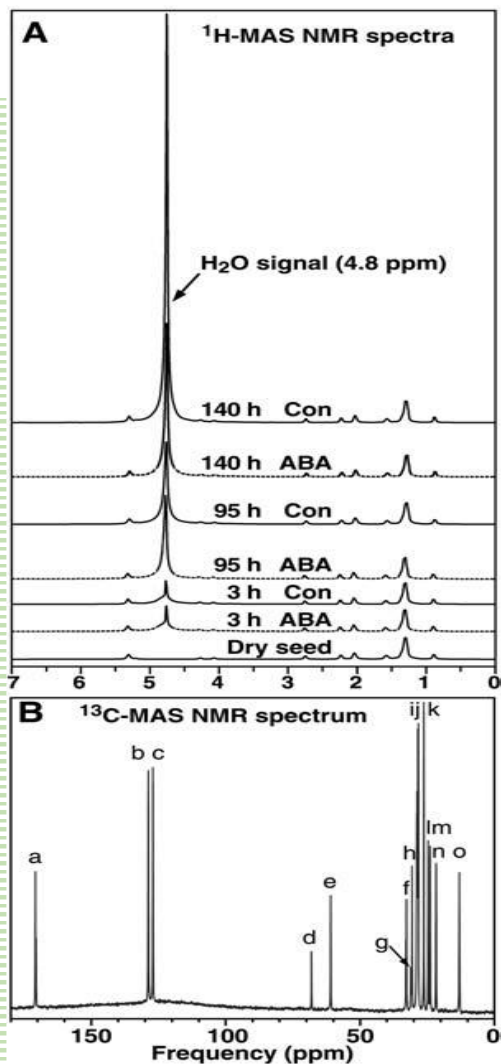
آزمایش‌های انجام شده با استفاده از روش MRI در بذر تنباکو نشان داده است که با استفاده از این روش می‌توان ریزعکس‌هایی از بذره‌ای کوچک‌تر از یک میلی‌متر نیز تهیه نمود. با استفاده از روش MRI می‌توان حرکت پروتون‌ها را در بذر در حال آگیری مشاهده نمود. در بذره‌ای خشک (شکل ۲، قسمت A) پروتون‌ها بر اساس محتوای آب و روغن موجود در بذر نشان داده شده است. عکس‌های موجود در شکل ۲ (قسمت‌های B, C, D, E) از چهار بذر در سه جهت و در زمان‌های یاد شده تهیه شده‌اند. شکل بذور سالم در این شکل نشان‌دهنده قدرت غیرتخریبی در این روش می‌باشد. سیگنال جذب آب در روش H-MAS NMR تنها سیگنالی است که طبق شکل ۳ (بخش A) در نقطه $4/8 \text{ ppm}$ افزایش نشان می‌دهد. این سیگنال بیش‌ترین بازه را در فاز دوم و سوم آبنوشی بذر نمایش می‌دهد، بنابراین سیگنال‌های بوجود آمده اکثراً مربوط به جذب آب می‌باشند. شکل ۴ نشان‌دهنده تسهیم و حرکت آب در بذر و جنین لویپین می‌باشد [3]. هر شکل مربوط به زمان-های متفاوتی که در شکل ۵ نشان داده شده است می‌باشد.



شکل ۲- مشاهده و عکس برداری از بذر در حال آبیگری تنباکو با استفاده از روش MRI
(رنگ های هر بخش نشان دهنده میزان آب موجود در آن بخش می باشد).



در شکل ۲ دیده شد که هیپوکوتیل، باقی‌مانده‌های آندوسپرم و نوک ریشه‌چه دارای بیش‌ترین سهم آب هستند. در ریشه بخش کورتکس دارای بیش‌ترین سهم آب بوده (رنگ زرد) و بخش‌های اطرافش که شامل لایه‌ی آندودرم و پری‌سایکل می‌باشند دارای سهم آب کم‌تری می‌باشند (رنگ قرمز). در محور هوایی نیز مشاهده می‌شود که بخش کورتکس هیپوکوتیل دارای بیش‌ترین سهم آب است. در صورتی که در کوتیلدون‌ها تسهیم آب هماهنگی و ترتیب خاصی ندارد.



شکل ۳- استفاده از روش ^1H -MAS NMR در جذب آب بذر آرابیدوپسیس (شکل A) و مقادیر کمی اسیدهای چرب (شکل B)



۱-۲- ردیابی پسابش آب با MRI

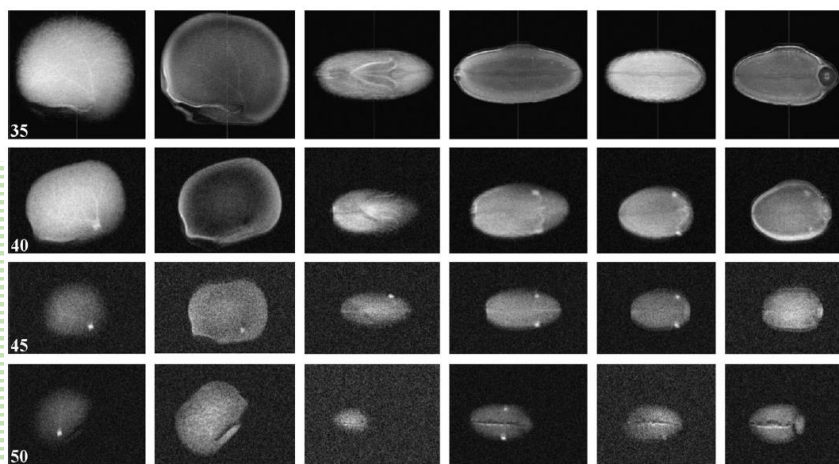
ردیابی مکانیسم پسابش در بذرهای کمک زیادی به شناسایی تحمل بذر به خشکی می‌کند. روش عکس‌برداری با استفاده از رزونانس مغناطیسی (MRI) یکی از روش‌های مناسب و غیرتخریبی در مطالعه‌ی بیولوژی رخدادهای مربوط به جذب آب مانند جوانه‌زنی و ردیابی حرکت آب در بذر است. همچنین با استفاده از این روش می‌توان نحوه‌ی پسابش و حذف آب درون سلولی در زمان خشک شدن بذر را نیز ردیابی نمود.

مطالعات کمی در ردیابی پسابش آب در بذر انجام شده است. در تحقیقی که بر روی لوبین (*Lupinus luteus* L.) انجام شده است مشاهده شد که بذرهای لوبین با نزدیک شدن به رسیدگی برداشت، آب خود را از دست می‌دهند در حالی که در این بازه‌ی زمانی بذر در حال افزایش مواد غذایی نیز می‌باشد.

عکس‌برداری‌ها با استفاده از روش MRI نشان داد که در بذر لوبین در حال خشک شدن در پایان دوره پسابش، یک‌سری مسیرهای خروج آب وجود دارند که

عمل انتقال آب از درون بذر به مناطق سطحی را انجام می‌دهند. شکل ۴ نشان دهنده عکس‌های تهیه شده با استفاده از روش MRI می‌باشد.

در این عکس‌ها نقاط روی عکس نشان دهنده‌ی محل خروج آب از بذر در زمان خشک شدن می‌باشد که انتهای مسیرهای انتقال آب در درون بذر را نمایش می‌دهد. با استفاده از روش‌های MRI می‌توان از سایر بذرها در حال پسابش نیز عکس‌برداری نموده و مسیر حرکت آب در زمان خشک شدن بذر را مشخص نمود.



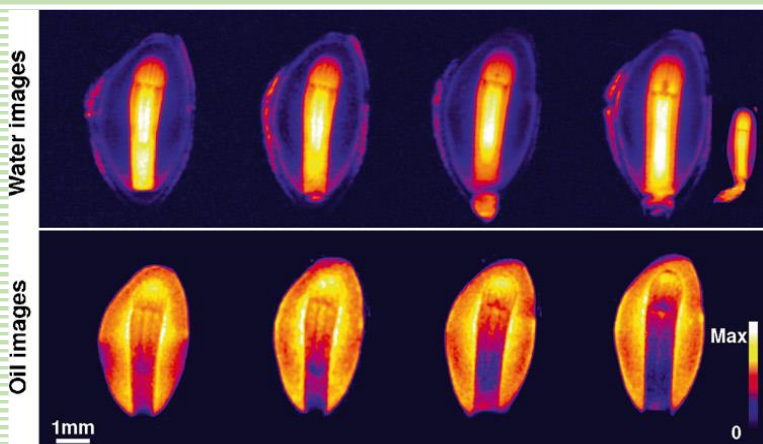
شکل ۴. عکس‌های تهیه شده با استفاده از روش MRI در روزهای ۳۵ تا ۵۰ پس از گل‌دهی گیاه لوبین (ستون اول و دوم مربوط به عکس‌های سطحی و برش میانی از بذر می‌باشد. ستون سوم و چهارم بذر از طرف Coronal و ستون پنجم و ششم مربوط به برش عرضی بذر می‌باشد).



۲-۲- مشاهده‌ی تسهیم چربی با استفاده از روش MRI

بدلیل این که نمودارهای مربوط به چربی و آب با توجه به مواد شیمیایی جانبی موجود در آنها از هم مجزا می‌باشند، می‌توان با انتخاب نوع ماده شیمیایی جانبی (CSSI)^۴ مورد نظر از بذر برای هر ترکیب با روش MRI عکس‌برداری نمود. شکل ۵ نشان دهنده این عمل برای بذور کاج سفید غربی می‌باشد. در بذور آب-گرفته کاج، آب پویا بیشتر در جنین و پوسته بذر تجمع پیدا می‌کند در حالی که مگاکامتوفیت و جنین نیز دارای سطوح بالایی از روغن هستند. عکس‌برداری از بذور در حال جوانه‌زنی با استفاده از روش H-NMR CSSI نشان می‌دهد که چربی‌های ذخیره‌ای در ابتدا به محل‌های مریستمی می‌رود که مهم‌ترین بخش برای توسعه‌ی گیاهچه هستند (شکل ۵). بنابراین با استفاده از روش انتخابی مواد شیمیایی H-NMR می‌توان حرکت منابع چربی را ردیابی نمود.

⁴ Chemical Shift Selective Imaging



شکل ۵. استفاده از روش H-NMR CSSI در بررسی بذر کاج سفید غربی در زمان جوانه زنی. مسیر حرکت آب (بالا) مسیر چربی (پایین) در بذر نشان داده شده است. عکس برداری در زمان های یکسان انجام شده است و از چپ به راست به ترتیب از مراحل ابتدایی تا انتهای پیش از جوانه زنی می باشد.

نتیجه گیری

استفاده از روش های غیر تخریبی نظیر MRI در انجام تحقیقات کشاورزی جهت تعیین مقدار کمی و کیفی ترکیبات درون سلولی اهمیت زیادی دارد. یک از موارد استفاده از این تکنیک مشاهده نحوه حرکت آب حتی در بذرهایی بسیار ریز می باشد.



این ردیابی کمک زیادی به شناسایی تحمل بذر به خشکی می‌کند و در هنگام خشک شدن بذر نیز می‌توان نحوه حذف آب درون سلولی را مشاهده نمود.

منابع

- [1] Ishida N, Naito S, and Kano H (2004) Loss of moisture from harvested rice seeds on MRI. Magn. Reson. Imaging 22, 871–5.
- [2] Leubner-Metzger G (2005), 3-1-3-Glucanase gene expression in low-hydrated seeds as a mechanism for dormancy release during tobacco after-ripening. Plant J. 41, 133–145.
- [3] Garneczarska M, Zalewski T, and Kempka M (2007) Changes in water status and water distribution in maturing lupin seeds studied by MR imaging and NMR spectroscopy. J. Exp. Bot. 58, 3961–69.



شورای انتشارات مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع
طبیعی استان فارس

نشانی: شیراز، بلوار جانبازان، خیابان استاد مردانی غربی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی
و منابع طبیعی فارس

تلفن: ۳۷۲۰۹۳۳۲ (۰۷۱)، دورنگار: ۳۷۲۰۵۱۰۷ (۰۷۱)

نشانی وب گاه: <http://fars.arei.ir>