

تاثیر دزهای پایین اشعه گاما بر تعداد گیاهچه تکثیر شده سه رقم ژبررا در شرایط این ویترو

زهرا عمیدی^۱، نسرین مشتاقی^{۲*}، احمد شریفی^۳، عبدالرضا باقری^۲

^۱ کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

^۲ هیات علمی گروه بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

^۳ عضو هیات علمی گروه بیوتکنولوژی گیاهان زینتی، جهاد دانشگاهی واحد مشهد، ایران

*moshtaghi@um.ac.ir

چکیده

ژبررا (*Gerbera jamesonii*) یکی از مهم ترین گیاهان زینتی و گل های شاخه بریده در جهان است و این تحقیق با هدف کاربرد اشعه ی گاما جهت القای موتاسیون و بررسی تاثیر آن بر روی تولید گیاهچه ها در شرایط این ویترو انجام شد. با این روش امکان ایجاد تنوع و دست یابی به ژنوتیپ های جدید در شرایط کشت درون شیشه ای فراهم می شود. در این آزمایش از سه رقم ژبررا (Pink Puppet, Bindate, Landcaster) جهت پرتو دهی استفاده شد. ابتدا جهت تکثیر، گیاهچه های ژبررا در محیط کشت MS حاوی ۰/۱۵ میلی گرم بر لیتر IAA، ۰/۵ میلی گرم بر لیتر BA، ۰/۷ درصد آگار و ۳ درصد ساکارز کشت گردیدند. پرتو دهی با دزهای پایین (۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ گری) صورت گرفت. نتایج نشان داد که پرتوی گاما باعث کاهش تعداد گیاهچه در شرایط کشت درون شیشه ای شد به طوری که میزان این کاهش از دز صفر به ۲۰ گری، ۵۰/۵۶ درصد بود. تیمار شاهد و تیمار ۵ گری بیش ترین تعداد گیاهچه را داشتند که به ترتیب دارای ۶/۱۹ و ۵/۵ بودند ولی با تیمار ۲۰ گری با کم ترین تعداد گیاهچه (۳/۰۶) تفاوت معنی داری را نشان دادند.

کلمات کلیدی: ژبررا، کشت این ویترو، موتاسیون

مقدمه

محدودیت تنوع ارقام موجود در بازار و حساسیت گیاهان زینتی به تنش های زیستی و غیر زیستی، از جمله عواملی است که تولید و تجارت گیاهان زینتی را محدود نموده است. این موانع، نشان دهنده ضرورت به کارگیری روش های جایگزین به منظور افزایش تنوع و بهبود عملکرد گیاهان زینتی است. اصلاح کنندگان ژن های مطلوب را در گیاهان زراعی و گونه های خویشاوند آن ها شناسایی کرده و این صفات را از طریق تلاقی و هیبریداسیون انتقال می دهند (۲). اصلاح موتاسیونی گیاهان به عنوان یکی از راه های افزایش تنوع در جمعیت های اصلاح شده از طریق تلاقی می باشد. استفاده از این روش به منظور تولید ارقام جدید گیاهان زینتی در مقایسه با سایر گونه های گیاهی بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. در واقع در برنامه های اصلاحی مدرن به دلیل پرهزینه بودن روش ها به صفات مورد توجه مصرف کنندگان بیشتر پرداخته شده است. تنوع در صفاتی هم چون رنگ، فرم و عطر گل، از مهم ترین اهداف اصلاحی گیاهان زینتی می باشند.

مواد جهش زای فیزیکی نظیر پرتوهای پرانرژی قادرند در ژنوم موجود زنده اثر کرده و تغییرات قابل توارثی را ایجاد کنند. پرتوهای گاما از تابش های یونیزه کننده ی الکترو مغناطیسی بوده و قادرند در محیطی که از آن می گذرند، ایجاد رادیکال های پر



انرژی نموده که با ایجاد پیوندهای شیمیایی و واکنشی با سایر مولکولها انرژی خود را تخلیه می کند. اثر مستقیم پرتوی گاما به شدت پرنرژی بوده و به طور مستقیم بر مادهی ژنتیک اصابت کرده و سبب موتاسیون ژنی یا تغییرات کروموزومی می شود (۴). اشعهی گاما، اشعهی X، اشعهی UV و یونهای سنگین به عنوان موتازنهای فیزیکی به شمار می روند (۵). کشت درون شیشه ای در ترکیب با موتاسیونهای القا شده می تواند برنامه های اصلاحی را از طریق تولید تنوع، انتخاب و تکثیر ژنوتیپهای مطلوب سرعت ببخشد. بیان موتاسیونهای القایی در هموزایگوسهای حاصل از کشت دانهی گرده، بساک یا تخمک می تواند افزایش بهبود صفات را نتیجه دهد. در بعضی از گونه ها با تکثیر رویشی، موتاسیون در ترکیب با تکنیک کشت درون شیشه ای ممکن است تنها روش بهبود ارقام موجود باشد (۳). در این مطالعه تاثیر اشعهی گاما به عنوان یک عامل جهش زای فیزیکی در بر تکثیر این ویتروی گیاه زینتی ژربرا (*Gerbera jamesonii*) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

جهت اجرای این آزمایش تعدادی نمونهی استریل از ۳ رقم مختلف گیاه ژربرا (*Pink Puppet*, *Bindate*, *Landcaster*) از گونهی (*G. jamesonii*) به ترتیب با رنگ گل قرمز، صورتی و ارغوانی از آزمایشگاه بیوتکنولوژی گیاهان زینتی واقع در جهاد دانشگاهی مشهد تهیه و در شرایط محیطی و تغذیه مناسب نگهداری شدند (شکل ۱).



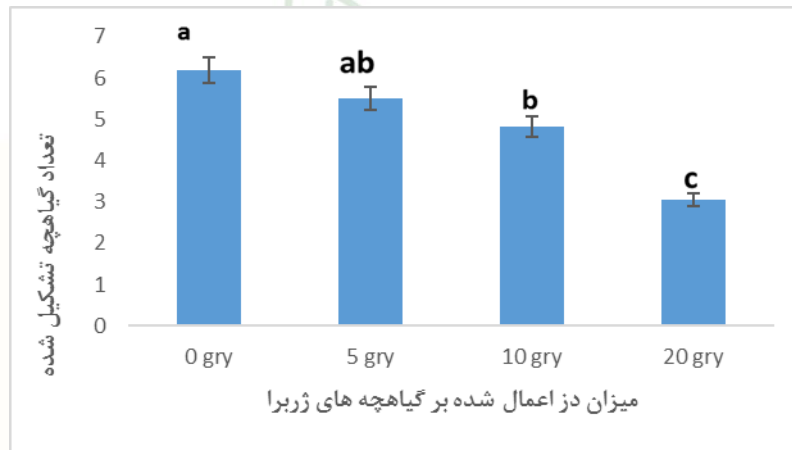
شکل ۱- ارقام مختلف گیاه ژربرا جهت تهیه ریزنمونه (به ترتیب از راست به چپ ارقام *Landcaster* و *Pink Puppet*, *Bindate*)

پتریهای حاوی گیاهچه ها جهت اعمال موتاسیون تحت تابش اشعهی گاما قرار گرفتند. گیاهچه های ۳ رقم از گیاه ژربرا (*Pink Puppet*, *Bindate* و *Landcaster*) جهت اعمال پرتو دهی اشعهی گاما با دزهای پایین به سازمان انرژی اتمی کرج انتقال داده شد. پتریهای حاوی نمونه ها جهت اعمال موتاسیون تحت تابش اشعهی گاما حاصل از کبالت ۶۰، به مدت ۱۵/۶، ۳۱/۲ و ۳۲/۴ دقیقه به ترتیب با شدت های ۵، ۱۰ و ۲۰ گری قرار گرفتند. برای هر تیمار ۶ تکرار و برای هر تکرار ۲۰ عدد ریز نمونه در نظر گرفته شد. صفت تعداد گیاهچه دومه بعد از واکنش اندازه گیری شد و پس از آنالیز آماری، مقایسه میانگین با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

بر اساس تجزیه و تحلیل حاصل از داده ها، اثرات سادهی دزها و همچنین ارقام و اثر متقابل آنها در تعداد گیاهچه (در شرایط *In vitro*)، معنی دار بود. نتیجهی بررسی اثر سادهی دز در تعداد گیاهچه های باززاشده از ریزنمونه های گیاه ژربرا تحت تیمار اشعهی گاما حاکی از وجود تفاوت معنی دار بین ارقام مختلف است. با افزایش دز اشعهی گاما میانگین تعداد گیاهچه های

تشکیل شده از هر گیاهچه‌ی تابش دیده‌ی ژبربا کاهش یافته و در دز ۲۰ گری، تعداد گیاهچه به کم‌ترین میزان خود یعنی ۳/۰۶ رسید (شکل ۲).

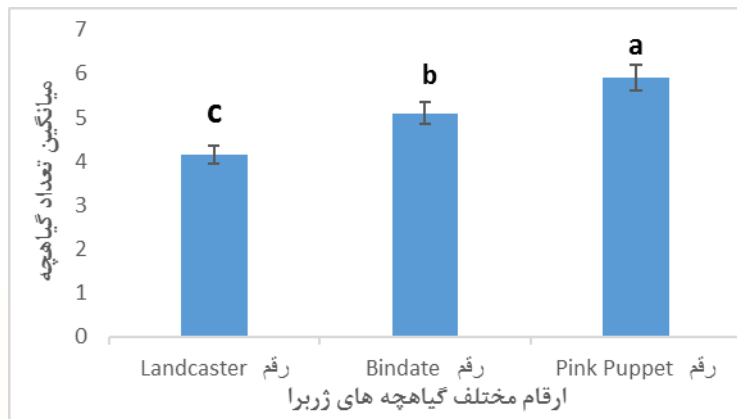


شکل ۲- میانگین تعداد گیاهچه‌ی ژبربا در پاسخ به دز های مختلف اشعه‌ی گاما

نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که اثرات ساده‌ی دز تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵ درصد نشان داد. میانگین تعداد گیاهچه‌ها با افزایش دز اشعه‌ی گاما کاهش یافته است به‌طوری‌که میزان این کاهش از دز صفر به ۲۰ گری، ۵۰/۵۶ درصد بود. تیمار شاهد و تیمار ۵ گری بیش‌ترین تعداد گیاهچه را داشتند که به ترتیب دارای ۶/۱۹ و ۵/۵ بودند که تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند ولی با تیمار ۲۰ گری با کم‌ترین تعداد گیاهچه (۳/۰۶) تفاوت معنی‌داری را نشان دادند (شکل ۲).

وقوع این امر را می‌توان به دلیل افزایش آسیب بافتی در دزهای بالا دانست. دزهای نسبتاً بالای پرتوی گاما باعث القای تغییرات فیزیولوژیک مانند افزایش تنفس، القای فعالیت آنزیمی، تجمع ساکارز و ترکیبات پروتئینی ویژه در گیاهان می‌شود. گزارش شده که اشعه‌ی گاما با تولید زیاد گروه‌های اکسیژنی فعال مثل رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروکسید و هیدروژن پراکسید که به سرعت با همه‌ی مولکول‌های ساختاری و کاربردی اندام‌ها شامل پروتئین‌ها، لیپیدها و نوکلئیک اسیدها واکنش می‌دهند، باعث برهم زدن متابولیسم سلولی و ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاه می‌شود (۱).

اثرات ساده‌ی رقم نیز تفاوت معنی‌داری باهم نشان دادند. بررسی تاثیر تابش اشعه‌ی گاما حاصل از کبالت ۶۰ در گیاه ژبربا نشان داد که خصوصیات رشدی این گیاه به شدت تحت تاثیر پرتوی گاما قرار گرفته است به‌طوری‌که بین ارقام مختلف تفاوت معنی‌داری وجود داشت. تعداد گیاهچه‌ها در ارقام مختلف ژبربا Pink Puppet, Bindate و Landcaster به ترتیب برابر با ۵/۱، ۵/۹ و ۴/۱۵ بود که کمترین تعداد گیاهچه مربوط به رقم Landcaster بود (شکل ۳).



شکل ۳- مقایسه‌ی تعداد گیاهچه‌ی تشکیل شده در ارقام مختلف گیاه ژربرا

اثرات متقابل دز و رقم نیز در صفت تعداد گیاهچه تفاوت معنی‌داری نشان دادند. بررسی تعداد گیاهچه‌های باززاشده از ریزنمونه‌های ارقام مختلف ژربرا تحت تیمار اشعه‌ی گاما نشان داد که تفاوت معنی‌دار بین دزهای مختلف وجود داشت. میانگین تعداد گیاهچه‌ها در رقم Landcaster با افزایش دز اشعه‌ی گاما کاهش یافته است به طوری که میزان این کاهش از دز صفر به ۲۰ گری، ۵۴/۱۴ درصد بود. تیمار شاهد و تیمار ۵ گری بیش‌ترین تعداد گیاهچه به ترتیب با ۴/۷۱ و ۵/۹۲ تعداد داشتند که تفاوت معنی‌داری باهم نداشتند ولی با تیمار ۲۰ گری با کمترین تعداد گیاهچه (۲/۱۶) تفاوت معنی‌داری را نشان دادند (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین اثرات متقابل (دز × رقم) در تعداد گیاهچه‌ی تشکیل شده و طول گیاهچه

| طول گیاهچه (In vitro) (سانتی‌متر) | تعداد گیاهچه (In vitro) | دز تابشی × رقم |
|--------------------------------------|----------------------------|----------------------|
| ۵/۱۲ ^a | ۴/۷۱ ^{cde} | Landcaster × 0 gry |
| ۳/۴۴ ^{de} | ۵/۹۲ ^{bc} | Landcaster × 5 gry |
| ۳/۶۳ ^{de} | ۳/۷۹ ^{ef} | Landcaster × 10 gry |
| ۳/۱۴ ^f | ۲/۱۶ ^g | Landcaster × 20 gry |
| ۴/۲۴ ^{bc} | ۶/۰۶ ^{bc} | Bindate × 0 gry |
| ۳/۷۸ ^{cd} | ۵/۰۳ ^{cde} | Bindate × 5 gry |
| ۳/۲۷ ^{de} | ۵/۲۸ ^{cd} | Bindate × 10 gry |
| ۲/۴۹ ^f | ۴/۰۳ ^{def} | Bindate × 20 gry |
| ۴/۵۰ ^b | ۷/۷۸ ^a | Pink Puppet × 0 gry |
| ۴/۴۸ ^b | ۶/۹۸ ^{ab} | Pink Puppet × 5 gry |
| ۳/۶۰ ^{de} | ۵/۴۳ ^c | Pink Puppet × 10 gry |
| ۲/۹۳ ^f | ۳/۰۱ ^{fg} | Pink Puppet × 20 gry |

میانگین‌های با حروف یکسان در هر ستون براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند

References

1. Ashraf, M., 2009. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advances*. 27: 84-93.
2. Jain, S. M., 2006. Mutation assisted breeding for improving ornamental plants. *International Eucarpia Symposium, Section Ornamentals. Breeding for Beauty*. 714: 85-98.
3. Maluszynski, M., Ahloowalia, B. S., Sigurbjörnsson, B., 1995. Application of in vivo and in vitro mutation techniques for crop improvement the methodology of plant genetic manipulation: *Euphytica*. 85: 303-315.
4. Navarrete, M. H., Carrera, P., de Miguel, M., de la Torre, C., 1997. A fast comet assay variant for solid tissue cells. The assessment of DNA damage in higher plants. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 389(2): 271-277.
5. Shirasawa, K., 2016. Genome-wide survey of artificial mutations induced by ethyl methanesulfonate and gamma rays in tomato. *Plant Biotechnology Journal*. 14(1): 51-60.

The effect of low gamma ray doses on the number of propagated seedlings of three *Gerbera* cultivars at In vitro conditions

Zahra Amidi¹, Nasrin Moshtaghi^{2*}, Ahmad Sharifi³, Abdolreza Bagheri²

¹Master of Agricultural Biotechnology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

²Faculty member of Biotechnology and Plant Breeding Department, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

³Faculty member of Ornamental Plants Biotechnology Department, ACECR, Mashhad Branch, Mashhad, Iran
*moshtaghi@um.ac.ir

Abstract

Gerbera jamesonii is one of the most important ornamental plants and cut flowers in the world and this study was conducted to use gamma rays to induce mutations and to investigate its effect on seedling production at In vitro condition. With this method, it is possible to create diversity and achieve new genotypes at In vitro conditions. In this experiment, three gerbera cultivars (Landcaster, Bindate and Pink Puppet) were used for irradiation. First, for propagation, gerbera seedlings were cultured on MS culture medium containing 0.15 mg/l IAA, 0.5 mg/l BA, 0.7% agar and 3% sucrose. Irradiation was performed with low doses (0, 5, 10 and 20 Gray). The results showed that gamma radiation reduced the number of seedlings. The rate of reduction from zero to 20 Gray was 50.56%. Control and 5 Gray treatment had the highest number of seedlings, which were 6.19 and 5.5, respectively, but with 20 Gray treatment with the lowest number of seedlings (3.06) showed a significant difference.

Keywords: Gerbera, In vitro culture, Mutation

