



## تولید جهش یافته‌های بنفشه آفریقایی (*Saintpaulia ionantha*) با استفاده از تابش اشعه گاما

احمد شریفی<sup>۱\*</sup>، زهرا سرگزی مقدم<sup>۲</sup>، مهدیه خرازی<sup>۱</sup>، آزاده خادم<sup>۱</sup>، مریم مرادیان<sup>۱</sup>

۱. گروه بیوتکنولوژی گیاهان باغبانی، پژوهشکده بیوتکنولوژی صنعتی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، صندوق پستی: ۹۱۷۷۵۱۳۷۶، مشهد - ایران

۲. بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، صندوق پستی: ۹۱۷۷۹۴۸۹۷۴، مشهد - ایران

\*Email: a-sharifi@jdm.ac.ir

### مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۱/۳۰ تاریخ بازنگری مقاله: ۱۴۰۲/۵/۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۶/۲۸

### چکیده

این تحقیق با هدف بررسی امکان ایجاد تنوع و دستیابی به ژنوتیپ‌های جدید با استفاده از اشعه گاما در کشت درون شیشه‌ای گیاه بنفشه آفریقایی انجام شد. در این بررسی ابتدا ریزنمونه‌ها در شرایط این ویترو کشت و سپس با دزهای مختلف اشعه گاما تیمار شدند. نتایج نشان داد که افزایش دز اشعه گاما سبب کاهش درصد باززایی ریزنمونه‌ها، تعداد گیاهچه باززا شده و تعداد برگ آن‌ها شد. همچنین افزایش دز اشعه گاما سبب افزایش تنوع و تغییرات مورفولوژیک در گیاهان باززا شده گردید. به طوری که در برگ‌ها تغییر رنگ، شکل، اندازه و پیچش مشاهده شد و برخی گل‌ها کم‌پر شدند و یا تغییر شکل یافتند. ارزیابی تنوع ژنتیکی نمونه‌های تیمار شده با استفاده از نشانگر ISSR و ۸ آغازگر در انجام واکنش PCR انجام شد که در مجموع ۷۱ باند قابل امتیازدهی ایجاد شد. بررسی دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و روش الگوریتم UPGMA تنوع بالایی را در بین نمونه‌های مورد بررسی نشان داد. جهش یافته‌های ایجاد شده با یک سطح تیمار در سطح تشابه ۰.۵۱ درصد به ۴ گروه اصلی تقسیم‌بندی شدند و دامنه تشابه ژنتیکی از ۰.۴۵-۰.۹۸ متغیر بود. در نهایت ۵ جهش یافته حاصل از دزهای مختلف اشعه گاما با مقایسه تغییرات مورفولوژیکی و مولکولی مورد تأیید قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که می‌توان از تابش گاما و القای تنوع در شرایط کشت بافت به عنوان راهبردی مناسب جهت افزایش تنوع در این گیاه استفاده نمود.

**کلیدواژه‌ها:** افزایش تنوع، القای موتاسیون، کشت بافت، ISSR

## Production of African violet mutants (*Saintpaulia ionantha*) using gamma radiation

A. Sharifi<sup>1\*</sup>, Z. Sargazi Moghaddam<sup>2</sup>, M. Kharrazi<sup>1</sup>, A. Khadem<sup>1</sup>, M. Moradian<sup>1</sup>

1. Horticultural Plants Biotechnology Department, Industrial Biotechnology Institute, ACECR- Mashhad Branch, P.O.BOX: 917751376, Mashhad - Iran

2. Plant Breeding and Biotechnology, Ferdowsi University of Mashhad, P.O.BOX: 9177948974, Mashhad - Iran

### Research Article

Received: 19.4.2023, Revised: 29.7.2023, Accepted: 19.9.2023

### Abstract

*Saintpaulia ionantha* is an attractive ornamental plant. To induce diversity by creating distinct genotypes of African violet in vitro Gamma rays were applied as physical and chemical mutagens. Explants were cultured in MS medium containing 2 mg L<sup>-1</sup> BA, 1 mg L<sup>-1</sup> NAA, 30g L<sup>-1</sup> sucrose, and 7g L<sup>-1</sup> agar. After two days they were treated with radiation (0, 20, and 40Gy). The dose of 40Gy reduced explant regeneration and the number of regenerated plantlets and leaves. This caused enhanced variation and morphological changes. The leaves' color, shape, and size were modified. Afterward, the genetic diversity of the mutant plants was investigated with an ISSR marker. Eight primer pairs in PCR amplified different fragments of genomic DNA. Overall, 71 bands were scored. The dendrogram of cluster analysis using the Jaccard coefficient and UPGMA algorithm showed high variability. The mutants were divided into 4 groups with a similarity of 0.51%. The genetic similarity coefficient varied between 0.45-0.98 and 6 mutants were introduced based on morphological and molecular variations. The results showed that in vitro mutagenesis of African violets by gamma radiation is a suitable strategy to increase diversity.

**Keywords:** Diversity, Mutagenesis, Tissue culture, ISSR



## ۱. مقدمه

اصلاح جهش‌زا در گیاهان به عنوان یکی از راه‌های افزایش تنوع در جمعیت‌های اصلاح‌شده از طریق تلاقی می‌باشد [۱]. جهش در گیاهان به دو صورت خودبه‌خودی و یا با استفاده از عوامل جهش‌زا ایجاد می‌شود که در این میان، پایین بودن نرخ جهش طبیعی منجر به عدم کاربرد این روش در تولید ارقام گیاهی جدید شده است. بررسی‌های بسیاری به منظور افزایش القای جهش با به‌کارگیری عوامل جهش‌زای مختلف صورت گرفته است که نتایج این تحقیقات نشان‌دهنده اثر معنی‌دار کاربرد عوامل جهش‌زا بر القای جهش در سلول‌های گیاهی است. از این‌رو در برنامه‌های اصلاح جهش‌زا در گیاهان معمولاً از عوامل جهش‌زا به منظور القای جهش استفاده شده است [۲]. در برخی از گیاهان زینتی مهم مانند داوودی (*Chrysanthemum morifolium*) تعداد بسیار زیادی رقم جهش‌یافته به ثبت رسیده است [۳، ۴]. هم‌چنین تغییر خصوصیات برگ‌ها در اصلاح جهش‌زای گیاهان زینتی از جمله لیلیوم و داوودی صورت گرفته است [۵، ۶]. در پژوهشی دیگر سوانسری و همکاران [۷] با پرتوتابی ریزنمونه‌های گره گیاه *Torenia hybrida* به گیاهان جهش‌یافته‌ای با گل‌های آبی روشن، صورتی و صورتی روشن دست یافتند در حالی که گل‌های طبیعی آبی‌رنگ بودند. کاربرد تکنیک‌های القای جهش همراه با انتخاب بر اساس نشانگرها، جهش‌زاهای کاربردی‌تر خواهد ساخت. در روش‌های جهش‌زایی در شرایط درون‌شیشه‌ای می‌توان با استفاده از نشانگرهای مختلف به بررسی تنوع ژنتیکی پرداخته و انواع جهش را شناسایی نمود [۸]. نشانگرهای مولکولی یکی از ابزارهای بسیار مهم و قوی در زمینه ارزیابی روابط خویشاوندی ژنتیکی، انتخاب گیاهان برتر و بررسی شباهت یا تفاوت بین نمونه‌های مختلف می‌باشند [۹]. ISSR<sup>۱</sup> -ها نشانگرهایی هستند که توسط PCR در حضور آغازگری که مکمل ریز ماهواره هدف است، تکثیر می‌شوند. نتایج تحقیقات پیشین نشان می‌دهد که کاربرد نشانگر ISSR می‌تواند به عنوان یک روش مفید برای ارزیابی سریع و آسان تنوع ژنتیکی بین وارته‌ها در گیاه داوودی مدنظر قرار گیرد. صفات مورفولوژیکی ارقام جدید، تنوعی را در مقایسه با والدین نشان دادند، به طوری که ظهور اولین غنچه گل و ارتفاع اولین غنچه جهش یافته در مقایسه با والدین کم‌تر بود [۱۰]. با توجه به موارد گفته شده و بازارپسندی و ارزش تجاری گیاه بنفشه آفریقایی به عنوان یک گیاه زینتی گلدانی، نیاز برای تحقیق در خصوص برنامه‌های اصلاحی منسجم برای معرفی ارقام جدید بنفشه آفریقایی در

کشور را ایجاب می‌کند. از این‌رو به‌نظر می‌رسد با کاربرد عوامل جهش‌زا در کشت بافت آن بتوان این روش را به عنوان یک راهبرد کوتاه‌مدت برای تولید تنوع ژنتیکی مورد توجه قرار داد و از آن در برنامه‌های اصلاحی استفاده کرد. لذا این تحقیق با هدف بررسی امکان ایجاد تنوع در صفات و دست‌یابی به ژنوتیپ‌های جدید با فنوتیپ متفاوت با استفاده از جهش‌زاهای فیزیکی در کشت درون‌شیشه‌ای و کاربرد نشانگرهای مولکولی، در گیاه بنفشه آفریقایی (*Saintpaulia ionantha*) انجام گرفت.

## ۲. مواد و روش‌ها

## ۱.۲ تهیه ریزنمونه و اعمال جهش

در این تحقیق از گیاه بنفشه آفریقایی رقم Rococo استفاده شد. ریزنمونه‌های برگ، دم‌برگ و گیاهچه‌های استریل در محیط کشت MS حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر BA، ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA کشت شده و دو روز پس از کشت اولیه با دزهای ۰، ۲۰ و ۴۰ گرمی اشعه گاما ناشی از کبالت ۶۰ تیمار شدند. پس از تیمار، ریزنمونه‌ها به اتاق رشد با شرایط نوری ۱۶ ساعت نور به همراه ۸ ساعت تاریکی با شدت نور ۳۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه و دمای  $25 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. برای هر یک از تیمارها، ۳ تکرار و در هر تکرار ۲۵ نمونه در نظر گرفته شد. واکشت ریزنمونه‌ها به فاصله هر ۴ هفته یکبار در محیط کشت مشابه انجام شد. بعد از گذشت ۶۰ روز از اعمال تیمار، صفات درصد زنده‌مانی و تعداد گیاهچه باززا شده اندازه‌گیری شد. به منظور سازگاری با محیط گلخانه، گیاهچه‌های ریشه‌دار شده به بستر کشت کوکوپیت و پرلیت به نسبت مساوی (۱:۱) انتقال داده شدند و ۳۰ روز پس از سازگاری وزن تر گیاهچه‌ها و تعداد برگ مورد ارزیابی قرار گرفت. ۴۵ روز پس از زمان گل‌دهی نیز گیاهانی که نسبت به شاهد تغییرات فنوتیپی نشان دادند انتخاب شده و از نظر صفات مورفولوژیکی شامل تعداد برگ، سطح برگ بزرگ‌ترین برگ، طول دم‌برگ بزرگ‌ترین برگ، تعداد گل‌آذین، تعداد گل در هر گل‌آذین، تعداد گلبرگ در هر گل، اندازه بزرگ‌ترین گل، تعداد پرچم در گل مورد ارزیابی قرار گرفتند.

## ۲.۲ باززایی مجدد فرم‌های جهش یافته و مشاهده تغییرات فنوتیپی در آن‌ها

به منظور ارزیابی میزان ثبات ژنتیکی فرم‌های جهش یافته انتخابی، از آن‌ها نمونه برگی تهیه شد و همانند آزمایش قبل مراحل ضدعفونی سطحی، باززایی، تکثیر و سازگاری ریزنمونه‌ها انجام شد. پس از گذشت ۶۰ روز از سازگاری، این گیاهان از نظر



### ۳. نتایج و بحث

طبق نتایج به دست آمده حاصل از تجزیه واریانس، ارتباط متقابل دُز اشعه با نوع ریزنمونه برای عامل درصد زنده‌مانی ریزنمونه‌ها در سطح پنج درصد معنی‌دار بود و نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیش‌ترین درصد زنده‌مانی مربوط به ریزنمونه‌های گیاهچه و دُز تابش اشعه ۲۰ گری و کم‌ترین درصد زنده‌مانی مربوط به ریزنمونه دم‌برگ و دُز تابش ۴۰ گری بود. نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس در مورد اثرات متقابل دُزهای تابش اشعه و نوع ریزنمونه برای عامل میانگین تعداد گیاهچه در سطح پنج درصد معنی‌دار بود و مقایسه میانگین نشان داد که بیش‌ترین تعداد گیاهچه تشکیل شده متعلق به ریزنمونه گیاهچه و دُز تابش اشعه ۲۰ گری و کم‌ترین تعداد مربوط به ریزنمونه دم‌برگ در هر سه تیمار تابش بوده است و بین بیش‌ترین و کم‌ترین تعداد گیاهچه آن‌ها ۶۴/۶۶ درصد تفاوت مشاهده گردید.

تغییرات مورفولوژیکی قابل توجهی در گیاهچه‌های باززا شده مشاهده شد که در برگ گیاهچه‌های تیمار شده به آسانی قابل تشخیص بود و تنوع خوبی ایجاد کرده بود (شکل ۱). این تغییرات مورفولوژیکی شامل تغییر رنگ، شکل و پیچش برگ گیاهچه‌های تیمار شده و در برخی از گیاهان تغییر در اندازه دم‌برگ نسبت به اندازه طبیعی آن‌ها بود. به گونه‌ای که با افزایش دُز اشعه گاما تا سطح ۴۰ گری درصد برگ‌های تغییر یافته افزایش قابل توجهی داشت. در بررسی تحقیقات انجام شده توسط سایر محققان مشخص گردید که تغییر خصوصیات برگ‌ها در اصلاح جهشی گیاهان زینتی عمدتاً با هدف تغییر اندازه برگ‌ها و نیز افزایش تنوع رنگ برگ‌ها به‌ویژه در گیاهان زینتی صورت گرفته است [۱۵]. در دُزهای خیلی بالا، تابش می‌تواند با بروز صدمات ابتدایی، تقسیم سلولی را به تأخیر بیندازد که این امر القای تغییراتی در مورفولوژی گیاه را به همراه خواهد داشت [۱۶]. به عنوان مثال، ونگ پیاساتید و همکاران [۱۷] در بررسی اثر اشعه گاما بر تشکیل گیاهچه حاصل از برگ در بنفشه آفریقایی نشان دادند که اشعه گاما سبب افزایش برگ‌های تغییر شکل یافته می‌شود. ماندال و همکاران [۵] به وسیله کاربرد دُزهای مختلف تابش گاما (۲/۵-۱/۵ گری)، موفق به تولید بوته‌های ابلق داوودی (*C. morifolium*) شدند. هم‌چنین گزارش شده که تولید گیاهان دارای برگ‌های با شکل تغییر یافته و فاقد رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی از جمله نتایج القای جهش بر اثر تابش پرتوی یونیزه کربنی، اشعه ایکس و گاما به ریزنمونه‌های برگ گیاه بنفشه

پارامترهای مورفولوژیکی شامل تعداد برگ، میانگین طول دم‌برگ‌ها، مجموع سطح برگ و میزان سطح فتوسنتزکننده موجود در برگ‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند. صفات مجموع سطح برگ و میزان سطح فتوسنتزکننده موجود در برگ‌ها با استفاده از تکنیک آنالیز تصویر و توسط نرم‌افزار آنالیز تصویر ImageJ انجام شد [۱۱]. اندازه‌گیری میزان کلروفیل نیز با استفاده از روش لیچتسنالر و بوشمن [۱۲] انجام شد. برای هر نمونه جهش یافته چهار تکرار در نظر گرفته شد و مقایسه میانگین‌ها در طرح آزمایشی فاکتوریل تصادفی براساس چهار تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت.

### ۳.۲ ارزیابی تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگر مولکولی ISSR

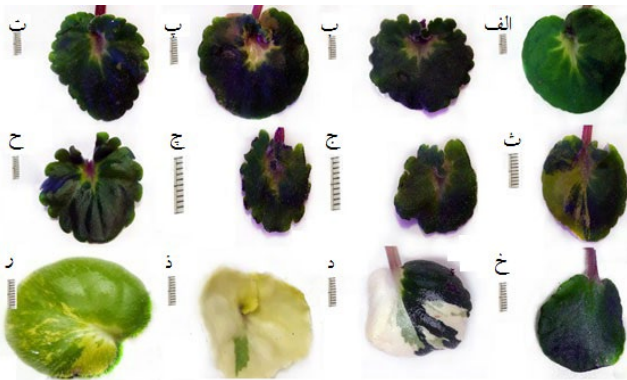
از بافت برگ گیاهچه‌هایی که تنوع مورفولوژیکی در آن‌ها مشاهده شد و هم‌چنین گیاهچه‌های شاهد، استخراج DNA با استفاده از دستورالعمل ارائه شده توسط اونات سانچز و ویسنت کارباجوسا [۱۳] انجام شد. در این تحقیق ۸ آغازگر ISSR که در تحقیقات قبل توسط فرجادی شکیب و همکاران [۱۴] بر روی سایر گیاهان زینتی از خانواده بنفشه آفریقایی استفاده شده و نتایج رضایت‌بخشی داشته‌اند انتخاب و توسط شرکت ماکروژن کره سنتز شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از ۸ آغازگر ISSR و کیت Master Mix PCR ساخت شرکت Ampliqon انجام گرفت. ترکیبات، مقادیر و چرخه دمایی مورد نیاز PCR با استفاده از دستورالعمل فرجادی شکیب و همکاران [۱۴] انجام گرفت. محصولات PCR با استفاده از ژل آگارز ۱ درصد در بافر TBE ۰/۵ X به مدت ۱/۵ ساعت و با ولتاژ ۱۰۰ ولت با رنگ گرین ویوور (ساخت شرکت GenetBio) الکتروفورز شد و در زیر نور ماوراء بنفش در دستگاه ترانسلومیناتور Vilber lourmat TCR-۲۰M عکس‌برداری شد.

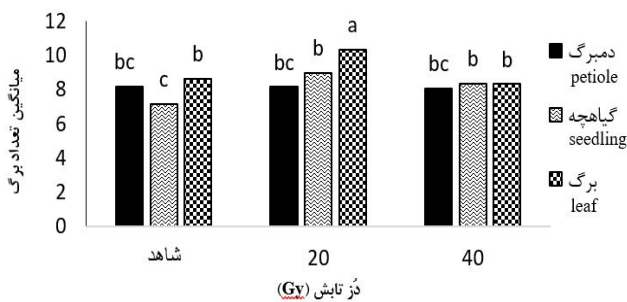
تجزیه خوشه‌ای برای تعیین تشابه بین جهش‌یافته‌های مورد مطالعه با الگوریتم UPGMA مبتنی بر ضریب تشابه جاکارد و تعیین همبستگی بین ماتریس‌های تشابه حاصل از تجزیه داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار NTSYS-pc نسخه ۲.۰۲ انجام گرفت. تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) به منظور تفکیک واریانس مولکولی کل به واریانس ژنتیکی درون و بین گروه‌ها و محاسبه فاصله ژنتیکی بین جهش‌یافته‌ها با نرم‌افزار Excel انجام گردید. برای تعیین قدرت تمایز نشانگرها در جهش‌یافته‌ها، از پارامترهای میزان اطلاعات چندشکل PIC استفاده گردید که از فرمول  $PIC = 1 - P^2 - q^2$  محاسبه شد.



منظور القای جهش در ریزنمونه‌های گیاه لیلیوم، تنوع در شکل و مورفولوژی گل‌های جهش یافته را در پی داشت [۶].



شکل ۱. تنوع مورفولوژیکی در برگ تشکیل شده در گیاهچه سازگار شده از ریزنمونه‌های پرتودیده اشعه گاما در بنفشه آفریقایی. الف) شاهد، ب) مضرس شدن برگ، پ) پیچیدگی برگ به داخل، ت) تغییر شکل برگ، ث) ابلق شدن جزئی در برگ، ج) کاهش سایز برگ (کوتولگی برگ)، چ) کوتولگی همراه با مضرس شدن، ح) شکاف در محل اتصال دمبرگ به برگ، خ) کشیده شدن دمبرگ و برگ و صاف شدن برگ و عدم مضرس بودن، د) تغییر رنگ برگ‌ها، ذ) زرد شدن کامل برگ و ر) ابلق شدن بخشی از برگ.



شکل ۲. تعداد برگ تشکیل شده در هر گیاهچه سازگار شده از ریزنمونه‌های بنفشه آفریقایی به تفکیک دز تابش (در هر ستون میانگین‌هایی با حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند).



شکل ۳. تنوع در گل تشکیل شده بر روی هر گیاهچه سازگار شده از ریزنمونه‌های تابش دیده اشعه گاما در بنفشه آفریقایی. الف) شاهد، ب) افزایش سایز گل، پ و ت) کاهش تعداد و نامتقارن بودن سایز گلبرگ، ث) مضرس شدن حاشیه گلبرگ، ج) کاهش تعداد گلبرگ و متقارن بودن سایز و چ) جامی‌شکل شدن گل.

آفریقایی (*S. ionantha*) در شرایط درون شیشه‌ای بوده است [۱۴، ۱۸]. اثر جهش القایی بر کاهش میزان رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی به دلیل ایجاد نقص در ژن‌های مسؤل بیوسنتز رنگ‌دانه‌ها، تخریب مسیرهای بیوسنتزی تولید رنگ‌دانه‌ها، تخریب کلروپلاست و نیز تجزیه رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی می‌باشد [۱۹].

۳۰ روز پس از سازگاری گیاهچه‌ها و انتقال به گل‌خانه خصوصیات رشدی شامل وزن تر و تعداد برگ در هر گیاهچه اندازه‌گیری شد. پس از انجام تجزیه و تحلیل آماری، تفاوت معنی‌داری میان وزن تر نمونه‌ها در تیمارها مشاهده نشد و میانگین وزن تر در نمونه‌های مورد بررسی ۱/۶۵ گرم به دست آمد. در بررسی عامل تعداد برگ، اثر معنی‌داری در جدول تجزیه واریانس مشاهده گردید و نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیش‌ترین تعداد برگ تشکیل شده (۳۳/۱۰ عدد) در ریزنمونه برگ با دُز تابش اشعه ۲۰ گری و کم‌ترین تعداد برگ تشکیل شده متعلق به ریزنمونه گیاهچه و شاهد با میانگین ۷/۱۶ برگ بوده است (شکل ۲). در مطالعه حاضر میزان برگ در شاهد تعداد کم‌تری داشته است ولی با افزایش دُز به ۲۰ گری این تعداد افزایش داشته و در دُز ۴۰ گری روند کاهشی را طی کرده است. این کاهش می‌تواند به دلیل کاهش تقسیم سلولی در دُزهای بالاتر اشعه گاما باشد. تقسیم سلولی بهینه، به دلیل عملکرد بالای اندامک‌ها و فرایندهای آزیمی است. هم‌چنین گزارش شده که تجمع نشاسته در کلروپلاست و هم‌چنین آسیب و خسارت به گراناها و تیلاکوئیدها سبب بازدارندگی در انتقال کربوهیدرات‌ها خواهد شد [۲۰]. در بررسی‌هایی که بعد از به گل رفتن گیاهان تیمار شده با دُز اشعه گاما در گلخانه انجام شد تنوع کاملاً بارزی در تعدادی از گل‌ها مشاهده شد که نشان‌دهنده اثر معنی‌دار کاربرد پرتودهی بر تنوع رنگ و شکل گل در این گیاه بود، به‌طوری که در برخی از گل‌ها افزایش اندازه گل، کاهش تعداد گلبرگ، مضرس شدن حاشیه گل و تغییر در اندازه گلبرگ‌ها مشاهده شد (شکل ۳). برخی از گیاهچه‌های دارای تغییر فنوتیپی سرعت رشد کم‌تری نسبت به گیاهچه‌های دیگر داشتند به‌طوری که این جهش یافته‌ها در زمان داده‌برداری در فاز گل‌دهی نبودند (جدول ۱). در تحقیقی که داتا و همکاران [۳] به منظور تولید گیاهان جهش‌یافته پایدار گیاه داوودی انجام دادند، در گیاهان جهش‌یافته حاصل علاوه بر رنگ، شکل گل‌ها نیز تغییر یافت، به‌طوری که گل‌های زبانه‌ای گیاه به‌صورت لوله‌ای تغییرشکل پیدا کردند. هم‌چنین تابش پرتوی گاما به



جدول ۱. بررسی فنوتیپی گیاهان جهش یافته ناشی از تابش اشعه گامای بنفشه آفریقایی

| تعداد پرچم در هر گل | قطر بزرگ‌ترین گل (mm) | تعداد گلبرگ در هر گل | تعداد گل روی گل آذین | تعداد گل آذین | طول دم‌برگ (mm) | قطر برگ (mm) | تعداد برگ | جهش یافته‌ها |
|---------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|---------------|-----------------|--------------|-----------|--------------|
| ۰                   | ۳۲٫۶۵                 | ۱۰                   | ۵                    | ۳             | ۶۰٫۴۵           | ۴۳٫۱۴        | ۱۲        | شاهد         |
| ۳                   | ۲۴٫۴۰                 | ۱۰                   | ۴                    | ۲             | ۳۵٫۶۰           | ۶۲٫۴۰        | ۱۳        | ۱            |
| ۲                   | ۲۲٫۴۶                 | ۵                    | ۵                    | ۴             | ۱۸٫۹۷           | ۴۷٫۱۷        | ۱۲        | ۲            |
| ۳                   | ۳۹٫۵۹                 | ۹                    | ۵                    | ۳             | ۲۹٫۹۸           | ۴۳٫۹۲        | ۱۵        | ۳            |
| ۲                   | ۳۱٫۱۹                 | ۵                    | ۵                    | ۴             | ۲۹٫۹۵           | ۴۲٫۴۲        | ۱۳        | ۴            |
| ۰                   | ۰                     | ۰                    | ۰                    | ۰             | ۱۸٫۸۴           | ۳۰٫۶۳        | ۸         | *۵           |
| ۰                   | ۳۵٫۴۷                 | ۷                    | ۵                    | ۳             | ۲۳٫۲۳           | ۳۵٫۲۴        | ۱۴        | ۶            |
| ۰                   | ۰                     | ۰                    | ۰                    | ۰             | ۶٫۸۹            | ۲۲٫۲۸        | ۴         | *۷           |
| ۰                   | ۰                     | ۰                    | ۰                    | ۰             | ۱۳٫۱۳           | ۱۸٫۸۱        | ۹         | *۸           |
| ۲                   | ۳۳٫۳۱                 | ۱۰                   | ۵                    | ۶             | ۴۵٫۵۰           | ۴۶٫۳۴        | ۱۷        | ۹            |
| ۲                   | ۳۲٫۹۲                 | ۱۲                   | ۷                    | ۹             | ۶۴٫۶۸           | ۵۴٫۴۳        | ۱۸        | ۱۰           |
| ۰                   | ۴۳٫۲۰                 | ۵                    | ۸                    | ۴             | ۳۸٫۹۵           | ۵۰٫۹۴        | ۱۵        | ۱۱           |
| ۳                   | ۳۱٫۱۹                 | ۱۳                   | ۶                    | ۶             | ۴۹٫۲۸           | ۴۵٫۶۰        | ۱۷        | ۱۲           |
| ۳                   | ۳۵٫۴۳                 | ۱۳                   | ۷                    | ۷             | ۳۸٫۹۲           | ۴۰٫۳۸        | ۱۶        | ۱۳           |
| ۳                   | ۳۱٫۸۹                 | ۱۱                   | ۶                    | ۵             | ۴۱٫۰۵           | ۵۰٫۵۳        | ۱۶        | ۱۴           |

\* داده‌برداری به دلیل یکسان بودن سن رشدی گیاهان در یک زمان واحد انجام شد و این جهش یافته‌ها در زمان داده‌برداری در فاز گل‌دهی نبودند.

### ۱.۳ آنالیز تنوع ژنتیکی نمونه‌های تیمار شده با پرتو گاما با استفاده از

#### نشانه‌گر مولکولی ISSR

تغییرپذیری ژنتیکی ۱۱ جهش یافته فرضی و ۳ شاهد بنفشه آفریقایی با استفاده از ۸ آغازگر ISSR آنالیز شدند که در مجموع ۷۱ مکان (باند) قابل امتیازدهی ایجاد کردند که در این میان ۵۰ مکان (۷۰٪) چندشکلی را نشان دادند. میانگین تعداد باندهای تکثیر شده و باندهای چند شکل به ازای هر آغازگر به ترتیب ۸۸۷ و ۶۲۵ بود. در این میان آغازگر UBC۸۰۸ کم‌ترین مکان ژنی را با ۷ باند و آغازگرهای UBC۸۴۰، UBC۸۴۲ و UBC۸۷۳ بیش‌ترین تعداد مکان ژنی را با ۱۰ باند تولید کردند که بیانگر قدرت این آغازگرها در تفکیک جهش یافته‌ها می‌باشد. درصد چند شکلی از ۶۱ تا ۸۵ درصد متغیر بود و میانگین میزان چندشکلی ۷۰٫۴۲ درصد محاسبه شد. سپس میزان اطلاعات چندشکلی (PIC) با استفاده از فراوانی آلی هر آغازگر محاسبه گردید که در واقع بیانگر ارزش یک نشانگر برای تشخیص چند شکلی در یک جمعیت می‌باشد. میانگین PIC آغازگرها در این پژوهش ۰٫۳۷ بود که بین ۰٫۴۳ تا ۰٫۳۲ متغیر بود و این میزان با توجه به این که حداکثر PIC در نشانگرهای غالب ۰٫۵ می‌باشد، نشان‌دهنده این است که آغازگرهای انتخاب شده پراکندگی مناسبی در ژنوم جمعیت مورد بررسی داشته‌اند. با توجه به جدول ۲، بیش‌ترین میزان PIC مربوط به آغازگرهای UBC۸۴۰ (۰٫۴۳) و UBC۸۵۷ (۰٫۴۲) بود. بدین مفهوم که آغازگرهای UBC۸۴۰ و UBC۸۵۷ با دارا بودن حداکثر پراکندگی آلی بین نمونه‌ها بهتر از سایر آغازگرها فاصله ژنتیکی را معلوم کرده و می‌توانند به عنوان آغازگرهایی با توان بالای تعیین تنوع مورد استفاده قرار گیرند.

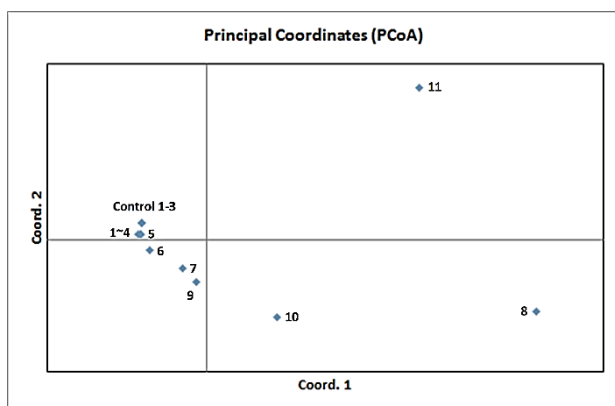
### ۲.۳ تجزیه خوشه‌ای بر اساس تمام آغازگرها

ترسیم دندروگرام با استفاده از باندهای چند شکل انجام و شباهت ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها و شاهد با استفاده از ضریب جاکارد<sup>۱</sup> محاسبه و آنالیز خوشه‌بندی UPGMA صورت گرفت. نتایج به دست آمده از دندروگرام، تمایز ژنتیکی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را نشان داد. همبستگی (ضریب) کوفنتیک که یک همبستگی بین شباهت‌های نشان داده شده روی دندروگرام و درجه واقعی شباهت آن‌هاست و بیانگر اعتبار و هم‌خوانی خوشه‌ای حاصل با ماتریس داده ورودی می‌باشد، محاسبه شد. ضریب کوفنتیک بین ماتریس تشابه و دندروگرام حاصل  $r=0.992$  به دست آمد. ضریب کوفنتیک بالای به دست آمده به کمک روش تجزیه خوشه‌ای بر اساس ضریب تشابه جاکارد (۰٫۸۵) نشان‌دهنده کارایی این روش برای گروه‌بندی جهش یافته‌های فرضی است. در دندروگرام ۱۱ جهش یافته فرضی و ۳ شاهد به ۴ گروه و دو فرد مجزا در سطح تشابه ژنتیکی ۰٫۴۹ گروه‌بندی شدند (شکل ۴). شاهد و جهش یافته‌های ۱ تا ۷ در درون گروه I تقسیم‌بندی شدند این جهش یافته‌ها نسبت به بقیه جهش یافته‌ها دارای تشابه ژنتیکی بیش‌تری هستند و تغییر ژنتیکی زیادی نسبت به شاهد نشان نمی‌دهند. گروه II به دو زیرگروه ۹ و ۱۰ تقسیم‌بندی شد. گروه III به جهش یافته ۱۱ تفکیک شد. گروه VI به جهش یافته ۸ اختصاص داده شد. این دو گروه سه و چهار نسبت به بقیه جهش یافته‌ها دارای تشابه ژنتیکی کم‌تری بودند و تغییر ژنتیکی بیش‌تری را نشان دادند.

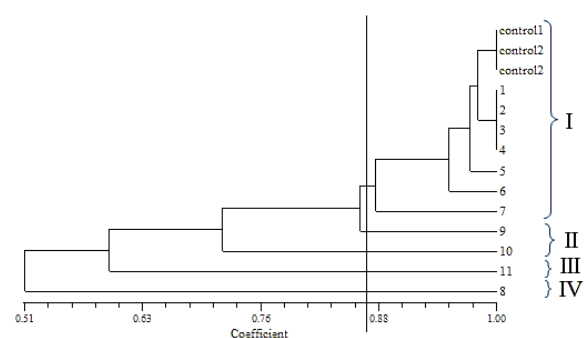


جدول ۲. توالی آغازگر مورد استفاده و اطلاعات چندشکلی آن

| پرایمر  | توالی                         | Ta<br>(دمای اتصال پرایمر) | تعداد<br>باندها | تعداد باندهای<br>چندشکل | درصد فراوانی<br>باندهای چندشکل | محتوای اطلاعاتی<br>چند شکلی |
|---------|-------------------------------|---------------------------|-----------------|-------------------------|--------------------------------|-----------------------------|
| UBC ۸۰۸ | 5'-AGA GAG AGA GAG AGA GC-3'  | ۵۲٫۴                      | ۷               | ۴                       | ٪۸۳                            | ۰٫۳۵                        |
| UBC ۸۱۰ | 5'-GAG AGA GAG AGA GAG AT-3'  | ۵۰٫۰                      | ۸               | ۶                       | ٪۷۵                            | ۰٫۳۲                        |
| UBC ۸۳۴ | 5'-AGA GAG AGA GAG AGA GYT-3' | ۵۱٫۶                      | ۹               | ۶                       | ٪۶۳                            | ۰٫۳۵                        |
| UBC ۸۳۶ | 5'-AGA GAG AGA GAG AGA GYA-3' | ۵۱٫۶                      | ۸               | ۴                       | ٪۷۶                            | ۰٫۴۰                        |
| UBC ۸۴۰ | 5'-GAG AGA GAG AGA GAG AYT-3' | ۵۱٫۶                      | ۱۰              | ۹                       | ٪۸۱                            | ۰٫۴۳                        |
| UBC ۸۴۲ | 5'-GAG AGA GAG AGA GAG AYG-3' | ۵۳٫۹                      | ۱۰              | ۶                       | ٪۶۱                            | ۰٫۳۶                        |
| UBC ۸۵۷ | 5'-ACA CAC ACA CAC ACA CYG-3' | ۵۳٫۹                      | ۹               | ۸                       | ٪۸۱                            | ۰٫۴۲                        |
| UBC ۸۷۳ | 5'-GAC AGA CAG ACA GAC A-3'   | ۴۸٫۲                      | ۱۰              | ۷                       | ٪۸۵                            | ۰٫۴۰                        |
| All     |                               |                           | ۷۱              | ۵۰                      | -                              | -                           |



شکل ۵. نمایش دوبعدی آنالیز PCoA نمایانگر تنوع ژنتیکی ۱۱ جهش یافته و سه شاهد.



شکل ۴. دندروگرام به دست آمده با استفاده از ۸ آغازگر ISSR بر اساس روش UPGMA و ضریب تشابه جاکارد برای ۱۱ جهش یافته فرضی (۱-۱۱) و ۳ شاهد (۱، ۲، ۳) در گیاه بنفشه آفریقایی.

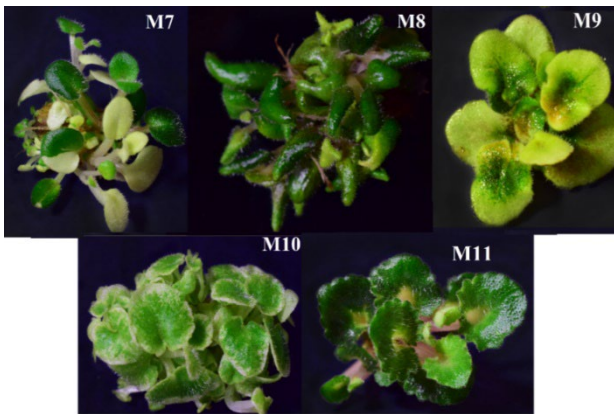
### ۳.۳ فاصله ژنتیکی بین جهش یافته‌ها

بررسی تغییرات مولکولی جهش یافته‌های ایجاد شده با نشانگر ISSR نشان داد که تابش در سطح ۴۰ گری می‌تواند چند شکلی بسیار بالایی در آن‌ها ایجاد کند. به طوری که جهش یافته‌های فرضی با یک سطح تیمار در سطح تشابه ۰٫۵۱ درصد به ۴ گروه تقسیم‌بندی شدند و دامنه تشابه ژنتیکی از ۰٫۹۸ تا ۰٫۴۵ متغیر بود. این نتایج نشان‌دهنده قدرت و کارایی تابش گاما در ایجاد تنوع ژنتیکی می‌باشد که به اصلاح‌کنندگان گیاهی در انتخاب واریته‌های گیاهی با خصوصیات مطلوب کمک می‌کند. نتایج این آزمایش در به وجود آمدن تغییرات ژنتیکی حاصل از تابش، مشابه با نتایج القای جهش در گیاهان مختلف بود [۲۱]. در طی پژوهش برکات و السامک [۲۲] گلچه‌های گیاه داوودی رقم Delistar White با دو دُز اشعه گاما تیمار و از نشانگر ISSR برای تشخیص تنوع ژنتیکی بین جهش یافته‌ها و والدین استفاده کردند و از ۵ آغازگر برای تکثیر قطعات DNA ژنومی استفاده شد و ۱۳ کلون سوماتیکی با استفاده از این روش جدا گردید. شباهت ژنتیکی در بین ۴۰ ژنوتیپ مورد بررسی

جهش یافته ۱ تا ۴ با ضریب تشابه ژنتیکی ۰٫۹۸۶ بیش‌ترین تشابه و جهش یافته ۸ با ضریب تشابه ژنتیکی ۰٫۵۱ کم‌ترین تشابه را نسبت به شاهد داشتند. آنالیز UPGMA (شکل ۴) و PCA (شکل ۵) با هم هم‌خوانی داشتند و پلات دوبعدی PCoA نیز پراکندگی جهش یافته‌ها را به خوبی نشان می‌دهد که بیانگر وجود تنوع ژنتیکی ایجاد شده در بین جهش یافته‌ها می‌باشد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) نشان داد که ۳۸ درصد تنوع در بین جمعیت‌ها و ۶۲ درصد تنوع در داخل جمعیت است و میزان تنوع بین جمعیت‌ها در مقایسه با تنوع درون جمعیت نشان‌دهنده معنی‌داری تفاوت‌های ایجاد شده است. نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که در سطح مولکولی بین جهش یافته‌های ایجاد شده تفاوت معنی‌داری وجود دارد. هم‌چنین نتایج بیانگر این است که ISSR، نشانگر مفیدی برای اندازه‌گیری سریع و آسان تنوع ژنتیکی در میان جهش یافته‌ها است.



میزان کل کلروفیل در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود ولی پارامتر تعداد برگ و میزان کاروتنوئید از نظر آماری در سطح ۵ درصد معنی‌دار نبود، بنابراین مقایسه میانگین‌ها برای آن‌ها صورت نگرفت (جدول ۳). با بررسی این داده‌ها می‌توان گفت جهش‌یافته M۱۱ که دارای رنگ تیره‌تر در برگ‌ها می‌باشد، با داده‌های افزایش شدت رنگ سبز (به دست آمده از آنالیز تصاویر) مطابقت دارد، و با توجه به داده‌های استخراج کلروفیل (جدول ۳) می‌تواند به دلیل افزایش میزان کلروفیل کل در این فرم باشد. در این فرم جهش‌یافته هم‌چنین میزان کلروفیل b افزایش پیدا کرده که این میزان در فرم‌های جهش‌یافته دیگر تقریباً برابر با میزان کلروفیل b در نمونه شاهد می‌باشد. این تغییرات در میزان کلروفیل در این گیاه می‌تواند به گیاه امکان رشد بهتر نسبت به فرم ابلق در جهش‌یافته‌های دیگر را بدهد بنابراین سطح برگ و سطح فتوسنتزکننده در این فرم نسبت به جهش‌یافته‌های دیگر بیش‌تر است (جدول ۳ و شکل ۶).



شکل ۶. پنج گیاه جهش‌یافته که بیش‌ترین فاصله ژنتیکی را از گیاه شاهد داشتند.

۰/۹۵ تا ۰/۴۳ به‌دست آمد و درخت فیلوژنی در این آزمایش در ۵ شاخه طبقه‌بندی شد. در آزمایش دیگری که بر روی این گیاه انجام گرفت، از ۶۰ آغازگر ISSR برای تشخیص واریته‌های جدید استفاده شد. نتایج نشان داد که پلی‌مورفیسم تفاوت‌های معنی‌داری را در مقایسه با واریته‌های موجود دارد. این آزمایش نشان داد که کاربرد نشانگر ISSR می‌تواند به عنوان یک روش مفید برای ارزیابی سریع و آسان تنوع ژنتیکی بین واریته‌ها مدنظر قرار گیرد. زای و همکاران [۶] یک پروتکل کارآمد را جهت القای جهش در گیاه لیلیوم ارائه کردند. آن‌ها تنوع ژنتیکی در بین جهش‌یافته‌ها را به‌وسیله نشانگر مولکولی ISSR تأیید کردند و فراوانی تنوع ژنتیکی ۳۶/۰۶ درصد با استفاده از ۷ پرایمر ISSR را گزارش کردند. از این ۹ لاین بررسی شده با نشانگر ISSR، ۴ لاین هیچ تفاوتی از نظر مولکولی نشان ندادند اما ۵ لاین دیگر تفاوت‌هایی را نشان دادند که تفاوت‌های فنوتیپی را در این گیاه ایجاد کردند. نتایج بر روی لیلیوم نشان داد که نشانگر ISSR قادر به نشان دادن تفاوت‌ها در سطح مولکولی است.

۴۰۳ بررسی پایداری تغییرات فنوتیپی در فرم‌های جهش‌یافته از میان ۱۱ جهش‌یافته مورد آنالیز ISSR که در بالا به آن اشاره گردید، ۵ گیاه جهش‌یافته که بیش‌ترین فاصله ژنتیکی را از گیاه شاهد داشتند و هم‌چنین بیش‌ترین تفاوت مورفولوژیکی را نشان می‌دادند، انتخاب شدند و پس از چندین واکشت، گیاهچه‌های باززا شده از نظر پارامترهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی مورد بررسی قرار گرفتند. از میان نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس، پارامترهای سطح برگ، طول دم‌برگ، سطح فتوسنتزکننده، شدت رنگ سبز در هر میلی‌متر مربع برگ و میزان کلروفیل b در سطح یک درصد و میزان کلروفیل a و

جدول ۳. بررسی فنوتیپی گیاهان جهش‌یافته ناشی از تابش اشعه گامای بنفشه آفریقایی

| جهش‌یافته‌ها | تعداد برگ        | سطح برگ (mm <sup>2</sup> ) | طول دم‌برگ (mm)    | سطح فتوسنتزی (mm <sup>2</sup> ) | شدت سبزی‌نگی در هر میلی‌متر مربع برگ | محتوای کلروفیل a    | محتوای کلروفیل b   | محتوای کلروفیل کل   | محتوای کاروتنوئید  |
|--------------|------------------|----------------------------|--------------------|---------------------------------|--------------------------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| شاهد         | ۸/۷ <sup>a</sup> | ۲۳۹/۶۲ <sup>a</sup>        | ۰/۸۳ <sup>a</sup>  | ۲۳۹/۶۲ <sup>a</sup>             | ۴/۵۹ <sup>b</sup>                    | ۰/۰۶۱ <sup>ab</sup> | ۰/۰۳۲ <sup>b</sup> | ۰/۰۹۳ <sup>b</sup>  | ۰/۰۲۹ <sup>a</sup> |
| M۷           | ۸/۸ <sup>a</sup> | ۴۹/۷۸ <sup>c</sup>         | ۰/۳۹ <sup>d</sup>  | ۳۱/۱۹ <sup>c</sup>              | ۲/۷۱ <sup>bc</sup>                   | ۰/۰۶۹ <sup>ab</sup> | ۰/۰۳۹ <sup>b</sup> | ۰/۱۰۹ <sup>ab</sup> | ۰/۰۳۶ <sup>a</sup> |
| M۸           | ۸/۶ <sup>a</sup> | ۱۱۰/۰۳ <sup>b</sup>        | ۰/۴۷ <sup>cd</sup> | ۳۴/۰۶ <sup>c</sup>              | ۲/۰۳ <sup>c</sup>                    | ۰/۰۴۷ <sup>b</sup>  | ۰/۰۳۵ <sup>b</sup> | ۰/۰۸۳ <sup>b</sup>  | ۰/۰۲۹ <sup>a</sup> |
| M۹           | ۷/۲ <sup>a</sup> | ۹۳/۴۲ <sup>bc</sup>        | ۰/۴۳ <sup>d</sup>  | ۵۴/۸۷ <sup>c</sup>              | ۲/۲۳ <sup>c</sup>                    | ۰/۰۸۰ <sup>a</sup>  | ۰/۰۴۳ <sup>b</sup> | ۰/۱۲۳ <sup>ab</sup> | ۰/۰۴۰ <sup>a</sup> |
| M۱۰          | ۸/۵ <sup>a</sup> | ۱۳۱/۸۱ <sup>b</sup>        | ۰/۶۶ <sup>d</sup>  | ۱۳۱/۸۱ <sup>b</sup>             | ۳/۷۲ <sup>bc</sup>                   | ۰/۰۴۷ <sup>b</sup>  | ۰/۰۵۳ <sup>b</sup> | ۰/۱۰۱ <sup>b</sup>  | ۰/۰۲۷ <sup>a</sup> |
| M۱۱          | ۷/۵ <sup>a</sup> | ۲۴۴/۸۱ <sup>a</sup>        | ۰/۶۰ <sup>bc</sup> | ۲۳۸/۰۲ <sup>a</sup>             | ۷/۲۲ <sup>a</sup>                    | ۰/۰۵۳ <sup>ab</sup> | ۰/۱۰ <sup>a</sup>  | ۰/۱۶۲ <sup>a</sup>  | ۰/۰۳۱ <sup>a</sup> |



## ۴. نتیجه گیری

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد وجود جهش یافته های مورفولوژیکی و ژنتیکی در گیاه بنفشه آفریقایی نشان دهنده اثر تابش گاما در افزایش تنوع است و در حقیقت نتیجه تغییراتی است که در ساختار گیاه از طریق تابش روی داده است. به عبارتی تابش می تواند از طریق اثر بر ژن ها، افزایش فعالیت آن ها را سبب شود یا حتی از طریق ایجاد تغییر در بیان ژن ها باعث فعال شدن ژن های جدید و یا باعث خاموش شدن بعضی از ژن ها شود. تابش قادر است با اثر بر قسمت های مختلف ژنوم، باعث تغییر در فعالیت های ساختاری، بیوشیمیایی و کارکردی گیاه شده و از این طریق فرم های جدیدی از گیاه با صفات تغییر یافته تولید شود. نتیجه تحقیق حاضر از میان ۱۲۲۷ ریزنمونه اولیه تابش دیده که پس از تکثیر اولیه به ۳۶۰۰ گیاهچه رسید، در برآورد اولیه منجر به ایجاد ۱۱ فرم تغییر یافته شد که پس از بررسی های مولکولی ۶ گیاه جهش یافته تأیید شد که نشان می دهد درصد جهش در این تحقیق ۰/۰۰۴ می باشد. جهش یافته ها دارای برگ های ابلق یا سبز تیره و یا دارای فرم بوته متفاوت بودند. نشانگر ISSR برای ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در جهش یافته های القا شده به وسیله تابش گاما در گیاه بنفشه آفریقایی، توانایی بالا و قدرت تمایز خوبی نشان داد و کارایی این نشانگر را برای شناسایی جهش یافته های به دست آمده از تابش نشان می دهد، از این رو با استفاده از آن می توان گزینش زود هنگام و کاهش اندازه ی جمعیت جهش یافته را امکان پذیر ساخت. این تحقیق نشان داد که پایداری ژنتیکی در برخی گیاهان جهش یافته شناسایی شده برای صفت مورد نظر، در نسل بعدی باقی می ماند، اما در برخی دیگر از جهش یافته ها تغییرات به شکل شیمیر بوده و حتی در مراحل مختلف رشدی گیاه نیز پایدار نمی ماند.

## مراجع

1. Manzoor A, Ahmad T, Bashir M.A, Hafiz I.A, Silvestri C. Studies on colchicine induced chromosome doubling for enhancement of quality traits in ornamental plants. *Plants*. 2019;8:194-197.
2. Ahn C.H, Ramya M, An H.R, Park P.M, Kim Y.-J, Lee S.Y, Jang S. Progress and Challenges in the Improvement of Ornamental Plants by Genome Editing. *Plants*. 2020;9:687-693.
3. Datta S.K, Chakrabarty D, Mandal A.K.A. Gamma ray-induced genetic manipulations in flower colour and shape in *Dendranthema grandiflorum* and their management through tissue culture. *Plant Breeding*. 2001;120:91-92.
4. Matsumura A, Nomizu T, Furutani N, Hayashi K, Minamiyama Y, Hase Y. Ray florets color and shape mutants induced by 12C5+ ion beam irradiation in chrysanthemum. *Scientia Horticulturae*. 2010;123:558-561.
5. Mandal A.K.A, Chakrabarty D, Datta S.K. Application of in vitro techniques in mutation breeding of chrysanthemum. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2000;60:33-38.
6. Xi M, Sun L, Qiu S, Liu J, Xu J, Shi J. In vitro mutagenesis and identification of mutants via ISSR in lily (*Lilium longiflorum*). *Plant Cell Reports*. 2012;31:1043-1051.
7. Suwanseree V.W, Teerakathiti T, Wongchaochant S, Taychasinpitak T. Petal colour and petal form mutations observed in *Torenia hybrida* following gamma irradiation in vitro. *Kasetsart Journal of Natural Science*. 2011;45:656-665.
8. Dita M.A, Rispail N, Prats E, Rubiales D, Singh K.B. Biotechnology approaches to overcome biotic and abiotic stress constraints in legumes. *Euphytica*. 2006;147:1-24.
9. Kumar P, Gupta V.K, Misra A.K, Modi D.R, Pandey B.K. Potential of Molecular Markers in Plant Biotechnology. *Plant Omics Journal*. 2009;2:141-162.
10. Palai S.k, Rout G.R. Characterization of new variety of Chrysanthemum by using ISSR markers. *Horticultura Brasileira*. 2011;29:613-617.
11. Chang Q.S, Zhang L.X, Hou X.G, Wang Z, Wang N, Gong M.G, Zhang Q.M, Chen H, Shi Z.Q, Deng C.C. The anatomical, physiological, and molecular analysis of a chlorophyll-deficient mutant in tree peony (*Paeonia suffruticosa*). *Photosynthetica*. 2019;57:724-730.
12. Lichtenthaler H.K, Buschmann C. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. Current protocols in food analytical chemistry, unit F4.3.1-F4.3.8. Available at. 2001. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01>.
13. Oñate-Sánchez L, Vicente-Carbajosa J. DNA-free RNA isolation protocols for *Arabidopsis thaliana*, including seeds and siliques. *BMC research notes*. 2008. Available at <https://doi.org/10.1186/1756-0500-1-93>.

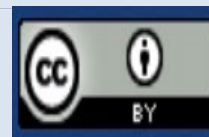




14. Farjadi-shakib M, Naderi R, Mousavi A. Effects of gamma-ray irradiation on African Violet in vitro adventitious shoots. *Acta Horticulturae (ISHS)*. 2012;937:923-927.
15. Yamaguchi H. Mutation breeding of ornamental plants using ion beams. *Breeding Science*. 2018;17086.
16. Nazir M.B, Mohammad O, Affida A.A, Sakinah A. Research highlights on the use of induced mutations for plant improvement in Malaysia. Malaysian Institute for Nuclear Technology Research (MINT). *Bangi*. 1998;5:29-35.
17. Wongpiyasatid A, Jompuk P, Chusreeaeom K, Taychasinpitak T. Effects of Acute gamma irradiation on adventitious plantlet formation of *Saintpaulia ionantha* (African violet) detached leaves. *Kasetsart Journal*. 2007;41:414-419.
18. Zhou L.B, Li W.J, Ma S, Dong X.C, Yu L.X, Li Q, Zhou G.M, Gao Q.X. Effects of ion beam irradiation on adventitious shoot regeneration from in vitro leaf explants of *Saintpaulia ionantha*. *Nucl. Instrum. Methods*. 2006;244:349-353.
19. Hasbullah N.A, Taha R.M, Saleh A, Mahmud N. Irradiation effect on in vitro organogenesis, callus growth and plantlet development of *Gerbera jamesonii*. *Horticultura Brasileira*. 2012;30:252-257.
20. Jala A. Morphological Change Due to Effects of Acute Gamma Ray on Wishbone Flower (*Torenia fourmieri*) In Vitro. *International Transaction Journal of Engineering, Management, & Applied Sciences & Technologies*. 2011;375-363.
21. Maluszynski M, Ahloowalia S, Shgurbjornsson B.J. Application of in vivo and in vitro mutation techniques for crop improvement. *Euphytica*. 2004;85:303-315.
22. Barakat M.N, El-Sammak H. In vitro mutagenesis, plant regeneration and characterization of mutants via RAPD analysis in Baby's breath *Gypsophila paniculata* L. *Australian Journal of Crop Science*. 2011;5:214-222.

**COPYRIGHTS**

©2021 The author(s). This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, as long as the original authors and source are cited. No permission is required from the authors or the publishers.

**استناد به این مقاله**

شریفی، احمد، سرگزی مقدم، زهرا، خرازی، مهدیه، خادم، آزاده، مرادیان، مریم. (۱۴۰۳)، تولید جهش یافته‌های بنفشه آفریقایی (*Saintpaulia ionantha*) با استفاده از تابش اشعه گاما. *مجله علوم، مهندسی و فناوری هسته‌ای*، ۱۰۹(۳)، ۶۶-۷۴. DOI: <https://doi.org/10.24200/nst.2024.1603>  
 Url: [https://jonsat.nstri.ir/article\\_1603.html](https://jonsat.nstri.ir/article_1603.html)

