J. of Nucl Sci. and Tech.
69, 2014, 82-85

مجله‌ی علوم و فنون هسته‌ای
۶۹، ۱۳۹۳، ۸۲-۸۵

Sci. and Tech. note
یادداشت علمی و فنی

تعیین دز مناسب پرتو گاما برای ایجاد جهش در جوانه‌های انار (رقم ملس ساوه)

سیروس ودادی*[1]، بهنام ناصریان[1]، سید ضیاء الدین طباطبایی[2]، مسعود رحیمی[1]
۱. پژوهشکده‌ی تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۴۹۸-۳۱۴۸۵، کرج ـ ایران
۲. ایستگاه تحقیقات انار ساوه، صندوق پستی: ۱۳۴۸۸-۳۹۱۷۶، ساوه ـ ایران

چکیده: انار در بسیاری از مناطق ایران کشت می‌شود. با توجه به حساسیت میوه‌ی انار به کرم گلوگاه، ایجاد ارقام جدید سازگار، لازم و ضروری است. تنوع ژنتیکی از عوامل ضروری برای اصلاح نباتات است. جهش، ابزار سودمندی در تقویت تنوع ژنتیکی و ایجاد ارقام جدید در درختان میوه و گیاهان زراعی است. اولین گام در اصلاح به روش جهش‌زایی، تعیین دز مطلوب پرتودهی است. لذا این پژوهش به منظور تعیین دز مناسب پرتو گاما انجام شد. ابتدا قلمه‌هایی از شاخه‌های یکساله‌ی انار تهیه و میزان زنده‌مانی جوانه در قلمه‌ها در دزهای مختلف پرتو گاما مورد بررسی قرار گرفت. دزهای مورد استفاده شامل ۱۲ مقدار از صفر تا ۱۲۰ گری (۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰، ۱۰۰، ۱۱۰ و ۱۲۰) بودند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۲ تیمار طراحی شد. میزان زنده‌مانی، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ بین نمونه‌های شاهد و نمونه‌های پرتودیده در دزهای مختلف نشان داد. رگرسیون خطی بین درصد زنده‌مانی و دز پرتو گاما محاسبه شد. براساس دز مشخص شده برای LD۵۰ (۴۵ Gy)، دز مناسب در این آزمایش ۳۶ گری تعیین شد.

***کلیدواژه‌ها:** جوانه‌های انار، دز پرتو گاما، جهش‌زایی، LD۵۰، درصد زنده‌مانی*

Determination of Suitable Dose of Gamma Ray for Mutation Induction in Pomegranate Buds (Punica Granatum L. cv. Malase Saveh)

C. Vedadi*[1], B. Naserian Khiabani[1], C. Tabatabai[2], M. Rahimi[1]
1. Agricultural, Medical and Industrial Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, AEOI, P.O.Box: 31485-498, Karaj – Iran
2. Saveh Pomegranate Research Station, P.O.Box: 39176-13488, Saveh – Iran

Abstract: Pomegranate is cultivated in many regions of Iran. Due to the pomegranate sensitivity to the Carob moth, it is necessary to develop new cultivars that tolerate the Carob moth (Spectrobates ceratoniae). To induce a genetic variation in the plant, breeding is considered as an essential factor. Mutation breeding is a very effective and beneficial approach for promoting the genetic diversity and developing new varieties of fruit trees and agricultural plants. This study aimed to determine the proper gamma irradiation dose. Accordingly, some cleavage of one year old branches of the pomegranate was used. The survival of bud cuttings in different gamma ray doses was investigated. The gamma ray doses included 12 zero to 120 Gy (0, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110 and 120). The experimental design was arranged as a completely randomized one with 12 treatments. The survival rate showed a significant difference at 1% between various doses of gamma-irradiation in comparison to the control samples and the irradiation dose. A liner regression was estimated between the survival rate and gamma ray doses. According to the irradiation dose of LD50, (45 Gy) 36 Gy was determinate as a suitable gamma dose rate during the experiment.

***Keywords:** Pomegranate Buds, Gamma Ray Dose, Mutation, LD50, Survival Percentage*

*email: svedadi@nrcam.org

تاریخ دریافت مقاله: ۹۱/۱۱/۲۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۹۳/۴/۱۰

۱. مقدمه

انار با نام علمی پونیکا گراناتوم[۱] از خانواده‌ی پونیکاسه[۲] یکی از قدیمی‌ترین گونه‌های میوه‌ی شناخته شده است. جنس پونیکا شامل دو گونه‌ی پونیکا پروتوپونیکا[۳] و پونیکا گراناتوم[۴] است [۱]. پونیکا پروتوپونیکا بومی کشور یمن و تنها خویشاوند انار است [۲]. انار به عنوان گونه‌ی تک پایه‌ی دارای گل‌های نر و یا کامل، خودگشن و دگرگشن مطرح بوده و به طور وحشی در خاورمیانه، منطقه‌ی قفقاز، آسیای کوچک (ترکیه) و برخی قسمت‌های ناحیه‌ی مدیترانه‌ای رشد می‌کند [۳]. خاستگاه انار، کشور ایران و نواحی اطراف آن است. ایران با تولید ۸۰۰ هزار تن انار در سال بزرگ‌ترین تولید کننده‌ی این محصول در دنیا است؛ انار به جهت مقاومت به تنش خشکی، درخت مناسبی برای رشد در مناطق خشک محسوب می‌شود [۴]. تنوع ژنتیکی از عوامل ضروری برای اصلاح نباتات است. ایجاد جهش در تقویت تنوع ژنتیکی بسیار مؤثر بوده و این امر در بهبود ارقام درختان میوه و دیگر محصول‌های گیاهی مفید است. پیشرفت‌های اخیر در زیست‌فن‌آوری توانسته است روش‌های جدیدی را برای ریزازدیاد و ردیابی گیاهان با صفت برتر حاصل از جهش ایجاد نماید. استفاده از عوامل جهش‌زا، میزان جهش‌ها و در نتیجه تنوع ژنتیکی را افزایش می‌دهد، از این‌رو کاربرد جهش در گیاهان با تکثیر غیرجنسی ابزاری کارآمد برای اصلاح ژنتیکی یک گونه است. برای ایجاد جهش در انار می‌توان از قلمه‌های حاصل از یک شاخه یا انشعاب حاوی دو جوانه استفاده نمود [۵]. جوانه پرتودهی شده یک انشعاب اولیه‌ی شیمری در اولین نسل (M_1V_1) ایجاد می‌کند. در نتیجه برای از بین بردن شیمر، تکثیرهای رویشی بعدی مورد نیاز هستند. براساس تجربیات قبلی، جوانه‌های مورد استفاده برای تکثیر، باید از بخش‌های پایینی و وسطی انشعاب گرفته شوند. در حقیقت، جوانه‌های محوری در این منطقه از پریموردیای اولیه در جوانه‌ی تیمار شده منشأ می‌گیرند. با بررسی این اصل کلی که فرایند جهش به طور تصادفی و با احتمال یکسانی در هر سلول جوانه (مریستم اصلی، پریموردیای اولیه و مریستم‌های جانبی) رخ می‌دهد، تعداد سلول‌های جهش یافته در پریموردیا بزرگ‌تر و بیش‌تر خواهد بود، در حالی‌که میزان جهش در سلول‌ها کم‌تر است. تمایز و طول نسبی منطقه‌ی اولیه و تازه تشکیل شده (انشعاب نسل M_1V_1) به تعداد پریموردیا و جوانه‌های جانبی موجود در جوانه‌ی پرتودهی شده به گونه و رقم وابسته است. اطلاعات تعداد و اندازه‌ی پریموردیای موجود در جوانه‌ی پرتودهی شده می‌تواند برای دست‌ورزی نسل M_1V_1 و برای انتخاب مواد برای تکثیر رویشی در نسل M_1V_2 مفید باشد. به علاوه، فراوانی جهش‌ها در نسل‌های M_1V_2 و M_1V_3 با موقعیت‌های جوانه‌های محوری گرفته شده از انشعاب M_1V_1 مرتبط است. در نتیجه می‌توان انتظار داشت که در هر گونه و رقمی، بخش مشخصی از انشعاب M_1V_1 شانس بازیابی بیش‌تر جهش‌های تنه‌ای را داشته باشد [۶]. هدف از انجام این آزمایش تعیین دز مناسب پرتو برای ایجاد تنوع ژنتیکی در جوانه‌های انار بود.

۲. مواد و روش‌ها

در این بررسی از شاخه‌های یکساله‌ی درختان انار رقم ملس ساوه استفاده شد. در دی‌ماه قلمه‌هایی به طول ۲۰ تا ۲۲ سانتی‌متر از باغ انار ایستگاه تحقیقات انار ساوه تهیه شد. نحوه‌ی بریدن قلمه به صورتی بود که در فاصله ۲ سانتی‌متری از بالای قلمه جوانه وجود داشته باشد.

برای بیدار شدن جوانه‌ی قلمه‌ها، ابتدا قلمه‌های انار درون گلدان در مخلوط مساوی خاک، کود و پرلیت کشت (شکل ۱ الف) و در گلخانه، در دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد در روز و ۱۵ تا ۱۷ درجه سانتی‌گراد در شب نگه‌داری شد. متورم شدن جوانه‌ها از ۱۵ روز بعد آغاز شد. اکثر قلمه‌ها شرایط لازم برای پرتودهی را ۲۵ الی ۳۰ روز پس از نگه‌داری در گلخانه پیدا کردند. برای پرتودهی، با توجه به ظرفیت گاماسل، قلمه‌ها ابتدا از خاک خارج و سپس در دسته‌های ۱۰ تایی دسته‌بندی شدند (شکل ۱ ب).

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۲ تیمار انجام شد، برای تعیین دز مناسب از دزهای ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰، ۱۰۰، ۱۱۰ و ۱۲۰ گری (Gy) پرتو گاما و یک تیمار بدون پرتودهی به عنوان شاهد استفاده شد. پرتودهی به وسیله‌ی گاماسل گروه پژوهشی کشاورزی هسته‌ای با منبع کبالت- ۶۰ انجام شد. در طول آزمایش، تنها رشد جوانه‌های موجود در دو طرف محور بالای قلمه‌ها در نظر گرفته شده و جوانه‌های پایین‌تر حذف شدند. ۵۰ روز بعد از پرتودهی، شمارش جوانه‌های رشد کرده آغاز شد. تنها جوانه‌هایی که از مرحله‌ی تورم گذشته و برگ‌های آن‌ها باز شده بودند، به عنوان جوانه‌ی رشد کرده در نظر گرفته شد. تحلیل واریانس و مقایسه‌ی میانگین با استفاده از نرم‌افزار MSTATC و رسم نمودار با استفاده از نرم‌افزار اکسل به انجام رسید.

(الف)

(ب)

شکل ۱. (الف) قلمه‌های انار درون گلدان برای بیدار شدن جوانه، (ب) آماده‌سازی قلمه‌ها برای پرتودهی.

۳. نتایج

بررسی داده‌ها، نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد با شاهد وجود داشت (جدول ۱). دزهای ۲۰، ۳۰ گری باعث افزایش زنده‌مانی شدند ولی از نظر آماری با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند. کم‌ترین درصد زنده‌مانی مربوط به تیمار ۸۰، ۹۰، ۱۰۰، ۱۱۰ و ۱۲۰ گری بود. مقایسه‌ی میانگین با آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان داد که دزهای ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰ گری باعث کاهش معنی‌داری در میزان زنده‌مانی نسبت به تیمار شاهد شدند (جدول ۲). یکی از دلایل بالا بودن ضریب تغییرات عدم یکنواختی قطر قلمه‌ها می‌تواند باشد که باعث عدم یکنواختی جذب پرتو می‌شود.

در شکل ۲ کاهش رشد نمونه‌های پرتوتابی شده، نشان داده شده است.

جدول ۱. تحلیل واریانس دزهای پرتو گاما و میزان زنده‌مانی جوانه‌های قلمه‌ی انار

منبع‌های تغییر	درجه‌ی آزادی	میانگین مربع‌های زنده‌مانی
دزهای پرتو گاما	۱۱	۱۹٫۳۹**
اشتباه آزمایشی	۱۰۸	۱٫۰۹
ضریب تغییرات (٪)		۶۱٫۴۱

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۲. میانگین زنده‌مانی جوانه در قلمه‌ی انار

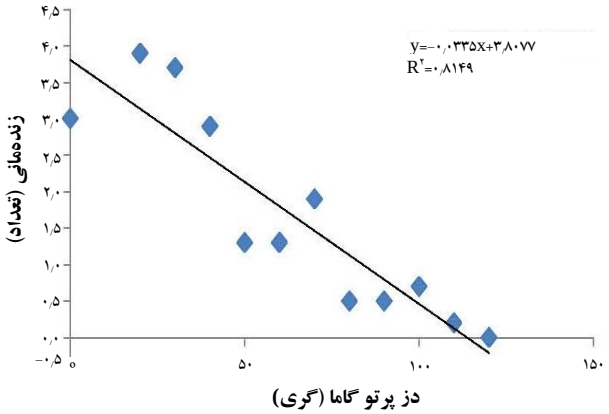
دز پرتو (Gy)	زنده‌مانی (تعداد)	دز پرتو (Gy)	زنده‌مانی (تعداد)
۰	۳[a]	۷۰	۱٫۹[a]
۲۰	۳٫۹[a]	۸۰	۰٫۵[c]
۳۰	۳٫۷[a]	۹۰	۰٫۵[c]
۴۰	۲٫۹[a]	۱۰۰	۰٫۷[b]
۵۰	۱٫۳[b]	۱۱۰	۰٫۲[d]
۶۰	۱٫۳[b]	۱۲۰	۰[d]

مقایسه‌ی میانگین براساس آزمون دانکن، حروف غیرمشابه بیان‌گر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد است.

شکل ۲. تأثیر پرتو گاما بر جوانه‌زنی قلمه‌های انار؛ قلمه‌های شاهد (بدون پرتودهی) در اولین گلدان سمت چپ قرار دارد. گلدان‌های بعدی، قلمه‌های پرتودهی شده در دزهای به ترتیب، با ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰ گری را نشان می‌دهند که با کاهش زنده‌مانی و کاهش رشد روبه‌رو بودند.

رابطه‌ی بین میزان زنده‌مانی و دزهای مختلف پرتو یک رابطه‌ی درجه‌ی یک بود ($y=-۰٫۰۳۳x+۳٫۸۰۷$ و $R^۲=۰٫۸۱۴$). در واقع می‌توان گفت افزایش دز، کاهش زنده‌مانی را به همراه دارد (شکل ۲).

ضریب تبیین به دست آمده در این تجزیه‌ی رگرسیونی برابر با ۰٫۸۱۴ بود و رابطه، نزدیک ٪۸۰ تغییرات این صفت را توجیه می‌کند و بقیه‌ی تغییرات آن از یک رابطه غیرخطی تبعیت می‌کند (شکل ۳).



شکل ۳. اثر دزهای پرتو گاما بر زنده‌مانی جوانه‌های قلمه‌های انار.

٤. بحث و نتیجه‌گیری

رحیمی و همکاران در پژوهشکده‌ی تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی کرج با استفاده از پرتو گاما توانستند ارقام بدون بذر از نارنگی کلمانتین در دز ۴۵ گری به دست بیاورند [۵]. گورچینی دز مناسب برای ایجاد جهش در موز رقم کاوندیش را ۲۵ تا ۴۰ گری تعیین نمود [۶]. تیمار قطعات برگی کشت شده در شرایط درون شیشه‌ای با پرتو گاما باعث ایجاد گیاهانی با برگ‌های تغییر شکل یافته، پا کوتاه، بلند و به طور کامل و یا نسبی عقیم شد [۷]. موتاژن مصنوعی با استفاده از پرتو گاما در دزهای ۱۰ تا ۲۰kR بر روی بذرهای انار انجام، و شکل مناسب میوه به همراه کیفیت بالای آب میوه و ماندگاری بیش‌تر میوه حاصل شد [۸].

با توجه به این‌که انار یک گیاه بومی ایران است در دنیا و ایران سابقه‌ی چندانی در رابطه با اصلاح آن از طریق جهش وجود ندارد. با مطالعه‌های انجام شده مشاهده شد که در دز ۴۰ گری به بالا تعداد جوانه‌های رشد نموده کم شده و از دز ۷۰ گری به بالا کاهش رشد در جوانه‌ها افزایش می‌یابد. در مقایسه‌ی میانگین‌ها نیز ملاحظه شد (جدول ۲) که جوانه‌های انار در دزهای بالاتر از ۴۵ گری دچار کاهش رشد شده و تعدادی نیز از بین می‌روند. با افزایش دز پرتو، کاهش رشد در تعداد جوانه‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافت و در دز ۸۰ گری به بالا، کم‌ترین میزان رشد مشاهده شد. افزایش دز پرتو باعث رسیدن انرژی بیش‌تری به بافت‌ها می‌شود که سبب کاهش رشد، تغییرات سیتولوژیکی و عقیمی گیاه می‌شود. دز مناسب پرتو (دز LD۵۰) براساس شکل ۳، ۴۵ گری و دز مناسب پرتو مورد استفاده ٪۲۰ کم‌تر از دز LD۵۰ و ۳۶ گری تعیین شد [۹].

پی‌نوشت‌ها

1. Punica Granatum L.
2. Punicaceae
3. P. Protopunica
4. P. Granatum

مرجع‌ها

1. M. Shakeri, Pomegranate pests and disease, Plant disease and pests research institute, In Persian (1382).
2. M. Mars, Pomegranate plant material: Genetic resources and breeding, a review, Institute des Regions Arides, 4119, Medenine, Tunisia, (2000).
3. P.M. Zukovskij, Punica, in: Cultivated Plants and their Wild Relatives, State Publishing House Soviet Science, Moscow (1950) 60-61.
4. N. Diry, The pomegranate, in: Fruit orchards, Publ. Aleppo University, Fac. of Agriculture, Syria (in Arabic) (1975) 302-307.
5. B. Donini, Mutagenesis Applied for the Improvement of vegetatively propagation plant, Department of technical cooperation department of research and isotopes joint FAO/ IAEA division IAEA laboratories (1994).
6. H. Goorchini, Micro propagation and determination the best gamma dosage in banana explants, Plant breeding MSc thesis, Mazandaran University, In Persian (1381).
7. M. Omura, N. Matsuta, T. Moriguchi, I. Kozaki, T. Sanada, Establishment of tissueculture methods in dwarf pomegranate (Punica granatum L. var. Pers.) and application for the induction of variants Bulletin of the frtuit tree reaserch station (A Yatabe) Japan 14 (1987) 17-44.
8. G.M. Levin, Problems of methodological breeding in pomegrante, Subtropicheskie kultury 70-73 (in Russian, English abstract) (1990).
9. C. Vedadi, How to determine the proper dosage for genetic diversity induction in crop plants, Zeytoon 169, In Persian (1385) 1-4.