



مطالعه تأثیر دزهای مختلف اشعه گاما در صفات مربوط به دانه باقلا (*Vicia faba L.*)

قربانی پور، علی^{۱*}، فتوکیان، محمدحسین^۲، کامرانی، اصغر^۳

۱- دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان و عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن.

۲- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد.

۳- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه دانشگاه شاهد.

(*نویسنده مسئول Ghorbanipour.ali@gmail.com)

چکیده:

القاء جهش روشی برای افزایش تنوع ژنتیکی می باشد که همراه با انتخاب، نوترکیبی و یا ترکیبی از این دو در اصلاح گیاهان مورد استفاده قرار می گیرد. هدف از انجام این تحقیق بررسی تأثیر دزهای مختلف اشعه گاما (۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ گری) به منظور ایجاد تنوع ژنتیکی در صفات مربوط به دانه در دو رقم باقلا برکت و بهشهری بود. بذور ابتدا با اشعه گاما تیمار و سپس در زمین کشت شدند. در پایان سال اول تعدادی از بذور بوته‌های نسل M_1 به تصادف انتخاب و به صورت ردیفی کشت گردید. نتایج نشان داد که در ارقام بهشهری و برکت، به ترتیب در تیمارهای ۴۰ و ۲۰ گری یک لاین جهش یافته به اسامی B141 و G220 در نسل M_2 بدست آمد. برای اطمینان از ثبات موتان، بذور M_2 به همراه شاهد کشت گردیدند. در نسل M_3 ، لاین جهش یافته B140 در صفت تعداد دانه در غلاف و در لاین جهش یافته G220 صفات تعداد پنجه، تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در غلاف نسبت به شاهد برتر بوده است.

کلمات کلیدی: باقلا، اشعه گاما، موتاسیون، تعداد دانه در غلاف

مقدمه

تنوع ژنتیکی در گیاهان می‌تواند بصورت طبیعی و یا مصنوعی ایجاد شود. تنوع طبیعی در اثر جهش‌های طبیعی و یا بازترکیبی ژن‌ها در اثر دورگ‌گیری طبیعی حاصل می‌شود. از آنجائیکه فراوانی تنوع طبیعی ناچیز است و سرعت آن نیز کند است، به‌نژادگر از تنوع مصنوعی استفاده می‌کند. تنوع مصنوعی از طریق دورگ‌گیری مصنوعی، جهش‌های مصنوعی، پلی‌پلوئیدی و کشت بافت یا سلول و یا با استفاده از تکنیک‌های مهندسی ژنتیک حاصل می‌گردد (Filippetti, 1983). گاما یکی از امواج الکترومغناطیس با قابلیت یونیزاسیون مواد است که به علت کاربرد آسان، نفوذپذیری مناسب، تکرار پذیری بالا و تولید موتاسیون‌های فراوان، بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد (فتوکیان، ۱۳۷۲). در این راستا، هاجوس و هودوس (۲۰۰۳) نیز موفق به تولید لاین‌های موتانتی از سویا با افزایش عملکرد دانه شدند. وانی و انیس (۲۰۰۸) با کاربرد اشعه گاما و EMS در نخود به سه لاین موتانت با عملکرد بالا و تغییر برخی صفات مورفولوژیکی نظیر افزایش اندازه و تعداد دانه، برگچه، گل‌ها، غلاف و بذور و همچنین افزایش عملکرد و پوشش بذر سخت دست یافتند. هانافیا و همکاران (۲۰۱۰) بذرهایی از ارقام سویا را تحت تأثیر دزهای مختلف اشعه گاما (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ گری) قرار دادند. در این بررسی تنوع ژنتیکی معنی‌داری در صفات کمی و کیفی گیاهان حاصل از پرتودهی مشاهده شد که بیشترین تنوع ژنتیکی در نسل M₂ از تیمار ۲۰۰ گری بوده است. ابوالیزید (۲۰۱۱) به نقش مثبت اشعه گاما در بهبود کمیت و کیفیت دانه باقلا اشاره کرده بود. ایشان بذرهایی باقلا را توسط دزهای مختلف اشعه گاما (۰، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ گری) مورد تیمار قرار دادند و نشان داد که در بین تیمارهای فوق، تیمار ۳۰ گری از نظر تأثیر بر صفات مهم تعیین‌کننده عملکرد و کیفیت برتر از دزهای دیگر اشعه گاما بود. چون باقلا گیاهی خود‌گرده‌افشان بوده، در نتیجه میزان تنوع طبیعی در آن بسیار پائین می‌باشد، در نتیجه لقاء تنوع ژنتیکی در این گیاه بسیار ضروری است. هیچ گزارشی مبنی بر اصلاح باقلا از طریق موتاسیون در ایران وجود ندارد. لذا هدف از انجام این تحقیق ایجاد تنوع ژنتیکی در صفات مربوط به دانه در ارقام برکت و بهشهری باقلا با استفاده از اشعه گاما بوده است.

مواد و روش‌ها

تعداد ۵ توده بذر ۶۰۰ تایی از بذر ارقام برکت و بهشهری به طور جداگانه آماده و به سازمان انرژی اتمی ایران در تهران جهت تیمار با پرتو گاما در دزهای ۰ (شاهد)، ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ گری (Gy) ارسال گردید. بذور قبل از تیمار با پرتو گاما به مدت یک هفته در دمای اتاق در شرایط آب و هوای تهران نگهداری شدند. منبع پرتو گاما سلول کبالت ۶۰ بود که در مرکز تابش گامای سازمان مذکور قرار دارد. مراحل مزرعه‌ای این طرح در ایستگاه تحقیقات برنج تنکابن (چپرسر) انجام گرفت. بذور نسل اول در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار کشت شدند. در مرحله رسیدن دانه، از هر واحد آزمایشی تعداد ۱۰ بوته به طور تصادفی انتخاب و صفاتی چون تعداد ساقه، تعداد غلاف، تعداد دانه پر و خالی و درصد عقیمی مطالعه شدند.



کاربرد فناوری هسته‌ای پنجمین همایش ملی در کشاورزی و منابع طبیعی

۲۹ و ۳۰ آبان ۱۳۹۸

در پایان نسل اول (M_1) از هر واحد آزمایشی تعداد ۵۰ بوته به تصادف انتخاب و بذور هر بوته جداگانه برداشت شد. در نسل دوم (M_2) تعداد ۱۵ عدد بذر از هر بوته به طور تصادفی انتخاب و به ترتیب با فاصله بین و روی ردیف ۳۰ و ۲۰ سانتیمتر به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار کشت گردید. عملیات کاشت و داشت همانند نسل اول انجام گرفت. برای مطالعه صفات در هر واحد آزمایشی، ۲۰ خط و در هر خط ۵ بوته بطور تصادفی انتخاب و صفات تعداد پنجه، تعداد غلاف، تعداد دانه پر و خالی و همچنین درصد عقیمی همانند نسل M_1 مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. در پایان فصل زراعی، ۵۳ خط از تیمارهای مختلف که به نظر می‌رسید حامل جهش یافته از نظر عملکرد و اجزای عملکرد بودند، انتخاب و در نسل M_3 به منظور بررسی بیشتر از نظر ثبات صفات در یک تکرار و به تعداد حداکثر ۵۰ بوته برای هر لاین همانند نسل قبلی کشت شده مورد بررسی قرار گرفتند. صفات مورد مطالعه در این خطوط مشابه صفات مورد مطالعه در نسل M_2 بوده است. براساس میانگین داده‌های هر واحد آزمایشی، تجزیه آماری داده‌ها با نرم افزار SAS انجام گرفت. آزمون مقایسه میانگین به روش دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام گرفت.

نتایج و بحث

در جدول ۱ نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در نسل‌های M_1 و M_2 ارائه شده است. بر اساس نتایج حاصل از این جدول در نسل M_1 ، اثرات دزهای مختلف اشعه گاما بر صفات تعداد غلاف و تعداد دانه پر و خالی در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بوده است. در نسل M_2 نیز اثرات دزها بر صفات تعداد دانه پوک و درصد عقیمی دانه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار است. اثرات متقابل ژنوتیپ در اشعه گاما در نسل‌های M_1 و M_2 به ترتیب بر صفات تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه خالی در غلاف در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

نتایج تاثیر مقادیر مختلف دزهای اشعه گاما بر صفت تعداد غلاف در بوته در ارقام برکت و بهشهری نشان داد که بیشترین تعداد غلاف در بوته مربوط به رقم بهشهری و در دز ۶۰ گری اشعه گاما (۱۴/۳ عدد) و کمترین تعداد آن مربوط به رقم برکت (۳/۹ عدد) در دز صفر بود (جدول ۳). اختلاف تعداد غلاف در بوته رقم برکت در دزهای مختلف اشعه گاما از نظر آماری غیر معنی‌دار بود که این مقادیر نیز اختلاف آن با تعداد غلاف رقم بهشهری در دزهای صفر و ۲۰ گری غیر معنی‌دار بود (جدول ۳). اگر چه نتایج بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین دزهای مختلف اشعه بوده اما با افزایش میزان دز اشعه، تعداد غلاف در شاخه اصلی افزایش یافته است. واگمار و مهرا (۲۰۰۰) طی آزمایشاتی که در زمینه تاثیر موتازن روی ماش انجام دادند، افزایش تعداد غلاف در گیاه را گزارش نمودند. نتایج نشان داد که در ژنوتیپ بهشهری اثر دز در افزایش تعداد غلاف در بوته دارای اثر افزایشی و معنی‌داری است که این نتیجه به عنوان یک تغییر مطلوب اصلاحی تلقی می‌گردد. با افزایش مقادیر دزهای مختلف اشعه گاما، تعداد دانه خالی به طور خطی افزایش یافت، به طوریکه کمترین آن در تیمار شاهد و بیشترین آن در تیمار ۸۰ گری مشاهده شد (جدول ۳). دزهای ۴۰، ۶۰ و ۸۰ تفاوت معنی‌داری از نظر تاثیر بر صفت تعداد دانه خالی در غلاف نشان ندادند. بین دزهای صفر و ۲۰ گری نیز اختلاف



۲۹ و ۳۰ آبان ۱۳۹۸

معنی داری مشاهده نشد و این نشان می‌دهد که حداقل دز لازم برای ایجاد عقیمی دانه در باقلا بالاتر از دز ۲۰ گری می‌باشد (جدول ۲). نتایج تاثیر مقادیر مختلف دزهای اشعه گاما بر صفت تعداد دانه خالی در ارقام برکت و بهشهری نشان داد که بیشترین و کمترین میانگین تعداد دانه خالی مربوط به رقم بهشهری به ترتیب در دزهای ۴۰ (۱۴/۶ عدد) و صفر گری (۴/۲ عدد) اشعه گاما بود (جدول ۳). اختلاف تعداد تعداد دانه خالی رقم برکت در دزهای مختلف اشعه گاما با تعداد دانه خالی رقم بهشهری در دزهای صفر و ۲۰ گری از نظر آماری غیر معنی‌دار بود (جدول ۳). این نشان می‌دهد که رقم بهشهری به طور متوسط حساسیت بیشتری به پرتو گاما از نظر صفت تعداد دانه خالی در بوته دارد. این موضوع بیانگر این نکته می‌باشد که ارقام مختلف یک گونه گیاهی می‌توانند عکس العمل‌های متفاوتی به دزهای اشعه داشته و در واقع مکانیسم تأثیر موتاژن با نوع رقم مورد مطالعه و روابط ژنتیکی آن قبل از تیمار رابطه مستقیمی دارد. در ارقام بهشهری و برکت بین دزهای مختلف پرتو گاما اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج مقایسه میانگین درصد عقیمی بذر با توجه به دزهای مختلف در نسل M₂ در جدول ۲ ارائه شده است. بین دزهای مختلف پرتو گاما اختلاف معنی‌داری از نظر تاثیر بر عقیمی بذر مشاهده شد. بیشترین و کمترین درصد عقیمی به ترتیب مربوط به دزهای ۴۰ و صفر گری اشعه بود (جدول ۲). اختلاف درصد عقیمی بین دزهای ۲۰ و ۴۰ و همچنین بین دزهای ۶۰ و ۸۰ از نظر آماری غیر معنی‌دار بود (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات در نسل‌های M₁ و M₂

منابع تغییر	نسل M ₁						نسل M ₂						
	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)					منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)				
		تعداد ساقه	تعداد غلاف	تعداد دانه پر	تعداد دانه خالی	درصد عقیمی			تعداد ساقه	تعداد غلاف	تعداد دانه پر	تعداد دانه خالی	درصد عقیمی
تکرار	2	0.49 ^{ns}	8 ^{ns}	39 ^{ns}	132 ^{ns}	0.1 ^{ns}	تکرار	2	1.3 ^{ns}	4.7 ^{ns}	302 ^{ns}	108 ^{ns}	0.002 ^{ns}
ژنوتیپ	1	18.3 [*]	1766 ^{**}	11 ^{ns}	12.4 ^{ns}	215 ^{**}	ژنوتیپ	1	78 [*]	4022 ^{ns}	19.5 ^{ns}	666 [*]	0.25 ^{ns}
خطای اصلی	2	0.92	11.86	13.2	214	0.1	خطای اصلی	2	2.13	17.7	25.2	31	0.02
دز اشعه	4	0.32 ^{ns}	259 ^{**}	588 ^{**}	378 ^{ns}	0.1 ^{ns}	دز اشعه	4	2.9 ^{ns}	164 ^{ns}	323 ^{ns}	154 ^{**}	0.04 ^{**}
اثرات متقابل	4	0.26 ^{ns}	95 ^{**}	77.7 ^{ns}	34.3 ^{ns}	0.05 ^{ns}	اثرات متقابل	4	0.9 ^{ns}	124 ^{ns}	48 ^{ns}	124.4 ^{**}	0.02 ^{ns}
خطای فرعی	16	1.27	15.6	33.87	34.6	0.12	خطای فرعی	16	1.2	123	172	29.7	0.01

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱

ns غیر معنی‌دار، درصد



پنجمین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در کشاورزی و منابع طبیعی



جدول ۲. مقایسه میانگین دزهای اشعه گاما در نسل‌های M_1 و M_2 از نظر صفات مورد مطالعه.

	دز اشعه	نسل M_1			نسل M_2	
		تعداد غلاف	تعداد دانه پر	تعداد دانه خالی	تعداد دانه خالی	عقبی (%)
	0	5.2b	9.7b	5.5c	4.6c	15b
	20	6.1b	11.7b	7bc	9.3ab	24a
	40	9.1a	17.4a	9.5ab	10.14a	24.6a
	60	10.12a	15.8a	10.8ab	8.9ab	21ab
	80	8.4a	14.9a	11.3a	6.6bc	18ab

حروف غیر مشابه به معنی وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵٪ است.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل رقم در دز اشعه گاما

رقم	دز اشعه	نسل M_1		نسل M_2	
		تعداد غلاف	تعداد دانه خالی	تعداد دانه خالی	تعداد دانه خالی
برکت	0	3.9c	5b		
برکت	20	4.8c	6.6b		
برکت	40	5.9c	5.7b		
برکت	60	5.97c	5.85b		
برکت	80	6c	5.86b		
بهشهری	0	6.4c	4.2b		
بهشهری	20	7.3c	11.98a		
بهشهری	40	12.3ab	14.6a		
بهشهری	60	14.3a	11.95a		
بهشهری	80	10.7b	7.4b		

حروف غیر مشابه به معنی وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱٪ است.



در جدول ۴ مشخصات لاین جهش یافته B140 (که در رقم بهشهری در دز ۴۰ گری در تکرار اول بدست آمده است) و شاهد همراه با لاین جهش یافته G220 (که در رقم برکت در دز ۲۰ گری در تکرار اول بدست آمده است) و شاهد مربوط به نسل سوم (M_3) ارائه شده است. لاین جهش یافته B140 نسبت به شاهد از نظر صفت تعداد دانه در غلاف برتر بوده و اختلاف آنها از نظر این صفت معنی دار بوده است. اختلاف معنی داری از نظر سایر صفات مورد مطالعه مشاهده نشد (جدول ۴). شکل ۱ شاهد بهشهری و لاین جهش یافته B140 را نشان می‌دهد. اگر چه عکس العمل ارقام برکت و بهشهری تحت تیمار اشعه برای بسیاری از صفات یکسان بوده است، اما نتایج نشان دهنده تأثیر پذیری بیشتر رقم بهشهری نسبت به رقم برکت از دزهای اعمال شده اشعه گاما می‌باشد. این نتایج بیانگر این نکته می‌باشد که مکانیسم تأثیر موتاژن با نوع رقم مورد مطالعه و روابط ژنتیکی آن قبل از تیمار رابطه مستقیمی دارد. بطور کلی می‌توان گفت که کارایی موتاژنی در ایجاد تغییرات مطلوب در صفات مورد بررسی بسته به نوع صفت، نوع رقم و میزان مورد مصرف آن متفاوت است و از آنجایی که در رقم برکت میانگین اکثر صفات مورد ارزیابی نزدیک به میانگین آن در شاهد بوده است به نظر می‌رسد که برای این رقم استفاده از مقادیر بالاتر دز اشعه برای ایجاد تنوع لازم باشد. از نتایج به دست آمده در این بررسی مشخص می‌شود که انتخاب لاین‌های موتانت با خصوصیات مطلوب زراعی با توجه به نوع رقم تغییر می‌کند، به طوری که تنوع مطلوبی در برخی از لاین‌های موتانت در صفات مورد بررسی ایجاد شده است که منجر به شناسایی لاین‌هایی با برخی از صفات مطلوب در این ارقام شده است. این نتایج ممکن است به دلیل تفاوت در ساختار ژنوتیپی ارقام مورد استفاده، نوع صفت مورد بررسی، اثر نوع موتاژن بر روی هر یک از صفات مورد بررسی و شرایطی محیطی باشد. مطابق بررسی‌های انجام گرفته در این تحقیق مشخص گردید القا موتاسیون از طریق اشعه گاما نقش معنی داری در برخی از صفات مؤثر بر اجزای عملکرد دارد. به طوری که پرتو دهی اشعه گاما در ، افزایش تعداد خورجین در بوته، افزایش میانگین طول خورجین و افزایش وزن هزار دانه اثر معنی داری داشته است که منجر به شناسایی لاین‌های مطلوب از نظر برخی از صفات مورد بررسی در هر یک از ارقام شده است. بنابراین می‌توان از تنوع مطلوب ایجاد شده در این لاین‌ها به عنوان منابع مناسبی از ژرم پلاسما در تولید و بهبود ارقام برتر در برنامه‌های اصلاحی استفاده کرد. البته باید در نظر داشت که در بررسی مزرعه‌ای جمعیت موتانت، علاوه بر آسیب‌های فیزیولوژیک و اثر ژنتیکی، رقابت گیاهان موتانت و غیر موتانت و شرایط محیطی روی گیاهان تأثیر گذار هستند.



جدول ۴- میانگین و اشتباه معیار صفات مطالعه شده در لاین‌های جهش یافته G220 و B140 با شاهد به ترتیب در ارقام برکت و بهشهری در نسل M₃.

صفت	جهش یافته G220	شاهد (X ±Sx)	جهش یافته B140	شاهد (X ±Sx)
تعداد پنجه	8± 1.4	4± 0.74	3.4± 0.24	3.4± 0.5
تعداد غلاف در بوته	5± 0.8	4.6± 0.55	7.4± 0.68	8.2± 2.4
تعداد دانه در غلاف	39.5± 2.12	156± 3.15	2.92± 0.17	2.2± 0.2
تعداد دانه پر	3± 1.4	1.4± 0.5	21.4± 2.25	15.4± 4.36
تعداد دانه خالی	5± 1.1	6± 1.5	7.8± 1.77	3.8± 1.2
درصد عقیمی	0.07± 0.02	0.09± 0.04	0.25± 0.03	0.21± 0.03

منابع مورد استفاده:

۱. فتوکیان، م. ح. ۱۳۷۲. بررسی اثرات پرتو گاما و دی متیل سولفات بر روی چند رقم برنج. رساله کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز.
2. Abou El-Yazied, A. (2011): Growth, Biochemical Constituents and Yield of Snap Bean as Influenced by Low Gamma Irradiation Doses under Different Sowing Dates. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 5(11): 30-42.
3. Filippetti, A. 1983. Improvement of grain yield in *Vicia faba* L. by using experimental mutagenesis. Genetica-Agraria 37:53-67.
4. Hanafiah, D., Ningtyas, T., Yahya, S., and Wirnas, D. 2010. Induced mutations by gamma ray irradiation to Argomulyo soybean (*Glycine max*) variety. Biosci. 2(3): 121-125.
5. Hajos-Novak, M. and Hodos-Kotvics, G. 2003. Soybean breeding for earliness and seed quality by induced mutations. In: ASHRI A. (ed) Improvement of new and traditional industrial crops by induced mutations and related biotechnology. IAEA, Vienna, 95-105 pp
6. Waghmare, V. N. and Mehra, R. B. 2000. Mutation in grasspea (*Lathyrus sativus* L.). Lathyrus Lathyrism Newsl. 1: 21-24.
7. Wani, A. and Anis, M. 2008. Gamma Ray- and EMS-Induced Bold-Seeded High-Yielding mutants in chickpea (*Cicer arietinum*). Turk. J. Biol.. 32: 1-5.



پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای



دانشگاه آزاد

۳۰ و ۲۹ آبان ۱۳۹۸

کاربرد فناوری هسته‌ای پنجمین همایش ملی در کشاورزی و منابع طبیعی



Effects of gamma irradiation on variation of faba bean (*Vicia faba L.*) cultivars seed traits

Ghorbanipour, Ali^{1*}, Fotokian, Mohammad Hossein², Fatemeh Gholizadeh Kapourchal³

1-Ph.D Student of Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Guilan and member of [Young researchers and elite club](#), Islamic Azad University of Tonekabon unit.

2-Associate Prof. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Shahed.

3- Assistant Prof. of Basic Science College, University of Shahed.

(*Corresponding Author Email: Ghorbanipour.ali@gmail.com)

Abstract:

Mutation induction is a method for increasing genetic diversity that is used in plant breeding with selection, recombination or a combination of these. The aim of this study was to investigate the effects of different doses of gamma rays (20, 40, 60 and 80 Gy and zero doses as control) in order to create genetic variation in grain related traits in two bean cultivars named Barkat and Behshahri. Seeds were first treated with gamma rays and then cultivated in the field. At the end of the first year, a number of M₁ generation plants were randomly selected and planted in rows. The results showed that in Behshahri and Barakat cultivars, mutant lines B141 and G220 in M₂ generation were obtained in 40 and 20 Gy treatments, respectively. To ensure stability of the mutant, M₂ seeds were planted with control. In M₃ generation, B140 mutant line was superior in number of pods per pod and in G220 mutant line the number of tiller, pod per plant and number of seed per pod.

Keywords: Faba bean, Gamma irradiation, Mutation, Number of seeds per pod