پژوهش در علوم باغبانی
Journal of Reserch in Horticultural Science
جلد ۱، شماره ۲، پاییز و زمستان ۱۴۰۱ (ص ۲۶۲-۲۵۳) Vol. 1, No.2 Autumn and Winter 2022 (253-262)
تارنمای مجله: https://rhsj.areeo.ac.ir مقاله علمی پژوهشی 10.22092/RHSJ.2023.357822.1015

تأثیر جهش‌زاهای فیزیکی و شیمیایی بر خصوصیات ظاهری (فنوتیپ) ریزنمونه‌های گیاه بنفشه آفریقایی (*Saintpaulia ionanta*) در شرایط درون‌شیشه‌ای

احمد شریفی[1*] ، زهرا سرگزی مقدم[2]، سیده مهدیه خرازی[1]، آزاده خادم[3]، مریم مرادیان[4]

۱- استادیار، گروه بیوتکنولوژی گیاهان باغبانی، پژوهشکده بیوتکنولوژی صنعتی، سازمان جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران

۲- کارشناس ارشد، بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

۳- مربی، گروه بیوتکنولوژی گیاهان باغبانی، پژوهشکده بیوتکنولوژی صنعتی، سازمان جهاد دانشگاهی خراسان رضوی

۴- کارشناس ارشد، گروه بیوتکنولوژی گیاهان باغبانی، پژوهشکده بیوتکنولوژی صنعتی، سازمان جهاد دانشگاهی خراسان رضوی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۲۸ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۱/۱۲/۲۰

چکیده

گیاه بنفشه آفریقایی به عنوان یک گیاه زینتی گلدانی ارزشمند نیازمند ایجاد ارقام جدید و متنوع می‌باشد. این تحقیق با هدف بررسی القای موتاسیون با استفاده از پرتو گاما و ماده EMS (اتیل متان سولفونات) بر ریزنمونه‌های مختلف بنفشه آفریقایی (*Saintpaulia ionanta*) در شرایط درون‌شیشه‌ای انجام شد. ریزنمونه‌های برگ، دمبرگ و گیاهچه از گیاهچه گندزدایی شده در محیط کشت MS حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر BA، ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA، ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ۷ گرم در لیتر آگار بدست آمد. ریزنمونه ها با دزهای ۰ ، ۲۰ و ۴۰ گری اشعه گاما و دزهای ۰، ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۶ درصد EMS تیمار شدند. پس از چندین واکشت، نتایج نشان داد که افزایش دز اشعه گاما و EMS سبب کاهش درصد زنده‌مانی ریزنمونه‌ها به ترتیب به ۶۲/۷۲ و ۰/۰۰۱ درصد و تعداد گیاهچه بازازا شده به ترتیب به ۲۰/۴۲ و ۰/۰۱ شده است. هم‌چنین افزایش دز اشعه گاما سبب افزایش تنوع و تغییرات مورفولوژیک گردید، بطوری که در برگ‌ها تغییر رنگ، شکل، اندازه و پیچش مشاهده شد اما تغییرات قابل مشاهده‌ای در تیمار با EMS دیده نشد. نتایج این تحقیق نشان داد که می‌توان در شرایط درون‌شیشه‌ای از دز اشعه گاما در سطح ۴۰ گری به عنوان راهبرد مناسبی برای افزایش تنوع و کاهش هزینه‌های اصلاحی در گیاه بنفشه آفریقایی استفاده نمود.

واژگان کلیدی: القای موتاسیون، بنفشه آفریقایی، تابش گاما، کشت بافت، EMS

The effect of physical and chemical mutagens on phenotypic properties of in vitro African violet (Saintpaulia ionanta)

Ahmad Sharifi [1*], Zahra Sarghazi Moghaddam, Mahdiyeh Kharrazi[1], Azadeh Khadem, Maryam Moradian

1-Assistance Professor, Horticultural plants biotechnology department, research institute for industrial biotechnology, ACECR- khorasan razavibranch, Mashhad, Iran

2-M. Sc, Department of Agricultural Biotechnology, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

3-Researcher, Horticultural plants biotechnology department, research institute for industrial biotechnology, ACECR- khorasan razavibranch, Mashhad, Iran

4-M. Sc, Horticultural plants biotechnology department, research institute for industrial biotechnology, ACECR- khorasan razavibranch, Mashhad, Iran

Abstract

African violet (Saintpaulia ionanta) as a valuable potted ornamental plant needs to create new cultivar. The aim of this study was to investigate the induction of mutations using gamma ray and EMS (Ethyl methane sulfonate) on African violet under in vitro condition. Leaf, petiole and plantlet explants were obtained from sterile plantlets in MS culture medium containing 2 mg/l BA, 0.2 mg/l NAA, and 30 g/l sucrose with 7 g/l agar. Explants were treated with 0, 20 and 40 Gy of gamma rays or 0, 0.1, 0.3 and 0.6% EMS. Results shown with increasing the dose of gamma rays and EMS, the survival percentage to 62.50 and 0.001 respectively and the number of regenerated plantlets reduced to 20.42 and 0.01 respectively. Also, with increasing the dose of gamma rays, diversity and leaf morphological changes in form of color, shape, size and twisting increased but no visible changes observed in treated plants with EMS. In conclusion gamma irradiation under in vitro condition can be used as a suitable strategy to increase diversity in African violet.

Keywords: Mutation induction, EMS, Gamma radiation, Tissue culture, African violet

* نویسنده مسئول: Ahmadsharifi66@yahoo.com

مقدمه

موتاسیون در گیاهان به دو صورت خودبخودی و یا با استفاده از عوامل موتاسیون‌زا ایجاد می‌شود. پایین بودن نرخ موتاسیون طبیعی در سلول‌های گیاهی منجر به عدم کاربرد این روش در تولید ارقام گیاهی جدید شده است (Donini and Sonnino, 1998). با توجه به پایین بودن درصد القای موتاسیون با استفاده از عوامل موتاسیون‌زا، اکثر گیاه‌چه‌های حاصل به فرم موتانت نبوده و نگهداری این گیاه‌چه‌ها تا زمان شناسایی و گزینش گیاهان موتانت در روند طبیعی موجب افزایش هزینه‌های اصلاح موتاسیونی شده است. از این‌رو در سال‌های اخیر کاربرد روش‌های کشت بافت به عنوان راه‌کاری برای شناسایی زودهنگام موتانت‌ها مورد توجه قرار گرفته است (Cabahug *et al.,* 2020 ؛ Puchooa, 2005). در این روش، با حذف زود هنگام گیاهان غیرموتانت هزینه‌های اصلاحی کاهش یافته و در نهایت افزایش بازدهی اصلاح موتاسیونی گیاهان زینتی را به همراه داشته است (Atak *et al.,* 2011).

اصلاح موتاسیونی گیاهان زینتی با اهداف مختلفی صورت می‌گیرد که از جمله می‌توان به تولید گیاهان ابلق با الگوی رنگ برگ متنوع اشاره کرد (Yamaguchi, 2018). تاکنون کارهای زیادی بر روی مکانیسم تغییر رنگ برگ انجام شده است. عموماً اعتقاد بر این است که توسعه کلروپلاست و مسیرهای سنتز یا تخریب آن در برگ‌های گیاه منجر به تغییر رنگ برگ می‌شود و گیاهانی با رنگ برگ‌های زرد- سبز و یا زرد را به نمایش می‌گذارد (Chang *et al.,* 2019). در حقیقت می‌توان گفت اثر جهش در تغییر رنگ برگ، شکل و اندازه در گیاهان زینتی به راحتی قابل مشاهده است (Manzoor *et al.,* 2019). تغییر خصوصیات برگ‌ها در اصلاح موتاسیونی گیاهان زینتی بیش‌تر با هدف تغییر اندازه برگ‌ها و نیز افزایش تنوع رنگ گلبرگ‌ها بویژه در گیاهانی چون لیلیوم و داوودی صورت گرفته است (Xi et al., 2012 ؛Mandal *et al.,* 2000). در آزمایشی مندال و همکاران (Mandal *et al.,* 2000) با القای موتاسیون موفق به تولید بوته‌های ابلق داوودی (*C. morifolium*) از طریق تغییر میزان کلروفیل موجود در سلول‌های گیاهی شدند. نتایج آزمایش مندال نشان داد که کاربرد دزهای مختلف ۲/۵- ۱/۵ گری پرتوی گاما تاثیر معناداری بر روی تولید گیاهان موتانت داشته است و بیش‌ترین میزان تولید بوته‌های دارای برگ‌های ابلق با تابش دز دو گری این پرتو بدست آمده است. در مطالعه‌ای دیگر شفیعی و همکاران(Shafiei *et al.,* 2019) با تابش دزهای ۱۵، ۲۵ و ۳۵ گری به سه رقم گل داوودی (’Bella’ ,’Bonfire Yellow ,’Rambla’,’Rosa‘) و کشت بافت این نمونه ها به گیاه‌چه‌های موتانت دست پیدا کردند و نشان دادند که دزهای پایین اثربخشی لازم را برای تولید جهش‌های مفید ندارند و دزهای بالا باعث ناهنجاری‌های کروموزومی و از بین رفتن بافت‌ها می‌شوند. آنها هم‌چنین، دز مناسب برای پرتوی گاما برای این سه رقم را براساس درصد زنده‌مانی، درصد باززایی و قابلیت رشد، ۲۵ گری تعیین کردند و به پنج رنگ جدید از این ارقام دست یافتند. کاربرد موتاژن شیمیایی EMS (اتیل متان سولفونات) نیز برای تولید ارقام موتانت گیاهان زینتی موثر بوده است. فانگ و تراور (Fang and Traore, 2011) قطعات برگی بنفشه آفریقایی را در معرض غلظت‌های مختلف EMS (صفر، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد) به مدت ۳۰، ۶۰، ۱۲۰ و ۲۴۰ دقیقه قرار دادند و از بین ۱۸۳۸ گیاه به دست آمده، ۱۰ گیاه موتانت شناسایی کردند. آنها گزارش کردند این روش، راه‌کار مناسبی برای القای موتاسیون در بنفشه آفریقایی در شرایط درون‌شیشه‌ای

و تولید ارقام جدید است. این تحقیق با هدف بررسی القای جهش با استفاده از پرتو گاما و کاربرد ماده EMS بر ریزنمونه‌های مختلف بنفشه آفریقایی در شرایط درون‌شیشه‌ای و شناسایی گیاهان جهش یافته در همان مراحل اولیه انجام شد.

مواد و روش ها

در این مطالعه تأثیر EMS و پرتوی گاما بر خصوصیات فنوتیپی گیاه بنفشه آفریقایی و تنوع ژنتیکی حاصل از آن در شرایط درون‌شیشه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق از گیاه بنفشه آفریقایی رقم «Rococo» استفاده شد و تمامی مراحل تحقیق در آزمایشگاه بیوتکنولوژی گیاهان زینتی جهاد دانشگاهی خراسان رضوی انجام شد. برای القای باززایی از محیط کشت MS حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر BA، ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA، ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ۷ گرم در لیتر آگار استفاده شد. اسیدیته محیط کشت (pH) در حدود ۰/۱ ± ۵/۷ تنظیم شد و سپس محیط کشت در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه گندزدایی شد. در مرحله اول از برگ‌های گیاهان سالم و جوان به عنوان ریزنمونه استفاده شد. بدین صورت که ابتدا به مدت ۳۰ دقیقه برگ‌ها در آب جاری شستشو شدند. در مرحله بعد به مدت ۱/۵ دقیقه در اتانول ۲۰ درصد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در هیپوکلریت سدیم یک درصد قرار گرفتند. درنهایت، نمونه‌ها زیر هود لامینار با آب مقطر گندزدایی شده، ۳ بار آب‌شویی و آمده کشت شدند. جهت کشت ریزنمونه‌ها از تکنیک Thin Cell Layer استفاده شد. بدین منظور، قطعاتی با ضخامت یک تا دو میلی‌متر از برگ‌ها تهیه و روی دستمال کاغذی گندزدایی شده قرار داده شد تا آب اضافی آن‌ها گرفته شود، سپس به محیط کشت منتقل شدند. ریزنمونه‌ها پس از کشت به اتاق رشد با شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی با شدت نور ۳۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه و دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس منتقل شدند. بعد از باززایی نمونه‌ها، از گیاه‌چه، برگ و دم‌برگ‌های متعلق به گیاهان باززا شده به عنوان ریزنمونه برای اعمال موتاژن‌های فیزیکی و شیمیایی استفاده شد.

آزمایش اول- تیمار ریزنمونه‌ها با پرتوی گاما: در این مرحله ریزنمونه‌های برگ، دم‌برگ و گیاه‌چه حاصل از گیاه‌چه‌های گندزدایی شده در محیط کشت *MS* حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر BA، ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA کشت شده و با دزهای ۰ (شاهد) ، ۲۰ و ۴۰ گری اشعه گاما ناشی از کبالت ۶۰ در پژوهشکده کاربرد پرتوهای سازمان انرژی اتمی ایران واقع در تهران تیمار شدند. برای هر یک از تیمارها، ۳ تکرار و هر تکرار ۲۵ نمونه در نظر گرفته شد. به منظور بررسی باززایی و رشد ریزنمونه‌های تیمار شده و شاهد، تمامی آن‌ها به اتاق رشد منتقل شدند. واکشت ریزنمونه‌ها به فاصله هر چهار هفته یکبار در محیط کشت مشابه انجام شد. ۳۰ روز پس از تیمار ، درصد زنده‌مانی و بعد از ۶۰ روز، تعداد گیاه‌چه باززا شده اندازه‌گیری شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد.

آزمایش دوم- تیمار ریزنمونه‌ها با EMS: در این مرحله ریزنمونه‌های برگ، دم‌برگ و گیاه‌چه حاصل از گیاه‌چه-های گندزدایی شده با دزهای ۰ (شاهد) ، ۰/۱ ، ۰/۳ و ۰/۶ درصد EMS به مدت ۳۰ و ۶۰ دقیقه تیمار و سپس در محیط کشت باززایی کشت شدند. برای هر یک از تیمارها، ۴ تکرار و هر تکرار ۲۳ ریزنمونه در نظر گرفته شد. به منظور بررسی باززایی ریزنمونه‌های تیمار شده و شاهد، تمامی آن‌ها به اتاق رشد منتقل شدند. ۳۰ روز پس از تیمار، درصد زنده‌مانی و بعد از ۹۰ روز، تعداد گیاه‌چه باززا شده (افزایش تعداد روز به دلیل سرعت رشد پایین گیاه‌چه‌های حاصل از تیمار EMS بود) اندازه‌گیری

شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد.

نتایج و بحث

درصد زنده‌مانی

تجزیه واریانس برای عامل درصد زنده‌مانی ریزنمونه‌ها، معنی‌داری در سطح پنج درصد را نشان داد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌های این آزمایش نشان داد که درصد زنده‌مانی زیرتاثیر ریزنمونه‌های مختلف قرار گرفت و بین ریزنمونه‌های مختلف از نظر میزان زنده‌مانی تفاوت معنی‌داری وجود داشت. بیش‌ترین درصد زنده‌مانی به ترتیب مربوط به ریزنمونه‌های برگ (۵۱/۱۵)، ریزنمونه‌های گیاه‌چه (۴۹/۴۰)و ریزنمونه‌های دم‌برگ (۴۱/۵۳) بود. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها بیش‌ترین درصد زنده‌مانی را در ریزنمونه‌های شاهد و پس از آن در تیمارهای تابش به ترتیب با دزهای ۲۰ و ۴۰ گری نشان داد و تیمارهای EMS کم‌ترین درصد زنده‌مانی را داشتند. هم‌چنین نتایج مقایسه میانگین داده‌های اثرات متقابل نوع ریزنمونه و دزهای مختلف تابش و EMS نشان داد که درصد زنده‌مانی ریزنمونه‌های مختلف زیرتاثیر دزهای تیمار قرار گرفته است و با اعمال تیمار درصد زنده‌مانی کاهش یافته است. بیش‌ترین درصد زنده‌مانی (۹۹/۵) مربوط به ریزنمونه‌های برگ و تیمار شاهد و کم‌ترین (۰/۰۰۱) درصدهای زنده‌مانی مربوط به تیمار EMS در دز ۰/۶ در زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه در همه ریزنمونه‌ها بود (جدول ۱).

جدول ۱- تأثیر کاربرد تابش اشعه و EMS در ریزنمونه‌های مختلف بنفشه آفریقایی بر درصد زنده‌مانی ریزنمونه.

ریزنمونه	تیمار	دز تیمار	درصد زنده‌مانی
دم‌برگ	تابش اشعه	شاهد	۹۳/۹۳ abc
		۲۰	۷۹/۲ g
		۴۰	۶۲/۵ h
	EMS	شاهد و ۳۰ دقیقه	۸۷/۲۵ def
		شاهد و ۶۰ دقیقه	۸۲/۲۵ fg
		۰/۱ و ۳۰ دقیقه	۳۴/۲۵ i
		۰/۱ و ۶۰ دقیقه	۷۳ j
		۰/۳ و ۳۰ دقیقه	۰/۷۵ l
		۰/۳ و ۶۰ دقیقه	۰/۷۵ l
		۰/۶ و ۳۰ دقیقه	۰/۰۰۱ l
		۰/۶ و ۶۰ دقیقه	۰/۰۰۱ l

ادامه جدول ۱

ریزنمونه	تیمار	دز تیمار	درصد زنده‌مانی
گیاه‌چه	تابش اشعه	شاهد	۹۱/۶۶ bcd
		۲۰	۹۸/۴۱ ab
		۴۰	۸۸/۱ cdef
	EMS	شاهد و ۳۰ دقیقه	۹۵ ab
		شاهد و ۶۰ دقیقه	۸۸/۷۵ cde
		۰/۱ و ۳۰ دقیقه	۸۴/۲۵ efg
		۰/۱ و ۶۰ دقیقه	۳۰ i
		۰/۳ و ۳۰ دقیقه	۰/۷۵ l
		۰/۳ و ۶۰ دقیقه	۰/۵ l
		۰/۶ و ۳۰ دقیقه	۰/۰۰۱ l
		۰/۶ و ۶۰ دقیقه	۰/۰۰۱ l
برگ	تابش اشعه	شاهد	۸۷/۸۷ cdef
		۲۰	۸۱/۲۹ fg
		۴۰	۶۲/۷۴ h
	EMS	شاهد و ۳۰ دقیقه	۹۹/۵ a
		شاهد و ۶۰ دقیقه	۹۳/۵ abc
		۰/۱ و ۳۰ دقیقه	۸۷/۵ cdef
		۰/۱ و ۶۰ دقیقه	۷۸/۵ g
		۰/۳ و ۳۰ دقیقه	۲۲/۵ j
		۰/۳ و ۶۰ دقیقه	۲/۵ l
		۰/۶ و ۳۰ دقیقه	۹/۲۵ k
		۰/۶ و ۶۰ دقیقه	۰/۰۰۱ l

(*درصدهای زنده‌مانی دارای حروف مشابه براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند)

در تحقیق مندوزا و همکاران (Mendoza-Gó-mez et al., 2019) بر روی موتانت‌های لیسیانتوس (*Eustoma grandiflorum*) درصد زنده‌مانی در ریزنمونه‌ها، زمانی که ۶۰ دقیقه در معرض EMS قرار گرفتند به‌طور معناداری نسبت به شاهد کاهش یافت. در مطالعه‌ای سگا و همکاران (Sega *et al.*, 1984) دریافتند که غلظت بالای یون هیدروژن که در اثر استفاده از EMS به وجود می‌آید ممکن است با مهار فعالیت متابولیکی یا غیرفعال کردن آنزیم‌ها بر زنده‌مانی سلول‌ها تأثیر بگذارد. این فرضیه با داده‌های حاصل از این مطالعه هم‌خوانی دارد و با افزایش میزان EMS درصد زنده‌مانی کاهش یافته است. هم‌چنین آنها دریافتند که با افزایش غلظت EMS از پنج به ۴۵ قسمت در میلیون، سلول‌های صورتی یا بی‌رنگ جهش‌یافته در گلبرگ‌ها افزایش می‌یابند و نشان دادند که EMS باعث افزایش فراوانی جهش‌های کمبود کلروفیل در هر دو نسل M1 و M2 می‌شود.

گیاه‌چه‌های تشکیل شده

پس از انجام واکشت‌های متوالی و تشکیل گیاه‌چه‌های کامل، در زمان انتقال آنها به محیط کشت ریشه‌زایی، تعداد گیاه‌چه‌های تشکیل شده روی هر یک از ریزنمونه‌های تیمار شده شمرده شد. تیمارهای اعمال شده، بیش‌تر روی درصد زنده‌مانی ریزنمونه‌ها اثر گذاشت و ریزنمونه‌هایی که زنده ماندند تعداد کمی گیاه‌چه تولید کردند. اثر تیمارهای مورد بررسی بر تعداد گیاه‌چه تشکیل شده در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود(جدول ۴).

در میان تیمارهای اعمال شده، بیش‌ترین تعداد گیاه‌چه (متوسط ۲۳/۱۴ گیاه‌چه) در ریزنمونه‌های تحت تابش ۲۰ گری تشکیل شد. در رتبه بعد از آن تیمارهای با دز اشعه ۴۰ گری و هم‌چنین شاهد با متوسط ۱±۲۰ گیاه‌چه قرار دارد و در ادامه با اختلاف زیاد تیمارهای دیگر EMS (۰/۳ و ۰/۱) قرار گرفت و در نهایت کم‌ترین گیاه‌چه در دز۰/۶ درصد EMS تشکیل شد که علت آن از بین رفتن بیش‌تر ریزنمونه‌ها و عدم توانایی آنها در باززایی بوده است (جدول ۲). وانگ پیاسید و همکاران (Wongpiyasatid *et al.*, 2007) در بررسی اثر اشعه گاما بر تشکیل گیاه‌چه حاصل از برگ در بنفشه آفریقایی، کاهش تعداد گیاه‌چه با افزایش دز اشعه گاما را گزارش کردند. جلا (Jala, 2011) نیز کاهش تعداد گیاه‌چه در گل تورنیا (Wishbone) را زیرتاثیر دزهای بالای اشعه گاما گزارش کرد.

جدول ۲- اثر کاربرد دزهای مختلف تیمار بر تعداد گیاه‌چه تشکیل شده در شرایط درون شیشه‌ای گیاه بنفشه آفریقایی.

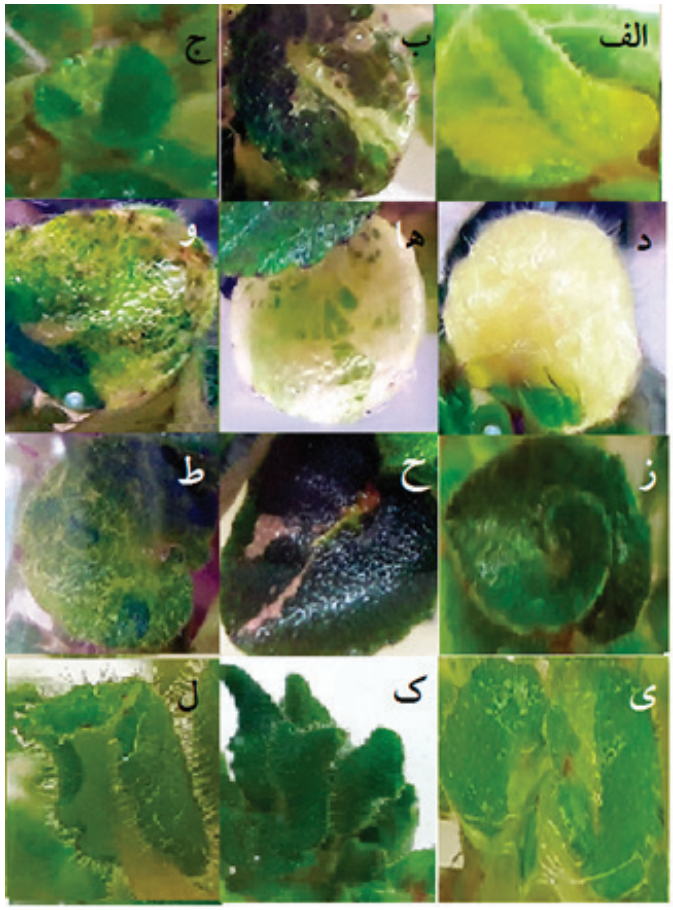
تیمار	دَز تیمار	تعداد گیاه‌چه
تابش اشعه	شاهد	۲۰/۰۴ ab
	۲۰	۲۳/۱۴ a
	۴۰	۲۰/۴۲ ab
EMS	شاهد و ۳۰ دقیقه	۱۹ abc
	شاهد و ۶۰ دقیقه	۲۰/۵ ab
	۰/۱ و ۳۰ دقیقه	۸ e
	۰/۱ و ۶۰ دقیقه	۱۰ bcde
	۰/۳ و ۳۰ دقیقه	۱۱ bcd
	۰/۳ و ۶۰ دقیقه	۷/۵ de
	۰/۶ و ۳۰ دقیقه	۸/۵ cde
	۰/۶ و ۶۰ دقیقه	۰/۰۱ e

تغییرات مورفولوژی برگ‌ها

گیاه‌چه‌ها از نظر بروز تغییرات مورفولوژی حاصل از اثر تابش اشعه گاما و قرار گرفتن در معرض دزهای مختلف EMS مورد بررسی قرار گرفتند و تغییرات قابل توجهی در گیاه‌چه‌های باززا شده مشاهده شد به‌طوری که این تغییرات به آسانی به ویژه در گیاه‌چه‌های تیمار شده با اشعه گاما قابل تشخیص بود. اشعه گاما در برگ گیاه‌چه‌های تیمار شده تنوع خوبی ایجاد کرد. بیش‌ترین تغییر مشاهده شده در گیاهان حاصل از تیمار EMS کاهش سرعت رشد در گیاهان تولید شده بود که در تمامی تیمارها به جز تیمار شاهد به خوبی دیده شد (داده ها مشاهده‌ای است). در گیاه‌چه‌های شاهد (عدم استفاده از تیمار) تغییراتی مشاهده نشد. اشعه گاما سبب ایجاد تغییرات مورفولوژی بسیاری از جمله تغییر رنگ، تغییر شکل و پیچش برگ گردید. در بعضی از این گیاهان اندازه دم‌برگ‌ها نیز بلندتر از اندازه طبیعی گردید (شکل ۱). با افزایش دز اشعه گاما تا سطح ۴۰ گری درصد برگ‌های تغییر یافته، افزایش قابل توجهی یافت ولی در دزهای مختلف EMS تنوع مورفولوژی در برگ‌ها مشاهده نگردید و تمام گیاه‌چه-های حاصل از نظر شکل و رنگ برگ‌ها و فرم گیاه‌چه مشابه گیاه‌چه‌های شاهد بودند.

در میان دزهای اشعه گاما میزان تغییرات فنوتیپی در دز ۲۰ گری به میزان اندکی رخ داده بود. مطالعات نشان می‌دهند تغییر خصوصیات برگ‌ها در اصلاح

شاهد



شکل ۱- تغییرات مورفولوژی ایجاد شده در شرایط درون شیشه‌ای برگ‌های گیاه بنفشه آفریقایی تیمار شده با اشعه گاما. الف-و) ابلق شدن(جزئی تا کل برگ)، ط) ابلق شدن مویرگی، ح) تغییر رنگ(صورتی شدن)، ز) پیچش برگ، ل) تغییر فرم برگ، ک) کشیده شدن برگ ها و ی) چسبیدن برگ‌ها به هم

موتاسیونی گیاهان زینتی عمدتا با هدف تغییر اندازه برگ‌ها و نیز افزایش تنوع رنگ برگ‌ها صورت گرفته است (Shi *et al.,* 2008). در دزهای خیلی بالا، تابش می‌تواند با بروز صدمات ابتدایی، تقسیم سلولی را به تأخیر بیاندازد که این امر القای تغییراتی در مورفولوژی گیاه را به همراه خواهد داشت (Nazir et al., 1998). وانگ پیاسید و همکاران (Wongpiyasatid *et al.,* 2007) در بررسی اثر اشعه گاما بر تشکیل گیاه‌چه حاصل از برگ در بنفشه آفریقایی نشان دادند که اشعه گاما سبب کاهش تعداد برگ‌های سالم و افزایش برگ‌های تغییر شکل یافته می‌شود. مندال و همکاران (Mandal *et al*., 2000) به وسیله کاربرد دزهای مختلف تابش گاما (۱/۵-۲/۵ گری) ، موفق به تولید بوته‌های ابلق داوودی (C. morifolium) از طریق تغییر میزان کلروفیل موجود در سلول‌های گیاهی شدند. ابراهیم و همکاران (Ibrahim *et al.,* 2018) نیز عدم ثبات موتاسیون القایی در گیاه‌چه‌های فاقد کلروفیل رز (Rosa hybrida) را به دلیل ایجاد برخی اختلالات فیزیولوژیکی ناپایدار بر اثر تابش پرتوی ایکس به ریزنمونه‌های برگ این گیاه دانسته‌اند. علاوه بر آن تولید گیاهان دارای برگ‌های با شکل غیرطبیعی و فاقد رنگدانه‌های فتوسنتزی از جمله نتایج القای موتاسیون‌های مضر بر اثر تابش پرتوی یونیزه کربنی، اشعه ایکس و گاما به ریزنمونه‌های برگ گیاه بنفشه آفریقایی (S. ionantha) در شرایط درون‌شیشه‌ای بوده است (Zhou *et al*., 2006؛ Farjadi-shakib *et al.,* 2010). اثر موتاسیون القایی بر کاهش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی به دلیل ایجاد نقص در ژن‌های مسئول بیوسنتز رنگدانه‌ها، تخریب مسیرهای بیوسنتزی تولید رنگدانه‌ها، تخریب کلروپلاست و نیز تجزیه رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌باشد (Hasbul-lah *et al*., 2012). در القای موتاسیون در گیاه لیلیوم (L. longiflorum) تغییر در برخی خصوصیات برگ‌ها مشاهده شد، به‌طوری که در یکی از گیاهان موتانت تعداد برگ، ارتفاع گیاه و قطر برگ نسبت به گیاه طبیعی بیش‌تر شد و برگ‌هایی با رگه‌هایی به رنگ زیتونی تولید کرد. با بررسی میزان ثبات تیمارهای تابشی در گیاهان موتانت مشاهده شد که موتاسیون القایی در تمام گیاهان موتانت بصورت پایدار بوده است (Xi *et al.,* 2012).

نتیجه گیری

بطورکلی نتایج این تحقیق نشان داد که در گیاه بنفشه آفریقایی (Saintpaulia ionanta)، موتاژن‌های فیزیکی نسبت به موتاژن‌های شیمیایی می‌توانند اثرات قابل توجهی بر روی فاکتورهای مورد بررسی داشته باشند. همان‌طور که در نتایج مشاهده گردید با افزایش دز موتاژن EMS درصد زنده‌مانی کاهش پیدا کرد ولی تغییر مورفولوژی قابل توجهی در موتانت‌های حاصل دیده نشد ولی در مورد استفاده از تابش گاما با افزایش دز تابش گاما افزایش تنوع مورفولوژی مشاهده گردید که در حقیقت این تنوع در درصد زنده‌مانی، تعداد گیاه‌چه و نیز تنوع مورفولوژی، نتیجه تغییراتی است که در ساختار گیاه از طریق موتاژن روی داده است. به عبارتی موتاژن می‌تواند از طریق اثر بر ژن‌ها، افزایش فعالیت آن‌ها را سبب شود یا حتی از طریق ایجاد تغییر در بیان ژن‌ها باعث فعال شدن ژن‌های جدید و یا خاموش شدن بعضی از ژن‌ها شود. تابش قادر است با اثر بر قسمت‌های مختلف ژنوم، باعث تغییر در فعالیت‌های ساختاری، بیوشیمیایی و کارکردی گیاه شده و از این طریق فرم‌های جدیدی از گیاه با صفات تغییر یافته تولید کند که در نسل‌های متمادی پایدار باشد.

جدول‌های تجزیه واریانس

جدول ۳. تجزیه واریانس درصد زنده مانی

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
درصد زنده‌مانی	32	200577.26	6268.04	333.7158
Error	90	1690.43	18.78	Prob > F
C. Total	122	202267.69		*0001.>

جدول ٤. تجزیه واریانس تعداد گیاه‌چه

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
تعداد گیاه‌چه	10	2169.6308	216.963	7.2174
Error	68	2044.1667	30.061	Prob > F
C. Total	78	4213.7975		*0001.>

تضاد و تعارض منافع: نویسنده هر گونه تعارض و تضاد منافع اعم از تجاری و غیر تجاری و شخصی را که در ارتباط مستقیم یا غیر مستقیم با اثر منتشر شده است رد می نمایند.

منابع

Atak, C., Celik, O. and Acik, L. 2011. Genetic analysis of Rhododendron mutants using random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Pakistan Journal of Botany* 43: 1173-1182.

Cabahug, R. A. M., Ha, M. K. T. T., Lim, K.-B., and Hwang, Y.J. 2020. LD 50 determination and phenotypic evaluation of three Echeveria varieties induced by chemical mutagens. Toxicology and Environmental *Health Sciences*, 1-9.

Chang, Q.S., Zhang, L.X., Hou, X.G., Wang, Z., Wang, N., Gong, M.G., Zhang, Q.M., Chen, H., Shi, Z.Q. and Deng. 2019. The anatomical, physiological, and molecular analysis of a chlorophyll-deficient mutant in tree peony (Paeonia suffruticosa).*Photosynthetica*,57: 724-730.

Donini, P. and Sonnino, A. 1998. Induced mutation in mlant breeding: current Status and future outlook. In: Jain, M.S., Brar, D.S. and Ahloowalia, B.S. Somaclonal Variation and Induced Mutations in Crop Improvement. *Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, p*. 225-291.

Fang, J.Y. and Traore, S. 2011. In Vitro mutation induction of saintpaulia using Ethyl Methanesulfonate. *Hortscience*, 46:981-984.

Farjadi-shakib M, Naderi R, Mousavi A. 2012. Effects of Gamma-Ray Irradiation on African Violet in Vitro Adventitious Shoots. *Acta Hort. (ISHS)* 937:923-927.

Hasbullah, N.A., Taha, R.M. Saleh, A. and Mahmad, N. 2012. Irradiation effect on in vitro organogenesis, callus growth and plantlet development of Gerbera jamesonii. *Horticultura Brasileira*, 30: 252-257.

Ibrahim, R., Ahmad, Z., Salleh, S., Hassan, A. A., and Ariffin, S., 2018. Mutation Breeding in Orna-

mentals. In Ornamental Crops , *Springer*: 175-211.

Jala, a. 2011. 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*, P 375-363.

Mandal, A.K.A., Chakrabarty, D. and Datta, S.K. 2000. Application of in vitro techniques in mutation breeding of chrysanthemum. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 60: 33–38.

Manzoor, A., Ahmad, T., Bashir, M. A., Hafiz, I. A., and Silvestri, C. 2019. Studies on colchicine induced chromosome doubling for enhancement of quality traits in ornamental plants.*Plants*,8: 194.

Mendoza-Gómez, R., Tapia-Campos, E., and Barba-Gonzalez, R. 2019. In vitro mutagenesis efficiency with EMS (ethyl methanesulfonate) on Eustoma grandiflorum. Paper presented at the IX International Symposium on New Ornamental Crops 1288.

Nazir, M. B., Mohammad, O., Affida, A. A., and Sakinah, A. 1998. Research highlights on the use of induced mutations for plant improvement in Malaysia. Malaysian Institute for Nuclear Technology Research (MINT), *Bangi*, 5: 29-35.

Puchooa, D. 2005. In vitro mutation breeding of anthurium by gamma radiation. International *Journal of Agriculture and Biology* 7: 11-20.

Sega, G. A., 1984. A review of the genetic effects of ethyl methanesulfonate. *Mutation Research/ Reviews in Genetic Toxicology*, 134: 113-142.

Shafiei, M.R., Hatamzadeh, A., Azadi , P. and Samizadeh Lahiji, H. 2019. Mutation induction in Chrysanthemum cut flowers using gamma irradiation method. *Journal of Ornamental Plants*, 9: 143-151.

Shi, Y. Gangbiao, X.Warrington, T. B.Murdoch, G. K. Kazala, E.C. Osnyder, C. L. and Weselake, R. 2008. Microspore-derived cell suspension cultures of oilseed rape as a system for studing gene expression. Plant Cell, *Tissue and Organ Culture*, 92:131-139.

Wongpiyasatid, A., Jompuk, P., Chusreeaeom, K. and Taychasinpitak, T. 2007. Effects of Acute gamma irradiation on adventitious plantlet formation of *Saintpaulia ionantha* (African violet) detached leaves. Kasetsart J. 41:414-419.

Xi, M., Sun, L., Qiu, S., Liu, J., Xu, J. and Shi, J. 2012. In vitro mutagenesis and identification of mutants via ISSR in lily (*Lilium longiflorum*). *Plant Cell Reports* 31: 1043-1051.

Yamaguchi, H., 2018. Mutation breeding of ornamental plants using ion beams. Breeding science, 17086.

Zhou, L.B., Li, W.J., Ma, S., Dong, X.C., Yu, L.X., Li, Q., Zhou, G.M. and Gao, Q.X. 2006. Effects of ion beam irradiation on adventitious shoot regeneration from in vitro leaf explants of *Saintpaulia ionantha*. Nucl. Instrum. Methods, 244:349-353.