

تجزیه پروبیت برای تعیین مناسب‌ترین دُز پرتوتابی گاما در اصلاح موتاسیونی گندم

سعید باقری کیا^۱، محمدهادی بهلوانی^۲، احد یامچی^۳ و خلیل زینلی‌نژاد^۳

۱- دانشجوی دکتری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، (نویسنده مسوول: s.bagherikia@gau.ac.ir)
 ۲ و ۳- دانشیار و استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
 تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۹

چکیده

شناسایی دُز مناسب مواد جهش‌زا مهم‌ترین گام در انجام آزمایشات و ایجاد مواد ژنتیکی جهش‌یافته تلقی می‌گردد. طبق تعریف مناسب‌ترین دُز جهش‌زا، دُزی است که موجب ۵۰ درصد کاهش بقا و یا ۳۰ درصد کاهش رشد نسبت به شاهد می‌شود. هدف از انجام این تحقیق بررسی تأثیر دُزهای مختلف پرتو گاما (دُز صفر به عنوان شاهد، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ غری) بر برخی خصوصیات رشدی اولیه به منظور تعیین دُز مناسب پرتوتابی گاما در گندم رقم سرداری بود. به این منظور آزمایشی بر اساس طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط آزمایشگاه و گلخانه انجام شد. تجزیه داده‌ها در آزمایش جوانه‌زنی بذر نشان داد، غیر از صفت سرعت جوانه‌زنی اختلاف معنی‌داری برای تمامی صفات بررسی شده شامل طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن تر ریشه‌چه، وزن تر ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه مشاهده شد. تجزیه داده‌های بدست آمده از گلخانه نیز اختلافی معنی‌دار برای ارتفاع گیاه و درصد بقا نشان داد. بر اساس برازش بهترین مدل رگرسیونی و تجزیه پروبیت، دُزی که موجب ۵۰ درصد کاهش بقا و یا ۳۰ درصد کاهش رشد نسبت به شاهد می‌شود، تعیین گردید. در رقم سرداری این دُز در محدوده بین ۲۰۰ تا ۳۰۰ غری قرار داشت. با به کار بردن این محدوده از دُز پرتو گاما، می‌توان تنوع ژنتیکی مناسبی را جهت استفاده در برنامه‌های اصلاح گندم با استفاده از جهش ایجاد نمود.

واژه‌های کلیدی: اصلاح موتاسیونی، کبالت ۶۰، مدل رگرسیونی، تنوع ژنتیکی، گندم

مقدمه

پرتوتابی برای القا جهش مورد ارزیابی قرار می‌گیرند، اکثر اثرات مشاهده شده در نسل M_1 به صورت فیزیولوژیکی هستند (۱۱). آسیب‌های گیاه در نسل M_1 حاکی از درجه اثرات جهش‌زها بر گیاهان است و این تأثیر را می‌توان به روش‌های مختلف به صورت کمی تعیین کرد (۸،۲). صدمه فیزیکی معمولاً با استفاده از پارامترهایی همچون کاهش در توانایی جوانه‌زنی بذر، سرعت رشد گیاهچه‌ها، قدرت، عقیمی و حتی کشندگی گیاهان، اندازه‌گیری می‌شود. با استفاده از این‌ها می‌توان آستانه مقادیر دُزهای جهش‌زا را به منظور دستیابی به القای جهش مورد نیاز، تنظیم و تعیین کرد (۱۱،۹). از آنجا که عوامل ژنتیکی و محیطی بر اثرات جهش‌زایی تأثیرگذار هستند، توصیه شده است که ارزیابی‌های اولیه برای تعیین دُزهای مناسب در شروع هر برنامه اصلاحی انجام پذیرد (۱۷). تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای در حساسیت نسبت به پرتو در دانه‌های سویا به اثبات رسیده است که بیانگر آن است که GR50^۱ بذرهای پرتوتابی شده به وسیله پرتو گاما به ترتیب برای وارپته خیلی حساس Lexington و وارپته دارای حساسیت پایین Virginia، ۶۰ و ۳۲۰ غری است (۱۲). در گندم نان نیز طبق گزارش پایگاه اطلاعاتی وارپته‌های موتانت سازمان بین‌المللی انرژی اتمی (IAEA) (۲) و وارپته‌های موتانت Guinness/1322 (متحمل به خشکی و مقاوم به ورس) و Fermer (بهبود یافته از نظر تحمل به خشکی، سرما، زنگ قهوه‌ای و کیفیت نانویی) حاصل از برنامه اصلاح مبتنی بر جهش با دُز ۵۰ غری و وارپته‌های Bajio Plus و Centauro (مقاوم به ورس) حاصل از برنامه اصلاح با استفاده جهش با دُز ۵۰۰ غری بوده‌اند (۳).

همانطور که گفته شد نظر به اینکه عوامل ژنوتیپی و محیطی بر اثرات جهش‌زایی تأثیرگذار هستند، تعیین دُز

گندم یکی از مهم‌ترین و اصلی‌ترین محصولات جهان است که بیش‌ترین سطح زیر کشت را در سراسر جهان به خود اختصاص داده است. در ایران نیز گندم از نظر تولید و سطح زیر کشت مهم‌ترین محصول کشاورزی است و افزایش محصول آن روز به روز مورد توجه قرار گرفته است و از نظر اقتصادی و تأمین غذای اصلی مردم از اهمیت بسیاری برخوردار است (۴). بهبود در اصلاح گیاهان تنها زمانی می‌تواند ایجاد شود که تنوع کافی برای صفت مورد نظر در دسترس اصلاحگر باشد، لذا پرتوتابی هسته‌ای می‌تواند با ایجاد ژرم پلاسما غنی از تنوع ژنتیکی نقش مهمی در اصلاح گیاهان ایفا کند (۱۶،۱۴،۶). نتیجه هر برنامه القای جهش تا حدود زیادی به مدیریت برنامه بستگی دارد. نوع ماده جهش‌زا و نرخ دُز از جمله عوامل ضروری هستند که می‌توانند طیف و نرخ جهش‌های القایی را تعیین کنند. این موارد مستلزم ارزیابی دقیق می‌باشند و در نتیجه می‌بایست بر اساس اهداف پروژه و منابع موجود به اجرا درآیند. در هر صورت پیش از هر تیمار جهش‌زایی گسترده، نرخ دُز دریافتی که بیش‌ترین مقدار جهش مطلوب را برحسب واحد دُز ایجاد می‌کند می‌بایست تعیین شود و این مقدار مطلوب می‌بایست کم‌ترین اثرات ناخواسته را به وجود آورد (۸). اگر مناسب‌ترین دُز جهت پرتوتابی تعیین نشود احتمال دست‌یابی به جهش‌های مثبت به شدت کاهش یافته و باعث صرف زمان و هزینه بیشتری خواهد شد (۹). در میان جهش‌زاهای فیزیکی، پرتو گاما معمولاً در اصلاح مبتنی بر جهش مورد استفاده قرار می‌گیرد که در نتیجه فروپاشی رادیویزوتوپ‌های کبالت ۶۰ (^{60}Co) و سزیم ۱۳۷ (^{137}Cs) گسیل می‌شود (۱۰). تعدادی از پارامترهای رادیوبیولوژیکی معمولاً در ارزیابی‌های اولیه اثر

بهترین مدل‌های رگرسیونی و تجزیه پروبیت (تجزیه‌ای مختص رابطه دژ- بقا در مطالعات زیستی مبتنی بر مدل رگرسیون سیگموئیدی) با نرم‌افزار Minitab 17 انجام شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها در آزمایش جوانه‌زنی نشان داد غیر از صفت سرعت جوانه‌زنی اختلاف معنی‌داری برای تمامی صفات بررسی شده شامل طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن تر ریشه‌چه، وزن تر ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه مشاهده گردید (جدول ۱). تجزیه واریانس داده‌ها در آزمایش گلخانه نیز نشان داد که اختلاف بسیار معنی‌داری بین تیمارها برای صفات ارتفاع گیاه و درصد بقا وجود دارد (جدول ۲).

نتایج مقایسه میانگین‌ها بیانگر بیشترین درصد جوانه‌زنی در تیمار شاهد (۹۴/۴۴) و کمترین در ۴۰۰ گری (۷۸/۸۸) دژ پرتوتابی بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد تیمار شاهد بیشترین و ۳۰۰ و ۴۰۰ گری دژ پرتوتابی کمترین مقدار وزن تر ریشه‌چه را داشتند (جدول ۳). معادله درجه یک رگرسیونی بهترین برازش را برای صفت وزن تر ریشه‌چه در مقابل پرتوتابی نشان داد و دژ ۲۲۷/۴۳ گری را به عنوان دژ کاهش‌دهنده ۳۰ درصد طول ریشه‌چه بیان کرد (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین‌ها در صفت وزن تر ساقه‌چه مشابه با وزن تر ریشه‌چه نشان داد تیمار شاهد و ۳۰۰ و ۴۰۰ گری دژ پرتوتابی به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار وزن تر ساقه‌چه را داشتند (جدول ۳).

برای صفت وزن تر ساقه‌چه معادله رگرسیونی درجه ۱ بهترین برازش را در مقابل دژ پرتوتابی نشان داد و دژ ۲۲۴/۴۴ به عنوان ۳۰ درصد کاهش‌دهنده وزن تر ساقه‌چه تعیین شد (جدول ۴). در صفت طول ریشه‌چه نیز با افزایش سطوح دژ پرتوتابی کاهش مشاهده گردید (شکل ۱ و جدول ۳). معادله درجه ۱ رگرسیونی بهترین برازش دهنده طول ریشه‌چه در مقابل دژ پرتوتابی را نشان داد و دژ ۱۸۵/۷۷ گری را کاهش‌دهنده ۳۰ درصد طول ریشه‌چه معرفی کرد (جدول ۴).

مناسب پرتوتابی در آغاز یک برنامه اصلاح با استفاده از جهش ضروری است در همین راستا این پژوهش به منظور مطالعه تأثیر دژهای مختلف پرتوهای گاما بر خصوصیات رشدی اولیه و با هدف تعیین دژ مناسب پرتو گاما به جهت ایجاد لاین‌های جهش‌یافته مطلوب در رقم گندم نان سرداری به انجام رسید.

مواد و روش‌ها

نحوه تیماردهی بذرها

این مطالعه در سال ۱۳۹۲ در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. بذره‌های رقم سرداری گندم پس از تنظیم رطوبت ۱۴ درصد (با استفاده از دسیکاتور) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، توسط پرتو گاما توسط چشمه کبالت ۶۰ (با شدت چشمه ۵ گری در دقیقه) در دژهای صفر (شاهد)، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ گری در پژوهشکده تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی سازمان انرژی اتمی پرتوتابی شدند.

آزمایش جوانه‌زنی

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد، که هر تکرار شامل یک پتری‌دیش با ۳۰ عدد بذر بود. پتری‌دیش‌ها در انکوباتور در دمای 20 ± 2 درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید و صفات درصد جوانه‌زنی پس از چهار روز، سرعت جوانه‌زنی (بر اساس مدت زمانی بر اساس ساعت که ۵۰ درصد بذرها جوانه‌زنی کنند)، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن تر ریشه‌چه، وزن تر ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه اندازه‌گیری شد (۱۱).

آزمایش گلخانه

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد که هر تکرار شامل سه گلدان با قطر ۲۵ سانتی‌متر بود و در هر یک گلدان‌ها ۱۰ عدد بذر قرار داده شد. صفات درصد بقا و ارتفاع گیاه نیز سه هفته پس از کاشت، اندازه‌گیری شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه واریانس، مقایسه میانگین‌ها و تعیین ضرایب همبستگی ساده با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1.3 و تعیین

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات در آزمایش جوانه‌زنی

منابع تغییر	df	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	وزن تر ریشه‌چه	وزن تر ساقه‌چه	وزن خشک ریشه‌چه	وزن خشک ساقه‌چه
تیمار (دژ)	۴	۱۲۴/۳۸۶*	۰/۰۰۰۰۱۴ ^{ns}	۱/۸۵۷**	۱/۶۹۳**	۰/۳۴۲**	۰/۱۷۹**	۰/۰۰۰۱۹**	۰/۰۰۰۰۶**
خطا	۱۰	۲۵/۸۰۳	۰/۰۰۰۰۲۶	۰/۰۵۹	۰/۳۲۱	۰/۰۰۲۷	۰/۰۰۳۵	۰/۰۰۰۰۵	۰/۰۰۰۰۷
ضریب تغییرات (%)		۵/۷۵	۶/۷۷	۱۲/۷۱	۶/۳۷	۱۱/۳۱	۶/۳۷	۱۳/۶۲	۱۱/۹۵

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات در آزمایش گلخانه

منابع تغییر	df	ارتفاع	درصد بقا
تیمار (دژ)	۴	۲۷۶/۴۳۳**	۲۷۵۶/۶۶۶**
خطا	۱۰	۳/۱۵	۹۳/۳۳۳
ضریب تغییرات (%)		۹/۲۷	۱۵/۰۹

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده

Table 3. Mean comparison of measured traits

بقا (%)	ارتفاع (cm)	وزن خشک ساقه‌چه (g)	وزن خشک ریشه‌چه (g)	وزن تر ساقه‌چه (g)	وزن تر ریشه‌چه (g)	طول ساقه‌چه (cm)	طول ریشه‌چه (cm)	جوانه‌زنی (%)	دُز (Gy)
۸۶/۶۶±۶/۶۶ ^{ab}	۲۶/۳۳±۱/۵ ^d	۰/۱۱۶±۰/۰۰۹ ^d	۰/۰۸۱±۰/۰۰۳ ^d	۱/۲۷±۰/۰۳ ^d	۰/۹۶±۰/۰۵ ^d	۳/۶۵±۰/۱۵ ^d	۲/۸۳±۰/۲۳ ^d	۹۴/۴۴±۴/۰۰ ^a	(شاهد)
۹۰/۰۰±۵/۷۷ ^{ab}	۲۶/۰۰±۰/۹ ^d	۰/۰۹۹±۰/۰۰۶ ^d	۰/۰۶۰±۰/۰۰۶ ^d	۱/۰۵±۰/۰۳ ^d	۰/۶۸±۰/۰۳ ^d	۳/۲۰±۰/۱۱ ^b	۲/۶۳±۰/۱۴ ^d	۹۲/۲۲±۱/۱۱ ^{ab}	۱۰۰
۸۰/۶۶±۵/۷۷ ^{ab}	۲۳/۶۶±۱/۳۳ ^d	۰/۰۹۵±۰/۰۰۳ ^d	۰/۰۳۸±۰/۰۰۱ ^c	۰/۹۱±۰/۰۵ ^c	۰/۴۹±۰/۰۳ ^c	۳/۰۵±۰/۰۴ ^d	۱/۷۶±۰/۱۳ ^d	۹۱/۳۳±۲/۹۰ ^{ab}	۲۰۰
۴۰/۰۰±۵/۷۷ ^d	۱۶/۰۰±۲/۲۲ ^d	۰/۰۳۳±۰/۰۰۲ ^c	۰/۰۳۳±۰/۰۰۴ ^c	۰/۷۴±۰/۰۳ ^d	۰/۳۲±۰/۰۳ ^d	۲/۴۱±۰/۰۸ ^c	۱/۱۹±۰/۰۹ ^c	۸۴/۴۴±۲/۹۳ ^{bc}	۳۰۰
۲۳/۲۳±۲/۳۳ ^d	۲/۶۷±۰/۸۸ ^c	۰/۰۱۲±۰/۰۰۱ ^d	۰/۰۱۷±۰/۰۰۱ ^d	۰/۶۶±۰/۰۲ ^d	۰/۲۵±۰/۰۲ ^d	۱/۷۲±۰/۰۹ ^d	۱/۱۶±۰/۰۵ ^c	۷۸/۸۸±۲/۹۳ ^c	۴۰۰

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۴- معادله مناسب توصیف‌کننده ۳۰٪ کاهش در صفات مختلف

Table 4. Proper equation that describes 30% reduction in different traits

ضریب تبیین	معادله	دُز کاهش‌دهنده ۳۰٪ رشد	صفت
۹۱/۷	$Y = -0.18966 - 0.01761 X$	۲۲۷/۴۳	وزن تر ریشه‌چه
۹۲/۶	$Y = 1/235 - 0.00152 X$	۲۲۴/۴۴	وزن تر ساقه‌چه
۸۴/۷	$Y = 2/877 - 0.004792 X$	۱۸۵/۷۷	طول ریشه‌چه
۹۰/۵	$Y = 3/739 - 0.004645 X$	۲۵۴/۵۵	طول ساقه‌چه
۸۷/۰	$Y = -0.1258 - 0.00273 X$	۲۶۳/۳۷	وزن خشک ساقه‌چه
۹۱/۳	$Y = -0.07717 - 0.00157 X$	۲۲۹/۱۱	وزن خشک ریشه‌چه

برای وزن خشک ریشه‌چه در مقابل دُز پرتوتابی معادله درجه ۱ بهترین برازش را داشت و دُز ۲۲۹/۱۱ گری را به عنوان دُز کاهش‌دهنده ۳۰ درصد رشد معرفی کرد و در صفت وزن خشک ساقه‌چه معادله درجه ۱ دُز ۲۶۳/۳۷ گری را کاهش‌دهنده ۳۰ درصد وزن ساقه‌چه معرفی کرد (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین‌ها صفات ارتفاع بوته و درصد بقا در شرایط گلخانه نشان داد که تیمار شاهد و ۱۰۰ گری بیشترین مقدار و ۴۰۰ گری کمترین مقدار را داشتند (جدول ۳). نتایج حاصل از تجزیه پروبیت برای درصد بقا، دُز ۲۸۳ گری را به عنوان دُز GR₅₀ یا دُزی تعیین کرد که باعث کاهش ۵۰ درصد بقا می‌شود (شکل ۲). مهم‌ترین کاربرد تجزیه پروبیت مربوط به بررسی رابطه بین دُز-بقا و دُز-کشدگی است که برای تعیین ۵۰ درصد کاهش رشد (GR₅₀) یا ۵۰ درصد کشدگی (LD₅₀) در مطالعات زیستی از آن استفاده می‌شود (۱۵).

نتایج مقایسه میانگین‌ها برای صفت طول ساقه‌چه بیانگر تفاوت معنی‌داری بین دُزهای مختلف پرتوتابی بود. به طوری که دُز شاهد و ۱۰۰ گری بالاترین و دُزهای ۳۰۰ و ۴۰۰ گری کمترین مقدار را داشتند (شکل ۱ و جدول ۳). برای این صفت بهترین برازش توسط معادله درجه ۱ رگرسیونی انجام شد و دُز ۲۵۴/۵۵ را دُز مناسب برای کاهش ۳۰ درصد طول ساقه‌چه بیان کرد (جدول ۴). نتایج حاصل از تجزیه همبستگی نشان داد که در بین تمامی صفات بالاترین ضریب همبستگی مربوط به وزن تر و وزن خشک ساقه‌چه (۰/۹۶) و همچنین وزن تر و وزن خشک ریشه‌چه (۰/۹۶) بود و کمترین ضریب همبستگی بین درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی (۰/۱) وجود داشت (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین‌ها برای صفت وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه نشان داد با افزایش دُز پرتوتابی، وزن خشک به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (جدول ۳).



شکل ۱- تأثیر دُزهای مختلف پرتو گاما (از چپ به راست به ترتیب صفر، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ گری) بر جوانه‌زنی بذر رقم سرداری گندم نان
Figure 1. The effect of different doses of gamma irradiation (0, 100, 200, 300 and 400 Gary. left to right, respectively) on seed germination of Sardari bread wheat

جدول ۵- ضرایب همبستگی ساده بین صفات اندازه‌گیری شده

Table 5. Simple correlation coefficients between measured traits

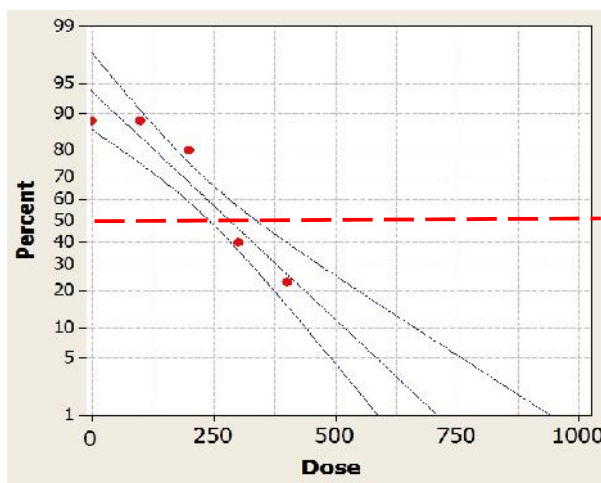
	ارتفاع	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	وزن تر ریشه‌چه	وزن تر ساقه‌چه	وزن خشک ریشه‌چه	وزن خشک ساقه‌چه	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی
ارتفاع	۱								
درصد بقا	۰/۹۲۱**								
طول ریشه‌چه	۰/۷۶۷**	۱							
طول ساقه‌چه	۰/۹۳۳**	۰/۸۵۸**	۱						
وزن تر ریشه‌چه	۰/۷۷۶**	۰/۹۱۹**	۰/۸۸۸**	۱					
وزن تر ساقه‌چه	۰/۸۱۱**	۰/۸۹۸**	۰/۹۱۴**	۰/۹۵۴**	۱				
وزن خشک ریشه‌چه	۰/۷۹۴**	۰/۹۰۲**	۰/۸۸۹**	۰/۹۶۱**	۰/۹۶۸**	۱			
وزن خشک ساقه‌چه	۰/۹۳۰**	۰/۸۱۹**	۰/۹۳۲**	۰/۸۵۳**	۰/۹۰۵**	۰/۸۴۹**	۱		
درصد جوانه‌زنی	۰/۷۳۰**	۰/۷۵۶**	۰/۸۰۲**	۰/۷۲۷**	۰/۷۲۰**	۰/۶۷۷**	۰/۷۳۹**	۱	
سرعت جوانه‌زنی	۰/۴۵۱	۰/۳۳۴	۰/۳۹۷	۰/۴۲۸	۰/۲۸۴	۰/۳۱۴	۰/۲۹۴	۰/۱۰۶	۱

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

بود که نشان‌دهنده تأثیر پایین این دو عامل در شرایط جوانه‌زنی می‌باشد. در دو صفت وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه با افزایش دُز پرتوتابی گاما کاهش مشاهده شد که می‌تواند نشان‌دهنده افزایش تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن و اثرات منفی آن‌ها در دُزهای بالاتر باشد. در صفات طول ریشه‌چه و ساقه‌چه کاهش رشد می‌تواند به علت اثر پرتوها بر تنظیم‌کننده‌های رشدی همچون سیتوکینین‌ها و ایجاد تغییرات در مسیر سیگنال‌دهی آن‌ها باشد. دُزهای پایین می‌توانند نقش تحریک‌کنندگی در مسیرهای سیگنال‌دهی داشته باشند و در دُزهای بالاتر به علت تأثیر در شرایط اکسیداسیونی سلول کاهش رشد را سبب می‌گردند (۱۸). از طرفی دُزهای بالا سبب نگهداری تقسیم سلول در مرحله G2 شده و دارای اثرات مخرب روی ژنوم می‌باشند (۱۳). در آزمایش مربوط به شرایط گلخانه‌ای با افزایش دُز پرتوتابی گاما درصد بقا گیاه و ارتفاع گیاهچه کاهش نشان داد. شکست‌های کروموزومی در نسل اول پرتوتابی به عنوان یک عامل مهم در کاهش رشد و بقا گیاهان معرفی شده است (۷).

نتایج به دست آمده نشان داد که بین دُزهای مختلف پرتوتابی گاما در صفت درصد نهایی جوانه‌زنی اختلاف معنی‌داری وجود داشت. به طور کلی و با توجه به پاره‌ای از مطالعات قبلی، در شرایط آزمایشگاهی پس از پرتوتابی بذر با دُزهای مختلف، معمولاً تفاوت معنی‌داری در بین دُزها از نظر درصد نهایی جوانه‌زنی دیده نمی‌شود، اما سرعت جوانه‌زنی متفاوت است و با افزایش دُز پرتو تأخیر در جوانه‌زنی بیشتر دیده می‌شود (۱). با این وجود در این مطالعه، در مورد هر دو صفت نتایج متفاوتی حاصل گردید و از لحاظ درصد جوانه‌زنی بین تیمارها اختلاف مشاهده گردید، اما در سرعت جوانه‌زنی وجود اختلافی که وجود داشت، اما از نظر آماری معنی‌دار نبود. این تفاوت عملکردی را می‌توان به اثر تحریک‌کنندگی پرتوتابی روی جوانه‌زنی مرتبط دانست هرچند در دُزهای بالا به دلیل شدت آسیب‌های وارده توانایی ادامه رشد وجود نداشته باشد (۱۸).

در بررسی همبستگی ساده نیز کمترین ضرایب همبستگی مربوط به دو صفت درصد نهایی جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی



شکل ۲- تجزیه پروبیت برای تعیین دُز عامل کاهش‌دهنده ۵۰٪ بقا
Figure 2. Probit analysis to determine of the dose that caused 50% reduction survival

عناصر رادیواکتیو دارای نیم عمر می‌باشند یعنی پس از گذشت یک مدت مشخص برای هر عنصر فعالیت آن نصف می‌شود. ایزوتوپ‌های رادیواکتیو کبالت ۶۰ با نیم عمر ۵/۲۷ سال و سزیم ۱۳۷ با نیم عمر ۳۰/۱۷ در برنامه اصلاح مبتنی بر جهش استفاده می‌شوند (۱۰). به طور مثال درباره ایزوتوپ کبالت ۶۰ پس از گذشت ۵/۲۷ سال برای رسیدن به دُز مورد نظر، زمان پرتوتابی به دو برابر افزایش می‌یابد و طبق فرضیه مذکور با طولانی شدن مدت زمان پرتوتابی احتمالاً اثرات آن دُز معین کمتر خواهد بود. سرعت چرخه سلولی نیز تحت تأثیر دما قرار می‌گیرد. حال و همکاران گزارش کرده‌اند که متوسط دوره بین میتوزی سلول‌های مریستم ریشه باقلا کشت شده در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد دو برابر ریشه‌های رشد یافته در دمای ۱۹ درجه سانتی‌گراد است و بر همین اساس ریشه‌های موجود در دمای ۱۹ درجه سانتی‌گراد نسبت به ریشه‌هایی در معرض دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد، به دو برابر نرخ دُز گاما دریافتی نیاز داشت تا الگوی کاهش رشد یکسانی را از خود بروز دهند (۵).

دُزی از پرتو گاما که می‌تواند حداکثر مقدار جهش را برای رسیدن به تنوع ژنتیکی بالا ایجاد کند، دُزی است که ۵۰ درصد کاهش بقا و یا ۳۰ درصد کاهش رشد را نسبت به شاهد ایجاد نماید (۸). از نتایج حاصل از مطالعات مورفولوژی می‌توان نتیجه گرفت در گندم رقم سرداری در شرایطی که شدت چشمه گاما ۵ گری بر دقیقه، رطوبت بذر ۱۴ درصد و دمای پرتوتابی ۲۵ درجه سانتی‌گراد باشد دُز مناسب در محدوده بین ۲۰۰ تا ۳۰۰ گری قرار دارد. با به کار بردن این محدوده از دُز پرتو گاما، می‌توان امیدوار به ایجاد تنوع ژنتیکی مناسب جهت استفاده در برنامه‌های اصلاح مبتنی بر جهش در گندم بود.

تشکر و قدردانی

از پژوهشکده تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی سازمان انرژی اتمی به خاطر پرتوتابی بذرهای تشکر می‌شود.

تعیین دُز مناسب پرتوتابی اولین گام در آغاز یک برنامه اصلاح مبتنی بر جهش است. در مورد هر گونه گیاهی ممکن است گزارش‌هایی در مورد تعیین دُز مناسب پرتوتابی مواد گیاهی به جهش‌زاهای گوناگون، وجود داشته باشد، اما بر اساس نظر اکثر متخصصان کشاورزی هسته‌ای نبایستی به عنوان دُز قطعی پرتوتابی لحاظ گردد زیرا تأثیر ژنوتیپی و محیطی قابل توجهی نسبت به تیمارهای جهش‌زایی در گیاهان وجود دارد (۸). به طوری که در گندم نان محدوده ۵۰ تا ۵۰۰ گری گزارش شده است، هرچند که اکثر گزارش‌ها ۳۰۰-۲۰۰ گری را پیشنهاد کرده‌اند (۳) که با نتایج این تحقیق مطابق بود. دامنه وسیع حساسیت به پرتو در گونه‌های گیاهی و حتی در میان لاین‌های اصلاحی به تفاوت در حجم کروموزوم اینترفازی (ICV) موجود در سلول‌های اینترفازی مریستم ساقه نسبت داده می‌شود. از طرفی شرایط پرتوتابی نیز در تعیین دُز مطلوب تأثیر می‌گذارد (۱۱،۸). اکسیژن مهم‌ترین عامل تغییردهنده محیطی است، در حالی که میزان رطوبت، دما و شرایط نگهداری به عنوان عوامل ثانویه محسوب می‌شوند. حضور اکسیژن می‌تواند آسیب بیولوژیکی در برابر تابش را افزایش دهد. محتوای رطوبت (آب) بذرهای به واسطه نقش آن در تنفس و انتقال گازها، نیز حساسیت به پرتو بذر را تحت تأثیر قرار می‌دهد، اگرچه مکانیسم این اثر به طور کامل مشخص نشده است (۹). به طور کلی اعتقاد بر این است که وقتی دُز در طی یک دوره زمانی طولانی‌تر بکار برده می‌شود، سازوکارهای ترمیم، مسئولیت کاهش اثرات پرتوتابی را بر عهده دارند. ترمیم آسیب حاصل از پرتوتابی عمدتاً در طی همانندسازی DNA (مرحله S) در اینترفاز چرخه سلولی رخ می‌دهد. در این زمینه یک فرضیه رادیوبیولوژی ارائه شده که بیان می‌کند که نرخ دُز در واحد چرخه سلولی، بزرگی تأثیرات پرتوتابی را تعیین می‌کند. طبق این فرضیه‌ها هر چه چرخه سلولی کوتاه‌تر یا زمان پرتوتابی طولانی‌تر باشد، اثرات یک دُز معین کم‌تر خواهد بود (۸). زمان پرتوتابی (دقیقه) از تقسیم مقدار دُز مورد نظر هر تیمار (گری) بر شدت چشمه (گری در دقیقه) به دست می‌آید.

منابع

1. Borzouei, M., H. Kafi, B. Khazaei, M. Naseriyan and A. Majdabadi. 2010. Effects of gamma radiation on germination and physiological aspects of wheat (*Triticum aestivum* L.) Seedlings. *Pakistan Journal Botany*, 42(4): 2281-2290.
2. Chaudhuri, K.S. 2002. A simple and reliable method to detect gamma irradiated lentil (*Lens culinaris* Medik.) seeds by germination efficiency and seedling growth test. *Radiation Physics and Chemistry*, 64(2): 131-136.
3. FAO/IAEA Database of Mutant Variety and Genetic Stock: <http://mygs.iaea.org>.
4. FAO; Food and Agriculture Organization, Available <http://faostat.fao.org>. Last accessed 1 October 2016.
5. Hall, E.J., R. Oliver, B.J. Shepstone and J.S. Bedford. 2003. On the population kinetics of the root meristem of *Vicia faba* exposed to continuous irradiation. *Radiation Research*, 27(4): 597-603.
6. Kia, M., N.A. Babaeian Jelodar and N.A. Bagheri. 2010. Study on Salt Tolerance of Gamma Ray Induced Mutants in 032 Soybean Cultivar in Greenhouse Condition. *Journal of Crop Breeding*, 2(5): 47-56 (In Persian).
7. Kiong, A.L.P., A.G. Lai, S. Hussein and A.R. Harun. 2008. Physiological responses of *Orthosiphon stamineus* plantlets to gamma irradiation. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 2(2): 135-149.
8. Kodym, A., R. Afza, B.P. Forster, Y. Ukai, H. Nakagawa and C. Mba. 2012. Methodology for physical and chemical mutagenic treatments. In: Shu, Q.Y., B.P. Forster and H. Nakagawa (eds.) *Plant mutation breeding and biotechnology*. 169-180 pp., CABI, Oxford, UK.
9. Majd, F. and M.R. Ardakani. 2010. *Nuclear techniques in agriculture sciences*, 2nd edn. University of Tehran Press, Tehran, Iran, 381 pp (In Persian).
10. Mba, C. and Q.Y. Shu. 2012. Gamma irradiation. In: Shu, Q.Y., B.P. Forster and H. Nakagawa (eds.) *Plant mutation breeding and biotechnology*. 91-98 pp., CABI, Oxford, UK.
11. Mousavi Shalmani, A.M., B. Naserian Khiabani, H. Ahari Mostafavi, M. Heidarzadeh, and A. Majdabadi. 2009. *Nuclear agriculture (from science to practical aspect)*. 1st edn. Nuclear Science and Technology Institute, Karj, Iran, 518 pp (In Persian).
12. Nakagawa, H. 2009. Induced mutations in plant breeding and biological researches in Japan. *Crops*, 242(188): 48-54.
13. Preussa, S.B. and A.B. Britta. 2003. A DNA-damage-induced cell cycle checkpoint in Arabidopsis. *Genetics*, 164(1): 323-34.
14. Samadi Gorji, M., A. Zaman Mirabadi, V. Rameeah, aliollah, M. Hasanpour and A. Esmailifar. 2015. Evaluation of Agronomic Traits of Mutants Induced by Gamma Irradiation in PF and RGS003 Varieties of Rapeseed (*Brassica napus* L.). *Journal of Crop Breeding*, 7(15): 135-144 (In Persian).
15. Sikder, S., P. Biswas, P. Hazra, S. Akhtar, A. Chattopadhyay, A.M. Badigannavar and S.F. D'Souza. 2013. Induction of mutation in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) by gamma irradiation and EMS. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 73(4): 392-399.
16. Singh, N. and H. Balyan. 2009. Induced mutations in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) CV." Kharchia 65" for reduced plant height and improve grain quality traits. *Advances in Biological Research*, 3(5-6): 215-221.
17. van Harten, A.M. 1998. *Mutation breeding: theory and practical applications*. 1st edn. Cambridge University Press, Uk, 338 pp.
18. Wi, S.G., B.Y. Chung, J.S. Kim, J.H. Kim, M.H. Baek, J.W. Lee and Y.S. Kim. 2007. Effects of gamma irradiation on morphological changes and biological responses in plants. *Micron*, 38(6): 553-564.

Probit Analysis to Determine of the Most Appropriate Dose of Gamma Irradiation in Wheat Mutation Breeding

Saeed Bagherikia¹, Mohammad Hadi Pahlevani², Ahad Yamchi³ and Khalil Zenalinezhad³

1- Ph.D. Student, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources,
(Corresponding author: s.bagherikia@gau.ac.ir)

2 and 3- Associate Professor and Assistant Professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Receive: December 25, 2016

Accepted: April 29, 2017

Abstract

Identification of the appropriate dose for mutagen material is the most important step in setting experiment and creating mutant genetic material. According to a definition the most appropriate dose of mutagen is a dose that causing a reduction of 50% survival or 30% growth, compared to control. The aim of this study was to evaluate the effect of different doses of gamma radiation (0 as a control, 100, 200, 300 and 400 Gary) on the early growth characteristics for determining the appropriate dose of gamma irradiation in wheat cultivar Sardari. Therefore, an experiment was conducted based on completely randomized design with three replications at the laboratory and greenhouse. Data analysis of seed germination experiment showed significant difference in all traits including rootlet length, stemlet length, fresh weight of rootlet, fresh weight of stemlet, dry weight of rootlet and dry weight of stemlet, the exception of germination rate. Analysis of data obtained from a greenhouse, also showed significant difference in plant height and survival percentage. Based on the best fitted regression model and probit analysis determined a dose causing reduction of 50% survival or 30% growth, compared to control. It was in the range between 200 to 300 Gary, for Sardari cultivar. It could help to create adequate genetic diversity by applying this range of gamma radiation, for using in the wheat mutation breeding programs.

Keywords: Cobalt 60, Gamma Irradiation, Genetic Diversity, Mutation Breeding, Regression Model, Wheat