# گامی در راستای موتاسیون بریدینگ گوجه فرنگی در شرایط درون شیشه

**INC29-1333**

**اسمعیل نظامی*، هدایت کریم زاده، بهنام ناصریان، اعظم برزویی**

پژوهشکده کشاورزی هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، صندوق پستی ۴۹۸-۳۱۴۸۵، کرج، ایران

**چکیده:**

این مطالعه با هدف تعیین دز بهینه اشعه گاما به‌منظور پرتودهی نوساقه های گوجه فرنگی رشد یافته در شرایط درون شیشه انجام شد. نوساقه های حاصل از کشت هیپوکوتیل در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) حاوی ۱/۲ میلی گرم در لیتر زآتین و ۰/۲ میلی گرم در لیتر IAA تکثیر شدند. نوساقه های ۳۰ روزه به‌قطعات به‌طول ۱ سانتی متر حاوی ۱-۲ جوانه جانبی تقسیم شده و سپس با سطوح مختلف اشعه گاما شامل کنترل (بدون پرتوتابی)، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ یا ۵۰ گری پرتوتابی شدند. یک ماه پس از اعمال تیمار اشعه گاما، برخی صفات رشدی شامل تعداد نوساقه، طول نو ساقه، وزن تر به ازای نوساقه به همراه رنگیزه‌های برگ اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد با افزایش شدت تشعشع صفات وزن تر، کلروفیل a، b، a+b و کاروتنوئیدها روند کاهشی نشان دادند. براساس نتایج به‌دست آمده ۳۵ گری به‌عنوان تشعشع بهینه جهت ایجاد موتاسیون و کاهش ۵۰ درصد وزن تر بدست آمد که می‌تواند در مطالعات موتاسیون بریدینگ گوجه فرنگی درشرایط درون‌شیشه استفاده شود.

**کلیدواژه‌ها**: گوجه فرنگی، موتاسیون بریدینگ، پرتو دهی، اشعه گاما، دزیمتری، شرایط درون‌شیشه

# A step towards in vitro mutation breeding of Tomato

**Esmaeil Nezami*, Hedayat Karimzadeh, Behnam Naserian, Azam Borzouei**

Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute (NSTRI), P. O. Box: 31485-498, Karaj, Iran

**Abstract:**

This study was conducted aiming to determine the optimal gamma-rays dose for irradiation of tomato microshoots grown in vitro conditions. Microshoots obtained from hypocotyl cultures were micro-propagated on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 1.2 mg/L zeatin and 0.2 mg/L IAA. The 30-days-old microshoots were cut to 1 cm (in length) segments containing one-two axillary buds, followed by irradiation with control (no irradiation), 10, 20, 30, 40 or 50 doses of gamma-rays. Some important morphological and leaf pigments parameters including shoots number, shoots length, fresh weight and leaf pigments were measured after 30 days of treatments application. The results showed a significant reduction ($\alpha$=0.01) on all of the measured parameters by increasing radiation intensity, pinpointing 35 Grays as optimum dose based on lethal dose 50 (LD50) of fresh weight. Therefore, the obtained gamma-rays dose could be recommended for tomato mutation breeding.

**Keywords:** Tomato, mutation breeding, Gamma-rays, irradiation, Dosimetry, In vitro conditions

## ۱. مقدمه

گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill) متعلق به‌خانواده بادمجانیان و یکی از محبوب‌ترین سبزیجات جهان (Pritesh and Subramanian, 2011) و مهم‌ترین محصول گیاهی گرمسیری است که در سراسر جهان به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد(Bawa, 2016). افزایش محبوبیت گوجه فرنگی در قرن بیستم آن را به چهارمین میوه مهم جهان تبدیل کرده از این‌رو سهم مهمی در تغذیه انسان دارد. میزان تولید گوجه‌فرنگی در سراسر جهان در سال ۲۰۲۱ برابر با ۱۸۹ میلیون تن و عملکرد آن ۳۷ تن برهکتار بود. در همین سال میزان تولید گوجه‌فرنگی در ایران ۳ میلیون و ۴۰۰ هزار تن با متوسط عملکرد ۴۳ تن برهکتار بوده است (FAO, 2023). ازطرفی افزایش روزافزون جمعیت و لزوم تأمین غذای جوامع بشری، نیاز به افزایش کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی از جمله گوجه فرنگی را بیش از پیش ضروری می‌نماید. ازاین جهت استفاده از تکنیک‌های مختلف اصلاح نباتات جهت تولید و معرفی ارقام وهیبریدهای جدید گیاهی راه‌کاری مناسب در نیل به این هدف است. یکی از روش‌های مناسب و کارآمد در اصلاح نباتات استفاده از تکنیک موتاسیون بریدینگ به کمک تابش اشعه گاما می‌باشد. القا جهش به‌وسیله پرتوتابی اشعه گاما یکی از راه‌های افزایش تغییرپذیری گیاهان است (Hanaflah et al., 2010).اصلاح بسیاری از صفات مهم زراعی مانند عملکرد، ارتفاع گیاه، زمان رسیدن، ریزش بذر و مقاومت به‌آفات، بیماری‌ها و برخی تنش‌های محیطی از طریق تولید موتانت‌های مربوطه با پرتوتابی هسته‌ای امکان‌پذیراست (Ahloowalia and Maluszynski, 2001). بنابراین این آزمایش با هدف بررسی اثر اشعه گاما بر برخی ویژگی‌های گوجه‌فرنگی و همچنین تعیین دز بهینه اشعه گاما در این گیاه طراحی و اجرا شد.

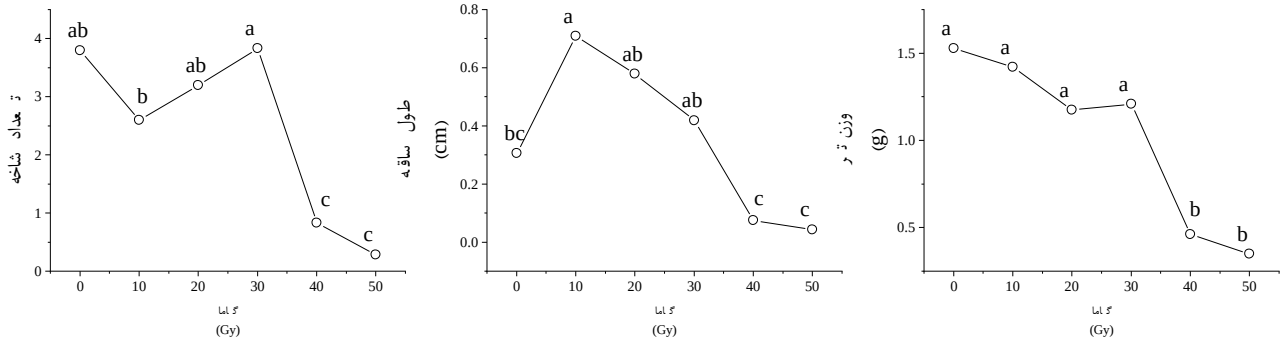
## ۲. روش کار

پژوهش حاضر با هدف تعیین دز بهینه اشعه گاما جهت ایجاد جهش در نوساقه های کشت بافتی گوجه فرنگی در پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای انجام شد. بدین منظور بذور گوجه فرنگی ابتدا با هیپوکلریت سدیم ۲ درصد به مدت ۵ دقیقه شستشو و پس از آن سه مرتبه با آب مقطر استریل آب‌کشی شدند. سپس بذرها در محیط کشت 1/2MS حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ۶ گرم در لیتر آگار کشت شدند. پس از جوانه‌زنی بذرها، هیپوکوتیل‌های به‌دست آمده در محیط کشت MS حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز،۱/۲ میلی گرم در لیتر زآتین، ۰/۲ میلی گرم در لیتر IAA و ۶ گرم در لیتر آگار تکثیر شدند. پس از تشکیل نوساقه‌ها، تیمارهای اشعه گاما با شدت ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ گری انجام شد و یک ماه پس از اعمال تیمارهای گاما، یادداشت‌برداری‌های مورفولوژیک شامل تعداد نوساقه، طول نوساقه (برحسب سانتی متر) و وزن تر (بر حسب گرم) و همچنین اندازه‌گیری رنگیزه‌های برگ شامل کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها به روش لیچن‌تالر (۱۹۸۷) انجام شد. در نهایت داده‌ها در محیط نرم‌افزار R (4.2.1) با استفاده از مدل طرح کاملا تصادفی مورد آنالیز واریانس قرار گرفتند و جهت مقایسه میانگین نیز از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح ۰/۰۱ استفاده شد. همچنین با برازش مدل خطی برای صفات وزن تر و کلروفیل a در شدت‌های مختلف اشعه گاما، میزان اشعه گامای مورد نیاز جهت کاهش ۵۰ درصدی صفات مذکور محاسبه و گزارش شد.

## ۳. نتایج

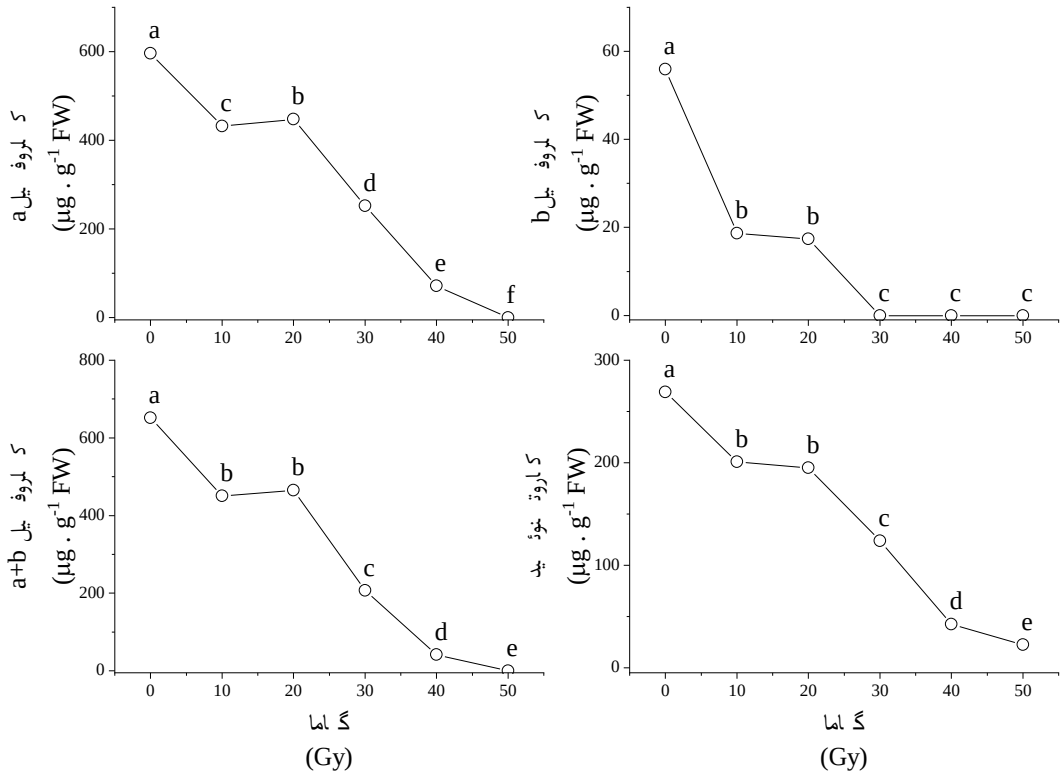
نتایج حاصل از تأثیر اشعه گاما بر تعداد شاخه، طول ساقه و وزن تر در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد تعداد نوساقه های جانبی در شدت تشعشع ۴۰ و ۵۰ گری به طورمعنی‌داری از سایر سطوح تشعشع گاما کمتربود. همچنین نتایج نشان داد با افزایش شدت تشعشع نسبت به تیمار شاهد، طول ساقه پس از افزایش معنی دار در ۱۰ گری، روند کاهشی معنی داری نشان داد به‌طوریکه در شدت تشعشع ۴۰ تا ۵۰ گری طول نوساقه بطور متوسط کمتر از ۰/۱ سانتی متر بود. همچنین نتایج نشان داد وزن تر با افزایش شدت تشعشع گاما روند کاهشی داشت به‌نحوی که بیشترین و کمترین وزن تر به ترتیب در تیمار شاهد و ۵۰ گری به ثبت رسید. نتایج حاصل از برازش رابطه خطی برای وزن تر در مقابل شدت تشعشع گاما نشان داد که میزان تشعشع ۳۵ گری، وزن تر را ۵۰ درصد نسبت به شاهد کاهش داد ($R^2$=0.88). پژوهشگران گزارش کرده‌اند که اشعه گاما بازدارنده تقسیم سلولی از طریق تولید رادیکال‌های آزاد بوده

و از این طریق رشد گیاه را کاهش می‌دهد (Zaka et al., 2004) البته اثر اشعه گاما به‌شدت اشعه، گونه گیاهی و نوع بافت دریافت کننده اشعه بستگی دارد.




شکل ۱- اثر دزهای مختلف اشعه گاما بر تعداد شاخه، طول ساقه و وزن تر نوساقه‌های گوجه‌فرنگی. در هر صفت، تیمارهایی تشعشعی که حرف مشترک دارند، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد با استفاده از آزمون LSD، ندارند.

نتایج نشان داد اشعه گاما باعث کاهش معنی‌دار کلروفیل a، b، a+b و کاروتنوئیدها شد و با افزایش شدت تشعشع، صفات مذکور روند کاهشی داشتند به‌نحوی که محتوای کلروفیل a در تشعشع ۵۰ گری و محتوای کلروفیل b در تشعشع ۳۰ گری به صفر رسید (شکل ۲). همچنین نتایج نشان داد که محتوای کاروتنوئیدهای برگ نیز در شدت تشعشع ۵۰ گری به صفر نزدیک شد. برازش رابطه خطی برای محتوای کلروفیل a نسبت به شدت تشعشع نشان داد در شدت تشعشع ۲۵ گری میزان کلروفیل a ۵۰ درصد کاهش یافت ($R^2$=0.95). پژوهشگران دریافتند که کاهش محتوای کلروفیل در اثر تشعشع گاما به‌دلیل تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و در نتیجه پراکسیداسیون و تجزیه رنگدانه‌ها است (Abbaszadeh et al., 2008).



شکل ۲- اثر دزهای مختلف اشعه گاما بر رنگیزه‌های برگ نوساقه‌های گوجه‌فرنگی. در هر صفت، تیمارهایی تشعشعی که حرف مشترک دارند، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد با استفاده از آزمون LSD، ندارند.

## ۴. نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد تمامی صفات مورد بررسی با قرارگیری گیاه در معرض اشعه گاما کاهش یافت و با افزایش شدت تشعشع نیز صفات روند کاهش نشان دادند تا جایی که در برخی صفات از جمله کلروفیل در شدت تشعشع‌های بالاتر به صفر رسید. همچنین مشخص شد تشعشع بهینه جهت ایجاد جهش و کاهش ۵۰ درصد وزن تر، ۳۵ گری بود.

## ۵. مراجع

Abbas zadeh, B., A. Sharifi Ashoorabadi, M.H. Lebaschi, M. Naderi Haji Paterkandi & F. Moghadami, 2008. The effect of drought stress on prolinee contents, soluble sugars, chlorophyll and relative water contents of balm (*Melissa officinalis* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 23(4): 504-513.

Ahloowalia, B., and Maluszynski, M. 2001. Induced mutations–A new paradigm in plant breeding. Euphytica, 118(2): 167-173.

Bawa, I. 2016. Management strategis of Fusarium wilt disease of tomato incited by Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici (Sacc.). International Journal of Advanced Academic Research. 2(5): 32-42.

FAO. 2023. Food and Agriculture Organization of the United Nation Quaterly bulletion of Statistucs. Rome, Italy. https://fenix.fao.org/faostat/internal/en/#data/QCL

Hanaflah, D. S., Yahya, S., and Wirnas, D. 2010. Induced mutations by gamma ray irradiation to Argomulyo soybean (*Glycine max*) variety. Nusantara Bioscience, 2(3): 121-125.

Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophyll fluorescence signatures of leaves during the autumnal chlorophyll breakdown. *Journal of Plant Physiology*, *131*(1-2), 101-110.

Pritesh, P., and Subramanian, R. B. 2011. PCR based method for testing Fusarium wilt resistance of tomato. African Journal of Basic and Applied Sciences 3(5), 222.

Zaka, R., Chenal, C., & Misset, M. T. (2004). Effects of low doses of short-term gamma irradiation on growth and development through two generations of Pisum sativum. Science of the total environment, 320(2-3), 121-129.