



تعیین دز بهینه و بررسی شاخص‌های مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ ذرت تحت دزهای مختلف پرتو گاما

سیاوش سلیمیان‌ریزی^۱، حسن سلطانیلو^۲، سیده ساناز رمضانپور^۳، رجب چوکان^۴ و علی اصغر نصرالله نژاد قمی^۵

۱ و ۳ - ۵ - دانشجوی دکتری کشاورزی هسته‌ای، دانشیار و استادیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲ - دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، (نویسنده مسوول: soltanlooh@gau.u.ac.ir)
۴ - استاد، موسسه اصلاح نهال و بذر کرج
تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۷/۶/۱۱
صفحه: ۱۱۶ تا ۱۲۳

چکیده

جهش‌های القا شده توسط پرتوگاما در اصلاح بسیاری از صفات مهم زراعی در گیاهان نقش دارند. تعیین دز بهینه برای القای جهش به‌عنوان مهمترین مرحله در آزمایشات و ایجاد مواد ژنتیکی جهش یافته محسوب می‌شود. هدف از این مطالعه تعیین دز بهینه پرتوتابی گاما و همچنین بررسی اثر دزهای مختلف این پرتو (صفر، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ گری) روی برخی خصوصیات رشدی و بیوشیمیایی در مراحل اولیه نموی هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ ذرت بود. با استفاده از تجزیه پروبیت، دز مناسب پرتوگاما برای القای جهش در سینگل کراس ۷۰۴، ۲۱۲/۹۶ گری تعیین گردید. تفاوت معنی‌داری برای تیمار دز پرتو در تمامی صفات رشدی، شامل طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن تر ریشه‌چه، وزن تر ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه، ارتفاع گیاه و درصد بقا مشاهده شد. با افزایش سطح دز پرتوتابی میزان کربوهیدرات کل، مالون‌دی‌آلدهید، پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: ذرت، تنش اکسیداتیو، اشعه گاما، اصلاح موتاسیونی

مقدمه

ذرت (*Zea mays*) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین گیاهان علوفه‌ای، عمده‌ترین منبع گیاهی برای تولید غیرمستقیم پروتئین در رژیم غذایی کشورهای در حال توسعه به شمار می‌رود. در مقایسه با دیگر گیاهان دانه‌ای، ذرت بیشترین میزان سطح کشت در جهان را به خود اختصاص داده است. پس از ایالات متحده آمریکا با تولید ۴۲ درصد از کل ذرت جهان، به ترتیب، چین، برزیل، مکزیک، آرژانتین، هند و فرانسه در رتبه بعدی تولید ذرت در جهان قرار می‌گیرند (۳۶). روند اصلاحی ذرت از زمانی آغاز شد که بشر پی به قابلیت‌های این گیاه برای تامین غذا، خوراک دام، الیاف و سوخت برد و طی هزاران سال، ذرت از یک گیاه خودرو و وحشی طی فرآیند انتخاب بر اساس صفات مطلوب توسط کشاورزان به یک گیاه زراعی با خصوصیات امروزی تبدیل شد (۱۲). در دهه‌های اخیر فناوری هسته‌ای به‌عنوان تحولی جدید در به‌نژادی و تولید موتانت‌های جدید گیاهی مورد توجه قرار گرفته است (۱۹). عوامل جهش‌زای فیزیکی شامل پرتوهای یونیزان به خصوص پرتو گاما به‌عنوان ابزار مناسب به‌نژادی، برای غنی کردن تنوع ژرم‌پلاسم و بهبود ارقام شناخته شده‌اند (۱۳). به منظور ایجاد جهش در موجودات از طریق پرتو گاما از کبالت ۶۰ استفاده می‌شود (۱۹). پرتو گاما با ورود به داخل بافت و سلول با اتم‌ها و مولکول‌های مختلف واکنش داده و رادیکال‌های آزاد را در سلول‌ها تولید می‌کند و بسته به شدت پرتو، تغییرات مثبت و یا منفی در فرآیندهای مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در گیاهان ایجاد می‌شود (۳۸). تنش پرتوگاما به‌طور معنی‌داری روند فیزیولوژیک و بیوشیمیایی را در گیاهان تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۳). اولین قدم در به‌نژادی به کمک پرتوتابی گاما،

تعیین دز بهینه پرتودهی برای ایجاد تنوع مطلوب می‌باشد (۳۷، ۱۹). به‌منظور تعیین دز بهینه پرتودهی، معمولاً صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاهچه پس از تابش پرتو در نسل M_1 مورد ارزیابی قرار می‌گیرند که این تاثیر به‌صورت کمی به روش‌های مختلفی قابل اندازه‌گیری است (۱۷، ۷). صدمه فیزیکی معمولاً با استفاده از پارامترهایی همچون کاهش در قدرت و توانایی جوانه‌زنی بذرها، سرعت رشد گیاهچه‌ها، درصد عقیمی و زنده‌مانی گیاهان به منظور تعیین آستانه دزهای جهش‌زا اندازه‌گیری می‌شود (۳۱، ۱۹).

از معمول‌ترین آثار پرتوتابی گاما، القای تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، مانند آنیون سوپراکسید، رادیکال‌های هیدروکسیل، اکسیژن تک‌ی و پراکسید هیدروژن است (۶). در گیاهان، پراکسید هیدروژن اصلی‌ترین نوع گونه فعال اکسیژن است و می‌تواند توسط دیگر رادیکال‌های آزاد تغییر شکل یابد (۴۰، ۲۳). مقدار بیش از حد ROS با حمله مستقیم به رنگیزه‌های فتوسنتزی، چربی‌های غشایی، پروتئین و اسیدهای نوکلئیک، می‌تواند منجر به آسیب‌های غیرقابل بازگشت متابولیک، و در نهایت مرگ سلولی گردد. به منظور فایق آمدن بر آثار مخرب ایجاد شده توسط ROS، سیستم دفاع آنزیمی جامع و یکپارچه‌ای در گیاهان به وجود آمده تا تعادل ROS را حفظ کند (۲۱).

هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ ذرت به مدت بیش از سه دهه بیشترین سطح زیر کشت را در شرایط مختلف اقلیمی ایران داشته است، لذا انجام هرگونه عملیات به‌نژادی در این رقم برای اصلاح صفات مطلوب زراعی اهمیت ویژه‌ای دارد. به‌نژادی به روش جهش‌زایی در هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ ذرت می‌تواند بدون تغییر گسترده در زمینه ژنتیکی این رقم، صفات دلخواه زراعی را ایجاد نماید. برای نیل به هدف القاء

یک از گلدها ۱۰ عدد بذر قرار داده شد. سه هفته پس از کاشت صفات درصد بقا و ارتفاع گیاه اندازه‌گیری شدند. در روز هفتم جوانه‌زنی، نمونه‌برداری از کل گیاهچه شامل برگ اولیه، ساقه‌چه و ریشه‌چه انجام گردید و نمونه‌ها پس از انجماد در ازت مایع در فریزر ۸۰- نگهداری شد. مقادیر فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) (۱)، مالون‌دی‌آلدهید (MDA) (۵)، پراکسید هیدروژن (H₂O₂) (۱۰)، کربوهیدرات (۳۳) و پراکسیداز (۳۴) اندازه‌گیری شد.

به‌منظور اندازه‌گیری دز بهینه پرتوتابی از تجزیه پروبیت استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1.3 و تجزیه پروبیت (تجزیه‌ای مختص رابطه دز-بقا در مطالعات زیستی مبتنی بر مدل رگرسیون سیگموئیدی) با نرم‌افزار Minitab 14 انجام شد.

نتایج و بحث

آزمایش جوانه‌زنی

تجزیه واریانس داده‌های اندازه‌گیری شده صفات مورد بررسی در آزمایش جوانه‌زنی و گلخانه نشان داد، تیمارهای مختلف پرتوتابی باعث ایجاد تغییرات معنی‌دار در کلیه صفات مورد مطالعه در هر سه ژنوتیپ شد. در سطوح مختلف پرتودهی تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد برای صفات طول، وزن تر و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه مشاهده شد. (جدول ۱).

پس از انجام مقایسه میانگین با روش دانکن در سطح احتمال یک درصد (جدول ۲)، بیشترین درصد جوانه‌زنی در تیمار شاهد و کمترین آن پس از پرتوتابی بذور با دز ۳۰۰ گری مشاهده گردید. تفاوت‌های معنی‌دار مشاهده شده در اثر پرتودهی با دزهای مختلف را می‌توان در اثر شدت آسیب‌های وارد به گیاهچه مرتبط دانست. در اثر شدت آسیب‌های وارده در دزهای بالای پرتودهی، جوانه‌زنی و رشد گیاهچه تحت تاثیر قرار می‌گیرد (۳۸).

جهش در این هیبرید، اولین قدم دزیابی پرتو گاما می‌باشد. در تعیین دز بهینه بایستی اول به این نکته توجه داشت که دز به کار رفته نباید به حدی زیاد باشد که تمام گیاهان را از بین ببرد و دوم اینکه این دز باید به اندازه‌ای باشد که موتاسیون با فراوانی بالا را ایجاد کند. دزی که بتواند ۵۰ درصد نمونه‌ها را از بین ببرد (LD₅₀) حداکثر میزان جهش را ایجاد می‌کند، لذا در اینجا نیز دزیابی با استفاده از همین معیار انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در آزمایشگاه گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی دانشگاه علوم کشاورزی گرگان در سال ۱۳۹۵ انجام شد.

مواد گیاهی

بذور هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ از ایستگاه تحقیقات عراقی محله استان گلستان تهیه شد.

پرتوتابی اشعه گاما

به‌منظور تعیین دز بهینه پرتوتابی، رطوبت بذور در دامنه مطلوب (۱۱-۱۳ درصد) تنظیم شد. پرتودهی با دزهای صفر، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ گری بوسیله دستگاه گاماسل با چشمه کبالت ۶۰ و اکتیویته Ci ۵×۱۰^۳ در مرکز تحقیقات کشاورزی هسته‌ای سازمان انرژی اتمی انجام گردید.

جوانه‌زنی پس از پرتودهی

این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و در هر تکرار شامل یک پتری‌دیش با ۳۰ عدد بذر اجرا شد. بذور کشت شده، در انکوباتور در دمای ۲۰±۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. صفات درصد جوانه‌زنی پس از چهار روز، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن تر ریشه‌چه، وزن تر ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه (میلی‌گرم) پس از دو هفته اندازه‌گیری شد (۳۱).

اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک

به‌منظور بررسی اثر دزهای مختلف پرتوتابی گاما بر روی صفات فیزیولوژیک گیاهچه‌های ذرت هیبرید سینگل کراس ۷۰۴، یک آزمایش گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد. هر تکرار شامل سه گلدها و در هر

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده هیبرید ذرت سینگل کراس ۷۰۴ در آزمایش جوانه‌زنی و گلخانه

Table 1. Analysis of variance for morphophysiological traits in SC704 hybrid

منابع تغییرات	درجه آزادی	جوانه‌زنی	ریشه‌چه طول	ساقه‌چه طول	وزن تر ریشه‌چه	وزن تر ساقه‌چه	وزن خشک ریشه‌چه	وزن خشک ساقه‌چه	ارتفاع	بقا
دز پرتو	۴	۲۲۴/۱۸**	۱/۹۰**	۱/۱۷**	۵۴۹۵/۷۳**	۲۲۷۴/۶**	۳/۶۸**	۲/۱۹**	۴۵۶/۷۳**	۲۶۷۳/۱۷**
اشتباه آزمایشی	۱۰	۰/۰۸	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۹۱	۱/۰۰	۰/۱۱	۰/۰۱۵	۰/۲۷	۲/۴۷
ضریب تغییرات		۰/۳۵	۰/۵۵	۰/۲۴	۰/۸۸	۲/۴۳	۳/۷۹	۵/۰۱	۲/۸۵	۲/۷۷

** اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪

فتوسنتزی گیاه (۳۸) و یا اثر پرتوها بر تنظیم‌کننده‌های رشدی مانند سیتوکینین‌ها و ایجاد تغییرات در مسیر پیام‌رسانی آن‌ها باشد. دزهای پایین می‌توانند نقش تحریک‌کنندگی در مسیرهای پیام‌رسانی داشته باشند. در دزهای بالاتر به علت تأثیر پرتو در

نتایج مقایسه میانگین آزمایش جوانه‌زنی و گلخانه نشان داد که با افزایش دز پرتو، میانگین صفات مورد بررسی کاهش یافت (جدول ۲). از علت‌های کاهش رشد در اثر پرتوتابی می‌توان به تخریب رنگدانه‌های فتوسنتزی و در نتیجه کاهش ظرفیت

خصوص کاهش صفات مرتبط با رشد در مرحله گیاهچه‌ای با نتایج باقیری و همکاران (۴) در خصوص کاهش رشد در اثر پرتوتابی گاما در مرحله گیاهچه‌ای منطبق بود.

تعیین دز

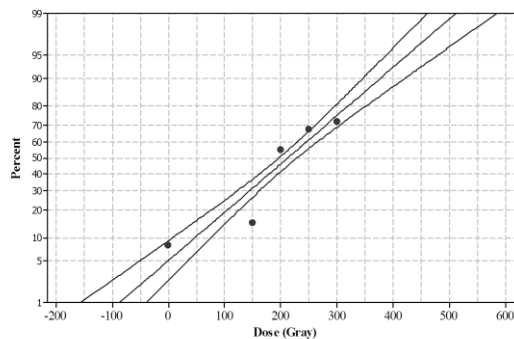
بر اساس دز کشنده ۵۰ درصد برای بر اساس نتایج تجزیه پروبیت، دز ۲۱۲/۹۶ گری به‌عنوان دزهای LD50 برای سینگل کراس ۷۰۴ تعیین شد (شکل ۱).

شرایط اکسیداسیونی سلول، باعث کاهش رشد می‌شوند (۳۸). از طرفی دزهای بالا سبب باقی ماندن سلول در مرحله G2 تقسیم سلولی شده، دارای اثرات مخرب روی ژنوم هستند (۲۶). در آزمایش مربوط به شرایط گلخانه‌ای با افزایش دز پرتوتابی گاما درصد بقا گیاه و ارتفاع گیاهچه کاهش نشان داد. شکست‌های کروموزومی در نسل اول پرتوتابی به‌عنوان یک عامل مهم در کاهش رشد و کاهش بقا گیاهان معرفی شده است (۱۶). نتایج این پژوهش در

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده هیبرید ذرت سینگل کراس ۷۰۴

Table 2. Mean comparison for morphophysiological traits of maize SC704hybrid

تعداد	ارتفاع (میلی متر)	وزن خشک ساقچه (میلی گرم)	وزن خشک ریشه‌چه (میلی گرم)	وزن تر ساقچه (میلی گرم)	وزن تر ریشه‌چه (میلی گرم)	طول ساقچه (میلی متر)	طول ریشه‌چه (میلی متر)	طول ریشه‌چه (میلی متر)	تعداد
۹۰/۷ A	۲۹/۱ A	۳/۶ A	۴/۴ A	۱۵۲/۷ A	۱۸۸ A	۴/۳ A	۵/۱ A	۹۲/۸ A	شاهد
۸۵/۷ B	۲۷/۱ B	۲/۹ B	۳/۴ B	۱۴۴/۷ B	۱۲۴/۹ B	۴/۱ B	۴/۸ B	۸۵/۳ B	۱۵۰
۴۸/۳ C	۲۳/۹ C	۲/۵ C	۲/۴ C	۹۶/۷ C	۱۰۲/۸ C	۳/۸ C	۴/۱ C	۸۰/۳ C	۲۰۰
۳۰/۷ D	۱۰/۲ D	۱/۷ D	۲/۰ D	۹۱/۰ D	۹۷/۷ D	۳/۲ D	۳/۸ D	۷۵/۴ D	۲۵۰
۲۸ D	۵/۰ E	۱/۵ D	۱/۸ D	۸۴/۰ E	۷۶/۳ E	۲/۸ E	۳/۱ E	۷۰/۶ E	۳۰۰



شکل ۱- تجزیه پروبیت برای تعیین دز ۵۰٪ کشنده در هیبرید سینگل کراس ۷۰۴
Figure 1. Probit analysis for LD50 determination in hybrid SC704

انواع اکسیژن فعال و وقوع تنش اکسیداتیو در گیاه است. مالون‌دی‌آلدهید به‌عنوان محصولی از پراکسیداسیون لیپید و شاخصی از تولید رادیکال‌های آزاد است که از طریق آسیب به پروتوپلاسم و غشاهای اندام‌ها با تنش‌های محیطی افزایش می‌یابد. رادیکال‌های آزاد اکسیژن با اثر بر روی پیوندهای دوگانه اسیدهای چرب غیراشباع در غشاء واکنش‌های زنجیره‌ای پراکسیداسیون را تحریک کرده و منجر به تخریب اسیدهای چرب می‌شوند. رادیکال‌های آزاد می‌توانند با خارج کردن H^+ از فسفولیپیدها موجب تشکیل رادیکال‌های فعال اسید چرب شوند و رادیکال اسید چرب در حضور اکسیژن با تولید پراکسید اسید چرب می‌تواند ضمن تخریب چربی‌ها و پروتئین‌ها رادیکال‌های بیشتری تولید نماید (۲۷).

با توجه به این نکته می‌توان گفت نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان دادند که با افزایش سطح دز پرتو گاما میزان یون پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدهید در سینگل کراس ۷۰۴ افزایش یافته است (شکل ۴-الف و ۴-ب). با توجه به نقش کلیدی غشاهای تنظیم متابولیسم سلول و اندام‌ها، بررسی آسیب به غشاهای بیولوژیک بر اثر تنش‌های محیطی مورد توجه خاص پژوهشگران قرار گرفته است. امروزه، بر همین اساس از شاخص میزان پراکسیداسیون لیپیدی به‌عنوان معیار ارزیابی آسیب به غشاهای بیولوژیک استفاده می‌شود. میزان پراکسیداسیون لیپیدی نشان‌دهنده شدت آسیب به غشاهای بیولوژیک بر اثر تنش‌های محیطی است (۸،۹). همچنین، افزایش این شاخص بر اثر تنش حاکی از افزایش تولید

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس شاخص‌های ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

Table 3. Analysis of variance for antioxidant capacity

میانگین مربعات						منبع تغییرات
کربوهیدرات کل	CAT	POX	H ₂ O ₂	MDA	درجه آزادی	
۶/۴۹	۴/۴۶	۳/۱۰	۱۱/۵۶	۱۶/۳۴	۴	دوز
۰/۰۰۱۸	۰/۰۱۲	۰/۰۰۶	۰/۰۰۵	۰/۱۴	۱۰	اشتباه آزمایشی
۱/۱۵	۱/۶۷	۱/۶۵	۰/۴۲	۲/۳۹		ضریب تغییرات (%)

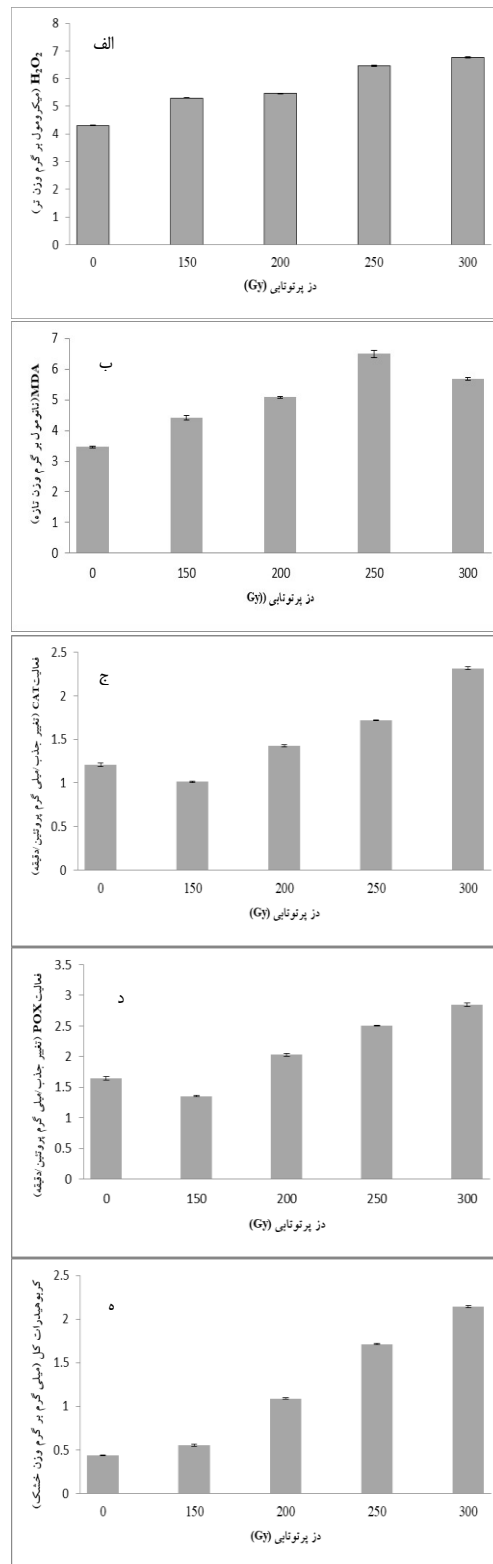
** اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪

مختلف پرتوتابی، فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی را جهت از بین بردن رادیکال‌های آزاد افزایش داده است. با توجه به نتایج به دست آمده، فعالیت آنزیم پراکسیداز بیشتر از فعالیت آنزیم کاتالاز بود؛ لذا می‌توان اینگونه تفسیر کرد که احتمالاً آنزیم پراکسیداز نقش بیشتری را در کاهش خسارات اکسیداسیونی و تجزیه پراکسید هیدروژن بویژه ایفا می‌کند. کاتالاز کارایی کمتری در مقایسه با پراکسیداز در زدودن پراکسید هیدروژن دارد (۲۹). در شرایط تنش، طبق تئوری حلقه بازخورد خود افزایشی^۲ پراکسید هیدروژن سبب تولید بیشتر سالیسیک اسید می‌گردد. سالیسیک اسید با باند شدن با آنزیم کاتالاز فعالیت آن را کاهش می‌دهد (۳۲). کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز نقش مکمل در مقابله با پراکسید هیدروژن دارند بطوری که کاهش کاتالاز موجب تولید آسکوربات پراکسیداز می‌شود و این آنزیم نقش کاتالاز را در جهت مقابله با پراکسید هیدروژن جبران می‌کند (۳۹). محققین افزایش زیاد فعالیت آنزیم پراکسیداز مخصوصاً پس از تابش با دزهای بالایی از پرتو گاما را گزارش کرده‌اند. همچنین شواهد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد فعالیت آنزیم‌های درگیر (مانند پراکسیداز، گلوتاتیون رداکتاز و کاتالاز) در اثر از بین رفتن گونه‌های فعال اکسیژن به وسیله تنش‌های محیطی و پرتوتابی با اشعه گاما افزایش می‌یابد (۲۰، ۲۴، ۳۰).

اکسیژن برای حیات ضروری است در حالی که کاهش آن منجر به تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن^۱ می‌شود (۳). این گونه‌های فعال اکسیژن تحت شرایط نرمال رشد در غلظت‌های کم تولید می‌شوند (۲۵) و سازگاری نسبی را در گیاهان برای مقاومت در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی القا می‌کنند، همچنین به‌عنوان مولکول‌های سیگنالی در پروسه تنظیم بیان ژن و سنتز پروتئین درگیر می‌باشند (۳۵)، اما تحت شرایط تنش بیش از حد تولید می‌شوند و در غلظت‌های زیاد سمی هستند و سبب ایجاد تنش اکسیداتیو و مرگ سلولی می‌شوند (۱۱). طی فرایند یونیزاسیون، مولکول‌های آب هیدرولیز می‌شوند و گونه‌های مانند اکسیژن فعال پراکسید هیدروژن، آنیون سوپر اکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل در اثر پلاریزه شدن مولکول‌های آب تولید می‌شوند. پرتوهای گاما قادرند مستقیماً با مولکول‌های آب واکنش داده و آن‌ها را هیدرولیز نمایند. از طرفی حضور و یا عدم حضور اکسیژن را در اثر هیدرولیز آب، عاملی مؤثر در تغییر pH، دما و رقیق شدگی ترکیبات محلول سلول است (۱۸).

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز

افزایش سطح دز پرتوتابی سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز گردید (شکل ۲) که با نتایج معتمدی و همکاران (۲۲) در خصوص افزایش فعالیت پراکسیداز در گیاهچه‌های گلرنگ تحت شوری مطابقت دارد. دزهای



شکل ۲- پاسخ هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ ذرت به دزهای مختلف پرتوگام (Gy): الف) محتوی پراکسید هیدروژن، ب) مالون‌دی‌آلدئید، ج) کاتالاز، د) پراکسیداز، ه) و کربوهیدرات کل (و) در اندام هوایی سینگل کراس ۷۰۴

Figure 2. Response of Maize hybrid SC704 to different doses of gamma irradiation (Gy) A)hydrogen peroxide content B) Malondialdehyde content C)Catalase D)Peroxidase E)Total carbohydrate in

کربوهیدرات کل

مولکول‌های درشت نظیر نشاسته را به ساکارز و سپس مولکول‌های کوچک‌تری مانند گلوکز و فروکتوز تبدیل می‌کند، که این موضوع موجب منفی‌تر شدن پتانسیل آب در سلول‌ها و تنظیم اسمزی می‌شود (۱۴) کاهش مصرف قند نیز عامل دیگری برای افزایش غلظت قندهای محلول در سلول می‌تواند باشد (۱۴). با این تفاسیر می‌توان نتیجه گرفت که میزان قندهای محلول در هیبرید مورد بررسی، رابطه مستقیمی با میزان تنظیم اسمزی دارد.

این تحقیق به منظور تعیین دز بهینه پرتودهی گاما برای شروع یک برنامه به‌نژادی از طریق جهش به منظور حفظ زمینه ژنتیکی هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ ذرت انجام شد. با استفاده از تجزیه پروبیت برای بررسی کاهش ۵۰ درصدی رشد، دز ۲۱۲/۹۶ گری به عنوان دز بهینه پرتوگاما برای القای جهش انتخاب شد. نتایج این تحقیق نشان داد، اثرات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ناشی از پرتوتابی در آزمایش جوانه‌زنی و گلخانه‌ای در هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ ذرت با افزایش دز پرتو تابیده شده شدیدتر ظهور یافت.

نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که پرتودهی تأثیر معنی‌داری بر میزان قندهای محلول گیاهان مورد بررسی داشت. به نحوی که افزایش پرتوتابی بذرها سبب افزایش معنی‌دار میزان قندهای محلول در هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ در مقایسه با شاهد شد (شکل ۴-۵). این افزایش با نتایج قربانی و همکاران (۱۰) منطبق است. افزایش قندهای محلول به‌عنوان یکی از اسمولیت‌های سازگار می‌تواند به‌عنوان عاملی مهم در حفظ تعادل اسمزی، ادامه جذب آب، حفظ ساختارهای سلولی، ترکیبات پروتئینی و آنزیمی مؤثر واقع شود (۱۵). همچنین گزارش شده که گروه‌های هیدروکسیل قندها جایگزین آب غشاهای پروتئین‌ها می‌شوند و با آن‌ها پیوندهای هیدروژنی تشکیل داده و از تغییر شکل آن‌ها به دنبال هیدرولیز آب جلوگیری می‌کنند (۱۵). این نتایج نشان می‌دهد که هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ در پاسخ به پرتو، قندهای محلول بیشتری در برگ خود انباشته‌اند. گزارشات نشان می‌دهد که تحت شرایط تنش، گیاه به منظور گریز از پلاسمولیز و ادامه تورژانس در سلول‌های خود،

منابع

1. Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. In *Methods in enzymology*, pp: 121-126: Elsevier
2. Allen, R.D. 1995. Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. *Plant physiology* 107: 1049.
3. Asada, K. 1999. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual review of plant biology*, 50: 601-639.
4. Bagheri, L., R. Amiri-Khah and K. Mozafari. 2017. Effect of Gamma Irradiation on Growth and Determine Optimum Dose in Order to Induce Genetic Variation in landrace Rice. *Journal of Crop Breeding*, 9: 130-138.
5. Bird, R., S.S. Hung, M. Hadley and H. Draper. 1983. Determination of malonaldehyde in biological materials by high-pressure liquid chromatography. *Analytical biochemistry*, 128: 240-244.
6. Calucci, L., C. Pinzino, M. Zandomenighi, A. Capocchi, S. Ghiringhelli, F. Saviozzi, S. Tozzi and L. Gallechi. 2003. Effects of γ -irradiation on the free radical and antioxidant contents in nine aromatic herbs and spices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 927-934.
7. Chaudhuri, S.K. 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: 131-136.
8. Esfandiari, E., V. Enayati and A. Abbasi. 2011. Biochemical and physiological changes in response to salinity in two durum wheat (*Triticum turgidum* L.) genotypes. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 39: 165.
9. Esfandiari, E., A. Javadi, M. Shokrpour and F. Shekari. 2011. The effect of salt stress on the antioxidant defense mechanisms of two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Fresenius Environ. Bull*, 20: 2021-2026.
10. Gniazdowska, A., U. Krasuska and R. Bogatek. 2010. Dormancy removal in apple embryos by nitric oxide or cyanide involves modifications in ethylene biosynthetic pathway. *Planta*, 232: 1397-1407.
11. Golden, T.R., D.A. Hinerfeld and S. Melov. 2002. Oxidative stress and aging: beyond correlation. *Aging cell*, 1: 117-23.
12. Hallauer, A.R., M.J. Carena and J.D. Miranda Filho. 2010. Testers and combining ability. In *Quantitative genetics in maize breeding*, pp: 383-423: Springer.
13. Hameed, A., T.M. Shah, B.M. Atta, M.A. Haq and H. Sayed. 2008. Gamma irradiation effects on seed germination and growth, protein content, peroxidase and protease activity, lipid peroxidation in desi and kabuli chickpea. *Pakistan Journal of Botany*, 40: 1033-1041.
14. Irigoyen, J., D. Einerich and M. Sánchez-Díaz. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia plantarum*, 84: 55-60.
15. Kafi, M., A. Borzoui, M. Salehi, A. Kamandi, A. Masoumi and J. Nabati. 2009. Physiology of environmental stresses in plants.

16. 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: 135-149.
17. Kodym, A., R. Afza, B. Forster, Y. Ukai, H. Nakagawa and C. Mba. 2012. Methodology for physical and chemical mutagenic treatments. *Plant mutation breeding and biotechnology*. CABI, Wallingford: 169-180.
18. Kovacs, E. and A. Keresztes. 2002. Effect of gamma and UV-B/C radiation on plant cells. *Micron*, 33: 199-210.
19. Majd, F. and M.R. Ardakani. 2002. Application of Nuclear Techniques in Agricultural Sciences (In Persian).
20. Marwood, C.A. and B.M. Greenberg. 1996. Effect of supplementary UVB radiation on chlorophyll synthesis and accumulation of photosystems during chloroplast development in *Spirodela oligorrhiza*. *Photochemistry and photobiology*, 64: 664-670.
21. Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in plant science*, 7: 405-410.
22. Motamedi, M., Z. Khodarahmpour and H.N. Rad. 2011. Study of physiologic tolerance of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes on salinity stress in germination stage and seedling growth (In Persian). *Journal of Crop Breeding*, 8: 81-92.
23. Neill, S., R. Desikan and J. Hancock. 2002. Hydrogen peroxide signalling. *Current opinion in plant biology*, 5: 388-395.
24. Poleskaya, O., E. Kashirina and N. Alekhina. 2004. Changes in the activity of antioxidant enzymes in wheat leaves and roots as a function of nitrogen source and supply. *Russian journal of plant physiology*, 51: 615-620.
25. Polle, A. 2001. Dissecting the superoxide dismutase-ascorbate-glutathione-pathway in chloroplasts by metabolic modeling. Computer simulations as a step towards flux analysis. *Plant Physiology*, 126: 445-462.
26. Preuss, S. and A. Britt. 2003. A DNA-damage-induced cell cycle checkpoint in *Arabidopsis*. *Genetics*, 164: 323-334.
27. R, J.S., M. Kalantari, K. Ahmadi and A. Mousavi. 2007. The effect of lidocaine and terazol on the accumulation of antioxidants in tomato seedlings under cold stress. *Iran Biology Magazin*, 20: 290-298.
28. Saborío, F., G. Umaña, W. Solano, P. Amador, G. Muñoz, A. Valerin, A. Torres and R. Valverde. 2004. Induction of genetic variation in *Xanthosoma spp*. Genetic improvement of under-utilized and neglected crops in low income food deficit countries through irradiation and related techniques: 143-154.
29. Sairam, R. and G. Srivastava. 2002. Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. *Plant Science*, 162: 897-904.
30. Sgherri, C.L.M., M. Maffei and F. Navari-Izzo. 2000. Antioxidative enzymes in wheat subjected to increasing water deficit and rewatering. *Journal of Plant Physiology*, 157: 273-279.
31. Shelmani, M., M.B.N. Khiabani, H.A. Mostafavi, M. Heydarieh and A. Majdabadi. 2009. Nuclear agriculture (In persian).
32. Shirasu, K., H. Nakajima, V.K. Rajasekhar, R.A. Dixon and C. Lamb. 1997. Salicylic acid potentiates an agonist-dependent gain control that amplifies pathogen signals in the activation of defense mechanisms. *The Plant Cell*, 9: 261-270.
33. Singletary, G.W., R. Banisadr and P.L. Keeling. 1994. Heat stress during grain filling in maize: effects on carbohydrate storage and metabolism. *Functional Plant Biology*, 21: 829-841.
34. Srivastava, S.K. 1987. Peroxidase and Poly-Phenol Oxidase in Brassica juncea Plants Infected with *Macrophomina phaseolina* (Tassai) Goid. and their Implication in Disease Resistance. *Journal of Phytopathology*, 120: 249-254.
35. Tuteja, N. and S.K. Sopory. 2008. Chemical signaling under abiotic stress environment in plants. *Plant signaling & behavior*, 3: 525-536.
36. Ufaz, S. and G. Galili. 2008. Improving the content of essential amino acids in crop plants: goals and opportunities. *Plant Physiology*, 147: 954-961.
37. Van Harten, A.M. 1998. Mutation breeding: theory and practical applications: Cambridge University Press.
38. 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: 553-564.
39. Willekens, H., S. Chamnongpol, M. Davey, M. Schraudner, C. Langebartels, M. Van Montagu, D. Inzé and W. Van Camp. 1997. Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C3 plants. *The EMBO journal*, 16: 4806-4816.
40. Yang, T. and B. Poovaiah. 2002. Hydrogen peroxide homeostasis: activation of plant catalase by calcium/calmodulin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99: 4097-4102.

Determination of Optimum Irradiation Dose and Evaluation of Morphophysiological and Biochemical Indices of SC704 maize Hybrid under Different Doses of Gamma Irradiation

Siavash Salimian Rizi¹, Hassan Soltanloo², Seyedeh Sanaz Ramezani³,
Rajab Choukan⁴ and Ali Asghar Nasrolahnezhad Ghomi⁵

1, 3 and 5- PhD student of Nuclear Agriculture, Associate Professor and Assistant Professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Sciences

2- Associate Professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Sciences Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, (Corresponding author: soltanlooh@gau.u.ac.ir)

4- Professor Karaj institute of Seed and Plant Improvement

Received: February 14, 2018 Accepted: September 2, 2018

Abstract

Mutations induced by gamma irradiation are part of improving some important agronomic traits in crops. Identifying the optimal mutagenic dose is considered to be the most crucial step in trials and generating mutated genetic materials. The goal of this study was to evaluate the effect of different doses of gamma ray (0, 150, 200, 250 and 300 Gy) on some plant early stages traits and biochemical characteristics in SC704. Based on the probit analysis, the optimum gamma irradiation dose for induction of mutation in SC704 were 212.69 Gy. Significant differences were observed for irradiation dosage in all growth traits, including root length, shoot length, root fresh weight, shoot fresh weight, root dry weight and shoot dry weight, plant height and survival percentage. As the dose level increased, total carbohydrates, malondialdehyde, hydrogen peroxide and catalase and peroxidase enzymes increased.

Keywords: Maize, Oxidative Stress, Gamma Rays, Mutation breeding