



فصلنامه علمی - پژوهشی گیاه و زیست بوم

سال ۱۰، شماره ۳۸، بهار ۱۳۹۳

تأثیر اشعه گاما و پرولین بر جوانه‌زنی و رشد کالوس در گیاه برنج (*Oryza sativa* L.)

عباسعلی دهپور جویباری^{۱*}، سپیده میرزائزاد^۱، وحیدا مهدوی^۱

چکیده

در این مطالعه، تأثیر پیش تیمار اشعه گاما و پرولین بر بهبود جوانه‌زنی در برنج طارم بررسی شد. بذرهای رسیده و سالم برنج تحت سه دوز اشعه گاما (۱۰۰، ۲۰، ۰ Gy) قرار گرفتند. جهت کالوس‌زایی و کشت بذرها، ابتدا سطح بذرها طی مراحل استریل شده و سپس در محیط کشت MS با سه دوز پرولین (۱۰، ۵، ۰ mM) کشت شدند. پس از ۴ هفته، وزن تر و قطر کالوس‌ها در نمونه‌های شاهد و تیمارها، اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از بررسی‌ها نشان می‌دهد که پیش تیمار بذرها با اشعه گاما و پرولین در رشد کالوس نسبت به نمونه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد. درصد جوانه‌زنی در نمونه‌های تحت تیمار نسبت به شاهد دارای تفاوت معنی‌داری بود، همچنین بیشترین قطر کالوس در تیمار (پرولین ۱۰ Mm و گاما ۲۰ Gy) مشاهده شد، در حالی که قطر کالوس در نمونه شاهد کمترین بود. بیشترین وزن تر کالوس در تیمار (پرولین ۰ mM و گاما ۱۰۰ Gy) بود، در حالی که کمترین وزن کالوس در نمونه‌های شاهد مشاهده شد. در این بررسی بهترین و مناسب‌ترین تیمارها جهت رشد کیفی و کالوس‌زایی در برنج، تیمار (پرولین ۱۰ mM و گاما ۲۰ Gy) بود.

واژه‌های کلیدی: برنج، کشت بافت، پرولین، اشعه گاما

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائمشهر، گروه زیست‌شناسی قائمشهر، ایران

* مکاتبه کننده: (adehpour@yahoo.com)

تاریخ پذیرش: تابستان ۱۳۹۰

تاریخ دریافت: پاییز ۱۳۸۹

مقدمه

برنج با نام علمی (*Oryza sativa* L.) از خانواده گندمیان گیاهی است یکساله با ساقه استوانه‌ای صاف و توخالی و در محل گره توپر با برگ‌های باریک، خوشه انتهایی. میوه در گیاه برنج از نوع گندمه می‌باشد. برنج از مهم‌ترین غلات و از گیاهان علفی مهم در قاره آسیا است. دانه برنج و فرآورده‌های آن تقریباً ۴۰ درصد غذای موردنیاز مردم دنیا را تشکیل می‌دهند. محل پیدایش برنج را قاره آسیا در جنوب شرقی آن و هندوستان می‌دانند این گیاه تقریباً ۴۰۰۰ سال قبل از میلاد در کشورهای هند و چین متداول بوده است. پس از گندم، برنج دومین غله مهم دنیا را تشکیل می‌دهد. در ایران، کشت برنج در نواحی شمالی به‌ویژه رودسر و استان خوزستان تاریخچه طولانی دارد. پوست برنج از منابع اصلی ویتامین B₁ است. ترکیب اصلی برنج عمدتاً نشاسته موجود در آندوسپرم آن است. مواد موجود در دانه برنج را کربوهیدرات (عمدتاً نشاسته)، مواد پروتئینی (انواع اسید آمینه)، چربی، سلولز، آب و املاح، ویتامین تشکیل می‌دهد. برنج همچون محصولات دیگر تحت تنش‌های محیطی قرار می‌گیرد. از جمله تنش‌های محیطی که در این بررسی موردآزمایش قرار گرفت، اشعه گاما می‌باشد. این اشعه متعلق به تابش‌های یونیزه‌کننده است که مستقیماً بر ماده ژنتیک اصابت کرده و سبب موتاسیون ژنی یا تغییرات کروموزومی می‌شود. رادیکال‌های پراثری تولیدشده نیز با ایجاد پیوندهای شیمیایی و واکنش با سایر مولکول‌ها انرژی خود را تخلیه می‌کنند (Wi et al., 2007). تابش اشعه‌های یونیزه‌کننده برای استریل کردن برخی محصولات کشاورزی، افزایش زمان ماندگاری و کاهش پاتوژن‌ها استفاده می‌شود (Melki et al., 2008). گیاهان در

پاسخ به دزهای متفاوت اشعه گاما علائم فیزیولوژیک مختلفی نشان می‌دهند. دزهای پایین اشعه موجب افزایش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه می‌شود در مقابل دزهای بالا سبب کاهش قدرت جوانه‌زنی حتی توقف آنها می‌گردد (Preuss et al., 2004). شدت تأثیر اشعه به مرحله نمو گیاه مربوط می‌شود. بیشترین میزان حساسیت را بافت‌های درحال تمایز نشان می‌دهند (Zaka et al., 2004). تابش‌های بالای ۵۰ گری در جوانه‌های آرابیدوپیس موجب کاهش رشد شدند (Wi et al., 2007). از مراحل مهم جهت تیمار با مواد جهش‌زا تخمین دز مناسب می‌باشد. واحد دز جذب‌شده انرژی تابشی، گری (Gray) می‌باشد. ۱ گری معادل ۱ ژول بر کیلوگرم و یا ۱۰۰ راد^۱ می‌باشد.

این مطالعه در گیاه برنج طارم محلی انجام شد. مهم‌ترین سوال این تحقیق آن است که آیا پرولین می‌تواند تأثیر مخرب اشعه گاما را در کالوس‌زایی و جوانه‌زنی از بین برد؟ آیا می‌توان با تولید کالوس به گیاهان عاری از بیماری و با منشأ ژنتیکی یکسان دست یافت؟

مواد و روش‌ها

بذرهای رقم برنج طارم هاشمی از سازمان تحقیقات کشاورزی استان مازندران تهیه و در پاکت‌هایی به ابعاد ۱۴ در ۱۹ سانتی‌متر قرار داده شدند و سپس با استفاده از چشمه کبالت ۶۰ از نوع گاما کنش دزیمتری استاندارد ثانویه سازمان انرژی اتمی ایران با دزهای ۰، ۲۰ و ۱۰۰ گری پرتودهی شدند. بذور تحت تیمار تابش اشعه گاما و شاهد پس

۱- Rad

تیمارها بود. میانگین قطر کالوس در تیمارها نسبت به شاهد بیشترین مقدار را دارا بود. کمترین میانگین قطر کالوس مربوط به تیمار $4 \text{ Gy} = \gamma = 20 \text{ mM}$ و $5 \text{ Pro} = 5$ بود؛ در حالی که، درصد جوانه‌زنی نسبتاً بالا داشت (جدول ۲ و نمودار، ۱، ۲ و ۳). این بررسی نشان داد که اشعه گاما و غلظت‌های پرولین بر میانگین وزن تر و قطر کالوس تأثیر داشت. به طوری که میانگین قطر کالوس در تیمارها نسبت به شاهد بیشترین مقدار بود.

بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق که در مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر انجام شد، با افزایش اشعه گاما در صورت فقدان پرولین، اندازه کالوس، افزایش داشت به طوری که در 100 Gy ، قطر کالوس بیشترین مقدار بود. در نمونه‌های تحت تیمار اشعه گاما 100 Gy قطر کالوس بیشترین اندازه را داشت و اختلاف معنی‌داری از لحاظ قطر کالوس با نمونه شاهد وجود داشت که این نتایج با بررسی‌های غلامپور و همکاران (۱۳۸۹) مطابقت دارد. طی بررسی‌های (Zaka et al 2007) پر توده‌ی جوانه‌های ۵ روزه نخود با دُزهای بالاتر از 6 Gy ، موجب کاهش معنی‌داری در رشد می‌گردد، اما دُز 40 Gy و بالاتر از آن به طور کامل موجب مرگ گیاهان می‌شد (در طی بررسی‌های (2007) et al Wi در گیاه آرابیدوپسیس دریافتند که میزان رشد جوانه‌ها در دُزهای پایین اشعه گاما (0 Gy تا 2 Gy) در مقایسه با نمونه شاهد تا حدی افزایش داشت ولی در دُزهای بالای 50 Gy به طور معنی‌داری موجب کاهش رشد شدند. با افزایش دُز اشعه گاما در کشت بساک و پانیکول رقمی از برنج هندی (TM7-5) مدت زمان تولید و رشد کالوس افزایش داشت

از ضد عفونی با اتانول ۷۰ درصد و آب ژاول ۵۰ درصد و توئین، در زیر هود لامینار در محیط کشت MS در سه غلظت پرولین (۰، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار) کشت شدند (Zaka et al., 2007). پلیدها با پارافیلیم به خوبی بسته شده و به انکوباتور 2 ± 25 درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کامل تصادفی با ۸ تیمار در ۴ تکرار در غلظت‌های مختلف اشعه گاما و پرولین انجام شد (جدول ۱).

تیمار ۹ به عنوان شاهد ($0 \text{ Gy} = \gamma$ و $0 \text{ mM} = \text{Pro}$) بود. وانه‌زنی از روز سوم شروع گردید و بعد از یک هفته جهت بررسی تأثیر اشعه گاما و پرولین، میزان درصد جوانه‌زنی بذرهای مورد بررسی قرار گرفت و پس از ۴ هفته وزن تر کالوس‌ها اندازه‌گیری شد (تصویر ۱). قطر کالوس نیز با کولیس به دست آمد. داده‌ها با نرم‌افزار آماری SPSS آنالیز شدند.

نتایج

بذرهای برنج در معرض دُزهای مختلف اشعه گاما ($0, 20, 100 \text{ Gy}$) قرار گرفت و در محیط کشت MS حاوی پرولین با غلظت‌های ($0, 5, 10 \text{ mM}$) کشت شدند. نتایج نشان داد که وزن تر کالوس بین تیمارها و شاهد اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ($P < 0.01$) دارد. بیشترین میانگین درصد جوانه‌زنی ۱۰۰٪ در گیاهان شاهد مشاهده شد و کمترین وزن تر کالوس ($0.07 \pm 0.15 \text{ g}$) مربوط به تیمار 9 Gy و $0 \text{ mM} = \gamma$ و $0 \text{ mM} = \text{Pro}$ بود. بیشترین میانگین وزن تر کالوس ($0.4 \pm 0.09 \text{ g}$) مربوط به تیمار 2 Gy و $100 \text{ mM} = \gamma$ و $0 \text{ mM} = \text{Pro}$ بود. میانگین کل درصد جوانه‌زنی در تیمارها و شاهد (1.09 ± 95.39) و میانگین کل وزن تر کالوس (0.11 ± 78) در میان

بنابراین کالوس‌ها ریزترند اما درصد بیشتری از بذرها، کالوس‌زایی داشتند. با افزایش هم‌زمان و تدریجی پرولین و اشعه گاما در میان تیمارها، قطر کالوس افزایش یافته اما تعداد و وزن تر کالوس، کمتر بود. در بررسی دیگر تأثیر اشعه گاما (۴۰۰، ۳۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰) بر دانه رست‌های گندم نشان داد که بیشترین محتوی پرولین در ۱۰۰ Gy بود (Borzouei *et al.*, 2010). بنابراین احتمالاً، پرولین نتواند تأثیر اشعه گاما را در کالوس‌زایی و جوانه‌زنی از بین ببرد، اما در رشد کالوس‌ها تأثیر شگرفی دارد که این موضوع جهت کشت بافت، تکثیر و محیط بازرزایی در تحقیقات بسیار مناسب می‌باشد. می‌توان نتیجه گرفت، اشعه گاما و غلظت‌های مختلف پرولین بر میانگین وزن تر کالوس در تیمارها و قطر آن تأثیر خوبی داشت به طوری که در نمونه‌های شاهد، پارامترهای فوق در حد بسیار پایین بودند. درحالی که درصد جوانه‌زنی شاهد نسبت به تیمارها، بیشتر بود.

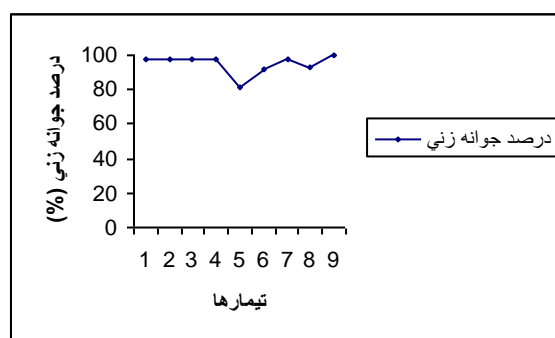
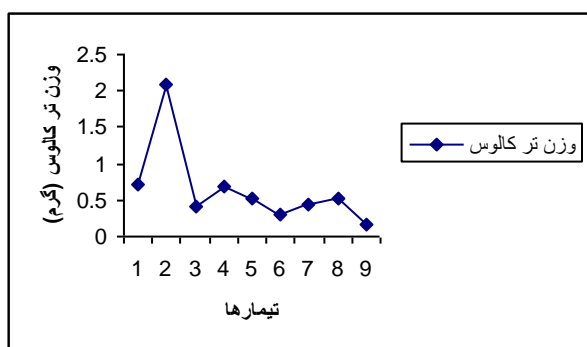
(Muya *et al.*, 2005). دُز بالای ۶۰ Gy در برنج موجب افزایش درصد جوانه‌زنی می‌شود (Preuss *et al.*, 2004; Zaka *et al.*, 2004). طبق مطالعات انجام‌شده از لحاظ وزن تر کالوس میان تیمارها، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ($P < 0.01$) وجود دارد. بررسی‌های فلاحتی و همکاران (۱۳۸۶) نشان می‌دهد که وزن تر کالوس میان نمونه‌های اشعه‌دیده در برنج طارم محلی با دُزهای (۶۰ Gy، ۲۰، ۰) تفاوت معنی‌داری وجود دارد. جهت دستیابی به نمونه‌هایی با کالوس‌های بزرگ‌تر میانگین قطر کالوس در تیمار $\gamma = 20$ Gy و Pro = 10 mM مناسب‌ترین بود؛ درحالی که تحت تأثیر تیمار ۲ Gy (Pro = 0 mM و $\gamma = 100$ ، میانگین قطر کالوس در حد متوسط؛ اما درصد جوانه‌زنی و وزن تر کالوس، بیشترین مقدار بود. در تیمار ۲، این غلظت از پرولین و اشعه گاما جهت دستیابی به تعداد زیادی کالوس با وزن و قطر بالا مناسب بود. در تیمار ۴ (Pro = 5 mM و $\gamma = 20$ Gy) کمترین، و وجود این میانگین وزن آنها، نسبتاً بالاست.

جدول ۱- غلظت‌های متفاوت پرولین و اشعه گاما در تیمارها و شاهد

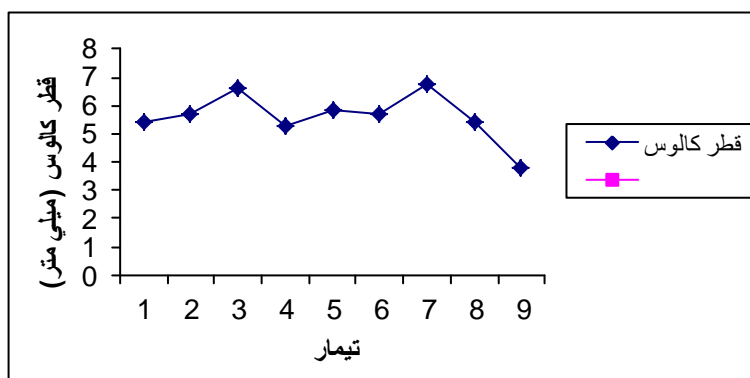
تیمار	غلظت پرولین (mM)	میزان اشعه گاما (Gy)
۱	۰ mM	۲۰ Gy
۲	۰ mM	۱۰۰ Gy
۳	۵ mM	۰ Gy
۴	۵ mM	۲۰ Gy
۵	۵ mM	۱۰۰ Gy
۶	۱۰ mM	۰ Gy
۷	۱۰ mM	۲۰ Gy
۸	۱۰ mM	۱۰۰ Gy
۹	۰ mM	۰ Gy

جدول ۲- میانگین درصد جوانه زنی، قطر کالوس و وزن تر کالوس در تیمارها و شاهد

Mean \pm SE			
تیمار	درصد جوانه زنی	قطر کالوس	وزن تر کالوس
۱	۹۸ \pm ۲	۵/۴۰ \pm ۰/۵۶	۰/۷۲ \pm ۰/۱۷
۲	۹۸ \pm ۲	۵/۶۷ \pm ۰/۳۹	۲/۰۹ \pm ۰/۴۲
۳	۹۷/۴۷ \pm ۱/۷۰	۶/۶۵ \pm ۰/۴۸	۰/۴۲ \pm ۰/۰۴
۴	۹۷/۵۰ \pm ۲/۵۰	۵/۲۸ \pm ۰/۲۲	۰/۷۰ \pm ۰/۱۰
۵	۸۱/۶۲ \pm ۷/۰۹	۵/۸۷ \pm ۰/۴۱	۰/۵۲ \pm ۰/۰۵
۶	۹۱/۹۴ \pm ۳/۳۷	۵/۷۰ \pm ۰/۶۷	۰/۲۹ \pm ۰/۰۶
۷	۹۷/۲۲ \pm ۲/۷۸	۶/۷۴ \pm ۰/۸۷	۰/۴۴ \pm ۰/۱۱
۸	۹۳/۵۶ \pm ۲/۶۳	۵/۴۰ \pm ۰/۱۶	۰/۵۱ \pm ۰/۰۸
۹	۱۰۰ \pm ۰/۰۰	۳/۸۰ \pm ۰/۴۹	۰/۱۶ \pm ۰/۰۷
میانگین کل	۹۵/۴۰ \pm ۱/۰۸	۵/۶۷ \pm ۰/۱۹	۰/۷۷ \pm ۰/۱۱



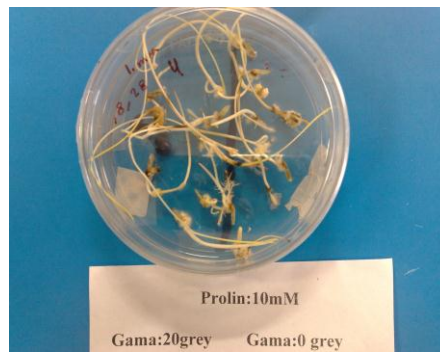
نمودار ۱- میانگین درصد جوانه زنی در تیمارها و شاهد نمودار ۲- میانگین وزن تر کالوس در تیمارها و شاهد



نمودار ۳- میانگین قطر کالوس در تیمارها و شاهد

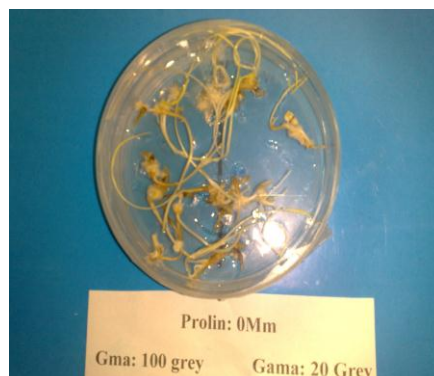


تصویر ۱- رشد کالوس پس از ۴ هفته



تصویر ۲- سمت چپ: رشد کالوس در تیمار (Pro: ۰mM و γ : ۱۰۰Gy)

سمت راست: رشد کالوس در تیمار (Pro: ۱۰ mM و γ : ۰Gy)



تصویر ۳- سمت چپ: رشد کالوس در تیمار (γ : ۲۰Gy و Pro: ۱۰mM)

سمت راست: رشد کالوس در تیمار (γ : ۲۰Gy و Pro: ۰ mM)

منابع

فلاحتی، ع.، م. لاهوتی، ابهرامی، ک. کاظمی تبار، و ع. دهستانی. ۱۳۸۶. اثرات جهش‌زایی اشعه گاما بر برنج رقم ایندیکا. همایش ملی بیوتکنولوژی. ۵ - ۳ آذرماه.

غلامپور، م.، ع. دهپور، و پ. راهداری. ۱۳۸۹. بررسی اثر تابش اشعه گاما و استرس شوری بر روی برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه برنج رقم محلی طارم هاشمی (*Oryza sativa* L.). اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی. فصل ۲. شماره ۱. ص. ۱۳۱-۱۲۶.

Muya, M.S., S.Hua-min, L.Wen-zhen, and S.Zong-xiu. 2005. Effect of 137Cs Gamma Rays to Panicles on Rice Anther Culture. 12(4): 299 –302

Borzouei, A., M.Kafi, H.Khazaei, B.Naserian, and A.Majdabadi. 2010. Effects of Gamma Radiation on Germination and Physiological Aspects of WHEAT (*Triticum aestivum* L.) Seedlings. 42 (4): 2281-2290.

Melki, M., and D.Salami. 2008. Studies the effects of low dose of gamma rays on the behavior of *Chickpea* under various conditions. Pak. J. Biol. Sci., 11(19): 2326-2330.

Preuss, S.B., and A.B.Britt. 2004. A DNA-damage – induced Cell Cycle Checkpoint in arabidopsis. Genetics 164 : 323-334.

Wi, S.G., B.Chung, J.S.Kim, M.H.Kim, J.W.Beak Lee, and Y.S.Kim. 2007. Effect of gamma irradiation morohological changes and biological responsisin Plants. Micron. 38:553-564.

Zaka, R., C.Chanal, and M.T.Misset. 2004. Effects of low doses of short-term gamma irradiation on growth and development through two generation of *Pisum Sativum*. Science of the Total environmen. 320, 121-129.

