

The effects of gamma rays on some phytochemical characteristics in purslane at M₂ generation

Pegah Farhadi

MSc Graduate, College of Agriculture, Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. Email address: pegah.farhadi90@gmail.com

Mohammad Hoseein Fotokian 

*Corresponding Authour: Associate Professor, College of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran. Email address: fotokian@shahed.ac.ir

Maryam Pejmanmehar

Assistant Professor, Department of Chemistry and Biochemistry, University of Windsor, Windsor, Ontario, Canada. Email address: m.pezhmanmehr@gmail.com

Zahra Danaeipour

PhD, Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran. Email address: danazahra@ymail.com

Abstract

Objective

Purslane (*Portulaca oleracea* L), contains various medicinal compounds whose quantity is influenced by its genotype and growing conditions. One way to increase the performance of these compounds is by using an artificial mutation breeding method such as gamma rays. This study investigated the effects of gamma rays on some phytochemical traits and grain oil content in the second generation (M₂) of purslane.

Materials and Methods

After determining the appropriate dosage and exploring the effects of gamma rays on purslane, the purslane grains were irradiated with gamma rays at doses of 0, 200, 300, 400, and 500 Gy. The M₂ and control (non-irradiated) grains were cultivated in the second year as plants in rows in the College of Agriculture, Shahed University research farm. Characteristics such as total chlorophyll, carotenoid, anthocyanin, and flavonoid content, along with the activity of peroxidase and catalase enzymes in the leaves, and grain oil content were measured.

Results

The analysis of variance showed that the difference among the gamma-ray doses was significant for all the studied traits. The maximum oil content, chlorophyll content, and catalase activity were observed in the 400 Gy. The doses of gamma rays were divided into three groups in terms of peroxidase amount. The maximum peroxidase was obtained in the 200 Gy. This was not significantly different compared with the 300 and 400 Gy. Grain oil content significantly correlated with anthocyanin and flavonoids. The correlation of peroxidase with other phytochemical traits was not significant, except for catalase. At a dose of 400 Gy, one line was obtained, which was superior to the control in terms of most of the studied traits. The amount of grain oil in this line was about 57% more than the control.

Conclusion

The results of this research showed that the gamma-ray induced mutagenesis can be used to create genetic diversity in purslane phytochemical traits.

Keywords: Flavonoid compounds, Genetic diversity, Grain oil, Medicinal plants, Mutation.

Paper Type: Research Paper.

Citation: Farhadi P, Fotokian MH, Pejmanmehar M, Danaeipour Z (2024) The effects of gamma rays on some phytochemical characteristics in purslane at M₂ generation. *Journal of Genetics and Plant Breeding* 1 (1), 27-42.

Journal of Genetics and Plant Breeding 1 (1), 27-42. DOI: 10.22103/gpb.2024.23117.1006

Received: December 19, 2023.

Received in revised form: February 23,

2024.

Accepted: February 25, 2024.

Published online: April 6, 2024.

Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production,

Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman and

Iranian Genetics Society.



© the authors

اثرات اشعه گاما بر برخی صفات فیتوشیمیایی در خرفه در نسل M₂

پگاه فرهادی

دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران. رایانامه:

pegah.farhadi90@gmail.com

 محمدحسین فتوکیان

*نویسنده مسئول: دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران. رایانامه:

fotokian@shahed.ac.ir

مریم پژمان مهر

استادیار، گروه شیمی و بیوشیمی، دانشگاه ویندزور، ویندزور، انتاریو، کانادا. رایانامه: m.pezhmanmehr@gmail.com

زهرا دانایی پور

دانش آموخته دکتری، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)، قزوین.

رایانامه: danazahra@ymail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۲۸ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۲/۱۲/۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۶

چکیده

هدف: خرفه (*Portulaca oleracea* L.) حاوی ترکیبات زیستی دارویی است که میزان این ترکیبات به ژنوتیپ و محیط رشد آن بستگی زیادی دارد. یکی از راه‌های افزایش عملکرد این ترکیبات، استفاده از روش به‌نژادی توسط جهش مصنوعی مانند استفاده از اشعه گاما است. در این تحقیق اثرات اشعه گاما بر برخی صفات فیتوشیمیایی و میزان روغن دانه در نسل دوم (M₂) خرفه بررسی شد.

مواد و روش‌ها: پس از تعیین دز مناسب اشعه گاما، بذور خرفه با دزهای ۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ گری (GY) پرتوتابی شدند. بذور M₂ به‌همراه بذور شاهد (بذور اشعه نتابیده) در سال دوم به‌صورت بوته به ردیف در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد کشت شدند. صفاتی مانند میزان کلروفیل کل، مقدار کارتنوئید، میزان آنتوسیانین، ترکیبات فلاونوئیدی، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در برگ و میزان روغن دانه اندازه‌گیری شدند.

نتایج: در تجزیه واریانس چندگانه تفاوت بین دزهای اشعه گاما برای صفات مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج تجزیه واریانس ساده نشان داد که تفاوت بین دزهای اشعه گاما برای همه صفات مورد مطالعه معنی‌دار بودند. حداکثر میزان روغن، میزان کلروفیل و کاتالاز در دز ۴۰۰ گری مشاهده شد. دزهای اشعه گاما از نظر مقدار پراکسیداز، در سه گروه قرار گرفتند. حداکثر پراکسیداز که در دز ۲۰۰ گری برآورد شد، با دزهای ۳۰۰ و ۴۰۰ گری تفاوت معنی‌دار نداشت. میزان روغن دانه با آنتوسیانین و فلاونوئید همبستگی معنی‌دار نشان داد. همبستگی پراکسیداز با بقیه صفات فیتوشیمیایی به استثنای کاتالاز معنی‌دار نبود. در دز ۴۰۰ گری یک لاین بدست آمد که از نظر بیشتر صفات مورد مطالعه برتر از شاهد بود. مقدار روغن دانه در این لاین حدود ۵۷ درصد از شاهد بیشتر بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان داد که ماده جهش‌زای اشعه گاما می‌تواند برای ایجاد تنوع ژنتیکی در صفات فیتوشیمیایی خرفه مورد استفاده قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: ترکیبات فلاونوئیدی، تنوع ژنتیکی، روغن دانه، گیاهان دارویی، موتاسیون.

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: فرهادی پگاه، فتوکیان محمدحسین، پژمان مهر مریم، دانایی‌پور زهرا (۱۴۰۳) اثرات اشعه گاما بر برخی صفات فیتوشیمیایی در خرفه در نسل M₂. مجله ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، ۱(۱)، ۲۷-۴۲.

Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production,
Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman and
Iranian Genetics Society



© the authors

مقدمه

خرفه با نام علمی *Portulaca oleracea* L. از خانواده Portulacaceae گیاهی زینتی و خوراکی با عادت رشدی خزنده است. این گونه خودگشن و پلی‌پلوئید ($2n=6x=54$) می‌باشد (Walter et al. 2015). بیش از ۱۰۰ گونه در خانواده Portulacaceae وجود دارد که در نقاط مختلف کره زمین مخصوصاً در آمریکا پراکندگی دارند (Aisyah et al. 2022). این گیاه در اکثر مناطق ایران رشد می‌کند و علف هرز اکثر گیاهان صنعتی، جالیزی، حبوبات و باغ‌های میوه به‌شمار می‌رود (Rastegar, 2005). خرفه عموماً علفی، گوشت‌دار و یک‌ساله تابستانه است که برگ‌هایی متقابل و گل‌هایی کوچک به رنگ زرد دارد. این گیاه دارای طبیعت سرد و تر است که در طب قدیم خواص درمانی متعددی برای آن در نظر گرفته شده است (Changizi-Ashtiyani et al. 2013). تحقیقات گسترده روی ترکیبات فیتوشیمیایی این گیاه حضور فلاونوئیدها، ترپنوئیدها، آلکالوئیدها، اسیدهای چرب،

اسیدهای ارگانیک، مواد معدنی و ویتامین‌ها را به اثبات می‌رساند و بدلیل اثرات زیستی آن‌ها منجر به شناخت آن به‌عنوان یک گیاه دارویی شده است (Devi et al. 2019; Alahbakhsh et al. 2020).

ترکیبات موثر گیاهان دارویی به ژنوتیپ و محیط رشد آن‌ها بستگی دارد که با استفاده از روش‌های به‌نژادی می‌توان مقدار آن را افزایش داد. جهت اجراء برنامه‌های به‌نژادی، داشتن تنوع ژنتیکی اولین گام می‌باشد. تلاقی موجودات باعث به گسترش تنوع ژنتیکی می‌شود اما جهش است که می‌تواند تنوع اصلی و پایه‌ای را ایجاد کند و مواد اولیه ژنتیکی برای گزینش را فراهم آورد. فراوانی جهش‌های طبیعی خیلی کم است، بنابراین القای جهش‌های مصنوعی^۱ روشی سودمند و کارا در افزایش تنوع در گیاهان می‌باشد (Arulbalachandran et al. 2009). عوامل جهش‌زا عموماً به دو گروه فیزیکی و شیمیایی تقسیم می‌شوند. مهمترین عوامل فیزیکی و شیمیایی شامل پرتوهای یونیزه کننده مانند پرتوهای ایکس و گاما و مواد آکیل‌گذار می‌باشند (Kangarasu et al. 2014). در گیاهان دارویی مختلف، نتایج موفقیت‌آمیزی در این ارتباط بدست آمده است.

به‌نژادی به‌روش جهش مصنوعی به‌ویژه در مواردی که به‌نژادگران با محدودیت تنوع ژنتیکی در ژرم‌پلاسما موجود مواجه هستند، اهمیت دارد (Ahmed 1985). بسیاری از ارقام جدید تجاری پرمحصول یا دارای صفات خاص، در جهان به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم از طریق جهش مصنوعی ایجاد شده‌اند که در این خصوص می‌توان به معرفی تعدادی از وارسته‌های موتان در پایگاه اطلاعاتی وارسته جهش یافته سازمان خواربار کشاورزی (فائو) و آژانس بین‌المللی انرژی هسته‌ای اشاره نمود. تا ۲۰ فروردین ۱۴۰۳ تعداد وارسته‌های جهش یافته ثبت شده در سامانه پایگاه اطلاعاتی فوق در محصولات مختلف گیاهی اعم از غلات، حبوبات، دانه‌های روغنی، سبزیجات، میوه‌ها، گیاهان زینتی و لیفی به ۳۴۱۹ رسید (<https://nucleus.iaea.org/sites/mvd/SitePages/Search.aspx>). در این سامانه بین‌المللی هنوز هیچ گزارشی از به‌نژادی خرفه زراعی از طریق جهش مصنوعی وجود ندارد. از آنجایی که تنوع در سطح گونه‌های گیاهی به‌دلیل شدت فعالیت‌های اصلاحی، عدم توجه به حفظ منابع قبلی و به دنبال آن فرسایش شدید منابع ژنتیکی به سطح پایینی نزول کرده است، لذا برای افزایش تنوع ژنتیکی می‌توان از جهش مصنوعی استفاده کرد (Yılmaz and Boydak 2006).

در تحقیقی اثرات پرتودهی با اشعه گاما در دزهای صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ گری بر صفات ریخت‌شناسی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) بررسی شد (Salehi 2015). طبق مشاهدات انجام شده بیشترین درصد اسانس پیکره رویشی در دز ۱۰۰ گری (۲/۸۱ درصد) و کمترین میزان در دز ۳۰۰ گری (۱/۵۲ درصد) مشاهده شد. در مطالعه‌ای et al. Khatri (2005) از طریق پرتودهی بذر خردل هندی (*Brassica jancea*) با اشعه گاما و اتیل متان سولفونات به سه موتان با عملکرد بالا و زودرس دست یافتند. در مطالعه Fotokian (2012) اشعه گاما با دزهای ۸۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۲۰۰ گری در ارقام کلزا (*Brassica napus*) به‌منظور ایجاد تنوع ژنتیکی توانست ۱۸ لاین از رقم ساری گل و ۱۲ لاین از رقم RGS003 به دست آورد.

¹. Induced mutation

که این لاین‌های جهش یافته از نظر رنگ دانه، اندازه دانه، ارتفاع بوته و زمان رسیدن با شاهد تفاوت معنی‌داری داشتند. بیشتر تغییرات ریخت‌شناختی مشاهده شده در گیاهان نسل اول (M_1) حاصل از پرتودهی بذر، ناشی از پاسخ‌های فیزیولوژیکی هستند تا تغییرات ژنتیکی قابل توارث. در گیاهانی خودگشنی که با بذر تکثیر می‌شوند، اغلب تغییرات ایجاد شده در نسل اول در نسل بعدی یعنی M_2 قابل رویت نیستند (Kim et al. 2021). این موضوع به اثر فرانسلی یا Transgenerational effect معروف است. تنوع ژنتیکی در نوع زراعی خرفه کم است و هنوز گزارش رسمی از به‌نژادی رقم جهش یافته خرفه زراعی در کشور و جهان مشاهده نشده است و لازم است از روش‌های ایجاد تنوع مانند دورگ‌گیری و جهش مصنوعی برای این منظور استفاده شود. هدف از انجام این تحقیق بررسی اثرات اشعه گاما بر برخی صفات فیتوشیمیایی و مقدار روغن دانه خرفه در نسل دوم (M_2) بود.

مواد و روش‌ها

به‌منظور تعیین دز مناسب و بررسی اثرات پرتو گاما در گیاه خرفه، بذور این گیاه از شرکت پاکان بذر تهیه شد. سپس بذور با اشعه گاما در دزهای ۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۵۰، ۸۰، ۱۰۰، ۱۳۰، ۱۸۰، ۲۵۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۳۰۰ گری در مرکز تابش گامای سازمان انرژی اتمی ایران در پژوهشکده کشاورزی کرج پرتودهی شدند. پرتودهی با منبع کبالت ۶۰ در محفظه گاماسل ۲۲۰ با تابش ۲/۳۲ گری بر ثانیه انجام شد. رطوبت بذرها در زمان پرتوتابی ۱۵ درصد بود. با استفاده از درصد جوانه‌زنی بذر و بر اساس تجزیه پروبیت^۱ دز مناسب اشعه گاما بر اساس LD_{50} ۴۳۷ گری تعیین شد. در آزمون جوانه‌زنی فوق برای هر سطح پرتو، تعداد ۱۰۰ بذر در ۴ ظرف پتری (هر ظرف ۲۵ عدد) بررسی شد. در مرحله دوم، پرتودهی بذور با اشعه گاما در دزهای ۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ گری انجام شد. بذور M_1 به‌منظور تولید بذر M_2 در مزرعه کشت شدند. در پایان سال اول از هر دز تعداد هفت بوته به تصادف انتخاب (تعداد بوته در شاهد سه عدد بود) و بذور آن‌ها (بذور M_2) برداشت شد. بذور M_2 به‌همراه بذور شاهد (بذور اشعه نتابیده) در سال دوم در قالب طرح کاملاً تصادفی نامتعادل و به‌صورت بوته به ردیف در ردیف‌های به طول ۱/۵ متر در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد (عرض جغرافیایی 31° و $36'$ ، طول جغرافیایی 48° و $553'$ ، میانگین سالیانه بارندگی ۲۱۶ میلی‌متر، ارتفاع از سطح دریا ۱۰۵۰ متر) کشت شدند. سطوح دزهای اشعه گاما به‌عنوان تیمار و لاین‌های هر سطح تیمار به‌عنوان تکرار در نظر گرفته شدند. برای اندازه‌گیری صفات، دو بوته نزدیک به هم از قسمت وسط هر لاین به‌صورت تصادفی انتخاب و برداشت شد و صفاتی مانند میزان کلروفیل کل، مقدار کارتنوئید، میزان آنتوسیانین، ترکیبات فلاونوئیدی، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز و میزان روغن دانه اندازه‌گیری شدند.

۱. probit

میزان کارتنوئید به روش Arnon (1967)، میزان آنتوسیانین به روش Wagner (1979)، ترکیبات فلاونوئیدی به روش Krizek et al. (1998)، فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش Kar & Mishra (1976)، فعالیت آنزیم کاتالاز به روش (1984) Aebi، و استخراج روغن دانه (از ۱۰ گرم دانه) به روش Uquiche et al. (2008) اندازه‌گیری شدند. شاخص سبزیگی برگ به روش غیرتخریبی و با استفاده از دستگاه کلروفیل متر (SPAD, model 502PLUS, Konica, Japan) اندازه‌گیری شد. تجزیه آماری داده‌ها شامل تجزیه پروبیت، آزمون همگنی واریانس خطاهای تیمارها (آزمون لون)، تجزیه واریانس ساده و چندگانه، آزمون مقایسه میانگین (دانکن)، و همبستگی پیرسون بین صفات با نرم افزار SPSS نسخه ۲۷ انجام شد. برای صفاتی که واریانس خطاهای آزمایشی ناهمگن داشتند، به جای آزمون دانکن از آزمون‌های مقایسه میانگین مانند Dunnett T3, Tamhane, Dunnett C و Games-Howell استفاده شد (Moghaddam and Valizadeh 2012).

نتایج و بحث

در تجزیه واریانس چندگانه با استفاده از شاخص‌های Pillai's Trace, Wilks' Lambda, Hotelling's Trace و Roy's Largest Root تفاوت بین دزها برای صفات مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مشابهی در تجزیه واریانس چندمتغیره صفات در نسل M_2 خرفه حاصل از تیمار با ماده جهش‌زای دی متیل سولفات در تحقیقی گزارش گردید (Fotokian and Feizi Kelasi 2020).

جدول ۱. تجزیه واریانس چندگانه صفات مورد مطالعه در نسل دوم (M_2) خرفه.

Table 1. Multiple variance analysis of studied traits in the second generation (M_2) of purslane.

نوع آزمون	مقدار آماره	F آزمون
Statistic	Value	F Test
Pillai's Trace	2.83	5.66**
Wilks' Lambda	0.003	7.22**
Hotelling's Trace	17.63	8.08**
Roy's Largest Root	9.75	22.76**

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

** Significant at the 0.01 level of probability.

¹. Levene test

در تجزیه واریانس ساده، تفاوت بین دزهای اشعه گاما برای همه صفات مورد مطالعه به استثنای آنتوسیانین و فلاونوئید که در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شدند، در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). از آزمون لون برای بررسی همگنی واریانس خطاها استفاده شد. به استثنای آنتوسیانین و کاتالاز، برای بقیه صفات، همگنی واریانس خطا وجود داشت.

برای صفات آنتوسیانین و کاتالاز با توجه به ناهمگن بودن واریانس خطاهای آزمایشی، به جای آزمون دانکن از آزمون‌های مقایسه میانگین مانند Tamhane، Dunnett T3، Games-Howell و Dunnett C استفاده شد (Valizadeh and Moghaddam 2012). نتایج مقایسه میانگین در هر چهار روش مشابه بوده است. مقدار کلروفیل کل در شاهد تقریباً ۵۰ درصد بیشتر از دز ۵۰۰ گری بوده است که شاید این کاهش مقدار کلروفیل از آثار تخریبی کلروفیل بوسیله پرتو گاما باشد. در یک تحقیق، محتوای کلروفیل برگ برای گیاهان نسل M₂ در لوبیا چشم بلبلی در سه مرحله رشدی اندازه‌گیری شد. میانگین محتوای کلروفیل با بیشترین مقادیر در مرحله قبل از گل‌دهی و پس از برداشت در ۴۰۰ گری و مرحله گل‌دهی در ۴۵۰ گری مشاهده شد که در تیمار قبل از گل‌دهی، تیمار ۴۰۰ گری ۶۴ درصد نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشت. بنابراین دز بهینه برای جهش‌القایی مفید برای افزایش غلظت کلروفیل در لوبیا چشم بلبلی را ۴۰۰ گری گزارش کردند (Azigwe et al. 2020). از نظر مقدار کارتنوئید، حداقل مقدار در ۵۰۰ گری دیده شد که با بقیه دزهای اشعه گاما دارای تفاوت معنی‌دار بود (جدول ۳). مقدار کارتنوئید در همه دزهای پرتو گاما کمتر از شاهد بود و این مقدار در دز ۵۰۰ گری کمتر از یک سوم آن در شاهد بود. اگرچه حداکثر میزان آنتوسیانین در دز ۴۰۰ گری دیده شد ولی بین دزهای اشعه گاما از نظر مقدار آنتوسیانین تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. دزهای اشعه گاما از نظر میانگین فلاونوئید در چهار گروه قرار گرفتند. حداکثر فلاونوئید در ۵۰۰ گری مشاهده شد که تفاوت آن با بقیه دزها معنی‌دار بود. در دز ۲۰۰ گری گرچه کمترین مقدار فلاونوئید بدست آمد ولی تفاوت آن با ۳۰۰ گری معنی‌دار نبود.

بیشترین و کمترین مقدار کاتالاز به ترتیب در دز ۴۰۰ گری و ۳۰۰ گری مشاهده شد (جدول ۴). دزهای اشعه گاما از نظر مقدار پراکسیداز، در سه گروه قرار گرفتند. حداکثر پراکسیداز که در دز ۲۰۰ گری به دست آمد، با دزهای ۳۰۰ و ۴۰۰ گری تفاوت معنی‌دار نداشت. میزان پراکسیداز در دز ۵۰۰ گری نزدیک به دو برابر شاهد برآورد شد. دزهای اشعه گاما از نظر میزان روغن دانه (میکروگرم در ۱۰ گرم دانه) در سه گروه قرار گرفتند (شکل ۱). بیشترین مقدار روغن در ۴۰۰ گری با میانگین ۶۲ میکروگرم و حداقل در ۲۰۰ گری با میانگین ۳۵ میکروگرم مشاهده شد. تفاوت دز ۲۰۰ گری با شاهد و ۳۰۰ گری معنی‌دار نبود، البته میانگین میزان روغن دانه در ۴۰۰ و ۵۰۰ گری با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند. حداکثر میزان روغن دانه، میزان کلروفیل کل و کاتالاز در دز ۴۰۰ گری مشاهده شد. پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه *Onobrychis viciifolia* Scop در نسل M₁ پرتو دیده با اشعه گاما نشان داد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز، سوپراکسید دیسموتاز، محتوای کلروفیل و پرولین در برگ‌ها به‌صورت وابسته به دز، افزایش می‌یابد. در مقابل، فعالیت پراکسیداز کاهش یافت. بیشترین فعالیت کاتالاز و بیشترین میزان پرولین پس از تابش تا بالاترین دز ۶۰۰ گری مشاهده شد. بیشترین فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز و سوپراکسید دیسموتاز پس از تابش در کمترین دز

آزمایش شده ۴۰۰ گری مشاهده شد (Beyaz et al. 2016).

جدول ۲. تجزیه واریانس صفات فیتوشیمیایی برگ و میزان روغن دانه در نسل دوم (M₂) خرفه

Table 2. Variance analysis of leaf phytochemical traits and grain oil content in the second generation (M₂) of purslane

Mean of Squares							درجه	منابع
میزان روغن	پراکسیداز	کاتالاز	فلاونوئید	آنتوسیانین	کارتنوئید	کلروفیل کل	آزادی	تغییر
Oil content	Peroxidase	Catalase	Flavonoid	Anthocyanin	Carotenoid	Total chlorophyll	df	S.O.V
584.609**	0.396**	0.679**	30.843**	0.000041*	0.198**	0.449**	4	اشعه گاما gamma rays خطای
53.671	0.092	0.066	2.609	0.0000012	0.027	0.039	26	آزمایشی Error
1.8 ^{ns}	1.7 ^{ns}	3.28*	.519 ^{ns}	8.8**	1.51 ^{ns}	1.5 ^{ns}	–	آزمون لون (F) Leven test (F)

*, ** به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد می باشد.

* and ** are significant at the 0.05 and 0.01, respectively.

فرضیه‌ای درباره تاثیر شدت‌های پایین اشعه گاما وجود دارد که تابش سبب تحریک و تغییر میزان هورمون‌ها شده و یا سبب افزایش ظرفیت ضد اکسایشی سلول‌ها گردیده، در نتیجه به راحتی بر عوامل تنش روزانه از قبیل نوسانات شدت نور و درجه حرارت در شرایط رشدی غلبه کرده و گیاه می‌تواند رشد بهتری داشته باشد (Mishra et al. 2007). پرتو دهی بذر گیاه قبل از کاشت موجب قوی‌تر و قطور شدن ساقه نیز می‌شود (Dubey et al. 2007; Mishra et al. 2007). همچنین این احتمال وجود دارد که اشعه گاما باعث اختلال در مقدار گاز، مقدار آب و فعالیت آنزیم برگ گردد. در نتیجه این اثرات سبب تغییرات در ساختار سلولی گیاه، سوخت و ساز، تغییر فتوسنتز و تجمع ترکیبات فنلی می‌شود. در این بین، کلروپلاست‌ها در برابر پرتو گاما بسیار حساس‌تر از دیگر اندامک‌های سلولی بوده که افزایش رنگدانه در نمونه‌های پرتو دیده کاملاً مشهود است. افزایش سطح کلروفیل موجود در برگ گیاه نخود (Abu et al. 2006) و گندم (Borzouei et al. 2010) در دزهای پایین پرتو گاما گزارش شده است. مطالعات صورت گرفته بر روی فلفل و گیاه گلپر (*Heracleum persicum*) کاهش محتوی روغن فرار را در این گیاه طی شدت‌های بالای

پرتو نشان داد (Seo et al. 2007). در مطالعه‌ای بر گیاه زینتی گل‌ناز آفتابی با نام علمی *Portulaca grandiflora* از روش پرتو دهی مکرر جهت ایجاد جهش استفاده شد و تغییرات ریخت‌شناختی جدیدی از این گونه تا نسل M₇ (نسل هفتم برنامه به‌نژادی جهش) بررسی شد. چندین جهش یافته گل‌ناز آفتابی در جمعیت M₈ با ظاهر ریخت‌شناختی جدید که عمدتاً در ویژگی‌های کیفی گل‌ها بود، مشاهده شد (Aisyah et al. 2022).

جدول ۳. مقایسه میانگین (میانگین $\pm$ اشتباه معیار) کلروفیل کل، کارتنوئید، آنتوسیانین و فلاونوئید

تحت اثرات دزهای مختلف اشعه گاما

Table 3. Mean comparison (mean $\pm$ standard error) of Total chlorophyll, Carotenoid, Anthocyanin, and Flavonoid under treatment of different doses of gamma rays

اشعه گاما (گری)	کلروفیل کل (میلی گرم در گرم وزن تر نمونه)	کارتنوئید (میلی گرم در گرم وزن تر نمونه)	آنتوسیانین (میکرومول بر گرم وزن تر نمونه)	فلاونوئید (درصد جذب)
Gamma rays (Gy)	Total chlorophyll (mg per gram of sample fresh weight)	Carotenoid (mg per gram of sample fresh weight)	Anthocyanin (micromole per gram of sample fresh weight)	Flavonoid (absorption %)
0	0.646 ^b $\pm$ 0.09	0.79 ^a $\pm$ 0.7	0.00080 ^a $\pm$ 0.00005	14.85 ^{bc} $\pm$ 0.98
200	0.745 ^{ab} $\pm$ 0.04	0.628 ^a $\pm$ 0.04	0.00061 ^a $\pm$ 0.0001	12.46 ^d $\pm$ 0.42
300	0.54 ^{bc} $\pm$ 0.09	0.635 ^a $\pm$ 0.1	0.00101 ^a $\pm$ 0.0001	13.58 ^{cd} $\pm$ 0.45
400	0.985 ^a $\pm$ 0.08	0.583 ^a $\pm$ 0.05	0.00586 ^a $\pm$ 0.002	15.70 ^b $\pm$ 0.6
500	0.313 ^c $\pm$ 0.07	0.256 ^b $\pm$ 0.03	0.00068 ^a $\pm$ 0.00006	18.2 ^a $\pm$ 0.84

حروف متفاوت در هر ستون تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهد.

Different letters in each column indicate significant differences.

بسیاری از ارقام جدید تجاری پر محصول یا دارای صفات خاص، در جهان به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم از طریق جهش به وجود آمده‌اند. مشخصات بیش از ۳۳۰۰ رقم جهش‌یافته در محصولاتمانند غلات، حبوبات، دانه‌های روغنی، سبزی‌ها، میوه‌ها، گیاهان زینتی و لیفی در پایگاه آژانس بین‌المللی انرژی هسته‌ای (<https://mvd.iaea.org>) موجود است. متأسفانه هیچ گزارشی از جهش‌یافته خرفه در این سامانه ثبت نشده است. به‌منظور ایجاد تنوع ژنتیکی برای اهداف کلاسیک یا مولکولی به‌نژادی گیاهی، استفاده از جهش مصنوعی دارای کارایی می‌باشد. اصلاح به روش جهش به‌ویژه در مواردی که به‌نژادگران با محدودیت تنوع ژنتیکی در ژرم‌پلاسما موجود مواجه هستند، اهمیت دارد (Ahmad 1985). از آنجایی که تنوع در سطح گونه‌های گیاهی به‌دلیل شدت فعالیت‌های اصلاحی، بی‌توجهی به حفظ منابع قبلی و به دنبال آن فرسایش شدید منابع ژنتیکی به سطح پایینی نزول کرده است، لذا برای افزایش

تنوع ژنتیکی می‌توان از جهش مصنوعی استفاده کرد (Yılmaz and Boydak 2006).

جدول ۴. مقایسه میانگین (میانگین $\pm$ اشتباه معیار) صفات کاتالاز و پراکسیداز تحت اثرات دزهای

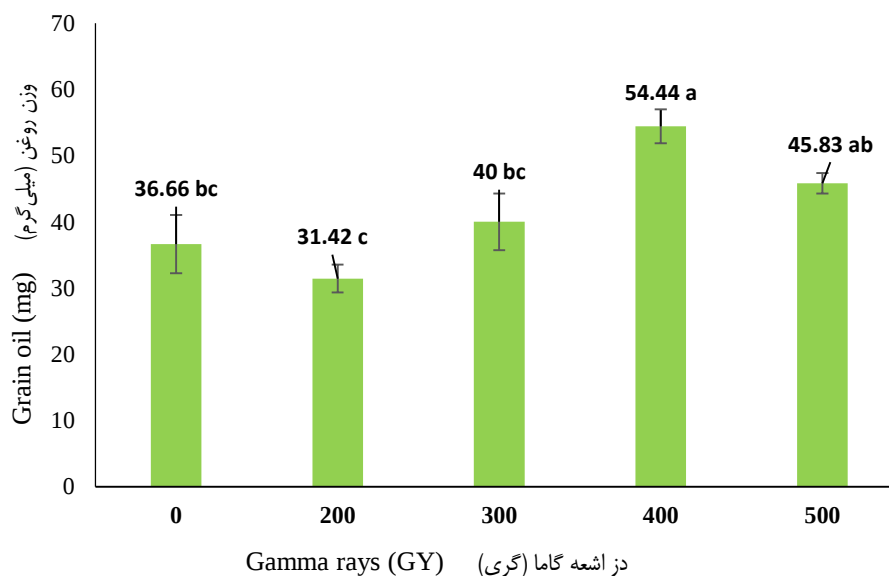
مختلف اشعه گاما

Table 4. Mean comparison (mean $\pm$ standard error) of Catalase and Peroxidase, under treatment of different doses of gamma rays

پراکسیداز (واحد در میلی گرم پروتئین) Peroxidase (Unit in mg of protein)	کاتالاز (واحد در میلی گرم پروتئین) Catalase (Unit in mg of protein)	اشعه گاما (گری) Gamma rays (Gy)
0.29 ^c $\pm$ 0.02	0.2700 ^{ce} $\pm$ 0.05	0
1.05 ^a $\pm$ 0.07	0.5900 ^{ac} $\pm$ 0.1	200
0.85 ^{ab} $\pm$ 0.11	0.0983 ^{de} $\pm$ 0.02	300
0.68 ^{abc} $\pm$ 0.13	0.8311 ^{ab} $\pm$ 0.11	400
0.56 ^{bc} $\pm$ 0.13	0.1816 ^{ce} $\pm$ 0.99	500

حروف متفاوت در هر ستون تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهد.

Different letters in each column indicate significant differences.



شکل ۱. مقایسه میانگین (میانگین $\pm$ اشتباه معیار) میزان روغن دانه تحت اثرات دزهای مختلف

اشعه گاما با آزمون دانکن. حروف متفاوت، تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهد.

Figure 1. Mean comparison (mean $\pm$ standard error) of grain oil content under treatment of different doses of gamma rays using Duncan's test. Different letters indicate significant differences.

همبستگی بین صفات مورد مطالعه

حدود ۳۳ درصد از ضرایب همبستگی بین صفات مورد مطالعه معنی‌دار بودند (جدول ۵). بیشترین همبستگی بین کاتالاز و کلروفیل کل مشاهده شد که این همبستگی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. میزان روغن با آنتوسیانین و فلاونوئید همبستگی معنی‌دار و مثبت نشان داد. آنزیم پراکسیداز به استثنای کاتالاز با بقیه صفات فیتوشیمیایی مورد مطالعه همبستگی معنی‌دار نداشت. این نتایج بیانگر این است که با افزایش میزان بیان ژن‌های مرتبط با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ویژگی‌های فتوسنتزی بهبود می‌یابد. در واقع این آنزیم‌ها با حذف گونه‌های فعال اکسیژن از آسیب به سلول‌ها جلوگیری کرده و رشد و عملکرد گیاه را افزایش می‌دهند (Danaeipour and Haddad 2020). سه صفت آنتوسیانین، کاتالاز و کلروفیل کل با یکدیگر همبستگی معنی‌دار داشتند که این همبستگی می‌تواند از اثر مکان‌های ژنی مشترک کنترل کننده این صفات باشند. علت ژنتیکی همبستگی بین صفات به دلایل زیر است (Omer et al. 2016): الف: ژن‌ها یا واحدهای ژنی کنترل کننده دو صفت با همدیگر پیوستگی (لینکاز) قوی داشته باشند؛ ب: ژن‌ها دارای اثر پلیوتروپی (پدیده چند اثری بودن یک ژن) باشند، به نحوی که یک ژن دو یا چند صفت را کنترل کند و افزایش مقدار یک صفت موجب افزایش یا کاهش صفات دیگر گردد؛ ج: اثرات اپیستازی (اثرات متقابل بین مکان‌های ژنی). وجود این نوع همبستگی‌ها نشان می‌دهد که انتخاب برای یک صفت منجر به تغییراتی در صفت دیگر می‌شود.

جدول ۵. نتایج همبستگی پیرسون بین صفات مورد مطالعه

Table 5. Results of Pearson correlation between studied traits

پراکسیداز Peroxidase	کاتالاز Catalase	فلاونوئید Flavonoid	آنتوسیانین Anthocyanins	کارتنوئید Carotenoid	کلروفیل کل Total Chlorophyl	
					0.53**	کارتنوئید Carotenoid
				0.24	0.56**	آنتوسیانین Anthocyanins
			0.19	-0.47**	-0.16	فلاونوئید Flavonoid
		0.01	0.57**	0.26	0.70**	کاتالاز Catalase
	0.47**	-0.19	0.33	0.27	0.30	پراکسیداز Peroxidase
-0.20	0.32	0.51**	0.36*	-0.11	0.26	میزان روغن oil content

*, ** به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد می‌باشد.

* and ** are significant at the 0.05 and 0.01, respectively.

نتیجه گیری: استفاده از دزهای مختلف اشعه گاما در گیاه خرفه منجر به تغییرات در میزان کلروفیل برگ، میزان روغن دانه و صفات فیتوشیمیایی مورد مطالعه گردید. اثر دز اشعه گاما برای صفات آنتوسیانین و کاتالاز بسیار معنی دار بود. با توجه به خصوصیات اندازه گیری شده و مقایسات صورت گرفته می توان گفت حداکثر میزان روغن دانه، میزان کلروفیل و کاتالاز برگ در دز ۴۰۰ گری مشاهده شد. در مجموع نتایج پژوهش حاضر نشان داد استفاده از فناوری هسته ای و اشعه گاما می تواند روی صفات فیتوشیمیایی گیاه دارویی خرفه موثر واقع شود و به کارگیری این روش علمی می تواند در بهبود شاخص های رشدی و میزان و نوع متابولیت ثانویه این گیاه دارویی ارزشمند، مفید واقع شود. اثرات دزهای مختلف پرتو گاما بر مقادیر صفات مورد مطالعه به صورت تصادفی بود و فقط در مقدار کارتنوئید با افزایش دز اشعه، مقدار آن افزایش یافت. معنی دار شدن همبستگی بین سه صفت فیتوشیمیایی کاتالاز، کلروفیل کل و آنتوسیانین نشان می دهد که گزینش یا به نژادی برای یکی از این صفات احتمالاً منجر به تغییر در دو صفت دیگر گردد. از آن جا که تابش دهی بذرهای اشعه گاما در سازمان انرژی اتمی ایران با هزینه ی ناچیز انجام می گیرد و با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش و همچنین گران بودن مواد شیمیایی جهش زا پیشنهاد می شود، با کنترل شرایط تابش دهی مثل رطوبت بذر، کشت بذرهای بلافاصله پس از تابش دهی بذرهای به منظور افزایش بازدهی و سودمندی جهش زایی، از اشعه گاما به عنوان جهش زای مناسب در پژوهش های مربوط به ایجاد تنوع ژنتیکی در خرفه و سایر گیاهان استفاده شود.

References

- Abu, J. O., Müller, K., Duodu, K. G., & Minnaar, A. (2006). Gamma irradiation of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) flours and pastes: Effects on functional, thermal and molecular properties of isolated proteins. *Food Chemistry*, 95(1), 138-147. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.040>
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. In: *Methods in enzymology*. Elsevier, pp 121-126. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Ahmed, J. (1985). Ethyl methane sulfonate (EMS) induced rice mutants. *International Rice Research Newsletter*, 10(5), 5-6. <https://doi.org/10.1046/j.1526-0992.1998.98097.x>
- Aisyah, S. I., SARASWATI, R. A., Yudha, Y. S., & Nurcholis, W. (2022). The diversity of agromorphological characters of *Portulaca grandiflora* in the MV8 population deriving from recurrent irradiation. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 23, 4432-4439. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230908>
- Alahbakhsh, E., Galavi, M., Mousavi Nik, S. M., & Mohkami, Z. (2020). Effects of irrigation regimes and fertilizer on oil percent and fatty acid composition leaf and seed purslane (*Portulaca oleraceae* L.). *Iranian Journal of Horticultural Science*, 51(2), 375-386. <https://doi:10.22059/ijhs.2019.270502.1546> [In Persian]
- Arnon, A. N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy journal*, 23,

- 112-121.
- Arulbalachandran, D., Mullainathan, L., Karthigayan, S., Somasundaram, S. T., & Velu, S. (2009). Evaluation of genetic variation in mutants of black gram (*Vigna mungo* (L.) Hepper) as revealed by RAPD markers. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 21, 42-50. <https://doi.org/10.9755/ejfa.v21i2.5163>
- Azigwe, C., Zoryeku, P. A. D., Asante, I. K., & Oppong-Adjei, F. (2020). Effect of gamma irradiation on chlorophyll content in the cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). *Ghana Journal of Science*, 61, 113-117. <https://doi.org/10.4314/gjs.v61i2.11>
- Beyaz, R., Sancak, C., Yildiz, Ç., Kuşvuran, Ş., & Yildiz, M. (2016). Physiological responses of the M1 sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop) plants to gamma radiation. *Applied Radiation and Isotopes*, 118, 73-79. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2016.09.005>
- Borzouei, A., Kafi, M., Khazaei, H., Naseriyan, B., & Majdabadi, A. (2010). Effects of gamma radiation on germination and physiological aspects of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Pakistan Journal of Botany*, 42, 2281-2290.
- Changizi-Ashtiyani, S., Zarei, A., Taheri, S., Rasekh, F., & Ramazani, M. (2013). The effects of *Portulaca oleracea* alcoholic extract on induced hypercholesterolemia in rats. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 15 (16).
- Danaeipour, Z., & Haddad, R. (2020). Influence of drought stress on photosynthetic characteristics and protective enzymes in plants. *Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 9, 114-129. <https://doi.org/10.30479/IJGPB.2020.13794.1278>
- Devi, M., Komal, S., & Logeshwari, B. (2019). Preliminary phytochemistry and antidiabetic activity of *Portulaca grandiflora* Hook plant extract on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 12, 87-90. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2019.v12i12.35216>
- Dubey, A. K., Yadav, J. R., & Singh, B. (2007). Studies on induced mutations by gamma irradiation in okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Monch.). *Progressive Agriculture*, 7, 46-48.
- Fotokian, M. H. (2010). Genetic variation in Sarigol and RGS003 canola varieties using gamma rays. Final Research Project Report. Vice chancellor for research, Shahed University [In Persian].
- Fotokian, M. H., & Feizi Kelasi, N. (2020). Investigation of genetic diversity on M₂ mutant lines of Purslane (*Portulaca oleracea*) derived through DMS mutagens. *Journal of Crop Breeding*, 12 (34), 105-114. <https://doi.org/10.29252/jcb.12.34.105> [In Persian]
- <https://nucleus.iaea.org/sites/mvd/SitePages/Search.aspx>. Last accessed 8 April 2024.

- Kangarasu, S., Ganeshram, S., & Joel, A. J. (2014). Determination of lethal dose for gamma rays and Ethyl Methane Sulphonate induced mutagenesis in Cassava (*Manihot Esculenta* Crantz.). *International Journal of Science and Research*, 3, 3-6.
- Kar, M., & Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, 57, 315-319. <https://doi.org/10.1104/pp.57.2.315>
- Khatri, A., Ahmed, M. A., Khan, I. A., Siddiqui, M. A., Raza, S. A. B. O. O. H. I., & Nizamani, G. S. (2005). Evaluation of high yielding mutants of *Brassica juncea* cv. S-9 developed through gamma rays and EMS. *Pakistan Journal of Botany*, 37, 279-284.
- Kim, S. M., Jo, Y. D., Chun, J. I., Kim, J. B., & Kang, J. H. (2021). Chronic gamma irradiation changes phenotype and gene expression partially transmitted to next-generation tomato seedlings. *Agronomy*, 11, 1638. <https://doi.org/10.3390/agronomy11081638>
- Krizek, D. T., Britz, S. J., & Mirecki, R. M. (1998). Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New Red Fire lettuce. *Physiologia Plantarum*, 103, 1-7. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1030101.x>
- Mishra, M. N., Hina Qadri, H. Q., Shivali Mishra, S. M. (2007). Macro and micro mutations, in gamma-rays induced M2 populations of Okra (*Abelmoschus esculentus* (L) Moench). *International Journal of Plant Sciences*, 2, 44-47.
- Omer, S. O., Abdalla, A. W. H., Mohammed, M. H., & Singh, M. (2016). Bayesian estimation of genotypic and phenotypic correlations from crop variety trials. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 16, 14-21. <http://dx.doi.org/10.1590/1984-70332016v16n1a3>
- Rastegar, M. A. (2005). Weeds and their control methods, Tehran University Publications, Tehran, pp 413 [In Persian].
- Salehi, F., Kheiry, A. A., Eskandari, A., & Rezaei M. B. (2015). The effect of gamma ray irradiation on the morphological and phytochemical characteristics of the medicinal plant *Thymus vulgaris* L.. *Ecophytochemistry journal of Medicinal Plants*, 3, 10-21. <https://doi.org/10.30495/EJMP.2015.694502> [In Persian]
- Seo, H. Y., Kim, J. H., Song, H. P., Kim, D. H., Byun, M. W., Kwon, J. H., & Kim, K. S. (2007). Effects of gamma irradiation on the yields of volatile extracts of *Angelica gigas* Nakai. *Radiation Physics and Chemistry*, 76, 1869-1874. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2007.03.020>
- Uquiche, E., Jeréz, M., & Ortiz, J. (2008). Effect of pretreatment with microwaves on mechanical extraction yield and quality of vegetable oil from Chilean hazelnuts (*Gevuina avellana* Mol). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9, 495-500. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.05.004>
- Valizadeh, M., & Moghaddam, M. (2012). *Experimental designs in agriculture*. 5th Edition,

- Parivar publication, pp: 348-354.
- Wagner, G. J. (1979). Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiology*, 64, 88-93. <https://doi.org/10.1104/pp.64.1.88>
- Walter, J., Vekslyarska, T., & Dobes, C. (2015). Flow cytometric, chromosomal and morphometric analyses challenge current taxonomic concepts in the *Portulaca oleracea* complex (Portulacaceae, Caryophyllales). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 179, 144-156. <https://doi.org/10.1111/boj.12309>
- Yilmaz, A., & Boydak, E. (2006). The Effects of Cobalt-60 Applications on yield and yield components of Cotton (*Gossypium barbadense* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9(15), 2761-2769. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2006.2761.2769>