تأثیر اتیل متان سولفونات و پرتوایکس بر رنگیزه‌های فتوسنتزی *Papaver rhoeas* L.

فاطمه مینایی*[۱]، ابوالفضل جوکار[۱]، مهدی زهتابیان[۲]
[۱*] گروه آموزشی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز
[۲] گروه آموزشی مهندسی هسته‌ای، دانشکده مهندسی مکانیک، دانشگاه شیراز، شیراز
*نویسنده مسئول: minaei.mina1992@gmail.com

چکیده

استفاده از روش‌هاس اصلاحی مناسب امری ضروری در جهت دستیابی به ارقام جدید با خصوصیات مطلوب می‌باشد. القا جهش روشی برای افزایش تنوع ژنتیکی می‌باشد که در اصلاح گیاهان مورد استفاده قرار می‌گیرد. این آزمایش به‌منظور ارزیابی اثرات اتیل متان سولفونات و پرتوایکس بر روی رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه *Papaver rhoeas* L. صورت گرفت. بدین منظور برای بررسی اثرات اتیل متان سولفونات از غلظت‌های ۰، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد، پرتوایکس از دوزهای ۰، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ گری استفاده شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار در گلخانه بخش علوم باغبانی دانشگاه شیراز انجام گرفت. نتایج نشان داد که استفاده از تیمارها باعث تأثیر معنی‌دار در میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی گردید و اکثر تیمارها باعث افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی شدند. بیشترین میزان کلروفیل‌کل و کاروتنوئید مربوط به تیمار EMS٪۰/۱ و کمترین میزان کلروفیل کل در تیمار X۳۰۰+EMS٪۰/۱ و کاروتنوئید در تیمار X۳۰۰ مشاهده گردید.

کلمات کلیدی: کلروفیل، کاروتنوئید

مقدمه

گیاه*P. rhoeas* از تیره خشخاش، گیاهی علفی یک‌ساله، با گل‌ها قرمز رنگ زود افت، برگ‌ها منفرد با تقسیمات عمیق دندانه‌دار و به ارتفاع ۲۵-۹۰cm می‌باشد (Bernath, 2003). این گیاه دارای تأثیرات مسکن، مدر و ملین در انسان می‌باشد و طب سنتی از عصاره این گیاه برای درمان بسیاری از بیماری‌ها نظیر سرفه، التهاب، اسهال، اختلالات خواب و برونشیت استفاده می‌شده است (Soulimani *et al*., 2001).

اتیل متان سولفونات (EMS)[۱] به‌عنوان عامل ایجاد جهش‌های نقطه‌ای، باعث پیدایش دامنه گسترده‌ای از آلل‌های موتانت، مانند حذف کارایی، ایجاد کارایی یا بروز صفات جدید، تغییر در کارایی و تولید جهش‌یافته‌های جدید با خصوصیات ویژه می‌گردد. این در حالی است که جهش‌هایی که در اثر پرتوها ایجاد می‌گردند اغلب باعث حذف و اضافه رشته نوکلئوتیدی می‌شوند استفاده از جهش‌زاها می‌تواند بر فرایندهای تکثیر سلولی، جوانه‌زنی، فتوسنتز، رشد، مقاومت در برابر تنش‌ها، محصول‌دهی گیاهان زراعی و ... تأثیر داشته باشند (Penmetsa and Cook, 2000; Kovacs and Keresztes, 2002; Sood *et al*., 2017). پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر EMS و پرتوایکس بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه *P. rhoeas* انجام شده است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه بخش علوم باغبانی دانشگاه شیراز انجام شد. بذرهای *P. rhoeas* به مدت ۱۲ ساعت در دمای اتاق و در آب مقطر خیس داده شدند. سپس آب مقطر موجود را تخلیه و بذرهای خیس خورده به مدت ۶ ساعت تحت تیمار غلظت‌های مختلف (۰، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد) EMS قرار گرفتند. پس از آن بذرهای مربوطه ۵ بار و هر

1. Ethyl methane sulfunate

IrHC2019

بار ۲ دقیقه با آب مقطر شسته شدند. در نهایت زیر آب جاری شستشو شدند تا باقی مانده احتمالی EMS از سطح بذرها کاملا از بین برود، سپس بذرها در محل موردنظر کاشته شدند (Kolar *et al*., 2015).

پرتودهی در آزمایشگاه مرکز تحقیقات تابش بخش هسته‌ای دانشکده مکانیک دانشگاه شیراز انجام شد. برای پرتودهی به‌وسیله پرتو X از سیستم پرتودهی X-ray فلوروسکوپی صنعتی با شرایط ۱۴۰ kVp و فیلتراسیون ۲ mmAl در فاصله ۱۷ cm از چشمه با آهنگ دوز ۱۱/۷۳ Gy/min استفاده شد. دوزها در مقادیر ۰، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ گری اعمال گردید و سپس بذرها در محل موردنظر کاشته شدند. برای تیمارهای برهمکنشی بعد از پرتودهی، بذرهای پرتودیده را به مدت ۱۲ ساعت در آب مقطر و بعد ۶ ساعت در EMS و نهایتاً بعد از شستشو با آب مقطر در محل موردنظر کاشته شدند.

آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار و ۴ زیر تکرار در سال ۱۳۹۷- ۱۳۹۶ انجام شدند. میانگین داده‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ $P \leq$ مقایسه شدند.

برای اندازه‌گیری کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل‌کل و کاروتنوئید، از برگ‌های سوم و چهارم انتهایی هر گیاه به‌عنوان جوان‌ترین برگ‌های فتوسنتز کننده استفاده شد. از هر تیمار آزمایشی ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه برگی در لوله آزمایشی ریخته و ۷ میلی‌لیتر دی متیل سولفوکساید (DMSO)[۲] به آن اضافه کرده و به مدت ۱ ساعت در دمای ۶۵ درجه سلسیوس در آون قرار داده شد و مجدداً ۳ میلی‌لیتر DMSO به آن اضافه شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت در محیط آزمایشگاه به دور از نور در تاریکی قرار داده شدند و حجم محلول را به‌وسیله DMSO به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده و نهایتاً جذب نوری عصاره‌های برگی در طول‌موج‌های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر خوانده شد. غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل‌کل و کاروتنوئید با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Arnon, 1949).

Chlorophyll a = (۱۹/۳ * A۶۶۳ – ۰/۸۶ * A۶۴۵) V/۱۰۰W

Chlorophyll b = (۱۹/۳ * A۶۴۵ – ۳/۶ * A۶۶۳) V/۱۰۰W

Chl.Total = Chl.a + Chl.b

Carotenoides = ۱۰۰(A۴۷۰) – ۳/۲۷(mg Chl. a) – ۱۰۴(mg Chl. b)/ ۲۲۷

V= حجم محلول، A= جذب نور در طول‌موج‌های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر، W= وزن تر نمونه برحسب گرم

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که استفاده از تیمارها تأثیر معنی‌دار در رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه *P. rhoeas* داشته است. نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲) حاکی از آن بود که اکثر تیمارها باعث افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه شده بودند، البته ۲ تیمار X۳۰۰+EMS٪۰/۲ و X۳۰۰+EMS٪۰/۳ به دلیل عدم وجود گیاه (عدم جوانه‌زنی) برای صفات موردبررسی صفر در نظر گرفته شدند و کمترین میزان مربوط به صفات با صرف‌نظر از این دو تیمار بیان‌شده است. بیشترین میزان کلروفیل a مربوط به تیمار X۲۰۰ (با میانگین ۵/۹۴ mg/g FW) و کمترین مقدارکلروفیل a مربوط به تیمار X۳۰۰+EMS٪۰/۱ (با میانگین ۳/۴۳mg/g FW) می‌باشد. بیشترین کلروفیل b مربوط به تیمار EMS٪۰/۱ (با میانگین ۲/۴۳ mg/g FW) و کمترین کلروفیل b مربوط به تیمار X۵۰+EMS٪۰/۳ (با میانگین۱/۰۳ mg/g FW) می‌باشد. بیشترین کلروفیل‌کل مربوط به تیمار EMS٪۰/۱ (با میانگین ۷/۹mg/g FW) و کمترین کلروفیل‌کل مربوط به تیمار X۳۰۰+EMS٪۰/۱ (با میانگین ۴/۵ mg/g FW) می‌باشد. بیشترین کاروتنوئید

2.Dimethyl sulfoxide

IrHC2019

مربوط به تیمار EMS٪۰/۱ (با میانگین۲۳/۹۷mg/g FW) و کمترین کاروتنوئید مربوط به تیمار X۳۰۰ (با میانگین ۴/۵۱mg/g FW) می‌باشد.

جدول «۱» واکاوی واریانس اثر پرتوایکس، اتیل متان سولفونات و برهمکنش آن‌ها بر خصوصیات فیزیولوژیکی *P. rhoeas*

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
پرتوایکس	۵	۱۶٫۹۴**	۱٫۳۶**	۲۷٫۷۸**	۱۷۵٫۶۵**
EMS	۳	۷٫۴۷**	۰٫۹۱**	۱۳٫۰۴۹**	۴۸٫۰۷**
پرتوایکس *EMS	۱۵	۲٫۲۱**	۰٫۲۹**	۳٫۵۴**	۲۹٫۸۴**
خطا	۴۸	۰٫۰۰۱	۰٫۰۰۰۰۷	۰٫۰۰۰۱۲	۰٫۱۹
ضریب تغییرات (cv)		۰٫۸۴	۰٫۷۷	۰٫۶۸	۶٫۳۱

**معنی‌داری در سطح ۱٪

نتایج حاصل از پژوهش‌ها نشان می‌دهد که استفاده از پرتوگاما بر روی آویشن (صالحی و همکاران، ۱۳۹۴) و فلفل (Sood *et al*., 2017) سبب افزایش کلروفیل شده است، به نظر می‌رسد که گیاهان در جهت کاهش اثرات مخرب ناشی از پرتودهی به حفظ رنگ‌دانه‌ها و درنتیجه ظرفیت فتوسنتزی خود پرداخته‌اند. گزارش‌شده است که پرتوهای با دوز کم با ایجاد تغییر در سیستم هورمون‌های انتقال‌دهنده پیام در سلول‌های گیاه و یا افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول جهت مقابله با فاکتورهای تنش مانند نوسان شدت نور و دما در هنگام رشد، منجر به افزایش میزان کلروفیل و ظرفیت فتوسنتزی و درنهایت رشد گیاهان می‌شوند (Kovacs and Keresztes, 2002)؛ اما نتایج حاصل از استفاده از ماده شیمیایی EMS و پرتوگاما بر روی گیاه زبان در قفا (Kolar *et al*., 2015) کمبود کلروفیل را نشان داد. وی و همکاران (Wi *et al*., 2007) گزارش‌کردند که ممکن است رنگیزه‌های فتوسنتزی در اثر تابش پرتو تخریب شوند که این امر کاهش ظرفیت فتوسنتزی گیاهان را در پی دارد.

طبق پژوهشی که بر روی گیاه مشگک انجام شد (بهلولی، ۱۳۹۵) می‌توان گفت گیاه برای کاهش خسارت حاصل از تنش اکسیداتیو، مقدار کاروتنوئیدها را افزایش داده تا بتواند تنش حاصل از پرتودهی را بهتر تحمل نمایند درواقع کاروتنوئیدها سیستم جمع‌کننده نور دستگاه فتوسنتزی را از آسیب رادیکال‌های آزاد اکسیژن حفظ می‌نمایند. علاوه بر این کاروتنوئیدها می‌توانند مستقیماً اتم اکسیژن را غیرفعال کنند و یا به‌وسیله اتم اکسیژن اکسید شوند؛ بنابراین به‌طور غیرمستقیم تولید گونه‌های اکسیژن را کاهش می‌دهند. از طرف دیگر کاروتنوئیدها از طریق مکانیسمی که چرخه زانتوفیل نامیده می‌شود باعث حفاظت از کلروفیل در مقابل اکسیداسیون نوری با مصرف اکسیژن می‌شوند.

IrHC2019

جدول «۱» مقایسه میانگین اثر پرتوایکس، اتیل متان سولفونات و برهمکنش آن‌ها بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه *P. rhoeas*

ماده شیمیایی	پرتو	میانگین			
		کلروفیل a (mg/g FW)	کلروفیل b (mg/g FW)	کلروفیل کل (mg/g FW)	کاروتنوئید (mg/g FW)
EMS۰	X۰	۳،۵۱^{h}	۱،۰۸^{j}	۴،۵۹^{n}	۵،۵۶$^{g-i}$
	X۱۰	۴،۸۶^{d}	۱،۲۲^{f}	۶،۰۸^{f}	۶،۸۹$^{f-h}$
	X۵۰	۴،۷۵^{e}	۱،۲۸^{e}	۶،۰۳^{f}	۶،۳۳$^{f-i}$
	X۱۰۰	۴،۹۴^{d}	۱،۳۴^{d}	۶،۲۸^{e}	۷،۳۹^{ef}
	X۲۰۰	۵،۹۴^{a}	۱،۴۵^{c}	۵،۴۱^{h}	۱۰،۳۲^{c}
	X۳۰۰	۴،۴۷^{f}	۱،۵^{b}	۵،۹۷^{g}	۴،۵۱^{j}
EMS ٪۰،۰۱	X۰	۵،۴۷^{c}	۲،۴۳^{a}	۷،۹^{a}	۲۳،۹۷^{a}
	X۱۰	۴،۲۷^{g}	۱،۱۹^{g}	۵،۴۶^{h}	۶،۹۲^{fg}
	X۵۰	۳،۸۵^{ij}	۱،۱۴^{hi}	۴،۹۹^{ij}	۵،۵۴$^{g-j}$
	X۱۰۰	۳،۸۱^{j}	۱،۱۳^{hi}	۴،۹۴^{jk}	۶،۱۶$^{f-i}$
	X۲۰۰	۳،۷۶^{j}	۱،۰۶^{jk}	۴،۸۲^{lm}	۵،۷۵$^{g-j}$
	X۳۰۰	۳،۴۳^{l}	۱،۰۷^{j}	۴،۵^{o}	۵،۷۸$^{g-j}$
EMS ٪۰،۰۲	X۰	۵،۶۳^{b}	۱،۲۹^{e}	۶،۹۲^{d}	۱۴،۵۶^{b}
	X۱۰	۳،۹۳^{hi}	۱،۱۴^{h}	۵،۰۷^{i}	۵،۷۲$^{g-j}$
	X۵۰	۳،۸^{j}	۱،۰۸^{j}	۴،۸۸$^{j-l}$	۵،۱۹^{ij}
	X۱۰۰	۳،۷۹^{j}	۱،۱۱^{i}	۴،۹$^{j-l}$	۶،۲۳$^{f-i}$
	X۲۰۰	۳،۶۵^{k}	۱،۱۲^{hi}	۴،۷۷^{mn}	۵،۶۵$^{g-j}$
	X۳۰۰	۰^{m}	۰^{l}	۰^{p}	۰^{k}
EMS ٪۰،۰۳	X۰	۵،۶۹^{b}	۱،۳۴^{d}	۷،۰۳^{c}	۸،۶۹^{de}
	X۱۰	۳،۸۶$^{h-j}$	۱،۰۶^{j}	۴،۹۲$^{j-l}$	۵،۸۱$^{g-j}$
	X۵۰	۳،۸۲^{j}	۱،۰۳^{k}	۴،۸۵$^{k-m}$	۵،۱۷^{ij}
	X۱۰۰	۳،۷۹^{j}	۱،۱۱^{i}	۴،۹$^{j-l}$	۶،۲۱$^{f-i}$
	X۲۰۰	۳،۶۳^{k}	۱،۰۵^{jk}	۴،۶۸^{n}	۵،۵۱$^{h-j}$
	X۳۰۰	۰^{m}	۰^{l}	۰^{p}	۰^{k}

میانگین‌های دارای حرف (حروف) یکسان تفاوت معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD در سطح ٪۱ ندارند.

FW: Fresh Weight

منابع

بهلولی، آ. ۱۳۹۵ بررسی اثرات پرتو تابی اشعه گاما روی برخی از خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی مشکک، پایان نامه کارشناسی‌ارشد مهندسی کشاورزی، دانشگاه لرستان.

صالحی، ف.، خیری، ع، ا.، اسکندری، ع. و م، ب. رضایی. ۱۳۹۴. تأثیر پرتودهی اشعه گاما بر صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی *Thymus vulgaris* L.. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۳(۳)، ۲۱-۱۰.

Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 24(1): 1.

IrHC2019

Bernath, J. 2003. Poppy*:* the genus Papaver: CRC Press, 390.

Kolar, F. R., Ghatge, S. R., Nimbalkar, M. S. and Dixit, G. B. 2015. Mutational changes in *Delphinium malabaricum* (Huth.) Munz.: a potential ornamental plant. Journal of Horticultural Research, 23(2): 5-15.

Kovacs, E. and Keresztes, A. 2002. Effect of gamma and UV-B/C radiation on plant cells. Micron, 33(2): 199-210.

Penmetsa, R. V. and Cook, D. R. 2000. Production and characterization of diverse developmental mutants of *Medicago truncatula*. Plant Physiology, 123(4): 1387-1398.

Sood, S., Jambhulkar, S., Singh, Y., Gupta, N. and Sharma, S. 2017. Induced chlorophyll mutations in bell pepper (*Capsicum annuum* L. var. grossum). Journal of Applied and Natural Science, 9(2): 1085-1089.

Soulimani, R., Younos, C., Jarmouni-Idrissi, S., Bousta, D., Khalouki, F. and Laila, A. 2001. Behavioral and pharmaco-toxicological study of Papaver rhoeas L. in mice. Journal of Ethnopharmacology, 74(3): 265-274.

Wi, S. G., Chung, B. Y., Kim, J.-S., Kim, J.-H., Baek, M.-H., Lee, J.-W. and Kim, Y. S. 2007. Effects of gamma irradiation on morphological changes and biological responses in plants. Micron, 38(6): 553-564.

Effect of Ethyl Methane Sulfonate and X ray on Photosynthetic Pigments of *Papaver rhoeas* L.

Fatemeh Minaei[1]*, Abolfazl Jowkar[1], Mehdi Zehtabian[2]
[1*] Department of Agricultural Science, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
[2] Department of Nuclear Engineering, College of Mechanical Engineering, Shiraz University, Shiraz, Iran
Corresponding Author: minaei.mina1992@gmail.com

Abstract

Using appropriate corrective methods is necessary for achieving new cultivars with desirable characteristics. The induction of mutation is a way to increase the genetic diversity used in plant breeding. This experiment was conducted to evaluate the effects of ethyl methane sulfonate and X ray on photosynthetic pigments of *Papaver rhoeas* L. To study the effects, ethyl methane sulfonate's concentrations were ranged from 0, 0.1, 0.2 and 0.3%, and X rays were set at doses of 0, 10, 50, 100 , 200 and 300 Gy were also used. The experiment was factorial based on a completely randomized design with three replications in the greenhouse of the Horticultural Sciences Department of Shiraz University. The results showed that the use of treatments caused a significant effect on photosynthetic pigments and most of the treatments increased the photosynthetic pigments. The highest total chlorophyll content and carotenoids were observed for EMS 0.1% and the lowest total chlorophyll content was observed in EMS 0.1% + X300 treatment and carotenoids in X300 treatment.

***Keywords*:** carotenoid, chlorophyll

IrHC2019