Iranian Genetics Society
Journal of Genetics and Plant Breeding
Shahid Bahonar University of Kerman
Print ISSN : 3060-7965 Online ISSN : 3060-7271

The effects of gamma rays on some phytochemical characteristics in purslane at M_2 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 Author: 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 (2025) The effects of gamma rays on some phytochemical characteristics in purslane at M_2 generation. *Journal of Genetics and Plant Breeding* 2 (1), 27-42.

Journal of Genetics and Plant Breeding 2 (1), 27-42. DOI: 10.22103/gpb.2024.23117.1006

Received: December 18, 2024. Received in revised form: February 22, 2025.

Accepted: February 24, 2025. Published online: April 6, 2025.

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

© the authors

مجله ژنتیک و به نژادی گیاهی
شاپا چاپی: ۷۹۶۵-۳۰۶۰ شاپا الکترونیکی: ۷۲۷۱-۳۰۶۰
انجمن ژنتیک ایران
دانشگاه شهید باهنر کرمان

اثرات اشعه گاما بر برخی صفات فیتوشیمیایی در خرفه در نسل M_2

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 دانایی‌پور

دانش آموخته دکتری، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)، قزوین. رایانامه: danazahra@ymail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۲۸ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۳/۱۲/۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۶

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 (M_2) 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 M_2 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 فلاونویید 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 (۱۴۰۴) اثرات اشعه گاما بر برخی صفات فیتوشیمیایی در خرفه در نسل M_2. *مجله ژنتیک و به‌نژادی گیاهی*، ۲(۱)، ۴۲-۲۷.

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 عموما 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[1] روشی سودمند و کارا در افزایش تنوع در گیاهان می‌باشد (Arulbalachandran et al. 2009). عوامل جهش‌زا عموما به دو گروه فیزیکی و شیمیایی تقسیم می‌شوند. مهمترین عوامل فیزیکی و شیمیایی شامل پرتوهای یونیزه کننده مانند پرتوهای ایکس و گاما و مواد آلکیل‌گذار 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 ژرم‌پلاسم 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 واریته‌های موتان در پایگاه اطلاعاتی واریته جهش یافته سازمان خواربار کشاورزی (فائو) و آژانس بین‌المللی انرژی هسته‌ای اشاره نمود. تا ۲۰ فروردین ۱۴۰۳ تعداد واریته‌های 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 آنجایی‌که 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 Khatri et al. (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 می شوند، 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[1]، 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 کاملا تصادفی نامتعادل و به‌صورت بوته به ردیف در ردیف‌های به طول ۱/۵ متر در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد (عرض جغرافیایی ۳۱° و ۳۶′، طول جغرافیایی ۴۸° و ۵۵۳′، 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 کارتنویید، میزان آنتوسیانین، ترکیبات فلاونوئیدی، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز و میزان روغن دانه اندازه‌گیری شدند.

میزان کارتنوئید به‌روش 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)

[1] . probit

Aebi، و استخراج روغن دانه (از ۱۰ گرم دانه) به روش Uquiche et al. (2008) اندازه‌گیری شدند. شاخص سبزینگی برگ به روش غیرتخریبی و با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر (SPAD, model 502PLUS, Konica, Japan) اندازه‌گیری شد.

تجزیه آماری داده‌ها شامل تجزیه پروبیت، آزمون همگنی واریانس خطاهای تیمارها (آزمون لون[1])، 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، به‌جای آزمون دانکن از آزمون‌های مقایسه میانگین مانند Tamhane، Dunnett T3، Games-Howell و Dunnett C 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	آزمون F
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.

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.

[1] . Levene test

برای صفات آنتوسیانین و کاتالاز با توجه به ناهمگن بودن واریانس خطاهای آزمایشی، به‌جای 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 تقریبا 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 M_2 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 جهش القایی 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 پراکسیدار 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 M_1 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 (M_2) خرفه

Table 2. Variance analysis of leaf phytochemical traits and grain oil content in the second generation (M_2) of purslane

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

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

* 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). پرتودهی 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 پرتودهی مکرر جهت ایجاد جهش استفاده شد و تغییرات ریخت‌شناختی جدیدی از این گونه تا نسل M_7 (نسل هفتم برنامه به‌نژادی

جهش) بررسی شد. چندین جهش یافته گل‌ناز آفتابی در جمعیت M_8 با ظاهر ریخت‌شناختی جدید که عمدتاً در ویژگی‌های کیفی گل‌ها بود، مشاهده شد (Aisyah et al. 2022).

جدول ۳. مقایسه میانگین (میانگین ± اشتباه معیار) کلروفیل کل، کارتنوئید، آنتوسیانین و فلاونوئید تحت اثرات دزهای مختلف اشعه گاما

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

اشعه گاما (گری) Gamma rays (Gy)	کلروفیل کل (میلی‌گرم در گرم وزن تر نمونه) Total chlorophyll (mg per gram of sample fresh weight)	کارتنوئید (میلی‌گرم در گرم وزن تر نمونه) Carotenoid (mg per gram of sample fresh weight)	آنتوسیانین (میکرومول بر گرم وزن تر نمونه) Anthocyanin (micromole per gram of sample fresh weight)	فلاونوئید (درصد جذب) Flavonoid (absorption %)
0	$0.646^{b}\pm0.09$	$0.79^{a}\pm0.7$	$0.00080^{a}\pm0.00005$	$14.85^{bc}\pm0.98$
200	$0.745^{ab}\pm0.04$	$0.628^{a}\pm0.04$	$0.00061^{a}\pm0.0001$	$12.46^{d}\pm0.42$
300	$0.54^{bc}\pm0.09$	$0.635^{a}\pm0.1$	$0.00101^{a}\pm0.0001$	$13.58^{cd}\pm0.45$
400	$0.985^{a}\pm0.08$	$0.583^{a}\pm0.05$	$0.00586^{a}\pm0.002$	$15.70^{b}\pm0.6$
500	$0.313^{c}\pm0.07$	$0.256^{b}\pm0.03$	$0.00068^{a}\pm0.00006$	$18.2^{a}\pm0.84$

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 محصولاتی مانند غلات، حبوبات، دانه‌های روغنی، سبزی‌ها، میوه‌ها، گیاهان زینتی و لیفی در پایگاه آژانس بین‌المللی انرژی هسته‌ای (https://mvd.iaea.org) موجود است. متاسفانه 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 ژرم‌پلاسم موجود مواجه هستند، اهمیت دارد (Ahmad 1985). از آنجایی‌که 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).

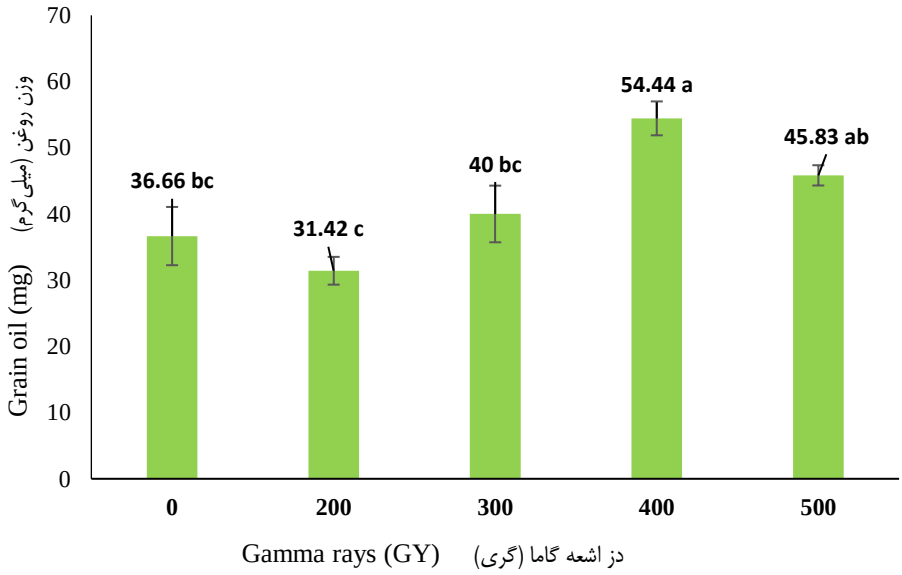
جدول ٤. مقایسه میانگین (میانگین ± اشتباه معیار) صفات کاتالاز و پراکسیداز تحت اثرات دزهای مختلف اشعه گاما

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

پراکسیداز (واحد در میلی‌گرم پروتئین) Peroxidase (Unit in mg of protein)	کاتالاز (واحد در میلی‌گرم پروتئین) Catalase (Unit in mg of protein)	اشعه گاما (گری) Gamma rays (Gy)
$0.29^{c}\pm0.02$	$0.2700^{ce}\pm0.05$	0
$1.05^{a}\pm0.07$	$0.5900^{ac}\pm0.1$	200
$0.85^{ab}\pm0.11$	$0.0983^{de}\pm0.02$	300
$0.68^{abc}\pm0.13$	$0.8311^{ab}\pm0.11$	400
$0.56^{bc}\pm0.13$	$0.1816^{ce}\pm0.99$	500

حروف متفاوت در هر ستون تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهد.

Different letters in each column indicate significant differences.



شکل ۱. مقایسه میانگین (میانگین ± 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 ± 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 Haddad2020). 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 کنترل‌کننده دو صفت با همدیگر پیوستگی (لینکاژ) قوی داشته باشند؛ ب: ژن‌ها دارای اثر پلیوتروپی (پدیده چند اثری بودن یک ژن) باشند، به‌نحوی 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

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

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

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

نتیجه‌گیری: 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 معنی‌دار بود. با توجه به خصوصیات اندازه‌گیری شده و مقایسات صورت گرفته می‌توان 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 هسته‌ای و اشعه گاما می‌تواند روی صفات فیتوشیمیایی گیاه دارویی خرفه موثر واقع شود و به‌کارگیری این روش علمی می‌تواند در بهبود شاخص‌های رشدی و میزان و نوع متابولیت ثانویه این گیاه دارویی ارزشمند، مفید واقع شود. اثرات دزهای مختلف پرتو گاما بر مقادیر صفات مورد مطالعه به‌صورت تصادفی بود و فقط در مقدار کارتنوئید با افزایش دز اشعه، مقدار آن افزایش یافت. معنی‌دار شدن همبستگی بین سه صفت فیتوشیمیایی کاتالاز، کلروفیل کل و آنتوسیانین نشان می‌دهد که گزینش یا به‌نژادی برای یکی از این صفات احتمالاً منجر به تغییر در دو صفت دیگر گردد. از آن‌جا که تابش‌دهی بذرها با اشعه گاما در سازمان انرژی اتمی ایران با هزینه‌ی ناچیز انجام می‌گیرد و با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش و همچنین گران بودن مواد شیمیایی جهش‌زا پیشنهاد می‌شود، با کنترل شرایط تابش‌دهی مثل رطوبت بذر، کشت بذرها بلافاصله پس از تابش‌دهی بذرها به‌منظور افزایش بازدهی و سودمندی جهش‌زایی، از اشعه گاما به‌عنوان جهش‌زای مناسب در پژوهش‌های 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

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 hypercholesteroleomia 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 M_2 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., & Ortíz, 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 (Portulacaeae, Caryophyllales). *Botanical Journal of the Linnean Society, 179*, 144-156. https://doi.org/10.1111/boj.12309

Yılmaz, 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