فصلنامه مطالعات محیط زیست، منابع طبیعی و توسعه پایدار
سال پنجم، شماره ۳ (پیاپی: ۱۷)، پاییز ۱۴۰۰
ISSN: 2588-4255

بررسی تاثیر موتاژن شیمیایی اتیل‌متان‌سولفونات(EMS) برصفات جوانه‌زنی بذر لیسیانتوس

فاطمه عسگری[1*]، سید نجم الدین مرتضوی[2]، جعفر محمدی[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۱۵
کد مقاله: ۴۲۰۸۹

چکـیده

یکی از روش‌های نوین و مکمل روش‌های اصلاحی ایجاد جهش برای به‌وجود آوردن گیاهان پلی‌پلوئید است، که با دستیابی به تکنیک‌های نوین اصلاحی نظیر القاء جهش، پلی‌پلوئیدی و ایجاد واریته‌های جدید می‌توان با تغییرات جزئی در ساختار ژنتیکی گیاه و حفظ صفات مورد نظر استفاده کرد. اصلاح نباتات تنوع ژنتیکی را در صفات مفید کشف می‌کند تا ارقام جدید، پر محصول و بهبود یافته تولید کند. اتیل‌متان‌سولفونات (EMS) یک ماده شیمیایی است که به طور گسترده‌ای برای القای مکان‌های جهش، که صفات ضروری اقتصادی را تنظیم می‌کنند، استفاده می‌شود. مطالعه حاضر نقش موتاژن شیمیایی(EMS)، در غلظت‌های (صفر، ۰/۰۵، ۱/ ۰، میلی‌مولار)، بر صفات جوانه‌زنی بذر لیسیانتوس در شرایط آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت. بررسی‌ها شامل درصد، سرعت، شاخص و یکنواختی جوانه‌زنی می‌باشند. نتایج نشان داد افزایش غلظت(EMS) منجر به کاهش تدریجی جوانه‌زنی بذر می‌شود. درصد جوانه‌زنی در تیمار شاهد با بیشترین درصد با مقدار ۵۳/۳۱ را به خود اختصاص داد. یکنواختی جوانه‌زنی با افزایش غلظت(EMS) افزایش یافت و تاثیر مثبتی از خود نشان داد. به‌عبارتی حداکثر میزان جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر در نمونه شاهد به دست آمد و با به کارگیری(EMS) و با افزایش غلظت(EMS) ازصفات مذکور کاست و جوانه‌زنی را به تاخیر انداخت.

واژگـان کلـیدی: اتیل متان سولفونات، جوانه‌زنی، غلظت، جهش

۱- دانش‌آموخته کارشناس ارشد دانشگاه زنجان، (نویسنده مسئول) *fatemehasgari211@yahoo.com*
۲- دانشیار، گروه باغبانی دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
۳- استادیار، بازنشسته دانشکده کشاورزی،دانشگاه زنجان

۱- مقدمه

یکی از اجزای انکارناپذیر در طراحی فضای سبز شهری، گل‌ها و گیاهان بستری هستند(Harbaugh, 2007). لیسیانتوس با نام علمی(*Eustoma grandiflorum*)، یک گیاه زینتی متعلق بـه خانواده Gentianaceae می‌باشد(Anderson,2006). لیسیانتوس گیاهی تتراپلوئید با ترکیب ژنتیکی ۲n=۴x= ۷۲ کروموزومی می‌باشد. پژوهش‌های انجام‌شده در این مورد عمدتاً به بررسی عوامل محیطی مؤثر در افزایش کمیت و کیفیت لیسیانتوس، بـه منظور تولید گل شاخه بریـده، انجام شده است. به‌طور کلی، مطالعات اندکی در مورد شرایط بهینه کشت و کار این گیاه، به‌ویژه در مراحل اولیه پرورش وجود دارد(Anderson ,2006).

همچنین این گیاه علاوه بر اهمیت اقتصادی و تجاری به دلیل مقاومت به گرما و پاتوژن نیز مورد توجه است(نوریه، ۱۳۹۴). مقاومت به شرایط اسیدی خاک و تحمل گرما، و نیز مقاومت به پاتوژن به‌ویژه فوزاریوم[1] در نتیجه افزایش ماندگاری گلدانی، باعث تمرکز بیشتر پژوهش‌های جدید بر این گیاه شده و از دیدگاه مهندسی ژنتیک، بیوشیمی و فیزیولوژی، بیش از پیش آن‌را مورد توجه قرار داده است(Harbugh, 2007). این گیاه یک محصول نسبتاً جدید گل شاخه بریده است که با گیاهان گلدار بریده شده مانند گل رز، گل میخک یا گل داوودی مقایسه می‌شود. لیسیانتوس به دلیل داشتن گل‌هایی همانند گل رز، ماندگاری بالای پس از برداشت، بسیار سریع در میان ده گل بریده برتر جهان قرار گرفت، این گیاه علاوه بر رنگ آبی، طیف گسترده‌ای از رنگ‌های گل و همچنین الگوهای گل موجود است(همان). گل‌ها دارای انواع کم‌پر و پرَپر و در اندازه‌های کوچک، متوسط و بـزرگ، بـا شکل‌های پهن، لوله‌ای و زنگوله‌ای و با گلبرگ‌های سـاده و چـین خـورده وجود دارند(همان). لیسیانتوس توسط بذر تکثیر می‌شود، اگرچه می‌توان از روش کشت بافت نوک ساقه نیز استفاده کرد(Roh et all,1984). هر چند که روش معمول تکثیر گل لیسیانتوس با بذر است ولی متاسفانه یکی از مشکلات تکثیر آن ریز بودن بذر و جوانه‌زنی سخت آن به علت خواب می‌باشد(کمالی و همکاران، ۱۳۹۶).

مشکلات حاصل از تولید این گیاه با روش متداولش ناهمسانی ژنتیکی همراه با احتمال آلودگی گیاهچه به بیماری را به دنبال دارد(Furukawa et al, 1990). یکی از روش‌های نوین و مکمل روش‌های اصلاحی سنتی ایجاد جهش برای به‌وجود آوردن گیاهان پلی‌پلوئید است که با دستیابی به تکنیک‌های نوین اصلاحی نظیر القاء جهش، پلی‌پلوئیدی و یا مهندسی ژنتیک می‌توان با تغییرات جزئی در ساختار ژنتیکی گیاه و حفظ صفات مورد نظر مصرف کننده در وقت و هزینه اصلاح‌گران صرفه‌جویی کرد (جعفرخانی کرمانی و همکاران، ۱۳۸۷).

یکی از روش‌های ایجاد ارقام جدید استفاده از مواد جهش‌زاها می‌باشد، لذا در ایران به دلیل امکان تولید، پرتو گاما در سازمان انرژی اتمی برای القای تغییرات ژنتیکی برخی آزمایشات بر روی اصلاح گندم، پنبه و برنج صورت گرفته، اما در مورد گیاهان زینتی بسیار کم کار شده است. مواد جهش‌زای فیزیکی(نظیر پرتوهای پرانرژی) یا شیمیایی(نظیر اتیل‌متان‌سولفونات[2]) بوده و قادرند با مکانیسم متفاوت در ژنوم موجود زنده اثر کرده و تغییرات قابل توارثی را ایجاد کنند(محمدسالاریان، ۱۳۸۴). مواد جهش‌زا را می‌توان برروی تمام اندام‌ها اثر داد ولی مناسب‌ترین آن‌ها بر روی بذر می‌باشد. ازمزایای این‌کار این است که تیمار دادن بذر با مواد شیمیایی راحت‌تر است و همچنین نگه‌داری و انتقال آن به مسیرهای دور دست امکان پذیر می‌باشد. برخی از مواد جهش‌زا قادر به ایجاد جهش‌هایی در گیاه هستند که منجر به بیش از صددرصد تغییر در ریخت ارثی ایجاد می‌شود، به چنین موادی موتاژن‌زا گفته می‌شود.

از موتاژن‌زاهای شیمیایی بر روی قلمه و جوانه نیز می‌توان استفاده کرد(ارزنی و همکاران، ۱۳۸۷). تاثیر موتاژن‌های شیمیایی بر روی جوانه‌زنی بذر موثرتر از موتاژن های فیزیکی است(Mick et all, 1991,Anonymous,2001). همچنین میزان غلظت، نقش اصلی را در گیاه دارند بدین صورت که غلظت‌های بالا شانس موتاسیون را بالا می‌برند و برعکس (Proch et al, 2009). تغییرات جهشی نامطلوب بیشتر توسط موتاژن‌های فیزیکی مشاهده شده است با این حال موفقیت کاربرد موتاژن‌های فیزیکی بیشتر است(آقچه کهریزی،۱۳۸۹). به علت اینکه جهش‌های شیمیایی اکثرا سرطان‌زا هستند، لذا در مواقع استفاده از آن‌ها دقت کافی مبذول داشت. یکی از مهم‌ترین گروهای جهش‌های شیمیایی، عوامل آلکیل کننده(این عوامل روی فسفات بازهای آلی DNA عمل اکسیداسیون انجام می‌دهد هستند(صادقیان مطهر،۱۳۸۷).

این گروه قوی‌ترین مواد جهش‌زا را تشکیل می‌دهند که با اضافه نمودن یک گروه آلکیل(اتیل یا متیل) در جایگاه مختلف DNA جهش‌های هم‌جنس و ناهم‌جنس را ایجاد می‌کنند. این مواد منجر به تغییر در باندهای هیدروژنی می‌شوند. از آن‌جایی که اثر مواد آلکیل کننده همانند پرتوهای یونیزه کننده است به آن مواد شیمیایی اشعه‌ای می‌گویند(صادقیان مطهر،۱۳۸۷).

1 Fusarium
2 Ethyl methan sulfonate

اتیل‌متان‌سولفوانات و دی‌اتیل‌سولفونات از متداول‌ترین روش‌های جهش‌زای شیمیایی محسوب می‌شوند(Datta, 2005)، که اتیل‌متان‌سولفوانات(EMS) یک موتاژن با کاربردی گسترده است، اما مواد جهش‌زای دیگری از موتاژن‌ها نظیر سدیم آزاید، اتیل-نیتروز یا اشعه گاما نیز استفاده می‌شود(Polsoni, 1988).

EMS با موفقیت در خانواده سولاناسه[1] برای ایجاد تنوع ریخت شناختی و بهبود صفات مطلوب، از جمله عملکرد، کیفیت میوه، مقاومت در برابر بیماری و سولاناسه مورد استفاده قرار گرفته است. اندام‌هایی که تحت تاثیر مواد موتاژن‌زا قرار می‌گیرند از قبیل بذر، دانه گرده، گیاهچه، پیاز، قلمه، بافت کالوس می‌باشند. بذور مسن نسبت به بذور جوان بهتر بوده و بیشتر تحت تاثیر موتاژن قرار می‌گیرد. بهتر است میزان رطوبت بذر درحد نرمال(۱۳-۱۴درصد)، باشد و بذور تازه یا کهنه مناسب نمی‌باشد(فارسی و همکاران،۱۳۹۲:۲۱۰). کاهش رشد طول جوانه تازه سبز شده اغلب به‌عنوان یک نشانه اثر موتاژن محسوب می‌شود. درصد جوانه-زدن بذور در شرایط مزرعه یا آزمایشگاه معیاری برای ارزیابی صدمات ناشی از غلظت‌های مختلف موتاژن می‌تواند باشد. تأثیر موتاژن‌های شیمیایی بر روی جوانه‌زنی موثرتر از موتاژن‌های فیزیکی است(Micke et al, 1991, Anonymous, 2001).

استفاده از روش‌های اصلاحی مناسب جهت بهبود کمی و کیفی محصولات امری ضروری است. القای موتاسیون با روش‌های مختلف به‌عنوان یک روش پرکاربرد برای اصلاح و ایجاد واریته‌های جدید در گیاهان زینتی استفاده می‌گردد(شیخ پور و همکاران، ۱۳۹۵). درآزالیا و گل داودی، درصد ارقام مشتق شده از جهش‌های طبیعی یا القایی به مقدار تا ۵۰ درصد رسیده است (Heursel,1980). برخی از مهم‌ترین گیاهان زینتی که به صورت گل بریدنی و یا گیاه گلدانی برای اصلاح از طریق جهش مورداستفاده قرار گرفته‌اند عبارتند از: رز، داوودی، میخک، ارکیده، شمعدانی و اختر(Jain, 2006)، که در رزها ایجاد جهش با استفاده از ماده شیمیایی اتیل‌متیل‌سولفونات توسط کیکر در سال ۱۹۸۲ انجام گرفته است.

جهش‌های EMS مشتق شده از گوجه فرنگی[2]، عامل شروع یوکاریوتی، مقاومت در برابر ویروس‌ها است. برخی از مهم‌ترین گیاهان زینتی که به صورت گل بریدنی و یا گیاه گلدانی برای اصلاح از طریق جهش مورد استفاده قرار گرفته‌اند عبارتند از: رز، داوودی، میخک، ارکیده، شمعدانی و اختر(Jain, 2006)، بر اساس مطالعه‌ای که معلومی و همکاران در سال(۱۳۹۵) بر روی گیاه به‌لیمو انجام داده‌اند، پس از خارج نمودن گیاهچه‌های رشد یافته در محیط کشت بافت و قرار دادن آن‌ها در معرض غلظت‌هایی از ماده شیمیایی EMS، صفت مورفولوژیکی مورد نظر را براساس وزن تر ریشه که نتایج این صفت حاکی از تغییرات مورفولوژیکی گیاه و سودمندی‌های حاصل از جهش را به دنبال داشته است، به‌عبارتی دیگر با بالا رفتن غلظت EMS وزن تر ریشه گیاه نسبت به شاهد افزایش یافته است.

در مطالعه بذر گل فلفل دلمه‌ای با استفاده از در EMS غلظت‌های(۰/۰۱، ۰/۱، ۰/۰۵، درصد) به مدت ۳و ۶ ساعت تیمار شد. در آزمون جوانه‌زنی آزمایشگاهی مشاهده شد که افزایش غلظت EMS اثر سو بر جوانه‌زنی بذر دارد(Alcantara et al, 1996)، در آن مطالعه بذر گل فلفل دلمه‌ای با ۱/۵، ۱ و ۱/۵ درصد EMS تیمار و به مدت ۳، ۶ و ۹ ساعت تحت تیمار قرار گرفت. در نسل M_1، بذرهای تیمار شده با ۱/۵ درصد EMS به مدت ۹ ساعت کمترین درصد جوانه‌زنی(۸۴ درصد)، را در بین تمام تیمارها داشتند. اگرچه در این گزارش، در بالاترین غلظت EMS، بذرها کمترین درصد جوانه‌زنی را داشتند اما باز هم بسیار بیشتر از آنچه در بررسی ما مشاهده شد بود (همان).

مطالعات زیادی برای القای جهش‌های مصنوعی توسط EMS در گیاهان زراعی انجام شده است. جهش‌زایی بذر برای القا گلدهی زودرس در کلزا(Thurling et al, 1992)، افزایش زنده ماندن گرده و مقاومت در برابر پوسیدگی میوه در فلفل دلمه-ای(Ashok et al, 1995)، راندمان بالای EMS برای ایجاد تنوع، تنوع فنوتیپی مانند برگ‌های سیب زمینی، اندازه میوه کاهش یافته و حداکثر مقاومت در برابر بیماری در گوجه فرنگی مشاهده شده است(Yudhvir, 1996). تمام این مطالعات نشان می‌دهد که EMS اثر جهش‌زایی موثری است و می‌تواند برای تولید جهش در گیاهان مختلف از جمله فلفل مورد استفاده قرار گیرد (Zubrzycki et al,1985)؛(Munyon,1972).

طبق مطالعه‌ای که مجیدی و همکاران انجام دادند نتایج نشان داد که افزایش غلظت EMS منجر به کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، درصد سبزشدن و سرعت سبز شدن می‌شود.

شاه و همکاران در سال(۲۰۱۵) نشان دادند که غلظت EMS در شرایط محیطی مختلف بر روی رقم خیار نسل M_1 در سطح ۱/۵ درصد در زمان ۲۴ ساعت بیشترین تنوع را ایجاد کرده‌است. اثر جهش‌زایی بر رفتارهای مختلف جوانه‌زنی از جمله درصد جوانه‌زنی، شاخص جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و خصوصیات رشد از قبیل ارتفاع گیاهچه، وزن برگ، وزن گیاهچه، طول ریشه و میزان زنده‌مانی پس از تیمار مقدار زیادی تغییرات ایجاد کرده است.

1 Solanaceae
2 Solanum lycopersicum

۲- مواد و روش‌ها

تهیه، ضدعفونی و کشت نمونه‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان در سال ۹۷ به‌منظور بررسی خصوصیات صفات جوانه‌زنی بذر لیسیانتوس انجام شد.

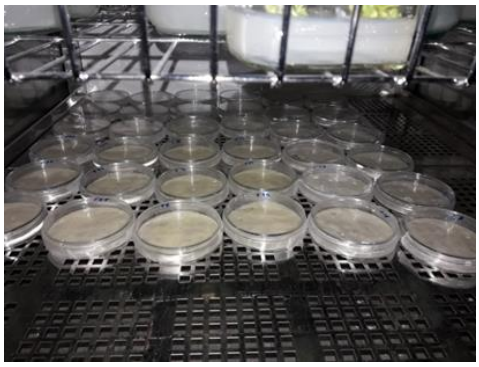
در این پژوهش ده گرم بذر خالص و عاری از آلودگی لیسیانتوس برای تیمار با اتیل‌متان‌سولفونات خریداری شد. سپس بذرها را به آزمایشگاه منتقل کرده و آن‌ها را با آب مقطر شستشو داده و آب آن را خارج و با الکل ۵۰ درصد بذرها ضدعفونی شدند و در انتها بذرها را روی کاغذ صافی قرار داده و آن‌ها خشک شدند. سپس موتاژن شیمیایی(EMS)، در غلظت‌های(صفر، ۰/۰۵، ۰/۱، میلی-مولار)، به مدت ۲ ساعت و با طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد.

اتیل‌متان سولفونات را با رعایت تمام اصول ایمنی(شکل ۱)، زیر هود شیمیایی در غلظت‌های متفاوت مورد با سمپلر برداشته و محلول تیماردهی تهیه شد و بر روی شیکر قرار داده شد تا محلول یکنواخت شود سپس بذرها را به داخل محلول با غلظت مورد نظر منتقل و مورد استفاده قرار گرفت و بعد از گذشت زمان مورد نظر، بذور تیمار شده به مدت ۱۵ دقیقه در آب جاری شیر شسته شدند و ۱۵ دقیقه نیز در آب مقطر ساکن قرار داده شدند.

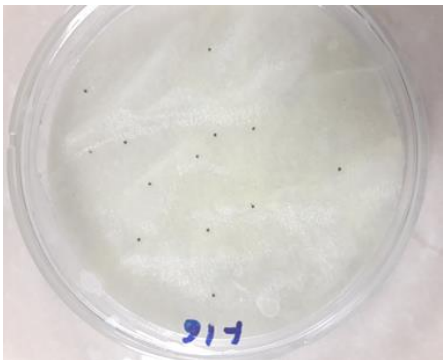
سپس بذور تیمار شده با ماده شیمیایی EMS در پتری‌دیش ۵ سانتی‌متری بر روی کاغذ صافی کشت شدند و درب آن‌ها را با پارافیلم آزمایشگاهی محکم بسته و مشخصات تیمارها بر روی پتری‌دیش‌ها یادداشت شدند و در انتها پتری‌دیش‌ها را به دستگاه انکوباتور (اتاقک رشد)،(شکل ۲)، با رطوبت ۸۵ درصد و دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد انتقال داده شدند و هر روز وضعیت بذرها را در پتری‌دیش چک نموده و بذور جوانه زده شمارش شدند.

پس از جوانه‌زنی و ظهور ریشه‌چه و مشاهده آن در پتری‌دیش (شکل۳)، پارامترهای جوانه‌زنی از جمله درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و یکنواختی جوانه‌زنی و شاخص جوانه‌زنی مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

شکل ۱ (مأخذ: نگارنده،۱۳۹۷)



شکل ۲ (مأخذ: نگارنده،۱۳۹۷)



شکل۳ (مأخذ: نگارنده،۱۳۹۷)

پارامترهای جوانه‌زنی مورد بررسی از طریق فرمو ل‌های زیر محاسبه شدند:

- درصد جوانه زنی

$$G = n / N * 100 \qquad (۱)$$

(n تعداد بذور جوانه‌زده تا پایان آزمایش، N تعداد بذور کشت شده)

- سرعت جوانه‌زنی

$$GR = X1 / Y1 + (X1 – X2) / Y2 + … + (XN - XN-1) / YN \quad (۲)$$

X تا X_N (درصد بذور جوانه‌زده در شمارش)، ۱ تا N , Y_1 تا Y_n زمان از ابتدای کشت تا شمارش N

- یکنواختی جوانه‌زنی:

$$GH = D_{10\%} - D_{90\%} \quad (۳)$$

(یکنواختی $D_{10\%}$ و $D_{90\%}$ به ترتیب مدت زمان از کاشت تا زمانی که درصد جوانه‌زنی تجمعی به ۱۰ و ۹۰ درصد حداکثر خود برسد).

- شاخص بنیه بذر

$$VI=(RL+SL)*GP \text{ (Abdul,1973)} \quad (۴)$$

GP درصد جوانه‌زنی، RL طول ریشه‌چه، SL طول ساقه‌چه

۳- نتایج و بحث

با توجه به مقایسه میانگین(جدول ۱)، اثر اصلی میزان غلظت و زمان تیماردهی بر صفات جوانه‌زنی بذر لیسیانتوس مشاهده می‌شود که درصد جوانه‌زنی کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داده است. با افزایش غلظت EMS از درصد جوانه‌زنی کاسته می‌شود. اتیل‌متان‌سولفونات یک ترکیب سمی است و تیمار با آن اثر سو بر جوانه‌زنی بذر دارد. افزایش غلظت EMS منجر به کاهش تدریجی درصد جوانه‌زنی گیاهچه‌ها شد.

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که سطح سمی غلظت EMS و قرار گرفتن در معرض آن بستگی به شرایط آزمایشی و انواع مختلف آن دارد. به‌عبارتی دیگر با افزایش غلظت و زمان تاثیرات چشمگیری در جوانه‌زنی دارد. نتایج فوق می‌تواند به اثر جهش-زایی در بافت‌های مریستمیک بذر نسبت داده شود. یا همه‌ی این‌ها ممکن است به دلیل آسیب فیزیولوژیکی و حاد کروموزومی(Singh, et al, 1997; Nilan et al, 1976)، تأخیر در فرآیند میتوز(Yada, 1987)، فعالیت آنزیم ناشی از ناهنجاری‌های کروموزومی مانند کاتالاز و لیپاز و فعالیت هورمونی منجر به کاهش جوانه‌زنی و زنده‌مانی آن‌ها شود.

بیشترین مقدار با ۷۵/۲۵ برای صفت سرعت جوانه‌زنی به‌دست آمده است. سرعت جوانه‌زنی در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار با ۶۴/۱۴ درصد کاهش معنی‌داری را نسبت به شاهد از خود نشان داد. شاخص بنیه بذر نیز در نمونه شاهد و نمونه‌های تیماری در غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱ و صفر، میلی‌مولار تقریبا تفاوت آن‌چنانی مشاهده نمی‌شود. به‌عبارتی دیگر با افزایش غلظت EMS شاخص بنیه بذر کاهش می‌یابد. با توجه به جدول مقایسه میانگین درصد یکنواختی جوانه‌زنی بذرهای لیسیانتوس با افزایش غلظت‌های مختلف EMS، باعث افزایش یکنواختی جوانه‌زنی گردید.

در این پژوهش مشخص شد که اگر چه با افزایش غلظت EMS از میزان جوانه‌زنی بذور لیسیانتوس کاسته می‌شود ولی درصد یکنواختی جوانه‌زنی بذر افزایش می‌یابد. برای تعیین میزان جوانه‌زنی بهتر است از محیط تیماردهی غلظت بدونEMS استفاده نمود و یا با کمترین میزان غلظت را استفاده نمود. نتایج ما با مطالعاتی که انجام شده، نشان داد که با افزایش سطح غلظت EMS، جوانه‌زنی و زنده‌مانی بذر کاهش یافته است مطابقت دارد(Roychowdhury et al, 2011).

جدول ۱- مقایسه میانگین اثرات اصلی میزان غلظت EMS بر صفات جوانه‌زنی بذر لیسیانتوس(مأخذ: نگارنده)

تیمار غلظت میلی مولار	درصد جوانه زنی درصد	سرعت جوانه‌زنی درصد	شاخص بنیه بذر	یکنواختی جوانه‌زنی درصد
صفر	۵۳/۳۱	۷۵/۲۵	۷/۲۲	۶۴/۱۴
۰/۰۵	۵۱/۵۸	۶۸/۱۶	۷/۰۱	۶۸/۱۸
۰/۱	۴۸/۴۴	۶۴/۱۴	۶/۹۷	۷۵/۲۵

۸- نتیجه‌گیری

در این پژوهش، ما اثر غلظت های مختلف EMS را بر روی بذر گل لیسیانتوس و حساسیت آن به ماده جهش‌زا بررسی کردیم و از نتایج به‌دست آمده دریافتیم که اثر جهش‌زایی بر روی رفتارهای مختلف جوانه‌زنی از جمله درصد جوانه زنی، سرعت جوانه‌زنی و شاخص جوانه‌زنی دارد و با افزایش غلظت EMS باعث کاهش جوانه‌زنی بذور شد که نشان دهنده‌ی اثر منفی EMS بر جوانه‌زنی بذور لیسیانتوس می‌باشد و باعث افزایش یکنواختی جوانه‌زنی شد. به‌عبارت دیگر برای تعیین میزان جوانه‌زنی بذرهای لیسیانتوس بهتر است از محیط تیماردهی بدون غلظت EMS استفاده نمود و یا با کمترین میزان غلظت (۰/۰۵) میلی‌مولار را استفاده نمود. اکثر محققان برای تعیین غلظت بهینه از معیار ۵۰٪ کشندگی(LD_{50}) استفاده می‌کنند(Das et al, 1997).

۹- پیشنهادات

با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق، پیشنهاد می‌شود که:

۱. به‌دلیل اینکه گیاه لیسیانتوس یک گیاه زینتی پر کاربرد است، برای تکثیر و تولید آن آزمایشات بیشتری صورت پذیرد.
۲. جهش یافته‌ها در مقیاس گسترده‌تری به‌منظور بررسی تغییرات در مورفولوژی و فیزیولوژی و همچنین ارزیابی عملکرد آنها در نسل‌های بعدی مورد آزمایش قرار گیرند.
۳. ردیابی صفات مطالعه شده و سایر خصوصیات جهش یافته‌ها با استفاده از مارکرهای مولکولی
۴. استفاده از ژنوتیپ‌های برتر در برنامه‌های اصلاحی آتی

منابع

۱. آقچه کهریزی، زهرا (۱۳۸۹)، ایجاد ژنوتیپ‌های جدید رز با استفاده پرتو تابی اشعه گاما در شرایط این ویترو، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه زنجان
۲. ارزانی، احمد، مرتضوی، الیاس (۱۳۸۰)، چاپ اول، اصول تجزیه و تحلیل ژنتیک: ترجمه، مرکز نشر دانشگاهی صنعتی اصفهان، دو جلدی، صفحه ۱۰۱
۳. جعفرخانی، کرمانی، مریم، جوکار، ابوالفضل حبشی، علی‌اکبر(۱۳۸۷)، مروری بر بهنژادی مدرن گل و گیاهان زینتی، SID،۱۴،۳-۵
۴. سالاریان، محمد(۱۳۸۴)، اثر تابش اشعه گاما و دی‌اتیل‌سولفات بر ایجاد جهش در گلایول، ۳۶۰، چکیده مقالات چهارمین کنگره علوم باغبانی ایران، ۱۷-۱۹. دانشگاه فردوسی مشهد
۵. شیخ پور، س، و شریفی سیرچی، غلامرضا (۱۳۹۵). بررسی اثر دوزهای مختلف موتاژنهای شیمیایی بر روی خصوصیات رشدی بذر رعنای زیباکنفرانس علوم و مهندسی، https://civilica.com/doc/555986.
۶. صادقیان مطهر، ف. س. ی(۱۳۸۷). اصول بهنژادی گیاهان زراعی و باغی. انتشارات نشر آموزش کشاورزی .ص.۱۶-۲۱۵.
۷. کمالی، م، منعمی زاده، ز (۱۳۹۶)، تیمارهای مختلف بر شکستن خواب و تخریک جوانه زنی بذر گیاه لیسیانتوس (Estoma grandiflorum).
۸. فارسی،محمد، عبدالرضا، باقری(۱۳۷۰)، اصلاح نبات، انتشارات جهاد دانشگاهی، صفحه ۲۱۰
۹. مجیدی، محمدمهدی و ارزانی، احمد(۱۳۸۳). بررسی القا موتاسیون با اتیل‌متان‌سولفونات(EMS) در اسپرس (Onobrychis viciifolia Scop)، نیمه دوم، دوره ۱۸، شماره ۲، صفحه ۱۶۷ تا صفحه۱۸۰
۱۰. معلومی، زهرا، مبرم، مینا (۱۳۹۵). مطالعه جهش‌زائی EMS بر روی وزن تر ریشه گیاه داروئی به لیمو بااستفاده از کشت بافت گیاهی، کنفرانس بین المللی پژوهش در علوم و مهندسی، ترکیه، دبیرخانه دائمی همایش،دانشگاه استانبول،https://civilica.com/doc/53693
۱۱. نوریه، م (۱۳۹۴)، نقش فسفر در تحمل به آلومینیوم در گیاه لیسیانتوس(Eustomagrandiflora L.)، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی
12. Abdul Baki AA and Anderson JD.(1973). Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. Crop Science 13(6): 630-633.

13. Alcantara, T.P., P.W. Bosland and D.W. Smith.(1996). Ethyl methane sulfonate induced mutagenesis of Capsicum annuum. J. Heredity, 87: 239-241.
14. Anderson, N.O.(2006). Flower Breeding and Genetics: Issues, Challenges, and Opportunities for the 21 Century. Springer, Dordrecht.
15. Ashok, Y., PP Sharma and A. Yadav.(1995).Effect of different ethyl methane sulfonate treatments on pollen viability and fruit rot incidence in bell pepper. Ann. Agric. Res., 16: 442-444.
16. Das, M., L., and Haque, M.M.(1997). Response of sesame seeds to gamma rays and EMS in M1 generati on. Bangladesh J. Bot. 26:75-78.
17. Datta,S.K.(2005).colourMutation.nationalBotanicaResearchInstituteLucknow.India.IAEA.SM.pp.57-311.
18. Furukawa, H., Matsubara C. and Shigematsu N.(1990). Shoot regeneration from the roots ofprairie gentian (Eustoma grandiflorum Griseb Schinners). Plant Tissue Culture Letters, 7 (1): 11-13.
19. Harbaugh, BK.(2007). LISIANTHUS. In: Anderson Neil O (Eds.), Flower Breeding and Genetics. Springer. 824p.
20. Heursel, J. 1980. Sportvorming bij Rhododendron simsii Planch. (Azalea indica L.): een synthese. Landbouwtijdschrift 33: 985-994.
21. Jain, S. M.(2006). Mutation-assisted breeding for improving ornamental plants. Acta Hort. 714: 85-98.
22. Kaicker, U. S. 1982. Mutation breeding in roses.Indian Roses Ann Rep.2:35-42.
23. Micke,A. Donini, Maluszynki, m.(1991). Induced mutation for crop improvement Gamma field symposia No.30. Inst. Ofradiation breeding, NIAR, MAFF, japan.Pp.1-22
24. Munyon, L.(1985). Chemical Mutagenesis in Chile Pepper Through Ethyl Methane Sulfonate. New Mexico State University, Las Cruces, NM.
25. Nilan, R. A., A. Klenihofs and C. Sander. 1976. Azide mutagenesis in barley, H. Goul (ed). Barley Genetics III, pp. 113-122
26. Polsoni, L., L.S.Kott, W.D.Beversdorf.(1988).Large-scale microspore culture technique for mutation selection studies in Brassica napus. Canadian Journal of Botany 66: 1681-1685.
27. Porch, T. G., Blair, M. W., Lariguet, P., Galeano, C., Pankhurst, C. E., and Broughton, W. J. 2009. Generation of a mutant population for tilling commonbean genotype BAT 93. J. Am. Soc. Hortic. 206, 759–773.
28. Roh, M.S. and R.H. Lawson.(1984). 'The culture of lisianthus'. Greenhouse Manager, 2: 103-121.
29. Roychowdhury R and Tah J.(2011). Germination behaviors in M2 generation of Dianthus after chemical mutagenesis. Interl. J. Advan. Sci. Tech. Res. 1: 448-154.
30. S.N.M. Shah, Z.-H. Gong, M.H. Arisha, A. Khan1 and S.-L. Tian.(2015). Effect of ethyl methyl sulfonate concentration and different treatment conditions on germination and seedling growth of the cucumber cultivar Chinese long (9930). Genetics and Molecular Research 14 (1): 2440-2449
31. Singh, G., P. K. Sareen and R. P. Saharan. 1997. Mutation studies in mung bean (Vigna radiata L. Wilczek). J. Nuclear Agric. Biol. 26(4): 227-231.
32. Thurling, N. and V. Depittayanan.(1992). EMS induction of early flowering mutants in spring rape (Brassica napus). Plant Breed., 108: 177-184.
33. Yudhvir, S.(1995).Mutagenic effect of N-nitrso-N-methyl Urea and ethyl methane sulphonate on the incidence of fruit rot in tomato. New Agric., 6: 89-94.
34. Yadav, R. D. S. 1987. Effect of mutagens on mitotic index, seedling vigour and chlorophyll mutation in mung bean (Vigna radiata L. Wilczek). J. Nuclear Agric. Bio. 16(1): 13-1
35. Zubrzycki, H.M. and A.V. Pahlen.(1972). Comparison between Effects of Ethyl Methane Sulfonate and X-RAYS on Induction of Mutations in Capsicum annuum L. Laea Sandra, Vienna, pp: 387-396