مجله پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیستم، شماره اول، ۱۳۹۲
http://jopp.gau.ac.ir

ایجاد تنوع در صفات زراعی کلزا با پرتوتابی گاما و بررسی جهش ایجاد شده در ژن کنترل‌کننده اسید اولئیک با استفاده از نشانگرهای مولکولی

مهیار گرامی[۱]، نادعلی بابائیان جلودار[۲]، رقیه مومنی لاریمی[۳]، *ابوذر قربانی[۴] و نادعلی باقری[۲]

[۱]عضو هیأت‌علمی مؤسسه غیرانتفاعی سنا- ساری، [۲]عضو هیأت‌علمی گروه اصلاح نباتات، دانشگاه ساری، [۳]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه ساری، [۴]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه زیست‌شناسی، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت: ۹۱/٤/۲٤؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۰/۱۸

چکیده

اصلاح نباتات مدرن بر مبنای ایجاد تنوع، انتخاب، ارزیابی و تکثیر ژنوتیپ‌های مطلوب شکل گرفته است. به‌این منظور برای ایجاد تنوع صفات زراعی در ارقام کلزای PF و زرفام، از اشعه گاما (۵۰۰، ۷۰۰، ۹۰۰، ۱۱۰۰ و ۱۳۰۰ گری) استفاده گردید. صفات مورد ارزیابی شامل ارتفاع ساقه اصلی، تعداد شاخه فرعی، تعداد غلاف در شاخه اصلی و فرعی، طول غلاف و وزن هزار دانه در نسل M_2 بود. از نشانگرهای مولکولی SCAR و RAPD جهت بررسی تغییرات به‌دست آمده از جهش در ژن کنترل کننده اولئیک اسید استفاده گردید. نتایج نشان داد در رقم PF تمامی صفات به‌جز تعداد غلاف شاخه اصلی کاهش معنی‌داری در همه تیمارها نسبت به شاهد داشته‌اند. در رقم زرفام با وجود کاهش در میزان صفات مورد ارزیابی در تیمارهای مختلف، اثر دز تنها برای وزن هزار دانه معنی‌دار شد. بیشترین ضریب تنوع نسبی در ارقام PF و زرفام برای تعداد غلاف شاخه فرعی به‌دست آمد. در بررسی تک بوته‌های هر دز در نسل M_2 لاین‌هایی با صفات برتر نسبت به شاهد مشاهده شد. این صفات شامل کاهش ارتفاع ساقه، افزایش تعداد غلاف شاخه اصلی و فرعی، طول غلاف و وزن هزار

*مسئول مکاتبه: ghorbani62@gmail.com

دانه بود که باعث افزایش عملکرد دانه گردیدند. بنابراین انتخاب و بررسی این صفات در نسل‌های بعدی جهت تثبیت این لاین‌ها راه برای ایجاد ارقام برتردر کلزا هموار می‌سازد. نتایج مربوط بررسی مولکولی با نشانگر SCAR در مکان ۳۹۹bp و نشانگر RAPD در مکان ۸۳۰bp نشان داد که تمامی نمونه‌های تحت تیمار اشعه گاما ارقام PF و زرفام در این مکان‌ها دارای باند موردنظر بوده‌اند.

واژه‌های کلیدی: تنوع القایی، مارکر مولکولی، جهش

مقدمه

دانه کلزا به‌نظر داشتن بیش از ٤٠ درصد روغن از مهمترین نباتات روغنی در جهان و ایران محسوب می‌شود. از طرفی با دارا بودن کمترین میزان اسیدهای چرب اشباع در بین دانه‌های روغنی و فاقد کلسترول بودن از ارزش تغذیه‌ای بالایی برخوردار می‌باشد. با توجه به نیاز مبرم به تولید دانه‌های روغنی و روغن‌های گیاهی، افزایش تولید این گیاه امری بدیهی می‌باشد. در کشور ما این افزایش تولید همگام با افزایش مصرف نبوده طوری که تنها ۱۰ درصد روغن مورد نیاز کشور در داخل تولید می‌گردد (ملکوتی و همکاران، ۱۹۹۰). بنابراین به کارگیری روش‌های اصلاحی مناسب امری ضروری جهت رسیدن به واریته‌هایی با خصوصیات برتر و در نتیجه افزایش عملکرد بالا برای این گیاه می‌باشد. در کلزا استفاده از جهش در کنار اصلاح کلاسیک، جهت ایجاد تنوع ژنتیکی موردنیاز در صفات کمی و کیفی و اصلاح صفات وابسته به عملکرد و ارتقا سطح کیفی روغن توسط اصلاحگران در دهه‌های اخیر چشمگیر بوده و منجر به ایجاد انواع جدید ارقام روغنی با بهبود کمی و کیفی و افزایش عملکرد گردیده است. از مهمترین روش‌های به کار برده شده برای ایجاد تنوع ژنتیکی، جهش زایی از طریق پرتوتابی با اشعه گاما می‌باشد (آدو داپا و سنگان، ٢٠٠٤). اصلاح‌گران از جهش زایی به‌طور موفقیت آمیزی در کلزا جهت تغییر ساختار ژنتیکی و صفاتی مانند ارتفاع، تعداد غلاف در گیاه، تعداد بذر در هر غلاف، وزن هزار دانه، عملکرد دانه، محتوی روغن و مقاومت به بیماری‌ها استفاده نموده و جهش‌یافته‌هایی با صفات اقتصادی مطلوب ایجاد کرده‌اند (مهلا و همکاران، ۱۹۹۰؛ جاود و همکاران، ۲۰۰۰). در مطالعه‌ای بذرهای یک گونه از شلغم، تحت تیمارهای ۷۵۰، ۱۰۰۰ و ۱۲۵۰ گری اشعه گاما قرار گرفت که دو موتانت (TS95-1005 و TS96-752) با صفات زراعی مطلوب و عملکرد بیشتر نسبت به لاین والدینی به‌دست آمد. دو موتانت ذکر شده دارای وزن هزار دانه بیشتری

نسبت به والد بوده که احتمالاً در نتیجه افزایش اندازه دانه تحت تأثیر موتاژن به‌دست آمده است (جاود و همکاران، ۲۰۰۳). تغییر در اسیدهای چرب کلزا که در واقع معرف ارزش کیفی و تغذیه‌ای روغن می‌باشند نیز از دهه ۱۹۷۰ به بعد پیشرفت‌های زیادی داشته است (ولاسکو و همکاران، ۱۹۹۸). به‌دلیل تأثیرپذیری زیاد اسیدهای چرب از محیط، انتخاب موتانت‌هایی با تغییر اسید چرب بسیار مشکل می‌باشد، به‌همین لحاظ موتاسیون‌های القا شده به‌طور مستقیم به‌عنوان یک واریته جدید استفاده نمی‌شوند اما می‌توانند به‌عنوان والدین، در تلاقی‌ها برای توسعه کیفیت‌های بالای واریته‌های کلزا استفاده شوند. تکنیک‌های نوین بیوتکنولوژی مانند نشانگرهای مولکولی در این زمینه بسیار کارساز می‌باشند و می‌توان از آن‌ها جهت ردیابی تغییرات به‌دست آمده از اعمال تیمار موتاژنی استفاده نمود، نشانگرهای مناسب و قابل اعتماد، انتخاب طی مدت زمان کمتر را در افراد حامل ژن‌های اسید چرب خاص ممکن می‌سازند (گوپتا و همکاران، ۲۰۱۰). هیو و همکاران (۱۹۹۸)، نشانگرهای RAPD (M14-350 و I06-650) را برای ردیابی ژن کنترل کننده اولئیک اسید که ۷ تا ۱۰ درصد تنوع ژنتیکی را نشان می‌داد و نشانگر RAPD ($L1L_9$) و مارکر SCAR آن را جهت ردیابی ژن لینولنیک اسید که بیان کننده ۱۵درصد تنوع ژنتیکی بوده، معرفی نمودند. تانهوانپا و همکاران (۱۹۹۵)، از نشانگرهای مولکولی مختلف برای شناسایی نشانگر مناسب همبسته با ژن کنترل کننده پالمتیک اسید در شلغم استفاده نمودند. در بین نشانگرهای مورد مطالعه، نشانگر رپید OPB-11a به اندازه زیادی با این لوکوس لینکاژ داشته است. آن‌ها اظهار داشتند که این نشانگر به‌دلیل راحتی و سرعت انتخاب میزان پالمتیک اسید می‌تواند مفید باشد. تانهوآنپا و همکاران (۱۹۹۵)، از تجزیه بالک جهت شناسایی نشانگرهای RAPD همبسته با ژن یا ژن‌های کنترل کننده اولئیک اسید در نسل M_2 در خردل استفاده نمودند و نشانگر رپید OPH-17 را به‌عنوان مناسب‌ترین نشانگر همبسته با اولئیک اسید معرفی نمودند. آن‌ها برای افزایش قابلیت اعتماد و اعتبار، نشانگر رپید موردنظر را به نشانگر SCAR با پرایمرهای خاص تبدیل نمودند. نشانگر رپید $UBC\ 2_{830}$ با بیان ٤٣ درصد تنوع ژنتیکی برای اولئیک اسید و نشانگر اسکار آن با یک جفت پرایمر و نشانگر $UBC\ 153_{550}$ با بیان ۱۹ درصد تنوع ژنتیکی برای لینولنیک اسید توسط جاویدفر و همکاران (۲۰۰٦)، معرفی گردیدند.

هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر اشعه گاما در ایجاد تنوع ژنتیکی در صفات زراعی کلـزا و تغییرات به‌دست آمده از پرتودهی در اسید چرب اولئیک توسط نشانگر مولکولی بوده است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۸۵ انجام گرفت. در این آزمایش از بذرهای ۲ رقم کلزا رایج در استان مازندران با نام‌های PF و زرفام با ۵ تیمار دز اشعه گاما (۵۰۰، ۷۰۰، ۹۰۰، ۱۱۰۰ و ۱۳۰۰ گری[1]) به همراه شاهد به کار گرفته شد (برای هر دز میزان ۳۰ گرم بذر در نظر گرفته شد). کشت بذرها طی دو فصل زراعی جهت تولید دو نسل انجام شد. بذرهای پرتو دیده (M_1) در ۲۹ آبان سال ۱۳۸۵ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار کشت گردیدند. هر بلوک شامل ٦ کرت و در داخل هر کرت ۳ ردیف کاشت ٤ متری با فاصله بین و درون ردیف ٤٠ و ۷ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. سپس برداشت بذرها به‌صورت تک بوته و بالک در رابطه با هر دز جهت تولید نسل M_2 در سال آینده صورت پذیرفت. به‌این ترتیب که از هر دز تک بوته‌هایی انتخاب شده و بذر هر بوته به‌صورت جداگانه برداشت گردید در حالی‌که در برداشت بالک بذرهای بوته‌های موجود در هر دز با هم مخلوط گردیدند. در مبحث جهش معمولاً از گیاهان نسل اول به‌عنوان گیاهان پایه استفاده می‌گردد و به جز برخی صفات رویشی اولیه، بقیه تجزیه و تحلیل‌های آماری صفات از نسل دوم به بعد صورت می‌گیرد. در سال دوم زراعی، بذرهای بالک برداشت شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ٤ تکرار به تفکیک تیمارها کشت گردید. هر بلوک شامل ٤ کرت و در هر کرت ۵ خط کاشت ۲ متری در نظر گرفته شد. جهت ارزیابی تک بوته‌های موجود در هر دز، بذرهای برداشت شده هر بوته با سه تکرار کشت گردید. صفات رویشی و زایشی مورد ارزیابی در مزرعه شامل ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌های فرعی، تعداد غلاف در شاخه اصلی، تعداد غلاف در شاخه‌های فرعی، طول غلاف و وزن هزار دانه بودند. همچنین ضریب نسبی تنوع که معیاری از تنوع القا شده توسط تیمار موتاژنی می‌باشد و عبارت است از نسبت ضریب تنوع تیمار موتاژنی به نمونه‌های غیر تیمار شده یا شاهد (CV_t / CV_t) محاسبه گردید و از آزمون F جهت تعیین معنی‌دار بودن افزایش واریانس ژنتیکی نمونه تیمار شده نسبت به شاهد استفاده گردید که از نسبت واریانس نمونه تیمار شده به واریانس شاهد (V_t / V_{nt}) به‌دست می‌آید. جهت ارزیابی‌های مولکولی به‌منظور ردیابی ژن کنترل کننده اولئیک اسید نمونه‌های DNA از برگ‌های نسل M_2 با روش دلاپورتا (با تغییرات جزئی) استخراج گردید و سپس سایر مراحل کاری شامل بارگذاری نمونه‌ها جهت تعیین کیفیت DNA و

1- Gray

واکنش PCR صورت گرفت (جداول ۱ و ۲). تجزیه داده‌ها با نرم‌افزار آماری SPSS انجام شد و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. از نرم‌افزار MSTATC نیز جهت اندازه‌گیری LD_{50} (دز کشنده نیمی از مواد تحت تیمار) استفاده گردید.

جدول ۱- مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در واکنش PCR.

آغازگر	توالی	اندازه محصول	دمای اتصال
SCAR	A_2→5'-TGATGAACCTCCATGGA-3' B_2→5'- ACATAGTCGCCATTAATTA-3'	۳۹۹bp	٤٥
RAPD (UBC 2_{830})	5'-CCTGGGCTTG-3'	۸۳۰bp	۳۹

جدول ۲- زمان‌بندی سیکل حرارتی واکنش PCR.

پرایمر	دوره حرارتی	واسرشته شدن	اتصال	بسط
SCAR	دور اول	۵ دقیقه در ٩٤Ċ	۱ دقیقه در ٤٥ Ċ	۲ دقیقه در ۷۲ Ċ
	۳٤ دور بعدی	۱ دقیقه در ٩٤ Ċ	۱ دقیقه در ٤٥ Ċ	۲ دقیقه در ۷۲ Ċ
	دور آخر	۱ دقیقه در ٩٤ Ċ	۱ دقیقه در ٤٥ Ċ	۵ دقیقه در ۷۲ Ċ
RAPD	دور اول	۹۰ ثانیه در ۹۵ Ċ	۱ دقیقه در ۳۹ Ċ	۹۰ ثانیه در ۷۲ Ċ
	۳٤ دور بعدی	۲۰ ثانیه در ۹۵ Ċ	۱ دقیقه در ۳۹ Ċ	۹۰ ثانیه در ۷۲ Ċ
	دور آخر	۲۰ ثانیه در ۹۵ Ċ	۱ دقیقه در ۳۹ Ċ	۷ دقیقه در ۷۲ Ċ

نتایج و بحث

در رقم PF به‌دلیل تعداد بسیار کم گیاه سبز شده در نسل M_1 در دزهای ۱۱۰۰ و ۱۳۰۰ گری، در تجزیه و تحلیل داده‌ها این دزها لحاظ نشده‌اند. در حالی‌که در رقم زرفام این حالت مشاهده نگردید. در نتیجه مکانیسم تأثیر موتاژن با نوع رقم مورد مطالعه و روابط ژنتیکی آن قبل از تیمار رابطه مستقیمی دارد. طوری‌که میزان LD_{50} برای رقم PF مقدار ۱٦۱ گری به‌دست آمد در حالی‌که در رقم زرفام میانگین بیشتر صفات مورد ارزیابی نزدیک به میانگین آن در شاهد بوده و به‌نظر می‌رسد که برای این رقم می‌توان از دزهای بالاتر اشعه گاما استفاده نمود.

ارزیابی مقایسه‌ای بین دزهای مختلف اشعه گاما در نسل M_2: تجزیه واریانس در رقم PF نشان داد که دزهای مختلف اشعه روی تمامی صفات به‌جز تعداد غلاف در شاخه اصلی تأثیر معنی‌داری

داشته‌اند در حالی که در رقم زرفام اثر دز فقط برای صفت وزن هزار دانه معنی دار بوده است (جدول ۳). مقایسه میانگین صفات مختلف در رقم PF نشان داد که صفات ارتفاع ساقه اصلی، تعداد شاخه فرعی، تعداد غلاف در شاخه فرعی، طول غلاف و وزن هزار دانه تحت تأثیر مقادیر دز اشعه، عکس العمل مشابهی داشته، طوری‌که در تمامی این صفات دزهای اشعه اثر یکسان و کاهشی نسبت به شاهد آزمایش نشان داد (جدول ٤). کاهش ارتفاع ساقه می‌تواند یک تغییر مفید محسوب گردد زیرا پاکوتاهی در گیاهان تیره براسیکا موجب مقاومت بیشتر به ورس و پذیرش مقادیر بالاتر کود و در نتیجه افزایش عملکرد می‌گردد. همبستگی خطی ارتفاع گیاهچه گیاهان زراعی با میزان موتاژن‌های فیزیکی به‌وسیله سیدیک و سوآمیناتان (١٩٦٨) و وانگ و همکاران (١٩٩٥) و رحیمی و بحرانی (٢٠١١) گزارش شده است.

در رابطه با صفت تعداد غلاف در شاخه اصلی در رقم PF، اگر چه نتایج بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین دزهای مختلف اشعه می‌باشد اما با افزایش میزان دز اشعه تعداد غلاف در شاخه اصلی افزایش یافته است. جهت بالا بردن عملکرد دانه، افزایش تعداد کل غلاف ساقه اصلی کلزا از مهم‌ترین اهداف اصلاحی در این گیاه می‌باشد. از نظر بگ (١٩٨٦)، تعداد غلاف‌های روی شاخه اصلی از فاکتورهای بسیار مهم اجزای عملکرد در کلزا می‌باشد که با تعداد شاخه‌های فرعی همبستگی منفی و معنی‌داری دارد. بنابراین می‌توان در این مورد افزایش تعداد غلاف در شاخه اصلی را یک تغییر مطلوب اصلاحی به‌شمار آورد. در رقم زرفام صفات ارتفاع ساقه، تعداد شاخه جانبی، تعداد غلاف در شاخه اصلی و فرعی و طول غلاف تحت تأثیر معنی‌دار دز اشعه قرار نگرفته و در بررسی مقایسه میانگین تیمارها در یک گروه قرار گرفتند. برای صفت وزن هزار دانه، شاهد آزمایش وزن هزار دانه بیشتری نسبت به سایر دزهای اشعه گاما داشته است (جدول ٤).

جدول۳- تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی در ارقام کلزا.

منابع تغییر	درجه آزادی	رقم PF					
		MS					
		ارتفاع ساقه اصلی	تعداد شاخه فرعی	تعداد غلاف در شاخه اصلی	تعداد غلاف در شاخه فرعی	طول غلاف	وزن هزار دانه
تکرار	۳	۳۵/۱٤^{ns}	۵/٦۷^{ns}	۳۰/۹۸^{ns}	۱۲۳۹۰/۰۳^{ns}	۰/۱۹^{ns}	۰/۰۸^{ns}
دز	۳	۵٤۷/٤۷**	۵٦/٦۹**	۳۳/۲٤^{ns}	۱۹۰۲۱/۲۸*	۲/۳٦**	۰/۷۳**
خطا	۹	٦۰/۰۷	۵/٤۱	۱۳/۹۷	۳٤٦۸/۳۱	۰/۱٦	۰/۰۷
CV%		۷/۵	۳٤/۲	۱٦/۷	۳۵	٦/۵	۷/۰٦
		رقم زرفام					
تکرار	۳	۳۳۷/۹٦^{ns}	۲/۱٦^{ns}	۲۲/٦۰^{ns}	۷۲۱۱/۷۷^{ns}	۰/۱٦٦^{ns}	۰/۲۸^{ns}
دز	۵	۱۵۷/۰۸^{ns}	۱/۷۵^{ns}	۳۱/۵۲^{ns}	۱٤۵۷/۸۱^{ns}	۰/۱۳۷^{ns}	۱/۹۵**
خطا	۱۵	۱۳٤/۲٤	۱/۵۸	٤۰/۸۳	۱۸۸۵/۲۳	۰/٤٦۹	۰/۱۳
CV%		۱۰	۱٦/٦	٤۰/۹	۳۰/٦	۱۱/۵	۸/۳

* و ** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد ^{ns}: غیر معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد.

جدول ٤- مقایسه میانگین صفات مختلف در نسل M_2 ارقام کلزا.

دز	رقم PF					
	ارتفاع ساقه اصلی	تعداد شاخه فرعی	تعداد غلاف در شاخه اصلی	تعداد غلاف در شاخه فرعی	طول غلاف	وزن هزار دانه
۰	۱۱۸/۷۵^{a}	۱۲/۳۳^{a}	۱۹/۷۵^{a}	۲٦۸/۵۹^{a}	۷/۳۷^{a}	٤/۲۳^{a}
۵۰۰	۱۰۱/۳۲^{b}	٤/۰۹^{b}	۲۵/۸۹^{a}	۱۱۷/٤۱^{b}	٦/۰۵^{b}	۳/٤٤^{b}
۷۰۰	۹۷/٤۱^{b}	٤/۸۷^{b}	۲۳/۵۳^{a}	۱۵٦/۰٤^{b}	۵/٦۱^{b}	۳/۳۲^{b}
۹۰۰	۹۱/۵٦^{b}	۵/۸۸^{b}	۲۰/۲۹^{a}	۱۲۹/۹٦^{b}	۵/۹۹^{b}	۳/۹۰^{b}
	رقم زرفام					
۰	۱۲٤/۹۱^{a}	۸/٦٦^{a}	۲۰/۷۵^{a}	۱۵٤/۵۰^{a}	٦/۲۵^{a}	۵/۷٤^{a}
۵۰۰	۱۱٦/۵٦^{a}	۷/۲۲^{a}	۱۳/۱۸^{a}	۱٤۳/۱۰^{a}	٦/۱۹^{a}	٤/۰۰^{b}
۷۰۰	۱۱۲/۳۳^{a}	٦/٦٤^{a}	۱۳/۰۱^{a}	۱۰۵/۷۹^{a}	۵/۷۷^{a}	٤/۱۷^{b}
۹۰۰	۱۰۹/۳۱^{a}	۷/۵۹^{a}	۱۵/٦۵^{a}	۱۳۸/٦۳^{a}	۵/۷۱^{a}	٤/۰۰^{b}
۱۱۰۰	۱۰۷/۲٤^{a}	۷/۷۱^{a}	۱۵/۹۹^{a}	۱۵۹/۱۸^{a}	٦/۰۳^{a}	۳/۸۹^{b}
۱۳۰۰	۱۱۳/۵۸^{a}	۷/٦۲^{a}	۱۵/۱۳^{a}	۱٤۹/۰۸^{a}	۵/۷۹^{a}	٤/۱۷۰^{b}

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف غیرمشابه هستند بر مبنای آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

بررسی ضریب نسبی تنوع، دامنه تنوع و نسبت واریانس صفات مورد ارزیابی در نسل دوم: ضریب نسبی تنوع و دامنه تنوع و پارامتر F بیانگر مقدار و توزیع تنوع ایجاد شده به واسطه تیمار موتاژنی بوده و می‌توان از آن‌ها به‌عنوان روشی برای ارزیابی کارایی موتاژن استفاده کرد (جاود و همکاران، ۲۰۰۳). میزان قابل کنترل موتاسیون و استفاده از تکنیک‌هایی که تعداد افراد موتانت را افزایش می‌دهند، بخش مهمی از برنامه‌های اصلاحی می‌باشند که از طریق به‌دست آوردن کارایی موتاژن موردنظر، تا حد زیادی تأمین می‌گردد (پاندینی و همکاران، ۱۹۹۷). بیشترین میزان ضریب نسبی تنوع در بین صفات مورد ارزیابی در ارقام PF و زرفام متعلق به صفت تعداد غلاف در شاخه فرعی بوده که تحت تیمار ۷۰۰ گری اشعه قرار گرفت (جدول ۵ و ٦). بیشترین دامنه تغییرات نیز مربوط به تعداد غلاف در شاخه فرعی در رقم PF تحت تیمار ۹۰۰ گری اشعه بوده است (جدول ۵). میزان F تحت تمامی تیمارهای اشعه در رابطه با تمامی صفات به‌جز تعداد شاخه فرعی در رقم PF، معنی‌دار شد، در واقع واریانس صفات تحت دزهای مختلف اشعه افزایش معنی‌داری نسبت به واریانس شاهد داشته است. در بین صفات مورد بررسی بیشترین میزان F مربوط به تعداد غلاف در شاخه فرعی تحت تیمار ۷۰۰ گری بوده است (جدول ۵ و ٦). میزان بیشتر این پارامترها بیانگر ایجاد تنوع بیشتر بوده و بنابراین با مقایسه مقدار آن در بین ارقام مختلف و در رابطه با صفات مورد بررسی در هر رقم می‌توان گفت که در کدام یک از آن‌ها تنوع بیشتری نسبت به بقیه ایجاد گردیده است. در مجموع می‌توان گفت که اشعه گاما در افزایش تنوع (واریانس) بیشتر صفات مؤثر بوده است و در بین صفات مورد بررسی در این نسل، تعداد غلاف در شاخه فرعی بیش از سایر صفات تحت تأثیر موتاژن قرار گرفته و تنوع بیشتری را تولید کرده است. همچنین تیمار موتاژنی در رقم PF نسبت به رقم زرفام تنوع وسیع‌تری ایجاد نموده است.

جدول ۵- تجزیه واریانس صفات مختلف در لاین‌های رقم PF.

دز اشعه	منابع تغییر	درجه آزادی	MS					
			ارتفاع ساقه اصلی	تعداد شاخه فرعی	تعداد غلاف در شاخه اصلی	تعداد غلاف در شاخه فرعی	طول غلاف	وزن هزار دانه
۵۰۰	تکرار	۲	۲۸۷/۲	۲/۷۵	٦٤٠/٠١*	١٤١٩٠	٠/٠٦١ns	٠/١٣٨ns
	ژنوتیپ	۲۰	۳۵۳/۷**	۸/۳۹**	۲۰٦/٥ns	١٢٦١٠/٧**	١/٦٦**	١/١٧**
	خطا	٤٠	١٤٣/٩	١/٣٩	١٩٢/٢	٣٨٨٢/٨	٠/٠٦٣	٠/٠٦١
۷۰۰	تکرار	۲	۳/۹٦ns	١/٢٧ns	٢١٨/٥ns	٤٦٦٠٤/٥ns	٠/١٢٤ns	٠/٠٨ns
	ژنوتیپ	۲۰	٤٣٢/٩*	٨/٨٩*	١٥٠/٤ns	٢٤٨٠٩/٤ns	١/٠٣٨**	١/٠٣٦**
	خطا	٤٠	١٥٨/١	٤/١٣	٢٠٦/١	١٧٩١٣/٣	٠/١١٧	٠/١٥٨
۹۰۰	تکرار	۲	۲۱/۹۸ns	٠/٦٤٧ns	١٦ns	٩٧/٢ns	٠/٠٧٤ns	٠/٢٢٠ns
	ژنوتیپ	۲۰	٥٠٤/٦**	٦/٧٧ns	١٨٢/٠١*	١٢٨٣٦/٠٧**	٢/٥٧**	٠/٩١٢**
	خطا	٤٠	٢٠١/٢	٣/٩٥	٨٤/٩	٣٠٣٦/٦	٠/٣٦٧	٠/١٨٩

* و ** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد ns: غیر معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد.

جدول ٦- ضریب نسبی تنوع، دامنه تنوع و میزان F در نسل M_2 رقم زرفام.

صفات	ارتفاع ساقه اصلی			تعداد شاخه فرعی			تعداد غلاف در شاخه اصلی		
تیمار	ضریب نسبی تنوع	دامنه تنوع	نسبت واریانس	ضریب نسبی تنوع	دامنه تنوع	نسبت واریانس	ضریب نسبی تنوع	دامنه تنوع	نسبت واریانس
۰	۱	۱۲	–	۱	۲	–	۱	۱۰	–
۵۰۰	۳/۸۵	٦٤/٦٦	١٠/٧٨**	۲/۳	٥/٦٧	۲/۷*	۲/٥٩	١٤/٣٣	١/٦٣ns
۷۰۰	۳/٤	٥٠/٦٦	۷/۷**	۳	۷/۳۳	٤/٢٧**	۳/٤	٢٣/٣٣	۳/۳**
۹۰۰	٤/۷	۷۲	١٤/٦**	۲/٥	٦	۳/۷۸**	۲/۷۸	٢٢/٣٤	۲/۷*
۱۱۰۰	٤/١	۷۰	١٠/٨٨**	۲/۷	٦/٦۷	٤**	۲/۷۷	۲۰	۲/٥۲**
۱۳۰۰	٤/۷٤	۷۳	١٤/۷٤**	۳/۲	۷/۳٤	٥/٠٥**	٤/١٩	۳۳/۳٤	٤/۸۸**
تیمار	تعداد غلاف در شاخه اصلی			طول غلاف			وزن هزار دانه		
۰	۱	۱٥	–	۱	۰/٦	–	۱	۰/۹۲	–
۵۰۰	١٥/٥	٢١٦/٦۷	١٧١/٥٢**	۲/۱۸	١/٦٦	٤/۳**	۲/٤٥	۱/۹	۳/۸٥**
۷۰۰	٢٦/١٢	٣٣٨/٣٤	٢٩٦/٩٤**	۲/۹٦	۲/۱	۷/٤**	۱/۷٥	۱/٦۳	۲/۲٦*
۹۰۰	١٥/٤	۱۷٦	١٥٢/۷**	٤/۳	۳/۲	١٤/٣٦**	۲/۱۱	۲/۰۳	۲/۹٥*
۱۱۰۰	۱۷/۸	٢٤٨/٣٣	٢٣٨/١٩**	٤/٦۹	۳/۱٦	۱۷/٦**	۳/۲۸	۳/۰٤	٦/٦**
۱۳۰۰	۱۸/۷	٢٠٩/٣٣	١٩۷/٥۷**	۳/٤۸	۲/٦۲	۹/۸٦*	۲/۱۸	۱/۷۱	۳/۱۹*

* و ** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد. ns: غیر معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد.

ارزیابی بوته‌های مختلف (لاین‌ها) در هر دز اشعه در نسل M_2: تجزیه واریانس نشان داد که در رقم PF بین لاین‌های مختلف در دز ۵۰۰ گری برای تمامی صفات به‌جز تعداد غلاف در شاخه اصلی اختلاف معنی‌دار وجود دارد. در دز ۷۰۰ گری لاین‌های مورد مطالعه برای تمامی صفات به‌جز تعداد غلاف در شاخه اصلی و فرعی اختلاف معنی‌داری نشان دادند. در دز ۹۰۰ گری نیز بین لاین‌های مختلف برای تمامی صفات به‌جز تعداد شاخه فرعی اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۵). در رقم زرفام نتایج تجزیه واریانس نشان دهنده اختلاف معنی‌دار لاین‌ها برای صفات ارتفاع ساقه اصلی، طول غلاف و وزن هزار دانه در دز ۵۰۰، ۹۰۰ و ۱۱۰۰ گری می‌باشد. همچنین برای دز ۷۰۰ و ۱۳۰۰ گری بین لاین‌های مورد مطالعه، در رابطه با تمامی صفات به‌جز تعداد غلاف در شاخه اصلی و تعداد غلاف در شاخه فرعی اختلاف معنی‌دار وجود داشته است (جدول ٦).

با توجه به مقایسه تک بوته‌های (لاین‌های) موجود در هر دز و با توجه به انتخاب بوته‌هایی با صفات مطلوب و برتر نسبت به شاهد، در مجموع می‌توان گفت در رقم زرفام بین لاین‌های مورد ارزیابی در دز ۵۰۰ گری، لاین شماره ١٤ با داشتن کاهش معنی‌داری در ارتفاع ساقه ($\overline{x}$=۸۱/۳٤ سانتی‌متر) نسبت به شاهد ($\overline{x}$=۱۳۰/٦۷ سانتی‌متر) و لاین شماره ۱۳ با افزایش معنی‌داری در طول غلاف ($\overline{x}$=۷/۰۱ سانتی‌متر) نسبت به شاهد ($\overline{x}$=٦/۲۳ سانتی‌متر) برترین لاین‌های این دز بوده‌اند. در بین لاین‌های دز ۷۰۰ گری لاین‌های شماره ۸ با کوتاه‌ترین ارتفاع ساقه ($\overline{x}$=۸۱/۳٤ سانتی‌متر)، شماره ٦ با بلندترین طول غلاف ($\overline{x}$=۷/ ۲۷ سانتی‌متر) و شماره ۱۲ با بیشترین تعداد غلاف در شاخه اصلی ($\overline{x}$=۲۸) مطلوب‌ترین لاین‌ها در مقایسه با شاهد بوده‌اند. لاین‌های شماره ۱۵ با کوتاه‌ترین ارتفاع ساقه ($\overline{x}$=۷۰/٦۷ سانتی‌متر) و شماره ۱۷ و ۱ به‌ترتیب با بلندترین طول غلاف ($\overline{x}$=۷/۳cm سانتی‌متر) و بیشترین وزن هزار دانه ($\overline{x}$=۵/۲گرم) دارای اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد در بین لاین‌های مورد ارزیابی در دز ۹۰۰ گری رقم زرفام بوده‌اند. بین لاین‌های دز ۱۱۰۰ گری لاین‌های شماره ۲ و ۱۹ به‌ترتیب با کمترین ارتفاع ساقه ($\overline{x}$=۷۳/۳٤ سانتی‌متر) و بیشترین وزن هزار دانه ($\overline{x}$=۵/۳گرم) و لاین شماره ٤ با بیشترین طول غلاف ($\overline{x}$=۷/۱٤ سانتی‌متر) در مقایسه با شاهد بهترین لاین‌ها بوده‌اند و در دز ۱۳۰۰ گری لاین‌های شماره ۱، ۵ و ۷ به‌ترتیب با کمترین ارتفاع ساقه ($\overline{x}$=۷۵ سانتی‌متر) و بیشترین طول غلاف ($\overline{x}$=۷/۱۹ سانتی‌متر) و تعداد غلاف در شاخه اصلی ($\overline{x}$=۳۹/۳٤) مطلوب‌ترین لاین‌ها بوده‌اند.

در رقم PF لاین شماره ۱۵ از نظر کاهش ارتفاع ساقه ($\overline{x}$=۸۸/۳۳ سانتی‌متر) و افزایش طول غلاف ($\overline{x}$=۷/۸٦ سانتی‌متر) و لاین شماره ۱٦ از نظر افزایش غلاف در شاخه اصلی ($\overline{x}$=۵۱) و فرعی ($\overline{x}$=۳٦٦/٦٦) و لاین شماره ۱۰ از نظر افزایش وزن هزار دانه ($\overline{x}$=۵/۲ گرم) دارای اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد در بین لاین‌های دز ۵۰۰ گری بوده‌اند. در بین لاین‌های مورد ارزیابی در دز ۷۰۰ گری تنها برای صفت ارتفاع ساقه اصلی و برای لاین شماره ۱۸ (٦ ۷٦/۷= $\overline{x}$ سانتی‌متر) کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد (۸۸ /۱۲۰= $\overline{x}$ سانتی‌متر) مشاهده گردید. در دز ۹۰۰ گری، شماره‌های ٤ (۷۰= $\overline{x}$ سانتی‌متر) و ۹ (۵/۳۷= $\overline{x}$ گرم) به‌ترتیب با کمترین ارتفاع ساقه و بیشترین وزن هزار دانه مطلوب‌ترین لاین‌های این دز بوده‌اند. کاهش ارتفاع ساقه، افزایش تعداد غلاف، طول غلاف و وزن هزار دانه از صفات مطلوب و بهینه جهت افزایش عملکرد دانه محسوب می‌شوند که در این رابطه نیز بوته‌هایی شناسایی شد که هر کدام در یک یا چندین صفت مطلوب بوده‌اند.کاهش ارتفاع ساقه می‌تواند یک تغییر مفید محسوب گردد چرا که پاکوتاهی در گیاهان تیره براسیکا موجب مقاومت بیشتر به ورس و پذیرش مقادیر بالاتر کود و در نتیجه افزایش عملکرد می‌گردد (الجنیکزاک و آدامسکا، ۱۹۹۹). کوهان و کومار (۱۹۸٦) و شاه و همکاران (۱۹۹۰)، موتانت‌های پاکوتاه با پتانسیل عملکرد بالا از طریق تیمار موتاژنی در جمعیتی از کلزا و خردل به‌دست آوردند. کوهان و کومار (۱۹۸٦)، ژنوتیپ‌هایی با تعداد بیشتر غلاف روی ساقه اصلی را از طریق القا موتاسیون در کلزا ایجاد نمودند. واگمار و همکاران (۲۰۰۰)، طی آزمایش‌هایی که در زمینه تأثیر موتاژن روی ماش انجام دادند، افزایش تعداد غلاف در گیاه و کاهش وزن هزار دانه را گزارش نمودند.

ارزیابی مولکولی: در این پژوهش از نشانگرهای SCAR و RAPD جهت ردیابی تغییرات احتمالی پس از تابش اشعه گاما در ژن کنترل کننده اولئیک اسید استفاده گردید. در واقع از این نشانگرها به‌عنوان ابزاری جهت سهولت انتخاب لاین‌های متفاوت از لاین شاهد و سایر لاین‌ها استفاده شد تا چنان‌چه لاینی دارای الگوی باندی متفاوتی از سایر لاین‌ها بوده را غربال نموده و سپس جهت تعیین میزان اولئیک اسید در روغن دانه آن از تست فنوتیپی استفاده شود. در این صورت دقت کار بالا می-رود زیرا تأثیرپذیری زیاد اسیدهای چرب از محیط انتخاب در سطح ژن بسیار دقیق‌تر می‌باشد و هم نیاز به انجام تست فنوتیپی برای جمعیت بزرگی از لاین‌ها مرتفع می‌گردد و تنها شاید جمعیت کوچکی تحت این تست قرار گیرند. در تست فنوتیپی می‌توان میزان دقیق اولئیک اسید را تعیین نموده و تشخیص داد که این میزان نسبت به سایر لاین‌ها کاهش و یا افزایش داشته است که در صورت تغییر

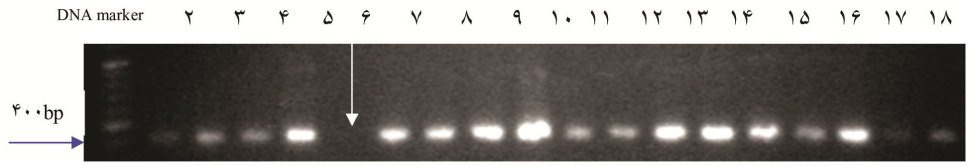
افزایشی، این لاین یک لاین مناسب بوده و با بررسی سایر صفات در نسل‌های بعدی و بررسی پایداری موتاسیون می‌توان از آن جهت ایجاد یک رقم جدید و یا معرفی یک رقم استفاده نمود. البته اصلاح به روش موتاسیون خصوصاً برای صفت فوق بسیار مشکل می‌باشد زیرا احتمال وقوع موتاسیون در ژن‌های کنترل کننده اولئیک اسید و یا سایر اسیدهای چرب به‌دلیل توارث ژن‌های چندتایی بسیار مشکل می‌باشد. نشانگر اسکار به‌کار برده شده در این مطالعه از کلون کردن نشانگر رپید $UBC\ 2_{830}$ به‌دست آمده است. این نشانگر یک باند مونومورف به اندازه ۳۹۹ جفت باز را در لاین‌های دارای اولئیک بالا تولید می‌کند.

بررسی ارقام مورد آزمایش با نشانگر اسکار نشان داد که شاهد ارقام PF و زرفام دارای باند مورد نظر بوده‌اند. در رقم زرفام حدود ۱۵۰ نمونه تحت تیمارهای مختلف اشعه، با نشانگر اسکار بررسی گردید. نتایج به‌دست آمده از واکنش PCR نشان داد که تمامی لاین‌های مورد مطالعه به جز سه لاین دارای الگوی باندی مشابه با شاهد بوده‌اند (شکل ۱ و ۲). طبق اظهارات بالا در نگاه اول می‌توان این لاین‌ها را موتانت در نظر گرفت که یا نسبت به سایر لاین‌ها اولئیک اسید بیشتر داشت و یا محتوی اولئیک اسید در آن‌ها کاهش یافته است. اما از آن‌جایی که باندهای تولید شده توسط این نشانگر مونومورف بوده و در مکان دیگری غیر از مکان موردنظر باندی ظاهر نمی‌گردد بنابراین عدم وجود باند نمی‌تواند استنباط محکمی بر وجود لاین موتانت باشد جهت تأیید و یا رد این مسئله از مارکر رپید پایه که مارکر اسکار از آن برگرفته شده استفاده گردید. این نشانگر ($UBC\ 2_{830}$)، در لاین‌های دارای اولئیک بالا باند پلی مورف به اندازه ۸۳۰ جفت باز تولید می‌کند. از آن‌جایی که در مکان‌های دیگری غیر از ۸۳۰bp تولید باند کرده بنابراین عدم وجود باند در این مورد در مکان ۸۳۰ bp و وجود باند در مکان‌های دیگر می‌تواند تأییدی بر ایجاد لاین موتانت در مکان ژن کنترل کننده اولئیک اسید باشد. اما در لاین‌های مورد بررسی در مکان ۸۳۰ bp باند ظاهر گردید که این موضوع نشان می‌دهد که نبود باند در الگوی به‌دست آمده از نشانگر SCAR دلیلی غیر از موتاسیون داشته است (شکل ۳).

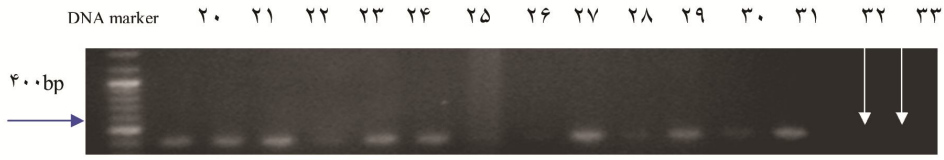
در رقم PF حدود ۱۰۰ نمونه تحت تیمار اشعه که از نسل M_2 انتخاب شده بود، با نشانگر SCAR ردیابی شدند. نتایج به‌دست آمده از واکنش PCR نشان دهنده تشابه باندی بین لاین‌ها با یکدیگر و با شاهد بوده است (شکل ٤).

تشابه الگوی باندی در لاین‌های تحت تیمار اشعه با شاهد آزمایش در ارقام مورد مطالعه می‌تواند دلایل بسیاری داشته باشد. یکی این‌که اگر چه اشعه گاما در دزهای به‌کار برده شده در صفات زراعی

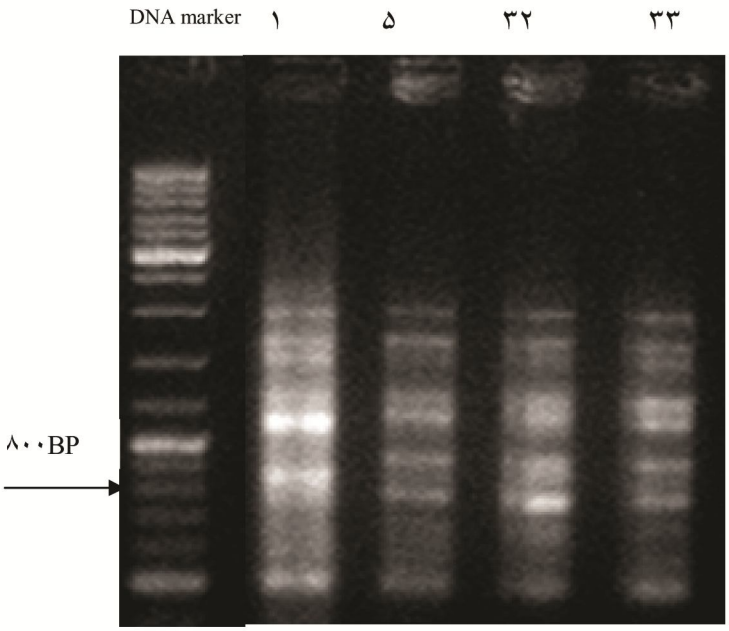
دیگر تغییر ایجاد نموده اما شاید جهت تغییر در مکان ژنی اسیدهای چرب، استفاده از دزهای بالاتر اشعه گاما در این ارقام نیاز باشد. دوم این‌که شاید موتاسیون نتوانسته تمامی ژن‌های مرتبط با این اسید چرب را تحت تأثیر قرار دهد. مناطق ژنتیکی اسیدهای چرب تحت کنترل چند ژن می‌باشند و بنابراین ایجاد تغییر از طریق موتاسیون بسیار مشکل می‌باشد (بورنس و همکاران، ۲۰۰۳). سوم این‌که احتمال موفقیت در مطالعات موتاسیونی در جمعیت‌های بزرگ‌تر بیشتر می‌باشد و بنابراین با مطالعه جمعیت بزرگ‌تر شاید تغییر موردنظر مشاهده گردد. دلیل چهارم این‌که شاید تغییرات در سطح اولئیک اسید آن قدر جزیی بوده است که منجر به ایجاد تفاوت قابل تشخیص نگردیده است زیرا در معرفی ارقام کلزا معمولاً میزان اسیدهای چرب در محدوده خاصی تعریف می‌شود و شاید تغییرات در سطح اولئیک اسید در اثر تابش اشعه آن‌قدر جزیی بوده که افزایش و یا کاهش آن از محدوده تعریف شده میزان اولئیک اسید در این ارقام تجاوز نکرده باشد. در مجموع می‌توان گفت که اگر در بین نمونه‌های مورد بررسی در رابطه با میزان اولئیک اسید، چنان‌چه نمونه‌ای متفاوت از بقیه که میزان اسید اولئیک آن تا حد قابل تشخیصی بالارفته بود وجود داشت مارکر به‌کار برده شده می‌توانست در مدت زمان کمتری و با درجه اعتماد بالاتری نسبت به سایر روش‌ها کارساز باشد.



شکل ۱- الگوی باندی مربوط به لاین‌های مختلف رقم زرفام با استفاده از نشانگر SCAR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد. شماره ۱- شاهد زرفام، شماره‌های ۱۸-۲ لاین‌های تحت تأثیر اشعه (لاین شماره ۵ فاقد باند موردنظر می‌باشد).

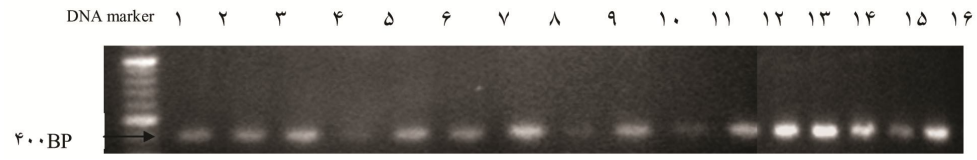


شکل ۲- الگوی باندی لاین‌های مربوط به رقم زرفام حاصل از نشانگر SCAR. شماره ۱۹- شاهد زرفام، شماره‌های ۳۳-۲۰ لاین هایتحت تأثیر اشعه (لاین‌های ۳۲ و ۳۳ فاقد باند موردنظر می‌باشند).



شکل ۳- الگوی باندی لاین‌های انتخاب شده از رقم زرفام با استفاده از نشانگر RAPD.

شماره ۱- شاهد زرفام، شماره‌های ۵، ۳۲ و ۳۳ لاین‌های فاقد باند موردنظر در الگوی حاصل از مارکر SCAR.



شکل ٤- الگوی باندی لاین‌های مربوط به رقم PF با استفاده از نشانگر SCAR.

شماره ۱- شاهد PF، شماره‌های ١٦-۲ لاین‌های تحت تأثیر اشعه در رقم PF.

منابع

1.Adu-Dapaah, H.K., and Sangwan, R.S. 2004. Improving bambara groundnut productivity using gamma irradiation and in vitro techniques. Afr J. Biotechnol. 3: 260-265.

2.Beg, A. 1984. Status of rapeseed and mustard in Pakistan. In: Manual on Rapseed and Mustard Production Technology. Oilseeds Programmers. Pak. Agric. Res. Council, Islamabad, Pakistan, PP: 11.

3.Burns, M.J., Barnes, S.R. Bowman, J.G. Clarke, M.H.E. Werner, C.P. and Kearsey, M.J. 2003. QTL analysis of an intervarietal set substitution lines in *Brassica napus* seed oil content and fatty acid composition. Heredity. 90: 39-48.
4.Chuhan, Y.S. and Kumar, K. 1986. Gamma rays induced chocolate B seeded mutant in *Brassica compestris* L. cv. Yellow Sarson. Current Sci. India. 55-410.
5.Goffman, F.D., Pinson, S. and Bergman, C. 2003. Genetic diversity for lipid content and fatty acid profil in oilseed rape. Oil Chem Soc. 80: 485-492
6.Gupta, V.K., Sharma, R. Jindal, V. and Dilawari, V.K. 2010. SCAR markers for identification of host plant specificity in whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.). Indian J. Biotechnol. 9: 360-366
7.Hu, J., Li, G. Struss, D. and Quiros, C.F. 1999. SCAR and RAPD markers associated with 18-carbon fatty acids in rapeseed, *Brassica napus*. Plant Breed. 118: 145-150.
8. Javed, M.A., Khatri, A. Khan, I.A. Ahmad, M. Siddiqui, M.A. and Arian, A.G. 2000. Utilization of gamma irradiation for the genetics improvement of oriental mustard (*Brassica juncea*). Pak. J. Bot. 32: 77-83.
9.Javed, M.A., Siddiqui, M.A. Kashif, M. Khatri, A. Khan, I.A. Dahar, N.A. Khanzada, M.H. and Khan, R. 2003. Development of high yielding mutants of *Brassica campestris* L. cv. Toria selection through gamma rays irradiation. Plant Sci. 2: 192-195.
10.Javidfar, F., Ripley, V.L. Roslinsky, V. Zeinali, H. and Abdmishani, C. 2006. Identification of molecular markers associated with oleic and linolenic acid in spring oilseed rape (*Brassica napus*). Plant Breed. 125: 65-71.
11.Mahla, S.V.S., Mor, B.R. and Yadava, J.S. 1990. Effect of mutagens on yield and its component characters in mustard. Haryana Agric. Univ. J. Res. 20: 259-264.
12.Malakoti, M.Z., Rezaei, E. and Mohajer milani, P. 1990. Optimum nutrition of oilseed rape. Agriculture education publish. (In Persian)
13.Olejniczak, J. and Adamska, E. 1999. Achivement of mutation breeding of cereal and oilseed crops in Poland proc. 3rd Int. Symp. New Genetical Approaches to crop improvement-III. Nuclear Institut of Agriculture, Tando Jam, Pakistan, Pp: 55-63.
14.Pandini, F., de, I.F. and Carvalho, J.F.B.N. 1997. Plant height reduction in populations of triticale (X triticale wittmak) by induced mutations and artificial crosses. Braz. J. Genet. 20, 3. Ribeirao Preto.
15.Rahimi, M.M., A., Bahrani. 2011. Effect of Gamma irradiation on Qualitative and Quantitative characteristics of canola (*Brassica napus* L.). Middle-East J. Sci Res. 8: 519-525. (In Persian)
16.Siddiq, E.A. and Swaminathan, M.S. 1968. Induced mutations in relation to the breeding and phytogenetic differentiation of (Oryza sativa L.) In: rice breeding with induced mutation, IAEA, Vienna. Pp: 25-51.

17.Shah, S.A., Ali, I. and Rahman, K. 1990. Induction and selsction of superior genetic variables of oilseed rape, *Brassica napus* L. The Nucleus. 7: 37-40.
18.Tanhuanpaa, P.K., Vilkki, J.P. and Vilkki, H.J. 1995. Identification of a RAPD marker for palmitic-acid content seed oil of spring turnip rape (*Brassica rapa*). TAG. 91: 477-480.
19.Velasco, L., Fernandez-Martin, J. and De Haro, A. 1998. Increasing erucic acid content in Ethiopian mustard through mutation breeding. Plant Breed. 117: 85-87.
20.Waghmare, V.N. and Mehra, R.B. 2000. Mutation in grasspea (*Lathyrus sativus* L.). *Lathyrus Lathyrisum* Newsletter. 1: 21-24.
21.Wang, G.L., Shen, M. Chen, Q.F. and Xu, G. 1995. Preliminary study of mutagenic effects of nitrogen ion implantation in rice. Acta Agric Nucleatae Siniea. 9: 73-79

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Plant Production, Vol. 20 (1), 2013
http://jopp.gau.ac.ir

Induction of variation in agronomic traits of oilseed rape (*Brassica napus* L.) using gamma irradiation and investigation of induced mutation in loci of oleic acid by molecular markers

M. Gerami[1], N. Babaeian Jelodar[2], R. Moemeni Larimi[3], A. Ghorbani[4] and N. Bagheri[2]

[1]Faculty Member of Sana-Sari University, Sari, [2]Faculty Member of Dept. of Plant Breeding, University of Sari, [3]M.Sc. Graduate, Dept. of Agriculture Biotechnology, University of Sari, [4]M.Sc Graduate, Dept. of Biology, Tarbiat Modares University

Abstract

Breeding desired cultivar in rapeseed programs is the main goal of plant breeders. Modern plant breeding has been formed on the basis of variation induction, selection, evaluation and multiplication of desired genotypes. To reach these goals, mutation breeding has played an important role to neonate variation. In this study seeds of PF and Zarfam cultivars were treated with five dosages of gamma rays (500, 700, 900, 1100 and 1300 Gry). Studied traits were: plant height, number of lateral branches, number of pods per plant, length of pods and weight of 1000-seed in M_2 generation. For detection of loci controlling oleic acid, SCAR and RAPD markers were used. Results showed that in PF cultivar, in all the traits except number of pods on main stem, significant deduction observed in compare with the control. In Zarfam cultivar, effect of gamma rays was significant only for the 1000-seed weight. In this study the most of relative variation coefficient between different traits belong to the number of pods on lateral branches. In this study, various lines with improved traits (lower height, more number of pods, and length of pods and 1000-seed weight) in compare with the control were obtained. Therefore, it is possible to choose desirable traits and introduce desirable variety in colza. Results of molecular markers showed that all lines treated with gamma rays in PF and Zarfam cultivars, had 399 bp and 830 bp bands.

Keywords: Inductive variation; Molecular marker; Mutation.

[*]Corresponding Author: Email: ghorbani62@gmail.com