

## استحداث طفرات وراثية بأشعة كاما والكشف المبكر عنها بتقانة RAPD في نبات البزاليا العطرية

جنان قاسم حسين

قسم البستنة وهندسة الحدائق. كلية الزراعة. جامعة القاسم الخضراء. جمهورية العراق

### المستخلص

نفذت الدراسة في احد مشاتل مدينة بغداد خلال العام 2014-2015 بهدف تقييم تأثير اشعة كاما في التركيب الوراثي لبذور نباتات البزاليا العطرية وانعكاسه على الصفات الخضرية والزهرية، استخدمت اربع جرع من أشعة كاما 10, 20, 30، 40 كيلوراد في مختبرات الفيزياء النووية-كلية العلوم-جامعة بغداد. تم الكشف عن وجود طفرات وراثية في الجيل الاول بالاعتماد على مؤشرات التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال لسلسلة Randomly Amplified (RAPD) DNA Polymorphic DNA، بينت نتائج تقانة RAPD وجود تغايرات وراثية بين معاملات الاشعاع للنباتات الناتجة من بذور الجيل الاول المشععة، حيث اعطت البادئات المستخدمة 57 حزمة في كافة المعاملات من بينها 20 حزمة متشابهه هو 37 حزمة متعددة شكلياً وبنسبة 64.91%، واعطت معاملة الاشعاع 40 كيلو راد اكبر بعد وراثي بلغ 38.4%. زرعت بذور النباتات الطافرة من الجيل الطفوري الاول ضمن تصميم القطاعات الكاملة المعشاة (RCBD) بثلاث مكررات، وقورنت المتوسطات باستعمال أقل فرق معنوي LSD لبيان الفروق الإحصائية بين المعاملات على مستوى احتمال 0.05. أثرت أشعة كاما في تحسين اغلب الصفات الخضرية والزهرية لنبات البزاليا العطرية، اذ اعطت معاملة البذور بالجرعة 20 كيلو راد اعلى ارتفاع للنبات 179.37 سم و اقل عدد ايام للازهار 134.05 يوم واطول حامل زهري 37.49 سم و اكبر قطر للزهرة 5 سم واطول عمر للنورة الزهرية 15.67 يوم، اما الجرعة 30 كيلو راد فقد اعطت اكبر قطر للساق الرئيس 3.02 سم و اكبر عدد للافرع 40.69 فرع. نبات<sup>1</sup> و اكبر مساحة ورقية 589.35 سم<sup>2</sup> و اعلى نسبة مئوية للمادة الجافة 27.88% و اكبر قطر للزهيرة 5 سم، بينما اعطت المعاملة 40 كيلو راد اكبر عدد للنورات الزهرية بلغ 59.33 نورة. نبات<sup>1</sup>. كما ادت معاملات الاشعاع الى ظهور صفات جديدة في النباتات كالعقم والتقرم والتبرقش.

الكلمات المفتاحية: البزاليا العطرية، مؤشرات التضاعف العشوائي المتعدد الاشكال لسلسلة DNA، اشعة كاما، الطفرات .



النبات على العكس من الجرعة العالية التي اعطت زيادة في عدد الافرع والوزن الجاف للمجموع الخضري ، و ادت الجرعة 7.5 ، 17.5 و 20 كيلوراد للبذور الجافة والجرعة 5 كيلوراد للبذور الرطبة الى التباين في ازهار النبات، كما ادى معاملة البذور الرطبة والجافة بالجرعة 2.5 كيلو راد الى زيادة عدد الزهيرات في النورة الزهرية، اما الجرعة العالية للبذور الرطبة والتي اعطت تباينات مورفولوجية على النبات ادت الى حدوث تباينات وراثية اكدها التوصيف الجزيئي لل DNA بالاعتماد على تقانة RAPD.

كشفت تقانة RAPD حدوث تباينات وراثية بنسبة 9-28% في نبات حب الملوك *Jatropha curcas* L. عنده تعريض البذور لجرع من اشعة كاما (25 ، 30 ، 35 ، 40 ، 45 ، 50 كيلو راد) حيث بينت نتائج اختبار 47 بادىء في هذه التقانة الحصول على 27.65 تعددا شكليا في DNA النباتات المدروسة (11). اكد Kapoor وآخرون (15) حصول طفورات وراثية لازهار *Glebionis segetum* عند معاملة بذورها بأشعة كاما (20، 40، 60، 80، 100 كاري حيث ساعدت الجرعة المنخفضة على تحسين الصفات المورفولوجية للنبات ، اما الجرعة العالية ادت الى حدوث تشوهات بالنبات وزيادة عدد النباتات الميتة، وعند اجراء التوصيف الجزيئي باعتماد تقانة RAPD للنباتات المتغايرة في الجيل الثاني تبين وجود نسبة عالية من الاختلافات الوراثية بين النباتات المعاملة ونباتات المقارنة.

بين Cemalettin وآخرون (9) تأثير اشعة كاما على اربعة اصناف من البزاليا *Pisum sativum* L (Winner ، Sprinter ، Karina ، Bolero) التي تفاوتت في استجابتها للتظهير بالاشعة حيث اعطى الصنف Winner تباينات وراثية عند التعريض ل 60 كاري ، بينما ظهرت تباينات وراثية في الصنف Karina عند معاملة بذوره ب 140 كاري من اشعة كاما، ولم يتأثر التركيب الوراثي لباقي الاصناف المدروسة بأشعة كاما وهذا يؤكد اختلاف استجابة الاصناف للاشعاع ضمن النوع النباتي الواحد. في دراسة لبيان كفاءة تقانة RAPD في الكشف عن الطفرات الوراثية لنبات *Rhododendron* spp. الناتج عن الزراعة النسيجية للقمم النامية للافرع والجذور بعد معاملته بأشعة كاما (5 ، 10 كاري) بينت تقانة RAPD وجود اختلافات وراثية في DNA النباتات المعاملة مقارنة ب DNA نباتات المقارنة (8).

درس Fardous وآخرون (13) تأثير تسعة جرع من اشعة كاما (0 ، 2.5 ، 5 ، 7.5 ، 10 ، 12.5 ، 15 ، 17.5 ، 20 كيلوراد) عنده معاملة البذور الرطبة والجافة على نمو وازهار نبات *Moluccella laevis* L. وقد تبين من نتائج الدراسة ان معاملة البذور الرطبة بالجرع المنخفضة وجميع معاملات البذور الجافة ما عدا المعاملة 20 كيلوراد اعطت نسبة انبات 100% ، و ادت الجرعة المنخفضة للبذور الرطبة الى زيادة في ارتفاع

زرعت البذور المشععه وغير المشععه (المقارنة) بتاريخ 2014/1/10 في سنادين صغيرة قطر 5سم تحتوي على البيتموس في بيئة محمية لدراسة مؤشرات نسبة الانبات وطول البادرة والوزن الرطب والجاف للبادرة وحلت النتائج حسب حسب اختبار دنكن متعدد الحدود 5% ، وعزل وتشخيص الDNA من الاوراق الحقيقية للبادرات وجمع بذور النباتات الطافرة.

اعتمدت تقانة RAPD لدراسة الاختلافات الوراثية بين نباتات البزاليا العطرية المعاملة بالاشعاع . عزلت الاحماض النووية بأستعمال كت Kit منتج من شركة Geneaid ، وقدر تركيز الحامض النووي DNA في العينات باستخدام جهاز (Spectrophotometer Beckman Du-61) على طول موجي 260 و 280 نانوميتر. اعتمدت اربعة بادئات في تقانة الRAPD (A20,B7,A13,D3) انتاج شركة Operon جدول (1) للنباتات المعاملة بأشعة كما اضافة الى نبات المقارنة. أجريت كافة تفاعلات التضخيم العشوائي حسب (14) (جدول 2). مررت نواتج التفاعل عبر هلام من الأكاروز تركيزها 1.2% في جهاز الترحيل الكهربائي الافقي 90 فولت . صبغ DNA في هلام الأكاروز بمادة بروميد الاثيديم ، ثم صور الهلام بجهاز فيديو حاسوبي Video imaging system وأخذت القراءات من خلال الصور.

تم تحليل النتائج الوراثية للنباتات الطافرة وأجريت لها البصمة الوراثية بطريقة RAPD وتم تحويل النتائج التي ظهرت في الهلام الى

هدفت الدراسة الى

1. تحديد الجرعة المناسبة من اشعة كما لاحداث طفرات وراثية في نبات البزاليا العطرية .
2. الكشف المبكر من الجيل الاول عن وجود الطفرات دون الحاجة الى الزراعة لعدة اجيال ومراقبة النباتات وذلك بالاعتماد على نتائج تحليل البصمة الوراثية بتقانة RAPD للبادرات المشععة.
3. دراسة الصفات الخضرية والزهرية للنباتات التي اعطت تغايرات وراثية في نتائج البصمة الوراثية وتحديد افضلها بالاضافة الى النباتات الشاذة لاعتمادها كسلالات جديدة.

### المواد وطرائق العمل:

استخدمت في هذه الدراسة بذور نبات البزاليا العطرية المنتجة من شركة Fito الاسبانية الصنف الاحمر Bright light ، شععت 100 بذرة جافة بأستخدام جهاز تشعيع هندي الصنع (موديل 1978 ذو جرعة اشعاعية 4 كوري في الدقيقة ونشاط اشعاعي 3.75 كيوري) بأربع جرعات من اشعة كما (10 ، 20 ، 30 ، 40 كيلوراد) الصادر عن كوبات 60 في مختبرات الفيزياء النووية-كلية العلوم-جامعة بغداد. تضمنت الدراسة جيلين طفوريين:

الجيل الطفوري الاول

$$\text{Similarity} = 2n_{xy} / n_x + n_y$$

ثم قدرت النسبة المئوية للبعد الوراثي (Genetic distance) بين النباتات الشاذة والتي تعتمد على نتائج التشابه الوراثي وفقا للمعادلة الآتية:

$$\text{Genetic distance} = 1 - (2n_{xy} / n_x + n_y) \times 100$$

حيث ان :

$n_{xy}$  : تمثل عدد الحزم المشتركة بين النموذجين  $x$  و  $y$  والتي تمثل أياً من النباتين من النباتات المنتخبة.

$n_x$  : عدد الحزم الكلية في النموذج  $x$  .

$n_y$  : عدد الحزم الكلية في النموذج  $y$  .

جمعت بذور النباتات المشععة التي اعطت أكبر بعد وراثي عن نباتات المقارنة حسب نتائج تحليل تقانة RAPD.

الجيل الطفوري الثاني  
اقل فرق معنوي LSD وعلى مستوى احتمال  
%5 (2).

### النتائج والمناقشة

أ - الجيل الطفوري الأول

أظهرت نتائج جدول (3) ان الجرعات العالية من الإشعاع 40 كيلو راد ادت الى انخفاض نسبة انبات بذور البزاليا العطرية وبلغ 76.55%، بينما كانت أعلى نسبة إنبات في المعاملتان 30 و 20 كيلو راد (97.12% و 96.34%) على الترتيب والتي اختلفت معنوياً عن معاملة المقارنة البالغة 92.58%

جداول التوصيف وذلك بوضع 1 عند وجود الحزمة و 0 عند غيابها، ولغرض ايجاد العلاقة الوراثية بين النباتات الطافرة المنتخبة في هذه الدراسة تم تحويل بيانات التوصيف (Characterization data) الى قيم التشابه (Similarity) المقيدة اســـــــتنادا الى Lei و Nei (18) باستخدام الحاسوب الذي يعتمد على المعادلة:

زرعت بذور النباتات المتغايرة وراثياً (27 نبات) حسب نتائج تحليل البصمة الوراثية في الجيل الاول بتاريخ 2014/9/20 في الارض المستديمة ضمن تصميم القطاعات العشوائية الكاملة وبثلاث مكررات وخمسة نباتات لكل وحدة تجريبية حيث اعتبر كل نبات طافر كمعاملة (27 معاملة) لدراسة الصفات الخضرية والزهرية لها وتحديد افضل هذه النباتات لاعتمادها كسلالة جديدة من البزاليا العطرية، وقورنت المتوسطات حسب اختبار

القياس البالغة 9.24 ملغم، بينما لم يكن تأثير باقي معاملات الاشعاع معنويا في هذه الصفة. تتجلى أهمية ذلك في التباين في ظهور البادرات فوق سطح التربة مما ينعكس إيجاباً على حجم المجموع الخضري الفعال في عملية التركيب الضوئي وتصنيع المادة الجافة اللازمة لنمو النبات وتطوره حيث يساعد التعريض للاشعاع في تسريع معدل تحول المدخرات الغذائية من الحالة المعقدة إلى الحالة البسيطة، التي يسهل استعمالها من قبل الجنين النامي نتيجة تنشيط الاشعاع للأنزيمات  $\alpha$  - amylase, Protease, Lipase ، وقد يكون ذلك نتيجة زيادة معدل منظمات النمو مثل الأوكسينات والجبرلينات، بالإضافة إلى تنشيط العمليات الفيزيولوجية والبيوكيميائية التي تؤدي إلى تنشيط الإنبات وتسريع نمو النباتات وتطورها (3)، أتفقت هذه النتائج مع ما وجدته كل Melki وآخرون (17) و Songsri وآخرون (20) و Zaka وآخرون (22).

بينما لم تعط المعاملة 10 كيلو راد أي فروق معنوية عن معاملة القياس وبلغت 93.06% . بينما لم تعط جرعة الاشعاع أي فروق معنوية في صفة طول بادرات البزاليا العطرية عن معاملة المقارنة البالغة 3.53 سم، حيث كانت الفروقات بسيطة بين متوسطات طول البادرة تميزت الجرعة المنخفضة من اشعة كما 10 كيلو راد في زيادة الوزن الرطب لبادرات البزاليا العطرية إذ بلغت 21.76 ملغم وبفارق معنوي عن معاملة القياس البالغة 16.63 ملغم ، تلتها المعاملة 20 كيلو راد التي اعطت وزن رطب للبادرة بلغ 20.43 ملغم ، ولم تختلف معنويا الجرعة العالية من اشعة كما في زيادة الوزن الرطب للبادرة عن معاملة القياس يتضح من الجدول (3) التأثير المنشط للجرعة 10 كيلو راد للوزن الجاف لبادرات البزاليا العطرية حيث اعطت اعلى وزن جاف بلغ 12.89 ملغم من بين باقي الجرعة وبفارق معنوي عن معاملة

### جدول 1. البادرات وتسلسلها النيوكليوتيدي المستخدمة في تقنية RAPD

| البادرات | التسلسل النيوكليوتيدي<br>3 5 → |
|----------|--------------------------------|
| A13      | CAGCACCCAC                     |
| B7       | GGTGACGCAG                     |
| A20      | GTTGCGATCC                     |
| D3       | GTCGCCGTCA                     |

جدول 2. برمجة جهاز الـ PCR في تقنية RAPD

| اسم المرحلة                    | الوقت   | درجة الحرارة | عدد الدورات |
|--------------------------------|---------|--------------|-------------|
| فصل شريطي الـ DNA Denaturation | 4 دقائق | 94 م         | دورة واحدة  |
| فصل شريطي الـ DNA Denaturation | 1 دقيقة | 94 م         | 40 دورة     |
| التحام البادىء Annealing       | 1 دقيقة | 44 م         |             |
| الاستطالة Extension            | 2 دقيقة | 72 م         |             |
| الاستطالة النهائية Extension   | 7 دقيقة | 72 م         | دورة واحدة  |

ثم انهي التفاعل على حرارة 4 م وخزنت العينات بعد ذلك بحرارة 4 م في الثلجة

جدول 3. تأثير اشعة كاما في نسبة انبات البذور وطول البادرة والوزن الرطب والجاف لبادرات البزاليا العطرية.

| جرع اشعة كاما<br>كيلو راد | نسبة الانبات % | طول البادرة (سم) | الوزن الرطب<br>للبادرة (ملغم) | الوزن الجاف<br>للبادرة (ملغم) |
|---------------------------|----------------|------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 0                         | 92.58a         | 3.53a            | 16.63a                        | 9.24a                         |
| 10                        | 93.06a         | 3.86a            | 21.76b                        | 12.89b                        |
| 20                        | 96.34b         | 3.47a            | 20.43b                        | 10.76ab                       |
| 30                        | 97.12b         | 3.91a            | 17.82a                        | 8.85a                         |
| 40                        | 76.55c         | 3.44a            | 16.91a                        | 9.43a                         |

\* المتوسطات التي تشترك بنفس الحرف الأبجدي في الاعمدة لا تختلف معنويا" حسب اختبار دنكن متعدد الحدود بمستوى احتمال 5%.

شكلياً (polymorphic) بنسبة 64.67% حيث أعطى البادئان A13 و A20 أعلى عدد من الحزم 15 حزمة في حين أعطى البادئ B7 أقل عدد من الحزم 13 حزمة. اختلفت البادئات المستخدمة في كشف التعددية الشكلية (شكل 1) حيث أعطى البادئ A20 أعلى مستوى من التعددية الشكلية حيث كانت 73.33% وأعطى البادئ D3 أدنى مستوى من التعددية الشكلية بنسبة 57.14%.

التوصيف الجزيئي حسب نتائج تحليل تقانة RAPD

يظهر من الجدول (4) ان البادئات المستعملة أثبتت فعاليتها في إعطاء التباين الوراثي بين معاملات جرعة اشعة كما المستعملة في الدراسة على نباتات البزاليا العطرية، إذ أعطت البادئات المستخدمة 57 حزمة في كافة المعاملات من بينها 20 حزمة متشابهة (monomorphic) و 37 حزمة متعددة

جدول 4. عدد الحزم المتضاعفة والمتباينة والنسبة المئوية للحزم المتباينة للبادئات المستخدمة

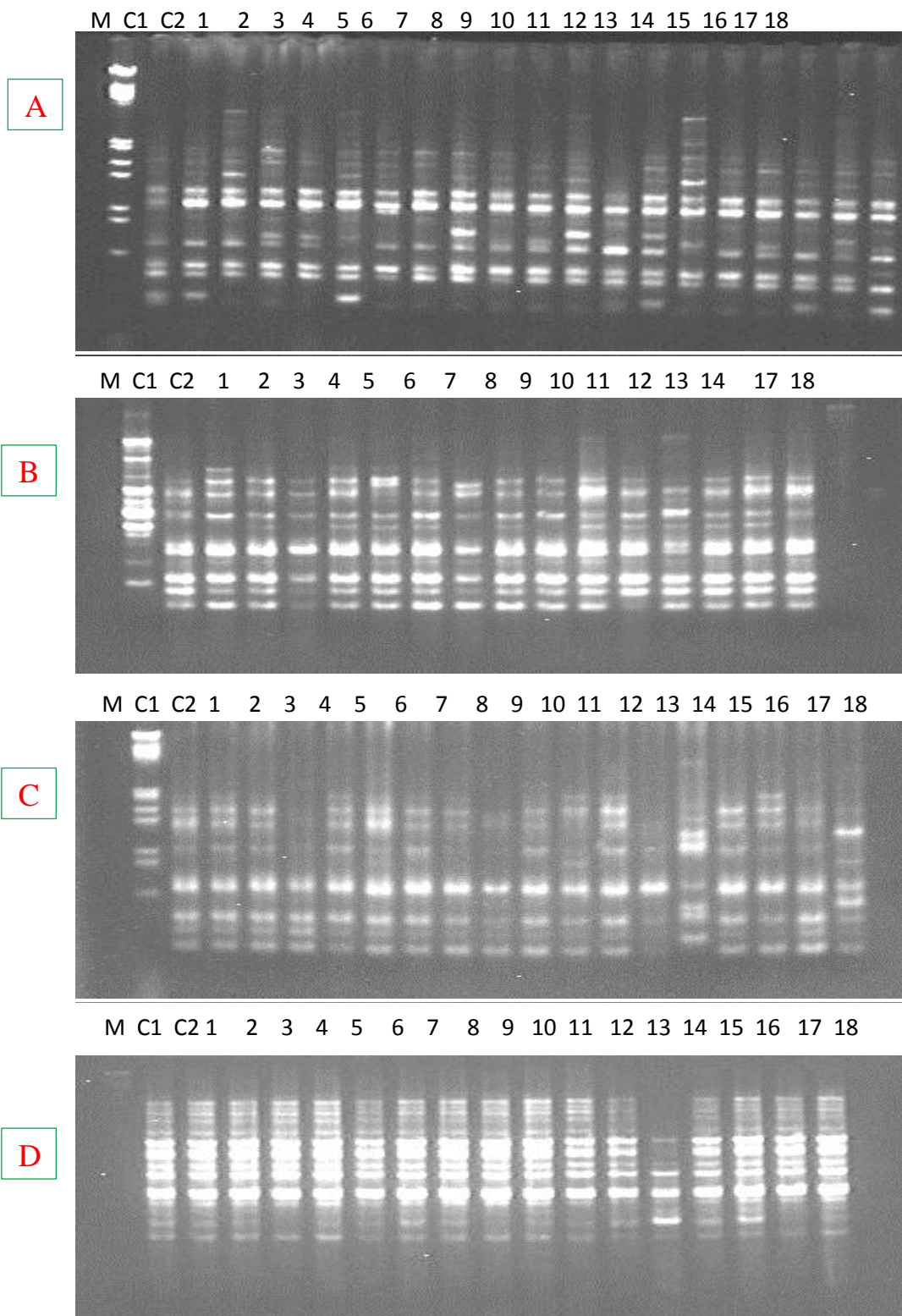
#### في مؤشرات الـ RAPD

| البادئات | عدد الحزم المتضاعفة | عدد الحزم المتباينة | النسبة المئوية للحزم المتباينة |
|----------|---------------------|---------------------|--------------------------------|
| A13      | 15                  | 10                  | 66.67                          |
| B7       | 13                  | 8                   | 61.54                          |
| A20      | 15                  | 11                  | 73.33                          |
| D3       | 14                  | 8                   | 57.14                          |
| المجموع  | 57                  | 37                  | 258.68                         |
| المعدل   |                     |                     | 64.67                          |

وبين النباتات المعاملة جميعها (جدول 5)، بالإضافة الى حساب البعد الوراثي بين نباتين من نباتات المقارنة (بدون تشجيع) للتعرف على نسبة التشابه الوراثي بين افراد صنف البزاليا العطرية المستعمل في التجربة والتي بلغت 6.70%.

اعتمادا على وجود او غياب قطع الـ DNA تم انشاء جداول تبين الاختلافات ما بين النباتات المعاملة بجرعة الاشعاع المختلفة ونباتات المقارنة، استخدمت هذه الجداول كأساس في حساب البعد الوراثي لكل نبات معامل مع نبات المقارنة (وهو الجزء المهم في هذه الدراسة)





شكل 1. نتائج الترحيل الكهربائي لـ DNA النباتات المعاملة بأشعة كاما في تقانة الـRAPD، الأرقام المثبتة تمثل النباتات المشعة ، C1,C2 تمثل نباتات المقارنة. الشكل A يمثل البادئ A13 عند معاملة النباتات بالجرعة 40 كيلوراد ، الشكل B يمثل البادئ B7 عند معاملة النباتات بالجرعة 30 كيلوراد ، الشكل C يمثل البادئ A20 عند معاملة النباتات بالجرعة 20 كيلوراد ، الشكل D يمثل البادئ D3 عند معاملة النباتات بالجرعة 10 كيلوراد.

جدول 5. البعد الوراثي بين نبات المقارنة ونباتات البزاليا العطرية المعاملة بأشعة كاما

بالاعتماد على نتائج التحليل الوراثي بتقانة RAPD

| المعاملات | نبات 1 | نبات 2 | نبات 3 | نبات 4 | نبات 5 | نبات 6 | نبات 7 | نبات 8 | نبات 9 | نبات 10 |
|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|
|           | A      | B      | C      | D      | E      | F      | G      | H      | I      | J       |
| 10        | 5.3    | 5.7    | 6.8    | 6.1    | 6.4    | 5.8    | 6.2    | 5.4    | 6.8    | 6.7     |
| 20        | 6.4    | 21.3   | 6.8    | 16.8   | 16.3   | 20.9   | 5.7    | 19.0   | 18.7   | 22.7    |
| 30        | 26.2   | 17.8   | 35.0   | 27.1   | 25.6   | 31.8   | 29.4   | 18.9   | 21.7   | 23.5    |
| 40        | 36.7   | 28.9   | 38.1   | 37.0   | 33.4   | 38.4   | 31.7   | 29.0   | 28.3   | 31.8    |

البذور بأشعة كاما 20 كيلوراد ظهور ثلاث نباتات فقط لم تعط بعد وراثي عالي مع نباتات المقارنة وهي G,C,A والتي بلغت نسبة البعد الوراثي فيها 6.4% ، 6.8% ، 5.7% على الترتيب وكذلك تم استبعادها من الجيل الطفوري الثاني ، اما باقي النباتات السبعة للجرعة 20 كيلوراد وجميع نباتات المعاملات 30 و 40 كيلو راد اعطت تغايرات وراثية عالية الى متوسطة مع نباتات المقارنة وتم اعتمادها في الجيل الطفوري الثاني كونها نباتات طافرة، اتفقت هذه النتائج مع ما توصل اليه كل من Mishra و Kumar (16) و Thapa (21) و Selvi واخرون (19) و Dhakshanamoorthy واخرون (10) كون ان الجرعة العالية من اشعة كاما تحدث تغايرات وراثية في DNA النباتات وتعد كطفرات وراثية ثابتة فيها عبر الاجيال على

يتضح من جدول 5 وجود اختلافات وراثية متباينة بين نباتات البزاليا العطرية المعاملة بأشعة كاما ونباتات المقارنة حيث بلغ اعلاها 38.4% عند معاملة النبات F بـ 40 كيلوراد ، اما اقل نسبة للبعد الوراثي بلغت 5.3% عند معاملة النبات A بالجرعة 10 كيلوراد ، بالاعتماد على نسبة التباعد الوراثي بين نباتات المقارنة والبالغة 6.70% تم استبعاد جميع النباتات التي اعطت نسبة بعد اقل او تساوي هذه النسبة وذلك لان DNA هذه النباتات لم يتأثر بجرع الاشعاع فلم يعط تغاير وراثي عالي مع نباتات المقارنة. يبين جدول 3 ان جميع نباتات المعاملة 10 كيلوراد لم تعطي نسبة بعد وراثي عالي مع نباتات المقارنة حيث تراوحت نسب البعد الوراثي فيها بين 5.3%-6.8% لذلك تم استبعادها عن الجيل الطفوري الثاني، بينما نجد عند معاملة

والتي اختلفت عن النباتات  
A40،H40،G40،E30،J30 معنويًا في  
اعطاء اقل ارتفاع وبلغ  
112.15،126.31،128.45،134.52  
98.69 سم) على الترتيب تفوقت اغلب نباتات  
اليزاليا العطرية المعاملة بأشعة كما معنويًا في  
قطر الساق الرئيس عن نباتات المقارنة حيث  
اعطى النباتان J30،B30 اعلى المتوسطات  
وبلغ 3.02، 3.09 سم على الترتيب ، بينما بلغ  
اقل قطر للساق الرئيس 1.50 سم في النبات  
C40 والذي لم يختلف معنويًا عن نبات  
المقارنة 1.75 سم. ويتضح من الجدول 6 تفوق  
النباتان J30 و H40 معنويًا في صفة عدد  
الافرع على النبات بمعدل 40.69 ، 39.56  
فرع نبات<sup>1</sup> على الترتيب، بينما اختلفت ستة  
نباتات معنويًا في قلة عدد الافرع وبلغ اقلها  
23.88 فرع نبات<sup>1</sup> في نبات ، ولم تختلف باقي  
النباتات معنويًا عن نباتات المقارنة التي  
اعطت 34.63 فرع نبات<sup>1</sup>. اعطت معاملات  
الاشعاع زيادة معنوية في المساحة الورقية  
لاغلب النباتات الطافرة كان اكبرها 589.35  
، 577.46 سم<sup>2</sup> للنباتين J30 ، B30 على  
الترتيب ، بينما اعطى النباتين A40،C40  
اصغر مساحة ورقية بلغت 429.26 ،  
445.37 سم<sup>2</sup> على الترتيب وبفارق معنوي  
عن معاملة المقارنة البالغة 489.89 سم<sup>2</sup>. ادت  
معاملة بذور اليزاليا العطرية بأشعة كما الى  
زيادة محتوى الكلوروفيل في اوراق اغلب  
النباتات الطافرة أذ تفوق النبات H40 على  
باقي النباتات بمحتواه من الكلوروفيل وبلغ  
498.83 ملغم م<sup>-2</sup>، بينما لم تختلف معنويًا  
النباتات التي اعطت محتوى منخفض من

العكس من الجرع الاشعاعية المنخفضة التي  
قد تعطي تغيرات مذهرية (فسيولوجية)  
تختفي في الجيل الثاني.

نستنتج من التحليل الوراثي بتقانة RAPD  
بالامكان الكشف عن الطفرات الوراثية  
الصغيرة والكبيرة في الجيل الطفوري الاول  
بعد ظهور الاوراق الحقيقية مباشرة لانتخابها  
واعتمادها في الجيل الطفوري الثاني على  
العكس من طرق التربية والتحسين الكلاسيكية  
لمراقبة الطفرات الوراثية والتي كانت تشخص  
في الجيل الطفوري الثاني والثالث حتى  
الخامس للتأكد من ثباتها في جينوم النبات.

#### ب- الجيل الطفوري الثاني

تبين من خلال مراقبة الـ 27 نبات التي اعطت  
اعلى التباينات الوراثية في الجيل الطفوري  
الاول وجود 8 نباتات شاذة في نموها عن باقي  
النباتات تم استبعاد بياناتها من التحليل  
الاحصائي لكي لا تؤثر على نتائج التحليل ،  
وبذلك اعتمدت 19 نبات طافر في نتائج تحليل  
RCBD.

#### صفات النمو الخضري

يبين الجدول 6 وجود فروقات عالية المعنوية  
في صفة ارتفاع نباتات اليزاليا العطرية  
المعاملة بأشعة كما حيث اعطت  
النباتات F20،D20،H20،J20 اعلى ارتفاع  
بين النباتات المعاملة  
وبلغ (168.19،168.30،170.96،179.37،  
سم) على الترتيب وبفارق معنوي عن معاملة  
المقارنة التي بلغ ارتفاع نباتاتها 152.78 سم

على الترتيب وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة البالغة 26.31 سم. تفوقت نباتات البزاليا العطرية المعاملة بأشعة كما معنويا في عدد النورات الزهرية للنبات الواحد حيث اعطى النبات H40 اعلى عدد نورات وبلغ 59.33 نورة. نبات<sup>1</sup>، بينما بلغ اقل عدد للنورات الزهرية 42.06 نورة. نبات<sup>1</sup> في النبات F30 والذي اختلف معنويا عن نبات المقارنة 48.33 نورة. نبات<sup>1</sup>. اثرت معاملة بذور البزاليا العطرية بأشعة كما في زيادة قطر الزهيرة لاغلب النباتات المدروسة حيث تفوقت النباتات F20, J20, J30 على باقي النباتات بأكبر قطر للزهيرة وبلغ 5.00 سم، بينما لم تختلف معنويا النباتات التي اعطت اقل قطر للزهيرة عن معاملة المقارنة 3.61 سم. يبين الجدول (6) وجود فروقات معنوية في صفة عمر النورة الزهرية لنباتات البزاليا العطرية المعاملة بأشعة كما حيث اعطى النباتان F20, J30 اطول عمر نورة بين النباتات الطافرة وبلغ 15.67, 15.23 يوم على الترتيب وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة 12.45 يوم والتي اختلفت معنويا عن النباتان F30, J40 في اعطاء اكبر عمر للازهار على النبات وبلغ 9.83, 10.02 يوم على الترتيب.

الكلوروفيل عن معاملة المقارنة 445.45 ملغم.م<sup>2</sup>. يبين الجدول 4 وجود فروقات معنوية في النسبة المئوية للمادة الجافة للمجموع الخضري للبزاليا العطرية المعاملة بأشعة كما حيث اعطت النباتات H30, J20, J30 اعلى نسبة مئوية للمادة الجافة بين النباتات المعاملة وبلغت (26.08, 26.73, 27.88) على الترتيب وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة 24.84 والتي اختلفت عن النباتات H40, E30, C40 معنويا في اعطاء اقل نسبة مئوية للمادة الجافة وبلغت (22.83, 23.57, 23.71) على الترتيب.

#### صفات النمو الزهري

أظهرت نتائج الجدول (6) ان معاملة بذور البزاليا العطرية بأشعة كما ابكرت في موعد التزهير لاغلب النباتات الطافرة حيث تفوق النبات H20 على باقي النباتات بأقل عدد ايام حتى التزهير وبلغ 134.05 يوم، بينما لم تختلف معنويا النباتات التي تأخرت في موعد التزهير عن معاملة المقارنة التي ازهرت نباتاتها بعد 150.14 يوم. اعطت معاملات الاشعاع زيادة معنوية في طول الحامل الزهري للبزاليا العطرية لاغلب النباتات الطافرة وكان اطولها 37.49 سم في النبات F20، بينما اعطى النباتين F40، C40 اقصر حامل زهري بلغ 22.47، 20.33 سم

جدول 6. الصفات الخضرية لنباتات البزاليا العطرية الطافرة نتيجة المعاملة بأشعة

كاما

| النسبة<br>المئوية<br>للمادة<br>الجافة | محتوى<br>الكلوروفيل<br>ملغم.م <sup>-2</sup> | المساحة<br>الورقية<br>(سم <sup>2</sup> ) | عدد الافراع<br>(فرع.نبات <sup>-1</sup> ) | قطر الساق<br>الرئيس<br>(سم) | ارتفاع<br>النبات<br>(سم) | النباتات الطافرة |        |
|---------------------------------------|---|--|--|-----------------------------|--------------------------|------------------|--------|
|                                       |   |  |  |                             |                          | جرعة<br>الاشعاع  | الرمز  |
| 24.84                                 | 445.43                                      | 489.89                                   | 34.63                                    | 1.75                        | 152.78                   | 0                | مقارنة |
| 25.33                                 | 517.32                                      | 571.49                                   | 30.60                                    | 2.53                        | 147.15                   | 20               | B      |
| 26.34                                 | 536.15                                      | 528.06                                   | 33.51                                    | 2.81                        | 170.96                   | 20               | D      |
| 25.16                                 | 524.88                                      | 461.28                                   | 31.88                                    | 2.74                        | 158.31                   | 20               | E      |
| 26.91                                 | 591.31                                      | 513.58                                   | 31.27                                    | 2.73                        | 179.37                   | 20               | F      |
| 24.39                                 | 546.27                                      | 552.73                                   | 35.86                                    | 2.52                        | 168.3                    | 20               | H      |
| 25.27                                 | 494.11                                      | 537.21                                   | 32.96                                    | 2.77                        | 156.82                   | 20               | I      |
| 26.73                                 | 432.66                                      | 541.82                                   | 31.07                                    | 2.60                        | 168.19                   | 20               | J      |
| 25.26                                 | 573.49                                      | 577.46                                   | 38.55                                    | 3.02                        | 144.14                   | 30               | B      |
| 23.57                                 | 474.92                                      | 468.16                                   | 28.62                                    | 1.95                        | 128.45                   | 30               | E      |
| 23.91                                 | 493.17                                      | 482.70                                   | 23.88                                    | 1.95                        | 159.71                   | 30               | F      |
| 26.08                                 | 579.26                                      | 526.30                                   | 28.79                                    | 2.24                        | 160.43                   | 30               | H      |
| 27.88                                 | 587.32                                      | 589.35                                   | 40.69                                    | 3.09                        | 134.52                   | 30               | J      |
| 25.79                                 | 457.25                                      | 429.26                                   | 25.79                                    | 1.84                        | 98.69                    | 40               | A      |
| 22.83                                 | 499.25                                      | 445.37                                   | 27.17                                    | 1.50                        | 109.47                   | 40               | C      |
| 25.60                                 | 557.06                                      | 462.18                                   | 28.33                                    | 1.96                        | 144.60                   | 40               | F      |
| 24.68                                 | 585.91                                      | 566.3                                    | 37.51                                    | 2.37                        | 126.31                   | 40               | G      |
| 23.71                                 | 598.83                                      | 552.14                                   | 39.56                                    | 2.51                        | 112.15                   | 40               | H      |
| 25.14                                 | 516.24                                      | 572.82                                   | 31.78                                    | 2.73                        | 146.47                   | 40               | I      |
| 25.14                                 | 516.24                                      | 574.82                                   | 31.78                                    | 2.73                        | 146.47                   | 40               | J      |
| 0.96                                  | 41.11                                       | 32.89                                    | 4.39                                     | 0.39                        | 12.58                    | LSD 5%           |        |

جدول 5. الصفات الزهرية لنباتات البزاليا العطرية الطافرة نتيجة المعاملة بأشعة كاما

| النباتات الطافرة | رمز    | جرعة الاشعاع | موعد تفتح | طول الحامل | عدد النورات               | قطر     | عمر النورة     |
|------------------|--------|--------------|-----------|------------|---------------------------|---------|----------------|
|                  |        |              | اول زهرة  | الزهري     | الزهري                    | الزهيرة | الزهري         |
|                  |        |              | (يوم)     | (سم)       | (نورة/نبات <sup>1</sup> ) | (سم)    | (النبات (يوم)) |
|                  |        |              |           |            |                           |         |                |
|                  | مقارنة | 0            | 150.14    | 26.31      | 48.33                     | 3.61    | 12.45          |
|                  | B      | 20           | 148.19    | 28.92      | 47.32                     | 4.83    | 14.34          |
|                  | D      | 20           | 137.56    | 36.18      | 49.62                     | 4.91    | 14.55          |
|                  | E      | 20           | 149.29    | 30.25      | 47.61                     | 4.79    | 12.00          |
|                  | F      | 20           | 141.30    | 37.49      | 48.71                     | 5.00    | 15.67          |
|                  | H      | 20           | 134.05    | 36.67      | 51.44                     | 4.17    | 12.98          |
|                  | I      | 20           | 146.37    | 32.55      | 53.72                     | 4.38    | 13.51          |
|                  | J      | 20           | 151.35    | 29.17      | 55.22                     | 5.00    | 13.92          |
|                  | B      | 30           | 142.60    | 35.76      | 54.46                     | 3.95    | 11.88          |
|                  | E      | 30           | 142.74    | 33.15      | 52.13                     | 3.81    | 12.13          |
|                  | F      | 30           | 150.32    | 33.24      | 42.06                     | 3.97    | 10.02          |
|                  | H      | 30           | 144.31    | 31.76      | 44.78                     | 4.98    | 13.00          |
|                  | J      | 30           | 138.15    | 34.98      | 58.36                     | 5.00    | 15.23          |
|                  | A      | 40           | 151.24    | 26.27      | 44.76                     | 4.92    | 13.00          |
|                  | C      | 40           | 158.64    | 20.33      | 43.62                     | 4.00    | 13.77          |
|                  | F      | 40           | 137.34    | 22.47      | 50.89                     | 4.31    | 14.00          |
|                  | G      | 40           | 140.50    | 35.74      | 55.44                     | 4.00    | 13.51          |
|                  | H      | 40           | 138.32    | 36.24      | 59.33                     | 4.12    | 12.19          |
|                  | I      | 40           | 152.60    | 29.77      | 49.68                     | 4.34    | 12.57          |
|                  | J      | 40           | 158.71    | 28.84      | 44.05                     | 3.29    | 9.83           |
|                  |        |              | 10.6      | 3.77       | 4.87                      | 0.88    | 2.38           |
| LSD 5%           |        |              |           |            |                           |         |                |

2. تحفيز أنتاج نسخ إضافية لمواقع جينية معينة بعملية amplification فتظهر صفات جديدة في الكائن الحي، أو حدوث طفرات رجعية back mutation وذلك بأن يتحفز جين طافر مسبقاً فيعود الى حالته الاولى فتتغير الصفة.

3. تحفيز عملية العبور cross-over فتحدث في الانقسام الاعتيادي.

4. التأثير في فعل كودونات الايقاف (stop codons) والمسممة amber codons فتظهر نسخ أخرى لجينات معينة فتتغير الصفة.

5. حث بعض الجينات الساكنة silent genes لتعود فعالة مرة أخرى تحت ظرف بيئي جديد.

6. اتحاد قطعتي كروموسوم ليتكون كروموسوم جديد يحمل اثنين من السنترومير (dicentric chromosome).

7. أزاحة انترون معين من الكروموسوم وأحلال أكزون محله ليعبر بذلك عن مظهر جديد لصفة معينة بعد حدوث الربط splicing بينهما.

8. التأثير في فعل أنزيم endonuclease أو exonuclease التي تشطر أو اصغر نيوكليوتيدات DNA الكائن الحي.

9. التأثير في واحدة أو أكثر من العضيات organelles غير النووية الموجودة في الساييتوبلازم مثل أجسام كولجي والميتوكوندريا والكلوروبلاست.

قد تعود المعنوية العالية للصفات الخضرية والزهرية لنبات البزاليا العطرية إلى ان الإشعاع يحسن إنبات البذور ومن ثم التبرير في ظهور البادرات فوق سطح التربة مقارنة مع بذور نباتات المقارنة مما ينعكس إيجاباً على زيادة طول المراحل الخضرية GS II و GS I في النباتات، ويسمح بإعطاء مجموع خضري كبير قادر على امتصاص كمية أكبر من الأشعة الشمسية الساقطة وتحويل الطاقة الضوئية بفعل عملية التركيب الضوئي إلى طاقة كيميائية مخزنة في روابط المركبات العضوية المصنعة (السكريات)، أي تزداد كفاءة استخدام الإشعاع الشمسي (RU)، انعكس النمو الجيد للمجموع الخضري على الصفات الزهرية لنباتات البزاليا العطرية بالإضافة إلى ان المعاملة بالإشعاع يساعد في تحسين توزيع نواتج التركيب الضوئي Assimilates إلى الأجزاء الزهرية والثرمية للنبات (3).

اما بالنسبة لحدوث الطفرات الوراثية في نباتات البزاليا العطرية ونسب البعد الوراثي بين النباتات المعاملة ونباتات المقارنة (جدول 5) والذي انعكس على الصفات الخضرية والزهرية قد يعود إلى واحد أو أكثر من الاسباب التالية التي وضحتها Elsahookie (12) :

1. حدوث ما يسمى amber mutation وذلك بتغيير يحدث في DNA الخلية يتغيير موقع كودون ليحل محل كودون آخر.

تبين من نتائج زراعة النباتات الطافرة في الجيل الطفوري الثاني ظهور عدد من النباتات الشاذة في مظهرها الخارجي والتي استبعدت عن التحليل الاحصائي لنباتات الجيل الطفوري الثاني . بلغت نسبة النباتات الشاذة عند معاملة بذور البزاليا العطرية بجرعة 30 كيلواراد من اشعة كاما 50% اي نصف النباتات المعاملة، اما عند المعاملة بالجرعة 40 كيلواراد بلغت نسبة النباتات الشاذة 30% . درست بعض الصفات الخضرية والزهرية لهذه النباتات بشكل مفرد ومستقل عن باقي النباتات (جدول6).

يبين جدول6 الاختلافات المظهرية الواضحة للنباتات الشاذة فمنها المتقزم في نموه (C30,D30,E40) والتي يمكن اعتمادها كسلالات جديدة مرغوبه للزراعة في الحدائق المنزلية او استعمالها كنباتات أصص و سلال التعليق، كما ظهرت نباتات لم تكون مجاميع زهرية (B40,D40) وامتازت بمجموع خضري كبير، امتاز النباتان G30 بظهور اوراق بيضاء(البينو) مع اوراقه الخضراء مما اعطاه صفة جمالية جديدة بينما تميزت ازهار النبات C30 بتلونها باللون البنفسجي فأصبح نصف الزهرة احمر والنصف الاخر بنفسجي وهي تعد صفة جمالية جديدة ايضا.

10. حدوث تغيير في الهستونات المسؤولة عن ربط مقطع DNA في الخلية فتتكون سلاسل جديدة منه تترتب على ظهورها صفات جديدة.

11. حدوث ميتلة لمادة -DNA(DNA methylation) لاسيما في مراحل تشكل حبوب اللقاح أو المبايض.

12. التأثير في عدد مرات ومواقع حدوث العبور linking number بين جينات كروماتيدي الكروموسومات فتظهر توليفات جينية جديدة بتغيير المسافة بين وحدات الخارطة map units.

13. احتمال حدوث null mutation بظهور تسلسل نيوكليوتيدات معينة يمنع ظهور فعل جين أو جينات أخرى.

14. احتمال حدوث ochre mutation التي ينتج عنها كودون UAA أو نقل ochre suppressor ليمنع فعل UAA فيسمح باستمرار تخليق البروتين.

15. التأثير في تخليق open-reading frames فتظهر سلسلة من النيوكليوتيدات الثلاثية تشفر للأحماض الامينية بدون تأثير كودونات الأيقاف عليها مثل UGA و UAG و UAA .

16. زيادة نشاط أنزيم transposase الذي يسهل انتقال جين أو بروتين او رايبوسوم من موقع لآخر.

نسبة النباتات الشاذة



جدول 6. بعض الصفات الخضرية والزهرية لنباتات البزاليا المعطرية الشاذة نتيجة المعاملة بأشعة كاما

| صفات عامة   | قطر الزهيرة<br>(سم) | عدد الثورات<br>الزهريّة<br>(تورّة نبات <sup>1</sup> ) | طول الحامل<br>الزهري (سم) | موعد تفتح أول<br>زهرة (يوم) | محتوى<br>الكلوروفيل <sup>2</sup><br>ملغم <sup>-2</sup> | المساحة<br>الورقية (سم <sup>2</sup> ) | عدد الأفرع<br>(فرع نبات <sup>-1</sup> )<br>( <sup>1</sup> ) | ارتفاع النبات<br>(سم) | رمز النبات<br>الشاذ |
|---|---------------------|---|---------------------------|-----------------------------|--|---------------------------------------|---|-----------------------|---------------------|
| نمو النباتات طبيعي، الحامل الزهري طويل ، البراعم الزهرية لم تفتح          | -----               | 63  | 41.17                     | 138                         | 434.75   | 564.41                                | 37  | 165                   | A30                 |
| النبات مقتزم ، تلون بتلات ازهاره بالون البنفسجي مع الاحمر                 | 3.45                | 23  | 8.35                      | 108                         | 566.18   | 318.73                                | 14  | 37                    | C30                 |
| النبات مقتزم ، المجموع الخضري صغير نوعا ما                                | 4.15                | 19  | 10.17                     | 112                         | 554.30   | 284                                   | 13  | 32                    | D30                 |
| النبات متوسط الارتفاع ، نموه طبيعي ، ظهور اوراق بيضاء مسع الاوراق الخضراء | 3.8                 | 48  | 32.71                     | 125                         | 413.54   | 487.18                                | 33  | 114                   | G30                 |
| النبات مرتفع جدا وكثير الثمرات ، لم يكن محاليق فاحناج الى تسليق           | 4.23                | 68  | 33.92                     | 137                         | 523.24   | 647.54                                | 48  | 193                   | I30                 |
| النبات مقتزش ،كثير الثمرات ،اوراقه بيضوية ناصبة الملمس ، لم يكون ازهار    | ---                 | ---   | ---                       | ---                         | 573.80   | 614.71                                | 55  | 183                   | B40                 |
| اكبر النباتات حجما للمجموع الخضري ،لم يكون نورات زهرية                    | ---                 | ---   | ---                       | ---                         | 557.34   | 657.34                                | 62  | 195                   | D40                 |
| النبات مقتزم ، مقتزش ، ازهاره لم تفتح ولم يكون النور                      | 5                   | 28  | 8.50                      | 97                          | 579.38   | 324.62                                | 17  | 42                    | E40                 |

2. اثبتت تقانة RAPD كفايتها في الكشف المبكر عن التغيرات الوراثية في الجيل الطفوري الاول وبعد ظهور الاوراق الحقيقية مباشرة دون الحاجة الى زراعة النباتات لعدة اجيال.
3. ادت جرعة الاشعاع الى احداث طفرات وراثية واضحة انعكست على الشكل المظهري للنباتات وخصوصا في الجرعة العالية.
4. تحسين الصفات الخضرية والزهرية لنباتات البزاليا العطرية عند تعريضها لجرع مختلفة من اشعة كاما.
5. ظهور بعض النباتات الشاذة (متقزمة، عقيمة، ملونة) والتي يمكن اجراء اختبارات عليها واعتمادها كأصناف جديدة.

#### المصادر

1. الساهوكي، مدحت مجيد. 2007. التحكم الوراثي بألية التزهير. مجلة العلوم الزراعية العراقية، 38(2):1-11.
2. الساهوكي، مدحت وكريمة محمد وهيب. 1990. تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب، جامعة بغداد. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، العراق. ص 480.
3. العسافي، رضي ذياب، زياد اسماعيل عبد ومحمد مبارك علي. 2009. التعدادات

يمكن تفسير التغيرات في اشكال وأحجام الازهار وحالات العقم التي ظهرت في نباتات البزاليا العطرية الى حدوث تغيرات في جينات مجموعة أو أكثر من المجاميع الخمسة للجينات المسؤولة عن آلية التزهير (ABCDE)، فأن الرتبة A تضم جينات  $AP_1$  و  $AP_2$  اللذين يشخصان الاوراق الكاسية والتوجيهية في اللفتين 1 و 2 للزهرة، فيما تشمل الرتبة B جينات مثل  $AP_3$  و PI المرتبطتين بتشخيص الاوراق التوجيهية وكذلك الاسدية في اللفة 3. اما الرتبة C فتضم بالدرجة الاساس AG المسؤول عن تشخيص الاسدية في اللفة 3 والمدقة في اللفة 4 فضلاً عن نشاطه في الحد من جينات الرتبة A. تشمل جينات الرتبة D جينات STK و  $SHP_1$  و  $SHP_2$  المسؤولة عن انفلاق (shattering) الثمرة. أما جينات الرتبة E فقد شحص منها  $SEP_1$  و  $SEP_2$  و  $SEP_3$  و  $FBP_7$  و  $FBP_{11}$  التي تعمل على تشخيص مشيمة البويضة والبويضة. فضلا عن ذلك، فقد شخصت جينات أخرى لا تخضع لتلك الرتب مرتبطة كذلك بفعاليات التزهير مثل UFO و WUS و LUE و HEN و HUA و SAP و ANT وغيرها (1).

#### الاستنتاجات

1. ادت بعض معاملات اشعة كاما الى زيادة نسبة انبات بذور البزاليا العطرية وطول البادرة ووزنها الرطب والجاف وخصوصا في الجرعة المنخفضة.

8. Atak, C; O. Celik and Acik, L.2011. Genetic analysis of *Rhododendron* mutants using random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Pakistan Journal of Botany*,43(2):1173-1182.
9. Cemalettin, Y; A. Duvanli and Mahmood, K.2006. Use of Gamma Rays to Induce Mutations in Four Pea (*Pisum sativum* L.) Cultivars. *Turk. J. Biol.*, 30:29-37.
10. Dhakshanamoorthy D., R. Selvaraj and Chidambaram, A .2011. Induced mutagenesis in *Jatropha curcas* L. using gamma rays and detection of DNA polymorphism through RAPD marker. *Comptes Rendus Biologies.*, 334:24-30.
11. Dhillon, R. S; R. P. Saharan, M. Jattan, T. Rani, R. N. Sheokand, V. Dalal and George V. W. .2014. Molecular characterization of induced mutagenesis through gamma radiation using RAPD markers in *Jatropha curcas* L.. *African Journal of Biotechnology*,13(7): 806-813.
- الوراثية لكفاءة استخدام الاشعة الضوئية في حنطة الخبز. *مجلة العلوم الزراعية العراقية*، 40(6): 62-77.
4. العودة، ايمن، حامد كيال ومأمون خيتي. 2004. تأثير التحريض الإشعاعي في الصفات الشكلية ومكونات الغلة في صنفين (شام 3، حوراني) من القمح القاسي *Triticum durum*. *مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية*، 20(1): 127-142.
5. بدر، مصطفى ومحمود خطاب ومحمد ياقوت وعلم الدين نوح وطارق الفيضي ومحمد هيكمل ومصطفى رسلان. 2003. الزهور ونباتات الزينة وتصميم وتنسيق الحدائق. دار فجر الاسلام للطباعة والنشر والتوزيع. الاسكندرية. مصر.
6. حسين، جنان قاسم. 2011. البعد الوراثي لأنواع ورد باستخدام RAPD. *مجلة العلوم الزراعية العراقية*. 42(2): 71-79.
7. Al-Hassani, K. I. .2002. The Use of Polymerase Chain Reaction-Based Molecular Markers to Assess Genetic Diversity of Potato *Solanum tuberosum* L.. Ph.D. thesis. Genetic engineering department. Science College. Baghdad University. Iraq.

- Indian Journal of Agricultural Sciences. 84(7):83-91.
16. Kumar A. and M.N. Mishra .2004. Effect of gamma-rays, EMS and NMU on germination, seedling vigor, pollen viability and plant survival in M1 and M2 generation of Okra (*Abelmoschus esculentus*(L.) Moench). Adv. Plant Sci. 17:295-297.
17. Melki M. and A. Marouani.2009. Effects of gamma rays irradiation on seed germination and growth of hard wheat. Environ. Chem. Lett. 8(4):307-310 .
18. Nei, M. and W.H. Li .1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 74:5269 – 5273.
19. Selvi B., Ponnuswami V. and Sumathi, T.2007. Identification of DNA polymorphism induced by gamma ray irradiation in Amla (*Emblica officinalis* Gaertn.) grafts of V1 M1 and
12. Elsahookie, M.M.2007. An Introduction to Plant Molecular Biology. Ministry of Higher Education and Scientific Research, Baghdad, Iraq. pp.190.
13. Fardous, A; E. Mohammed; F. Magd El-Din and Mary, N..2013. Effects of Gamma Radiation on Germination, Growth Characteristics and Morphological Variations of *Moluccella laevis* L.. American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci., 13(5):696-704.
14. Haley, S.D. ; L.K. Afanador , P.N. Miklas , J.R. Starely and Kelly, J. D .1994. Heterogeneous inbred populations are useful as sources of near-isogenic lines for RAPD marker localization. Theor. Appl. Genet., 88: 337-342.
15. Kapoor M. ,K. Prabhat and Shant, L.2014. Gamma radiation induced variations in corn marigold (*Glebionis segetum*) and their RAPD-based genetic relationship. The

- V2 M1 generation. J. Appl. Sci. Res., 3:1933-1935.
20. Songsri P.; B. Suriharn; J. Sanitchon; S. Srisawangwong and Kesmala, T. 2011. Effect of gamma radiation on germination and growth characteristics of physic nut (*Jatropha curcas* L.). J. Biol. Sci., 11:268-274.
21. Thapa, C.B..2004. Effect of acute exposure of gamma rays on seed germination and seedling growth of *Pinus kesiya* Gord and *P. wallichiana* A.B. Jacks. Our Nature 2:13-17.
22. Zaka, R.; C. Chenal and Misset, M. 2004. Effect of low doses of short-term gamma radiation on growth and development through two generations of *Pisum sativum* L.. Sci. Total Environ, 320:121-129.

**Induction of mutagenesis by Gamma radiation and their early evaluation by RAPD on *Lathyrus odoratus* L.**

**Janan Kasim Hussein**

**Department of Horticulture and Landscape Design - College of Agriculture - AL-Qasim Green University – Republic of Iraq**

The study was carried out at one of Baghdad nurseries during 2014-2015, to assess the effect of Gammarays on the Genotype of *Lathyrus odoratus* L. seeds and its effect on vegetative and floral characters, four doses of Gamma rays (10, 20, 30, and 40 K.rad) were used in Nuclear Physics Labs, College of Science, University of Baghdad. Genetic mutations was detected in the F1 plants using Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD), The results of RAPD analysis showed genetic differences among treatments of F1 seeds. Used primers gave 57 bands in all treatments, 20 of them were similar bands while 37 where polymorphic bands with a ratio of (64.91%), the highest Genetic Distance was observed in 40 K.rad (38.4%). The mutated seeds of the first mutated generation was planted according to the Randomized Complete Block Design (RCBD) within three replicates, means were compared using LSD test at a 0.05 probability range. Gammarays improved vegetative and floral characters. Treating seeds with 20 K.rad gave the highest plant height (179.37cm), smallest number of days for flowering (134.05day), highest flower stalk length (37.49cm), highest flower diameter (5cm), and highest flowers life (15.67day). 30 K.rad treatment gave the highest main stem diameter (3.02cm), number of branches (40.69 branch.plant<sup>-1</sup>), leaf area (589.35 cm<sup>2</sup>), dry matter percentage for vegetative growth (27.88 %), and flower diameter (5 cm). The number of flowers were higher (59.33 flower.plant<sup>-1</sup>) when seeds was exposed to 40 K.rad. Gamma ray treatments led to the emergence of new characters in plants such as infertility, dwarfing, and mosaic.

**Key words:** *Lathyrus odoratus* L., RAPD, Gamma rays, Mutations.