



دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان

مطالعه فعالیت آنتی اکسیدانی ارقام کلزا پرتو دهی شده با پرتو گاما در مرحله گیاهچه ای

حمید نوری^{*}

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۷/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۸/۳۰

چکیده

دانه‌های روغنی پس از غلات، دومین ذخایر غذایی جهان را تشکیل می‌دهند. آنها غنی از روغن و سرشار از پروتئین می‌باشند. کلزا سالیانه ۲۷ میلیون تن تولید می‌شود و یکی از مهمترین دانه‌های روغنی است. افزایش عملکرد تولید یکی از مهمترین جنبه‌های اصلاحی آن می‌باشد. بنابراین بکارگیری روش‌های مناسب اصلاحی برای افزایش تنوع ژنتیکی دارای اهمیت زیادی می‌باشد. جهش یکی از روش‌های مناسب ایجاد تنوع ژنتیکی است و نه تنها تنوع ژنتیکی را درون جمعیت افزایش می‌دهد بلکه با ایجاد تغییر سبب افزایش حاصلخیزی در لاین‌های موتانت قبلی نیز می‌گردد. بر این اساس به نظر می‌رسد مطالعه تابش گاما به منظور یافتن دز بهینه و مشاهده برخی اثرات فیزیولوژی و بیوشیمیایی و همچنین پاسخ بیان ژن مهم می‌باشد. اثر پرتو گاما بر سه رقم کلزا به نام‌های **RGS003**، دلگان و ظفر پرتو دهی شده با پرتو گاما با شدت تابش‌های صفر (شاهد)، ۸۰۰، ۹۰۰ و ۱۰۰۰ گری به منظور مطالعه فعالیت آنتی اکسیدانی در مرحله گیاهچه ای در دانشگاه یاسوج مورد بررسی قرار گرفت. تنش‌های غیر زنده نظیر پرتوها تجمع انواع اکسیژن واکنش پذیر (**ROS**) را القاء می‌کند که در دزهای بالا برای سلول زیان آور هستند. تمام فرم‌های فعال شده اکسیژن به شدت فعال و بسیار سمی هستند و **ROS** به طور معمول با مولکول‌های بیولوژیکی واکنش می‌دهند و سبب خسارت اکسیداتیو به لیپیدهای غشاء، خسارت به اسید آمینه‌ها، اسیدهای نوکلئیک، تخریب و رسوب پروتئین‌ها و تخریب رنگدانه‌ها می‌گردند. آشفتگی متابولیکی ناشی از وجود تنش‌های غیر زنده تولید **ROS** را افزایش می‌دهد. از این رو سمیت زدایی **ROS**، یک عامل مهم دفاعی در برابر تنش‌های غیر زنده می‌باشد. به طور کلی در شرایط تنش میزان تولید رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد، بنابراین میزان و فعالیت آنتی اکسیدانت نقش مهمی در تحمل تنش و سمیت زدایی و کاهش خسارت ناشی از رادیکال‌های آزاد دارد. با افزایش دز پرتوتابی میزان رادیکال‌های سوپر اکسید، رادیکال پراکسید هیدروژن، آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، آنزیم کاتالاز **I**، آنزیم گلتوتاتین ردوکتاز، آنزیم اسکوربیک پراکسیداز **I**، نمک اسکوربات (اسید اسکوربیک)، آلفا توکوفرول، کاروتنوئید و **TBARM** اندازه گیری شده در این پژوهش دارای تفاوت معنی داری در بین دزها بوده و در تمامی سطوح دز پرتو تابی گاما نسبت به شاهد افزایش را نشان دادند و دارای یک سیر صعودی بودند که رقم **RGS003** دارای بیشترین مقدار بود که حاکی از تغییرات ژنتیکی موثری است که با پرتو گاما ایجاد شده است. بیشترین اختلاف در بالاترین دز یعنی ۱۰۰۰ گری مشاهده گردید.

کلمات کلیدی: کلزا، تابش گاما، تنوع ژنتیکی، بیوشیمیایی

نوری، ح. مطالعه فعالیت آنتی اکسیدانی ارقام کلزا پرتو دهی شده با پرتو گاما در مرحله گیاهچه ای. (۳) ۱۵: ۹۶-۸۶

۱- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران. مسئول مکاتبات: h.nouri@yu.ac.ir

مقدمه

دانه‌های روغنی پس از غلات، دومین ذخایر غذایی جهان را تشکیل می‌دهند. این محصولات علاوه بر دارا بودن ذخایر غنی اسید چرب، حاوی پروتئین نیز می‌باشند. در این میان کلزا به‌عنوان یکی از مهم‌ترین گیاهان روغنی در سطح جهان مطرح است (شریعتی و قاضی شهنی زاده، ۱۳۷۹). کلزا با نام علمی *Brassica napus* یکی از مهم‌ترین گیاهان دانه روغنی در جهان است که بعد از سویا دومین گیاه دانه روغنی با تولید سالانه ۷/۲۲ میلیون تن روغن است (وو و همکاران ۲۰۱۸). بذر کلزا با دارا بودن ۴۰ تا ۴۵ درصد روغن و کنجاله آن نیز با حدود ۵/۴۶ درصد پروتئین، ۳/۵ درصد چربی و ۱/۲ درصد فسفر قابل جذب دارای ارزش غذایی فراوانی است (مرادیانفر، ۲۰۰۸). افزایش جمعیت دنیا و بهبود استانداردهای زندگی موجب افزایش تولید کلزا برای مصارف خوراکی شده است. متأسفانه در کشور ما افزایش مصرف با افزایش تولید همگام نبوده است و تنها ۱۰ درصد روغن مورد نیاز کشور در داخل تولید می‌گردد. با توجه با سیاست‌های وزارت کشاورزی مبنی بر توسعه و افزایش سطح زیر کاشت این محصول جهت رسیدن به خودکفایی و عدم واردات روغن، باید راه‌های رسیدن به ارقامی با خصوصیات بهینه و عملکرد بالا مدنظر قرار گیرد (ملکوتی و سپهر، ۱۳۸۲). در این راستا استفاده از روش‌های اصلاحی مناسب جهت بهبود کمی و کیفی این محصول امری ضروری می‌باشد. تنوع ژنتیکی مهم‌ترین رکن در موفقیت روش‌های اصلاحی است. در برنامه‌های اصلاحی برای افزایش عملکرد کمی و کیفی با استفاده از پرتوهای یونیزه کننده تنوع ژنتیکی را افزایش می‌دهند و تغییرات القا شده و فیکس شده را در نسل‌های بعدی بکار می‌گیرند (وایور و همکاران، ۲۰۱۱). مهمترین استراتژی در اصلاح بر پایه موتاسیون بالا بردن سازگاری مطلوب واریته‌های گیاهی به وسیله تغییر در یک یا دو صفت عمده می‌باشد. در این زمینه استفاده از موتاسیون روشی با کارایی قابل قبول محسوب می‌گردد. با کمک جهش ژنتیکی نه تنها تنوع ژنتیکی جمعیت افزایش می‌یابد، بلکه با توجه به امکان ترکیب لاین‌های موتانت با یکدیگر و ژنوتیپ‌های موجود دسترسی به ژنوتیپ‌های مطلوب ممکن می‌گردد (هنرنازاد، ۱۳۷۲). در این راه پرتوهای یون‌ساز، ایزوتوپ‌ها و رادیو ایزوتوپ‌ها به کمک تحقیقات کشاورزی شتافته‌اند و انقلاب بزرگی در کشاورزی به وجود آورده‌اند (مجد و اردکانی ۱۳۸۲). القاء جهش بوسیله پرتوتابی اشعه گاما یکی از راه‌های افزایش تغییر پذیری گیاهان است (هنیغه و همکاران، ۲۰۱۰). تیمار پرتوتابی گیاهان با پرتوگاما بسته به میزان دز پرتو منجر به بروز تغییرات فتوتیپی از قبیل افزایش یا کاهش نسبی میزان جوانه‌زنی، تغییر سرعت رشد نسبی گیاهچه‌ها و تغییر در سطح متابولیت‌ها و عوامل اکسیدان و پاد اکسیدان می‌گردد (سنونگ و همکاران، ۲۰۰۷). این مسئله تا اندازه زیادی به نوع ژنوتیپ مورد استفاده بستگی دارد (گاناپور و همکاران، ۱۹۹۹). گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجادشده، دارای یک سیستم دفاعی با کارایی بالا هستند که می‌تواند میزان رادیکال‌های آزاد را تعدیل کند. این سیستم دفاعی شامل آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و گلوتاتیون ریداکتاز (GR) است. سیستم غیر آنزیمی نیز شامل اسکوربات، توکوفرول، کاروتنوئیدها و ترکیبات متفرقه (ازجمله فلاونوئیدها، مانیتول‌ها و پلی‌فنل‌ها) می‌باشد (بالکینا و همکاران، ۲۰۰۳). تعدد و کثرت سیستم‌های دفاعی به این خاطر است که انواع اکسیژن‌های واکنش‌زا (ROS) در سلول‌ها و بخش‌های زیرسلولی مختلف تولید می‌شوند و همچنین در خاصیت‌هایی چون توانایی انتشار، حلالیت و گرایش به وارد واکنش شدن با مولکول‌های بیولوژیک مختلف، متفاوت هستند. بنابراین به مجموعه به‌هم‌پیوسته از مولکول‌های دفاعی برای عمل در هر دو مرحله آلی و غشایی در تمام بخش‌های سلول برای غیرفعال کردن رادیکال‌ها به همان سرعتی که آن‌ها شکل می‌گیرند، نیاز است. تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که بین تحمل به تنش‌های اکسیداتیو ناشی از تنش‌های محیطی و افزایش غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان فتوسنتز کننده یک ارتباط قوی وجود دارد (سایرام و سری واستاوا، ۲۰۰۱). به‌منظور ایجاد تنوع ژنتیکی و معرفی دز بهینه پرتوگاما بر برخی صفات مرفوفیزیولوژیک، خصوصیات بیوشیمیایی و بیان برخی ژن‌های دفاعی در گیاه کلزا، هفت دز پرتوگاما (شامل صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ گری) مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان دادند که با افزایش دز پرتو تابی، میزان خصوصیات بیوشیمیایی اندازه‌گیری

شده با افزایش دز و به‌ویژه نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. میزان و فعالیت اسیداسکوربیک، آنزیم‌های کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز با افزایش دز پرتو تابی گاما افزایش یافت. این مسئله در خصوص فعالیت ژن‌های کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و اسکوربیک پراکسیداز نیز صادق بود. بر این اساس چنین به نظر می‌رسد که سطوح بالای دز پرتو گاما در فعالیت متابولیسمی بذور و گیاه کلزا مشکلی را ایجاد نمی‌نماید (نواب پور و همکاران، ۱۳۹۳). در این تحقیق سعی شده است که فعالیت آنتی اکسیدانی ارقام کلزا دلگان، ظفر و **RGS003** پرتو دهی شده با پرتو گاما در مرحله گیاهچه ای مورد سنجش قرار گیرد.

مواد و روشها

نحوه تیماردهی بذرها

بذور خالص از (ارقام **RGS003**، رقم دلگان و رقم ظفر) به میزان یک کیلوگرم از هر رقم پس از هماهنگی با موسسه اصلاح بذر کرج تهیه گردید. ۲۵۰ گرم بذر از هر رقم به منظور تعیین میزان رطوبت تا حد ۱۱ الی ۱۳ درصد جهت پرتو تابی با اشعه گاما ساطع شده از چشمه کبالت ۶۰ گاما سل در پژوهشکده کشاورزی هسته ای کرج به منظور تعیین دز اپتیمم توزین گردید.

نحوه رطوبت دهی بذرها

به منظور پرتودهی بایستی رطوبت بذرها بین ۱۱-۱۳ درصد باشد. به همین خاطر بذرها را به روش زیر رطوبت سنجی می‌کنیم. نمونه های بذر پودر می‌شوند - بذور پودر شده در ظروف آلومینیمی که وزن آنها مشخص است ریخته می‌شوند - اندازه گیری وزن نمونه به اضافه ظرف صورت می‌گیرد - نمونه ها درون آون خشک می‌شوند (درجه حرارت آون ۵۰C - ۴۵) و درون دسیکاتور قرار داده می‌شوند (IAEA، ۱۹۹۸). رطوبت سنجی توسط آزمایشگاه پژوهشکده کشاورزی هسته ای کرج اندازه گیری گردید که نمونه ها در حدود ۳/۱۲ درصد رطوبت داشتند. درصد رطوبت بذر = وزن نمونه اولیه - وزن نمونه بدون رطوبت ضربدر ۱۰۰ تقسیم بر وزن اولیه.

$$\text{درصد رطوبت بذر} = \frac{100 * \text{وزن نمونه بدون رطوبت} - \text{وزن نمونه اولیه}}{\text{وزن نمونه اولیه}}$$

نحوه پرتودهی بذرها

بذرها پس از رطوبت سنجی و تعیین درصد رطوبت در ۳/۱۲ الی ۱۳ درصد، توسط منبع کبالت ۶۰ در دُزهای صفر (شاهد)، ۸۰۰، ۹۰۰ و ۱۰۰۰ گری پرتوتابی شدند. بذور تیمار شده در مدت حداکثر ۲۴ ساعت پس از پرتودهی کشت گردیدند. مقدار دُزهای پرتودهی بر اساس تحقیقات انجام شده در سازمان انرژی اتمی توصیه شد. پرتو تابی با استفاده از امکانات بخش پژوهشکده کشاورزی هسته ای کرج در دُزهای مذکور به شرح زیر صورت گرفت. هر یک از پاکت های برچسب زده ای که نشان دهنده نوع بذر، وضعیت بذر و میزان هر تیمار بوده در فاصله معینی از چشمه پرتو در دستگاه گاماسل قرار گرفتند. پرتو تابی برای هر تیمار طبق فرمول زیر قابل محاسبه است. زمان پرتودهی (ثانیه) = مقدار مورد نظر هر تیمار (گری)

تقسیم بر شدت چشمه (گری در ثانیه). بر اساس قدرت دستگاه زمان پرتو دهی معلوم می شود. شدت دستگاه پرتو تابی روی ۹۸۵/۰ دقیقه برای یک گری بود.

زمان پرتو دهی = مقدار مورد نظر هر تیمار (گری) / شدت چشمه

آزمایش گلخانه

این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار و هر تکرار شامل یک گلدان با ۱۰ بذر اجرا شد. پس از پرتو دهی بذور در گلدان ها کاشته شدند. تیمارها شامل تیمار شاهد و تیمار دز پرتو تابی گاما در سه سطح ۸۰۰، ۹۰۰ و ۱۰۰۰ گری برای سه رقم کلزا **RGS003**، رقم دلگان و رقم ظفر بود.

انجام مطالعات مولکولی و بیوشیمیایی

نمونه برداری جهت انجام مطالعات مولکولی و بیوشیمیایی

نمونه برداری در مرحله ۴ برگی انجام گرفت. نمونه ها برای هر تیمار در داخل فویل آلومینیومی قرار گرفته و نمونه ها بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد و در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد تا زمان استخراج **RNA** نگهداری شدند.

اندازه گیری صفات بیوشیمیایی

اندازه گیری میزان رادیکال های سوپر اکسید

میزان یون سوپر اکسید (O_2^-) با استفاده از روش الستنر و هیوپل (۱۹۷۶) با تغییراتی به شرح زیر انجام شد. یک گرم نمونه برگ یخ زده به طور یکنواخت کوبیده و مقدار ۳ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم $65mM$ ($pH=8/7$) به آن افزوده شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با دور $5000g$ سانتریفیوژ گردید. یک میلی لیتر از محلول فوق برداشت و به همراه $9/0$ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم $65mM$ ، $1/0$ میلی لیتر هیدرو کلراید هیدوکسیل آمین $10mM$ در دمای 25 درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفت. پس از آن مقدار معادل حجم محلول اتیل اتر اضافه شد و با دور $1500g$ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. میزان جذب در طول موج 530 نانو متر توسط دستگاه جذب نوری (**Uvikon – Kontron**) خوانده شد. با استفاده از منحنی نرمال استاندارد، مقدار یون سوپر اکسید بر حسب واحد تنظیم گردید.

اندازه گیری میزان رادیکال پراکسید هیدروژن

میزان رادیکال پراکسید هیدروژن با کمک روش برنان و فرنکل (۱۹۷۷) و با استفاده از کمپلکس پراکسید تیتانیوم انجام شد. میزان جذب در طول موج 415 نانومتر قرائت و به وسیله منحنی استاندارد غلظت پراکسید هیدروژن (H_2O_2) تصحیح گردید و نتایج بر حسب واحد تنظیم شد.

اندازه گیری میزان آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز

میزان آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز با روش جیانو پوسیتیس و ریس (۱۹۷۷) به شرح زیر اندازه گیری شد. یک گرم نمونه کوبیده شده یخ زده یکنواخت و مقدار $1/0$ آن و 3 میلی لیتر محلول واکنش شامل (بافر فسفات پتاسیم $50mM$ $pH=8/7$ ، متیونین $13mM$ ، تترازیلوم $75\mu M$ ، ریبوفلاوین $2\mu M$ ، $EDTA$ $1/0mM$ و آنزیم استخراج $100\mu l$) مخلوط و یکنواخت گردید. مخلوط در شرایط نوری 5000 لوکس به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. کالبراسیون با افزودن یک واحد آنزیم سوپر اکسید برای احیاء 50 درصد تترازیلوم افزوده و میزان فعالیت با طول موج 560 نانومتر توسط دستگاه جذب نوری (**Uvikon – Kontron**) قرائت شد.

اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز I

میزان فعالیت آنزیم کاتالاز I با استفاده از روش ابی (۱۹۸۴) به شرح زیر تعیین گردید. ۵/۰ گرم نمونه یخ زده برگ کوبیده و به میزان ۱/۰ آن در ۳ میلی لیتر بافر واکنش شامل (بافر فسفات پتاسیم $\text{pH} = 8/7$ ، 50 mM ، استاندارد پراکسید هیدروژن و آنزیم استخراج $200 \mu\text{l}$) مخلوط و یکنواخت گردید. میزان جذب محلول در طول موج ۲۴۰ نانومتر توسط دستگاه جذب نوری (Uvikon – Kontron) قرائت شد.

اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم گلتوتائین ردوکتاز

میزان فعالیت آنزیم گلتوتائین ردوکتاز با استفاده از روش اسپدل و بشام (۱۹۷۷) تعیین گردید. ۱/۰ گرم نمونه برگ یخ زده در یک میلی لیتر بافر واکنش شامل (بافر فسفات پتاسیم $\text{pH} = 8/7$ ، 50 mM ، سدیم 2 mM EDTA، $5/1 \text{ mM}$ NADPH و آنزیم استخراج $200 \mu\text{l}$) مخلوط و یکنواخت شد. میزان جذب نوری در طول موج ۳۴۰ نانومتر قرائت شد. نتایج بر حسب استاندارد جذب بدون حضور NADPH تصحیح شد.

اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم اسکوربیک پراکسیداز I

میزان فعالیت آنزیم اسکوربیک پراکسیداز I با روش ناکانو و آسادا (۱۹۸۱) محاسبه شد. ۱/۰ گرم نمونه برگ یخ زده در یک میلی لیتر محلول واکنش شامل (بافر فسفات پتاسیم $\text{pH} = 8/7$ ، 50 mM ، استاندارد اسکوربیک پراکسیداز $5/0 \text{ mM}$ ، $200 \mu\text{l}$ H₂O₂ و آنزیم استخراج $200 \mu\text{l}$) مخلوط شد. میزان جذب نوری در طول موج ۲۹۰ نانومتر قرائت شد. تصحیح مقادیر با داشتن H₂O₂ بدون حضور آنزیم صورت پذیرفت.

اندازه گیری میزان نمک اسکوربات (اسید اسکوربیک)

میزان نمک اسکوربات با کاربرد روش آراکاو و همکاران (۱۹۸۱) به شرح زیر صورت پذیرفت. مقدار ۵/۰ گرم نمونه یخ زده در ۱۰ میلی لیتر اسیدتری کلرو استیک ۵ درصد به طور یکنواخت مخلوط شد. مخلوط حاضر به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۴۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. فاز بالایی به آرامی جداسازی و میزان جذب نوری در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت شد. منحنی استاندارد در دامنه ۰-۲۵ نانو مول تهیه و نتایج حاصله از نمونه بر حسب استاندارد تنظیم گردید.

اندازه گیری میزان آلفا توکوفرول

میزان آلفا توکوفرول با استفاده از روش مون-بوش و همکاران (۱۹۹۹) اندازه گیری شد. مقدار ۵/۰ گرم نمونه یخ زده برگ در ازت مایع به طور یکنواخت کوبیده شد و مقدار ۵ میلی لیتر متانول حاوی یک درصد اسکوربات به آن اضافه گردید. با افزودن ۴ میلی لیتر هگزان مخلوط حاضر به مدت یک دقیقه ورتکس و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰ سانتریفیوژ شد. لایه هگزان فوقانی با دقت حذف و با کمک محفظه خلاء نسبی خشک گردید. مقدار ۲ میلی لیتر متانول به نمونه اضافه و محلول یکنواخت حاصل به دستگاه اج پی ال سی (HPLC) منتقل شد. میزان آلفا توکوفرول جدا شده به وسیله ستون التا سفر با (OD=۵ μm) در شدت ۵/۱ میلی لیتر بر دقیقه خالص سازی شد و غلظت آن با کمک دستگاه آشکار ساز فرابنفش در طول موج برانگیختگی ۲۹۵ نانومتر و خروجی ۳۲۸ نانومتر تعیین گردید.

اندازه گیری میزان کارو تنوئید

میزان کارو تنوئید با انجام اسپکتو فوتو متری و استفاده از روش لیچتن تالر (۱۹۸۷) اندازه گیری شد.

اندازه گیری میزان TBARM (Measurment of Thiobarbituric Acid Reactive Material)

در این سنجش که معیاری برای اندازه گیری میزان تنش اکسیداسیونی است، مقدار مالون دی آلدید که محصول نهایی و نسبتاً پایدار واکنش اکسیداسیون مولکول های بزرگ است اندازه گیری می شود. در این خصوص از روش هگگ و همکاران (۱۹۹۰) با تغییراتی استفاده گردید. مقدار ۵/۰ گرم برگ هموژنیزه و یک میلی لیتر اسید تری کلرواستیک (۱۵% w/v) به آن

اضافه شد محلول حاضر پس از افزودن ۱۰ میلی لیتر استون به شدت مخلوط شد و با دور ۴۷۵۰ در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. رسوب کوچک حاصل از سانتریفوژ با ۵ میلی لیتر استون شستشو شد، پس از ورتکس مجدداً با همان دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد، آخرین مرحله چهار مرتبه تکرار شد. سپس به آن مقدار ۳ میلی لیتر اسید فسفریک (w/v) ۱% و یک میلی لیتر اسید تیوباریوریتیک (w/v) ۶/۰% افزوده و محلول برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. واکنش با سرد کردن سریع لوله ها در داخل یخ متوقف شد و مقدار جذب محلول حاصل را با طول موج ۵۳۲ و ۵۹۰ نانومتر توسط دستگاه جذب نوری (Uvikon – Kontron) اندازه گیری گردید.

نتایج و بحث

نتایج بررسی صفات بیوشیمیایی

نتایج تجزیه واریانس

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که بین دزهای پرتوتابی گاما در تمامی صفات بیوشیمیایی اندازه گیری شده اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس برخی صفات بیوشیمیایی گیاه کلزا تحت تیمار پرتوتابی پرتو گاما

میانگین مربعات صفات اندازه گیری شده										
منابع تغییرات	درجه آزادی	آلفاتوکوفرول	آسکوربیک اسید	TBARM	کاروتنوئید	آنزیم سوپراکسید	یون سوپراکسید	آنزیم کاتالاز	پراکسید هیدروژن	آسکوربیک پراکسیداز
C.V	گلوتاتیون									
ژنوتیپ	۲	**۱۵۵/۶۱۹	۶۴۴/۱۱۲	۴۴۴/۱۰۸	۶۴۵/۱۳۹	۱۶۲/۸۴۳	۷۹۴/۳۷	۱۰۱/۲۳	۸۵۱/۸	۶۸۱/۱۱۹
		**	**	**	**	**	**	**	**	**
پرتو گاما	۳	۷۰۳/۱۰۲۸۰	۹۴۳/۲۴۴	۵۴۱/۱۱۰۵	۵۸۹/۳۲۶	۲۷۹/۸۵۳۸	۱۲۴/۳۲	۸۵/۲۵	۳۷۳/۳۴	۴۱۵/۲۸۲۷
		**	**	**	**	**	**	**	**	**
ژنوتیپ * پرتو	۶	**۹۰۲/۹۴	**۷۳۶/۹	**۵۹/۹	**۹۵۹/۸	۴۸/۳۶۶	ns۶۹۷/۰	*۸۳/۰	۳۹۹/۱	۹۷۶/۱۳
گاما						**			*	**
تکرار	۲	ns۶۵۴/۰	**۳/۳	**۳۵۱/۲	ns۳۹۲/۱	ns۷۸۸/۰	*۲۶۸/۱	۵۷۶/۱	۴۶۳/۱	ns۵۷۷/۰
								ns	*	ns۵۹۱/۰
خطا	۲۲	۳۶۸/۰	۲۴/۰	۲۲۸/۰	۴۷۱/۰	۴۶۷/۰	۳۱۴/۰	۳۱۶/۰	۳۸۵/۰	۳۲۷/۰
										۴۷۵/۰
کل	۳۵	۱۲/۹۳۳	۳۵/۲۹	۸۷/۱۰۲	۸۸/۳۷	۱۹/۸۴۳	۳/۵	۹۶/۳	۰۱/۴	۸۲/۲۵۱
										۱۸/۳۱

**معنی دار در سطح پنج درصد * معنی دار در سطح یک درصد ns غیر معنی دار

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات بیوشیمیایی گیاه کلزا تحت تیمار پرتوتابی پرتو گاما

مقایسه میانگین صفات بیوشیمیایی											
رقم	تکرار	آلفاتوکوفرول (نانومول بر گرم وزن تر)	آسکوربیک اسید (میکرومول بر گرم وزن تر)	TBARM (میکرومول بر گرم وزن تر) ()	کاروتنوئید (میکرو گرم بر میلی گرم کلروفیل)	آنزیم سوپراکسید (واحد استاندارد بر میلی گرم پروتئین)	یون سوپر اکسید (نانو مول بر دقیقه بر گرم وزن تر)	آنتیزم کاتالاز (میکرو مول بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین)	پراکسید هیدروژن (میکرو مول بر گرم وزن تر)	آسکوربیک پراکسیداز (نانو مول بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین)	گلوتاتیون (نانو مول بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین)
دلگان	شاهد	۰۶/۴۴ k	۲۰/۲ k	۲۰/۵ k	۱۰/۲۵ j	۰۳/۳۲ j	۱۰/۸ i	۰۷/۴ f	۲۳/۲ g	۳۰/۲۷ h	۲۰/۲۵ f
	۸۰۰	۱۰/۶۷ h	۱۷/۸ h	۲۰/۲۱ i	۱۰/۳۴ h	۲۰/۱۱۳ g	۱۳/۹h	۲۷/۵ e	۲۷/۶ cd	۱۰/۵۶ f	۱۳/۲۸ e
	۹۰۰	۰۷/۸۲ e	۰۷/۹ g	۱۰/۲۲ h	۳۰/۳۷ ef	۱۰/۱۱۷ e	۲۷/۱۰ fg	۳۰/۶ d	۱۰/۷ c	۱۳/۶۳ d	۰۷/۳۳ c
	۱۰۰۰	۷۷/۱۲۰ b	۱۰/۱۱ e	۰۷/۲۶ f	۰۷/۴۳ c	۲۰/۱۲۳ c	۱۳/۱۲ d	۰۷/۷ cd	۰۳/۸ ab	۰۳/۶۹ b	۱۳/۳۶ b
ظفر	شاهد	۱۷/۴۲ i	۰۷/۳ j	۴۳/۵ k	۰۳/۳۲ i	۳۰/۶۷ i	۱۳/۹ h	۰۳/۵ e	۰۷/۴ f	۱۳/۲۸ h	۲۷/۲۶ f
	۸۰۰	۰۳/۶۳ i	۱۳/۱۰ f	۱۰/۲۴ g	۲۰/۳۵ gh	۱۳/۱۱۵ f	۱۰/۱۰ gh	۱۰/۷cd	۲۰/۵ de	۱۳/۵۷ e	۲۰/۲۹ e
	۹۰۰	۱۳/۷۹ f	۲۷/۱۲ d	۱۷/۲۷ e	۰۷/۳۸ de	۱۰/۱۱۹ d	۰۳/۱۲ de	۰۷/۸ c	۳۰/۶ cd	۰۳/۵۸ e	۰۷/۳۱ d
	۱۰۰۰	۱۰/۱۱۲ c	۱۴ c	۲۰/۳۱ b	۳۰/۴۵ b	۱۳/۱۲۷ b	۲۷/۱۴ b	۰۷/۹ b	۰۳/۸ ab	۱۳/۶۳ d	۱۳/۳۷ b
آرجی اس	شاهد	۱۰/۴۸ j	۲۷/۴ i	۳۰/۶ j	۳۰/۳۶ fg	۱۰/۸۰ h	۱۳/۱۱ ef	۳۰/۶ e	۰۳/۵ ef	۰۳/۳۰ g	۰۳/۲۸ e
	۸۰۰	۲۷/۷۳ g	۲۳/۱۳ c	۱۷/۲۷ d	۱۰/۳۹ d	۲۳/۱۱۸ de	۲۷/۱۳ c	۲۰/۷ cd	۳۰/۷ bc	۰۷/۶۳ d	۱۳/۳۲ cd
	۹۰۰	۰۷/۸۹ d	۱۳/۱۶ b	۰۷/۳۰ c	۲۰/۴۳ c	۱۰/۱۲۳ c	۱۰/۱۴ bc	۱۷/۹ b	۱۳/۸ ab	۲۷/۶۶ c	۲۰/۳۷ b
	۱۰۰۰	۱۷/۱۴۲ a	۱۳/۲۱ a	۰۳/۳۵ a	۱۰/۴۸ a	۱۳/۱۳۰ a	۲۷/۱۵ a	۰۷/۱۱ a	۱۰/۹ a	۰۳/۷۲ a	۱۰/۴۵ a

نتایج مقایسه میانگین صفات بیوشیمیایی

نتایج مقایسه میانگین سطوح دز های پرتو تابی گاما برای تمامی صفات بیوشیمیایی مورد بررسی برای سه رقم دلگان، ظفر و RGS003 نشان داد که با افزایش دز پرتو دهی میزان آنها سیر صعودی داشتند و دز ۱۰۰۰ گری باعث تولید بالاترین میزان آنها شد.

بحث

نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که با افزایش دز پرتوتابی میزان صفات بیوشیمیایی اندازه گیری شده در این آزمایش دارای تفاوت معنی داری در بین دزها بوده و با افزایش شدت دز پرتو دهی دارای سیر صعودی بود. تفاوت در نتایج بدست آمده نتیجه اختلاف در دزهای پرتوتابی است که بیشترین اختلاف در بالاترین دز یعنی ۱۰۰۰ گری مشاهده گردید. نتایج حاصله نشان داد که با افزایش دز پرتوتابی گاما ظرفیت تولید رادیکال های فعال اکسیژن و اثرات منفی آنها افزایش یافت و گیاه در یک واکنش دفاعی سطح عوامل آنتی اکسیدانی و بیان ژن های درگیر را افزایش داد. گیاهان مختلف تنش هایی را که با آن مواجه می شوند از طریق مسیرهای بیوشیمیایی اصلاح می کنند. پاک سازی سلول از گونه های فعال اکسیژن کار معمولی است که سلول زنده از طریق مسیرهای آنزیمی و غیر آنزیمی انجام می دهند (لارکیندل و همکاران، ۲۰۰۷؛ گلدن و همکاران، ۲۰۰۲). کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز آنزیم های مهم در پاک سازی سلول از گونه های فعال اکسیژن می باشند. کاتالاز در پراکسی زوم سلول که محل سنتز H_2O_2 است وجود دارد و اولین فاکتور در شکستن H_2O_2 می باشد. نتایج این آزمایش نشان داد که در سطوح بالاتر پرتوتابی گاما فعالیت آنزیم های مورد مطالعه نسبت به کنترل افزایش قابل توجهی یافت. با افزایش سطح دز پرتوتابی گاما افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده گردید. در مطالعه صفات بیوشیمیایی میزان آن در تمامی سطوح دز پرتو تابی گاما نسبت به شاهد افزایش را نشان داد. مولکول H_2O_2 نقش کلیدی در تنش ها داشته و محل سنتز آن در پراکسی زوم می باشد. این مولکول در مسیرهای انتقال سیگنال نقش داشته و سبب بیان ژن ها می شود (پیزشک و

همکاران ۲۰۰۶). تنش های غیر زنده نظیر پرتوها تجمع انواع اکسیژن واکنش پذیر (ROS) را القاء می کند که در دزهای بالا برای سلول زیان آور هستند. تمام فرم های فعال شده اکسیژن به شدت فعال و بسیار سمی هستند و ROS به طور معمول با مولکول های بیولوژیکی واکنش می دهند و سبب خسارت اکسیداتیو به لیپیدهای غشاء، خسارت به اسید آمینه ها، اسیدهای نوکلئیک، تخریب و رسوب پروتئین ها و تخریب رنگدانه ها می گردند. آشفتگی متابولیکی ناشی از وجود تنش های غیر زنده تولید ROS را افزایش می دهد (سایرام و تگی، ۲۰۰۴). از این رو سمیت زدایی ROS، یک عامل مهم دفاعی در برابر تنش های غیر زنده می باشد. به طور کلی در شرایط تنش میزان تولید رادیکال های آزاد افزایش می یابد، بنابراین میزان فعالیت آنتی اکسیدانت نقش مهمی در تحمل تنش و سمیت زدایی و کاهش خسارت ناشی از رادیکال های آزاد دارد (گوسیت و همکاران، ۱۹۹۶). گیاهان برای مقابله با خسارت های ناشی از تنش اکسیداتیو مکانیسم های متفاوتی دارند. گیاهان برای حذف ROSها دارای مکانیسم های آنزیمی و غیر آنزیمی هستند. مکانیسم های آنزیمی غلظت پراکسید هیدروژن را کاهش می دهند. از جمله آنزیم های سمیت زدا، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آنزیم های چرخه آسکوربات گلوکاتایون (نظیر آسکوربات پراکسیداز، گلوکاتایون ردوکتاز و آنزیم های سنتز کننده گلوکاتایون) و پراکسیداز می باشند. آنتی اکسیدانت های تولید شده توسط مکانیزم های غیر آنزیمی در گیاهان نیز شامل آسکوربات، گلوکاتایون، آلفاتوکوفرول و کاروتنوئیدها می باشند (سایرام و تگی، ۲۰۰۴). حذف سوپر اکسید توسط سوپراکسید دیسموتاز به تولید هیدروژن منجر می شود که پراکسید هیدروژن نیز توسط کاتالاز یا آسکوربات از بین می رود (آسداد، ۱۹۹۲). نتایج این آزمایش نشان داد که با افزایش سطح دز پرتو تابی گاما افزایش میزان بیان ژن کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و اسکوربیک پراکسیداز مشاهده گردید. مقدار متوسط بیان ژن کاتالاز و فعالیت آن با تاثیر پرتو در محدوده دز ۸۰۰ تا ۹۰۰ گری بود. پراکسیداز در تجزیه H_2O_2 نقش دارد. در مطالعه بیان ژن میزان بیان این ژن در تمامی سطوح دز پرتو تابی گاما افزایش نسبت به شاهد مشاهده گردید. در سطح دز ۱۰۰۰ گری افزایش بیان بیشتر شد. با افزایش شدت دز، افزایش بیان نیز افزایش پیدا کرد. در مطالعه فعالیت این آنزیم و سایر آنزیم ها با افزایش دز میزان بیان سیر صعودی داشت. در مطالعاتی کاهش کاتالاز با افزایش میزان H_2O_2 و همبستگی منفی آنها با همدیگر نشان داده شده است (کاستا و همکاران، ۲۰۰۲؛ آگراوال و راتور، ۲۰۰۷؛ وانگ و همکاران، ۲۰۱۰). اگرچه میزان تابش برای غیر فعال کردن آنزیم ها بسیار متغیر است ولی به طور کلی همه آنزیم ها وقتی به صورت محلول تحت تاثیر پرتو قرار می گیرند غیر فعال می شوند. مولکول H_2O_2 نقش کلیدی در تنش ها داشته و در مسیرهای انتقال سیگنال نقش داشته و سبب بیان ژن ها می شود. در مطالعات آنزیم های آنتی اکسیدانی بررسی کردن آنها با همدیگر به علت پیچیده بودن شرایط درون سلول زنده می تواند نتایج مناسب تری به دست دهد. با افزایش شدت دز، H_2O_2 به عنوان مولکول کلیدی افزایش نسبی پیدا کرده و سلول زنده توانایی کنترل آن را دارد، اما با افزایش تنش به علت نقش H_2O_2 در مرگ برنامه ریزی سلولی سبب خسارت به سلول شده و سلول توانایی جبران را ندارد (پیزشک و همکاران ۲۰۰۶).

نتیجه گیری

با افزایش دز پرتو تابی میزان صفات بیوشیمیایی اندازه گیری شده در این آزمایش دارای تفاوت معنی داری در بین دزها بوده و در تمامی سطوح دز پرتو تابی گاما نسبت به شاهد افزایش را نشان دادند و دارای یک سیر صعودی بودند که رقم RGS003 دارای بیشترین مقدار بود که حاکی از تغییرات ژنتیکی موثری است که با پرتو گاما ایجاد شده است. بیشترین اختلاف در بالاترین دز یعنی ۱۰۰۰ گری مشاهده گردید. در سطوح بالاتر پرتو تابی فعالیت آنزیم نسبت به کنترل افزایش یافت. با افزایش سطح دز پرتو تابی گاما افزایش میزان بیان ژن کاتالاز سوپراکسید دیسموتاز و اسکوربیک پراکسیداز و فعالیت آنزیم کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و اسیداسکوربیک مشاهده گردید.

منابع

- شریعتی، ش. و پ. قاضی شهنی زاده. ۱۳۷۹. کلزا. اداره کل آمار و اطلاعات در امور کشاورزی.
- ملکوتی، م.ج. و ا. سپهر. ۱۳۸۲. تغذیه بهینه دانه‌های روغنی (مجموعه مقالات). انتشارات خائیران. ۴۵۲ صفحه.
- مجد، ف. و م. ر. اردکانی. ۱۳۸۲. تکنیک‌های هسته‌ای در علوم کشاورزی. انتشارات دانشگاه تهران. ۱۴۰ صفحه.
- نواب پور، س.، رمضانپور، س.، و ح. نوری. ۱۳۹۳. مطالعه تغییرات بیان برخی ژن‌های دخیل در مسیر تولید آنتی‌اکسیدان در کلزا تحت پرتو تابی اشعه گاما. گزارش طرح تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. شماره شناسه ۸۹ - ۳۰۶ - ۹۱.
- هنرنژاد، ر. ۱۳۷۲. اصول اصلاح نباتات (ترجمه). انتشارات دانشگاه گیلان. ۲۷۵ صفحه.
- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzym.* 105:121-126.
- Agrawal, S.B. and D. Rathore. 2007. Changes in oxidative stress defense system in wheat (*Triticum aestivum* L.) and mung bean (*Vigna radiata* L.) cultivars grown with and without mineral. *Env. Exp. Bot.* 59:21-33.
- Arakawa, N., K. Tsutsumi, N.G. Sanceda, T. Kurata and C. Inagaki. 1981. Rapid and sensitive method for the determination of ascorbic acid using diphenyl-1, 10-phenanthroline. *Agric. Biol. Chem.* 45:1289-1290.
- Asada, K. 1992. Ascorbate peroxidase: a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. *Physiol. Plant.* 85:235-241.
- Blokhina, O., E. Virolainen and K.V. Fagerstedt. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann. Bot.* 91:179-194.
- Brennan, T. and C. Frenkel. 1977. Involvement of hydrogen peroxide in the regulation of senescence in pear. *Plant physiol.* 59:411-416.
- Costa, H. S., M. Gallego and M.L. Tomaro. 2002. Effects of UV-B radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons. *Plant Sci.* 162:939-945.
- Elstner, E.F. and A. Heupel. 1976. Inhibition of nitrite formation from hydroxyl ammonium chloride: a simple assay for superoxide dismutase. *Ann. Biochem.* 70:616-620.
- Ganapore, A.A.K., S.M. Hasnain and O.U. Sayal. 1999. The application and implication of gamma radiation in bread wheat (*Triticum aestivum*). *Pakistan J. Biol Sci.* 2(1):136-143.
- Giannopolitis, C.N. and S.K. Ries. 1977. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol.* 59:309-314.
- Golden T.A., D. Hinerfeld and S. Melov. 2002. Oxidative stress and aging: beyond correlation. *Aging Cell*, 117-123.
- Gosset, D.R., S.W. Banks, E.P. Millhollon and M.C. Lucas. 1996. Antioxidant response to NaCl stress in a control and an NaCl-tolerant cotton cell line grown in the presence of paraquat, but lionine sulfoximine and exogenous glutathione [J]. *Plant Physiol.* 112:803-809.
- Hagege, D., A. Nouvelot, J. Boucard and T. Gaspar. 1990. Malondialdehyde titration with thiobarbiturate in plant extracts: avoidance of pigment interference. *Phytochem. Anall.* 1:86-89.

- Hanafiah, D.S., T.E. Ningtyas, S. Yahya and D. Wyrnas. 2010. Induced mutations by gamma ray irradiation to Argomulyo soybean (*Glycine max*) variety. *Biosci.* 2 (3):121-125.
- IAEA. 1988. Improvement of grain-legume proteins using induced mutations. Proceeding of Workshop.
- Larkindale, J. D., J. Hall, R. Knight and E. Vierling, 2005. Heat stress phenotypes of *Arabidopsis* mutants implicate multiple signaling pathways in the acquisition of thermotolerance. *Plant Physiol.* 138: 882–897.
- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzym.* 148:350-382.
- Moradyanfar, H., 2008. Canola is a valuable and profitable plant. *J. Farm.* 29, 32-33.
- Munné-Bosch, S., I. Schwarz and L. Alegre, L. 1999. Enhanced formation of α -tocopherol and highly oxidized abietanedieterpenes in water-stress rosemary plants. *Plant Physiology.* 121:1047-1052.
- Pitzschke A., C. Forzani and H. Hirt. 2006. Reactive oxygen species signaling in plants. *Antiox. Red. Sig.* 8:1757-1764.
- Sairam R.K. and A. Tyagi. 2004. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Curr. Sci.* 86: 407-421.
- Sairam, R.K. and G.C. Srivastava. 2001. Water stress tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.). Variations in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotypes. *J. Agron. Crop Sci.* 186:63-70.
- Schaedle, M. and J.A. Bassham. 1977. Chloroplast glutathione reductase. *Plant Physiology.* 59:1011-1012. Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 22:867-880.
- Seung, G., C. Byung Yeoup, K. Jae-Seung, K. Jin-hong, B. Myung-Hwa, L. Ju-woon and Y.S. Kim. 2007. Effects of gamma irradiation on morphological Changes and bio-logical responses in plants. *Micron.* 38(6):553-564.
- Vyver, CH., B.J. Vorster, K.J. Kunert and C.A. Cullis. 2011. Analysis of radiation-induced genome alteration in *Vigna unguiculata*. *Dove Press Journal: Res. Rep. Biol.* 13: 21-33.
- Wang, S., B. Xie, L. Yin, L. Duan, Z. Li, A. Eneji, W. Suji and A. Tsunekawa. 2010. Increased UV-B Radiation Affects the Viability, Reactive Oxygen Species Accumulation and Antioxidant Enzyme Activities in Maize (*Zea mays* L.) Pollen. *Photochem. Photobiol.* 86:110-116.
- Wu, W., B. Ma and J.K. Whalen. 2018. Enhancing rapeseed tolerance to heat and drought stresses in a changing climate: perspectives for stress adaptation from root system architecture. *Adv. Agron.* 151, 87-157.

Studying the antioxidant activity of canola cultivars irradiated with gamma rays at the seedling stage

Hamid Nouri¹

Received : 20 Oct. 2023 Accepted: 21 Nov.2023

Abstract

After cereals, oilseeds constitute the second food reserves in the world. They are rich in oil and rich in protein. 27 million tons of canola are produced annually and it is one of the most important oilseeds. Increasing production performance is one of the most important aspects of its improvement. Therefore, it is very important to use appropriate breeding methods to increase genetic diversity. Mutation is one of the appropriate methods of creating genetic diversity and not only increases the genetic diversity within the population, but also increases the fertility in the previous mutant lines by creating a change. Based on this, it seems that the study of gamma radiation is important in order to find the optimal dose and observe some physiological and biochemical effects as well as the response of gene expression. The effect of gamma radiation on three canola cultivars named RGS003, Delgan and Zafar irradiated with gamma radiation at 0 (control), 800, 900 and 1000 Gy was investigated in order to study the antioxidant activity it was studied at the seedling stage in Yasouj University. Abiotic stresses such as radiation induce the accumulation of reactive oxygen species (ROS), which are harmful to cells in high doses. All forms of activated oxygen are highly reactive and highly toxic, and ROS usually react with biological molecules and cause oxidative damage to membrane lipids, damage to amino acids, nucleic acids, degradation and precipitation of proteins, and pigment degradation. They turn around. Metabolic disturbances caused by abiotic stresses increase ROS production. Therefore, ROS detoxification is an important defense factor against abiotic stresses. In general, the production of free radicals increases in stressful conditions, so the amount and activity of antioxidants play an important role in stress tolerance and detoxification and reducing the damage caused by free radicals. With increasing radiation dose, the amount of superoxide radicals, hydrogen peroxide radical, superoxide dismutase enzyme, catalase I enzyme, glutathione reductase enzyme, ascorbic peroxidase I enzyme, ascorbate salt (ascorbic acid), alpha tocopherol, carotenoid and TBARM measured in this research has There was a significant difference between the doses and showed an increase in all levels of gamma radiation dose compared to the control and had an upward trend, with RGS003 having the highest value, which indicates the effective genetic changes caused by gamma radiation. The biggest difference was observed in the highest dose, i.e. 1000 Gy.

Keywords: canola, gamma radiation, genetic diversity, biochemical