

MUTAGJENEZA E INDUKTUAR TEK FASULJA INDUCED MUTATION IN BEAN

ARJANA YLLI¹, MALVINA KARCINI¹, MARSIDA KLEMO² dhe ANDON DODBIBA³

¹Departamenti i Bioteknologjisë, Universiteti i Tiranës, Tiranë, ALBANIA

²Departamenti i Shkencave Inxhinierike, Universiteti "Aleksandër Moisiu", Durrës, ALBANIA

³Qendra e Fizikes Bërthamore të Zbatuar, Universiteti i Tiranës, Tiranë, ALBANIA

E-mail: ariana_ylli@yahoo.co.uk

AKTET VI, 1: 10 - 16, 2013

PËRMBLEDHJE

Fasulja (*Phaseolus vulgaris*) paraqet një variabilitet të lartë gjenetik dhe me rëndësi për prodhimin bujqësor. Me ndryshimet klimaterike të vitet e fundit prodhimi i saj ka pësuar një ulje të ndjeshme. Një nga problemet e evidentuara është abortimi i luleve të fasules, pra mos lidhje e bishtajave për shkak të temperaturave të larta dhe thatësirave. Nëpërmjet teknikave të mutagjenzës së induktuar tek farat e fasules është tentuar për të zgjatur kohën e lulëzimit dhe për të eliminuar abortimin e luleve në këtë periudhë. Farat e fasules janë rrezitur me rrezatim gama të Cs-137 dhe janë trajtuar me mutagjenë kimik dES. Rezultat e marra në brezninë e parë mutante M₁ tregojnë ndryshime krahasuar me kontrollin për të dy trajtimet. Materialet e marra dhe të vlerësuara në brezninë M₁ janë mbjellë në vitin 2012, si brezni M₂, për tu vlerësuar dhe për të përzgjedhur linjat mutante me veti të përmirësuara.

Fjalët kyçe: mutacione, mutagjene fizike, mutagjene kimike *Phaseolus vulgaris*

SUMMARY

Bean (*Phaseolus vulgaris*) represents a high genetic and important variability for agricultural production. With climatic changes during last years, its production has been significantly reduced. One of the problems identified is the abortion of flowers of the beans, so the legumes do not survive due to high temperatures and droughts. Through induced mutation techniques on bean seeds was tried to longer the time of flowering so that to eliminate abortion of flowers in this period. Bean seeds are irradiated with gamma radiation of Cs-137 and are treated with chemical mutagen dES. Results obtained in the first generation of mutant M₁ indicate changes compared to the control for the both treatments. Materials received and evaluated in M₁ generation were planted in 2012 as the M₂ generation, to evaluate and to select mutant lines with improved properties.

Key words: *chemical mutagens, physical mutagens, mutacion, Phaseolus vulgaris*

HYRJE

Mutagjeneza e induktuar për një kohë të gjatë është konsideruar si një drejtim i vyer për të krijuar materiale bimore me cilësi sa më të mira të prodhimit dhe sa më të qëndrueshme ndaj kushteve të mjedisit [1, 4, 7].

Të dhënat e literaturës botërore kanë treguar se mutagjeneza është një nga fushat e rëndësishme për krijimin e materialeve të reja bimore sidomos tek cerealet, perimet dhe drurët frutorë. Gjenotipi i materialeve fillestare dhe përzgjedhja

e tyre luajnë një rol me rëndësi në realizimin e mutacioneve. Teknologjia e induktimit mutagjenik kohët e fundit është pranuar si një mjet shtesë i çmuar për krijimin e linjave dhe kultivarëve të përmirësuar në fusha të ndryshme të bujqësisë. Prej disa vitesh në vendin tonë ekziston një eksperience e mire në përdorimi e mutacioneve të induktuara me agentë të ndryshëm mutagjenike. Ky është një objektivi i rëndësishëm në fushën e kërkimit për të krijuar materiale me tipare të përmirësuara që tu

përshtaten kushteve klimaterike të cilat po ndryshojnë në mënyrë të vazhdueshme në rajonin tonë [3, 8].

Mutagjeneza e induktuar është një nga rrugët kryesore të krijimit të kultivarëve të rinj me tipare të përmirësuar duke i krahasuar këto me materialet prindërore. Arritjet në induktimin e mutacioneve janë të lidhura ngushtë me fondin gjenetik dhe materialet mund të jenë *fara, sythe, kërcëj, embrione, kokrra poleni* etj ne varësi të nevojave specifike. Shumimi mutacional mund të përdoret jo vetëm për të induktuar mutacionin, por edhe për promovimin e rikombinimit gjenetik, në mënyrë që të shtohet frekuenca e mutacionit.

Fasulja në vendin tonë është konsideruar si një nga bimët kryesore leguminoze [1, 2]. Në rajonin e Ballkanit fasulja (*Phaseolus vulgaris*) është një burim kryesor ushqimi për vlerat e larta ushqimore që ka si dhe për sasinë e lartë të proteinave që ajo përmban [1, 8]. Fasulja (*Phaseolus vulgaris*) paraqet një variabilitet të lartë gjenetik dhe me rëndësi për prodhimin bujqësor. Me ndryshimet e shumta klimaterike që kanë ndodhur në vitet e fundit prodhimi i saj ka pësuar një ulje të ndjeshme, çka ka çuar në kërkimin e mundësive për të bërë të mundur eliminimin e këtyre humbjeve në rendiment. Një nga problemet e evidentuara është *abortimi i luleve të fasules*, pra mos lidhje e bishtajave për shkak të temperaturave të larta dhe thatësirave në periudhën e lulëzimit të tyre [5, 7]. Realizimi i studimeve të kësaj natyre në të gjithë rajonin dhe eksperiencat e gjatë në vendin tonë edhe në kultura të tjera krijon mundësinë e organizimit të një punë studimore dhe eksperimentale.

MATERIALI DHE METODA

Materiali biologjik i përdorur në këtë studim është farë fasule e varietetit Shijak nga mostrat e koleksionuara në zonën e Krutës (2010) dhe Lushnjës (2011). Zgjedhja e këtij materiali është bërë duke patur parasysh që ky varietet është i regjistruar në Bankën Gjenetike pranë Universitetit Bujqësor të Tiranës si një material i stabilizuar. Trajtimi i farës para mbjelljes u bë me mutagjenë fizikë dhe mutagjenë kimikë sipas metodikave të dhëna në Manualin e Agjencisë

Ndërkombëtare të Energjisë Atomike (ANEA) [6]. Trajtimi me mutagjenë fizike në vitin 2010 dhe 2011 ka konsistuar në rrezitjen me rrezatim gama prej 680 keV të Cs-137, në tre doza duke përdorur 1000 fara për çdo dozë, 50 Gy, 100 Gy, 150 Gy dhe mutagjenë kimik dES (diethyl sulfatit) me dozat 0.010 M, 0.015 M, 0.020 M dhe 0.025 M. Puna për trajtimin e materialit fare është realizuar në laboratorët e Qendrës së Fizikës Bërthamore të Zbatuar pranë Fakultetit të Shkencave Natyrore. Për vitin 2010 prova fushore u realizua në parcelën e Bankës Gjenetike, në toka të përshtatshme dhe të përgatitura mirë. Eksperimenti u ngrit me 5 variante nga të cilët 4 të trajtuar me doza të ndryshme mutagjeni kimik dES dhe një kontrolli (të pa trajtuar). Krahas tij, eksperimenti në vitin 2011 është ngritur një parcele eksperimentale në rrethin e Fierit, me 7 variante; 3 të trajtuara me mutagjenë fizike dhe 3 të trajtuara me mutagjenë kimike dES dhe krahas tyre edhe kontrolli i pa trajtuar. Kjo është bërë për të mundësuar përshtatjen e materialeve në zona të ndryshme gjeografike dhe krahasimin midis tyre. Çdo variant u mboll në tre rreshta (3 m x 0,7), në katër përsëritje. Gjatë vegetacionit u regjistruan të dhënat për kalimin e fazave fenologjike (mbirja, nxjerrja e degëve, lulëzimi, pjekja etj). U kryen matje e vlerësime për bishtajën dhe për kokrrën në laborator [6]. Vlerësimet pas mbledhjes së bishtajave në laborator u kryen në jo më pak se 50 bishtaja për çdo dozë trajtimi dhe krahas tyre edhe kontrolli i pa trajtuar. Vlerësimi u bë sipas deskriptorëve të IPGR [2, 4].

REZULTATET DHE DISKUTIMI

zgjatjen e kohës së lulëzimit të tyre, që lulet për shkak të temperaturave të larta të stinës të mos abortojnë por të lidhin bishtaje. Duke rritur numrin e luleve të çelura do të krijonim mundësinë e rritjes së numrit të bishtajave të lidhura [1]. Krahas kësaj synohet të arrihet krijimi i materiale rezistente ndaj sëmundjeve që prekin varietete të veçanta, për të realizuar linja rezistente gjatë thatësirave të tejzgjatura, për të shkurtuar kohën e pjekjes së bishtajave, për të

rritur numrin e kokrrave në bishtaja si dhe peshën e tyre brenda një bishtaje.

Pas trajtimit me mutagjenë fizike dhe kimikë i materialeve farë për bimët e fasules është bërë mbjellja e tyre në parcelën eksperimentale në Valias pranë Tiranës dhe në Fier. Janë kryer vëzhgime në brezninë e parë mutante për vlerësimin e karakteristikave fenotipike dhe mutacioneve të mundshme në këtë breznë si dhe mundësinë e krahasimit të përshtatjes në disa zona të vendit. Vlerësimi i vetive të tyre specifike sipas kulturave të trajtuara dhe aplikimi i teknikave të dhëna nga Agjencia Ndërkombëtare e Energjisë Atomike / Organizata Botërore e Ushqimit dhe Bujqësisë (IAEA / FAO) [1, 6].

Pas mbjelljes në fushe është bërë vlerësim i vazhdueshëm për evidentimin e bimëve të veçanta me veti të përmirësuara në ndikimin e mutagjenëve fizike dhe kimikë, duke i krahasuar ato me materialet prindërore të pa trajtuara. Siç vërehet në Fig, 1, janë të dukshme mutacionet klorofiliane pikësore tek varianti V4 i trajtuar me dozën e tretë të dES

Gjatë periudhës së vegetacionit janë regjistruar të dhëna për fazat fenologjike si mbirja, nxjerrja e degëve, lulëzimi dhe pjekja. Në vitin 2010, nga analiza e materialeve rezultojnë që qëndrueshmërinë e gjethëve në bime është e mirë dhe në të gjithë variantet nuk vërehen ndryshime. Tek V4 shfaqen disa shenja nekroze që mund të jenë fiziologjike dhe jo patologjike.

Në periudhën e lulëzimit është vëzhguar një ndryshim në zgjatje kohore, çka krijonte mundësi për të çelur më gjatë lule, por dhe për të lidhur më shumë bishtaja. Zgjatja e periudhës së lulëzimit është e ndryshme midis varianteve dhe shkon nga 24 ditë tek V3 deri në 28 ditë tek V1 (kontrolli) dhe kështu ndryshon dukshëm duke u krahasuar me kontrollin. Periudha bimore zgjat 74 ditë tek V4 dhe 82 ditë të kontrolli, pra një diferencë prej 8 ditësh, ndërsa variantet e tjera grupohen në 77 deri 82 ditë [2, 7]. Në të gjithë variantet e trajtuara me mutagjenë kimike dES duke i krahasuar me kontrollin kanë një periudhë vegetative më të shkurtër, pra një pjekje më të shpejtë të bishtajave duke patur dhe një lulëzim më të gjatë për bimë të trajtuara paraprakisht me mutagjenin dES (diethylsulfat). Në brezninë M1 u grumbulluan të gjitha bimët sipas rekomandime të literaturës dhe u bë vlerësimi i tyre në laborator, për të gjitha dozat e përdorura, përfshi kontrollin e pa trajtuar. Në vitin e parë u analizuan 10 bime për çdo variant të trajtuar dhe për kontrollin.

Në brezninë M1 u grumbulluan të gjitha bimët, për të gjitha dozat e përdorura. Në laborator në vitin pasardhës 2011 një numër shumë të madh bimësh, për çdo trajtim nga 50 bimë sipas rekomandimeve të literaturës [6] Kjo na krijoi mundësinë që të japim një vlerësim paraprak të konsiderueshëm për punën tonë të mëtejshme



Figura 1 Bimë fasule me mutacione klorofiliane në trajtimet me dES3 (2010)



Figura 2 Bimët e fasules të trajtuara me tre doza rrezatimi 50 Gy, 100 Gy, 150 Gy dhe kontrolli i pa trajtuar në parcelën eksperimentale në Fier



Figura 3 Bimët e fasules të trajtuara me dES me dozat 0.010 M, 0.015 M, 0.020 M dhe kontrolli i pa trajtuar në parcelën eksperimentale në Fier, 2011

Në materialet të trajtuara me rrezatim në vitin 2011 me brezninë M_1 u vunë re bimë me mutacione klorofiljane me tipare albine, zbardhje

dhe depigmentime të gjetheve. Në dozën 50 Gy vihet re një koncentrik i pigmenteve klorofiljane në periudhën e çeljes së luleve krahasuar kjo me

kontrollin. Nga Fig. 2 vërehet ulja e aftësisë mbirëse si rezultat i influencës së rrezatimit që u është bërë fareve të fasules. Kjo është më e ndjeshme në dozën 150 Gy në uljen e numrit të farave të mbjellura me ato që rezultojnë që të kenë rezistuar në fazën e pjekjes së bishtajave. Nga Fig. 3 vërehet se të tre dozat e dES kanë dhënë një ulje të numrit të bimëve të mbira në brezninë M_1 pas trajtimit me mutagjene e cila arrin deri në 15 % tek trajtimi me 0.020 M por kjo është e pritshme dhe nga të dhënat e literaturës [6, 8]. Trajtimi me dES₂ ka dhënë një ndryshim të ngjyrës së gjetheve duke e bërë të gjelbër me të thellë pra një përqendrim të pigmenteve

klorofiljane. Kjo ngelet për tu vëzhguar dhe për tu matur në breznitë pasardhëse kur linjat të jenë të stabilizuara si linja mutante dhe jo nën influencën e drejtpërdrejtë të mutagjenëve.

Në figurat 4 dhe 5 vërehen diferenca në numrin e kokrrave në 50 bishtajat e analizuar dhe në peshën e kokrrave për bishtaje. Numri i kokrrave në disa raste është më i lartë tek kontrolli, por po t'i referohemi peshës së kokrrave për të njëjtat bimë rezultojnë se ajo është më e lartë në bimët e trajtuara me dES₂ (Fig.5). Vërehet një rritje e peshës në përgjithësi tek materialet e përfutuara pas trajtimeve

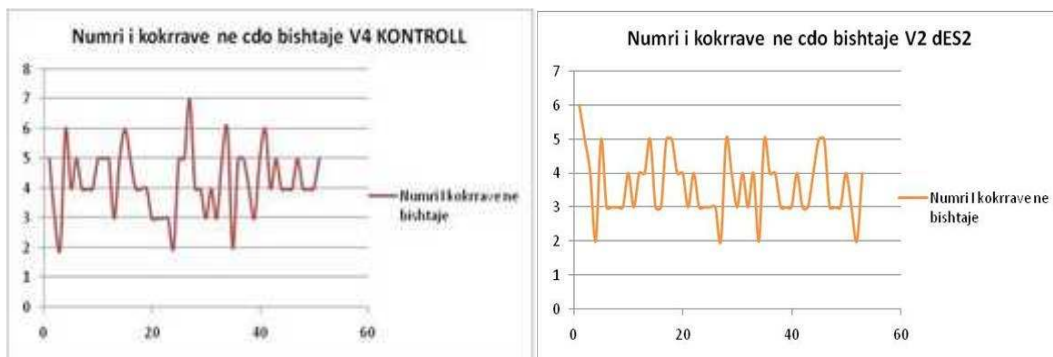


Figura 4 Numri i kokrrave për bishtaje për kontrollin e pa trajtuar dhe trajtimin me dES₂ për vitin 2011

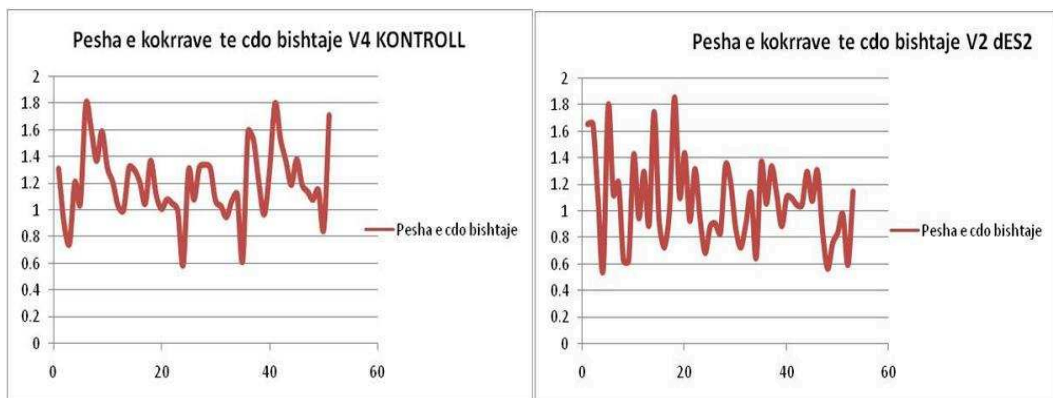


Figura 5 Pesha kokrrave për bishtaje për kontrollin e pa trajtuar dhe trajtimin me dES₂ për vitin 2011

KONKLUZIONE

Rezultatet e arritura deri tani na sigurojnë të dhëna të dobishme për vazhdimin e studimeve

taksonomike, evolutive dhe për vlerësimin e linjave mutante të trajtuara me mutagjenë dhe të krahasuara këto me kontrollin. Puna e deri

tanishme me brezninë M₁ ka dhënë rezultate pozitive çka na jep mundësinë për të vazhduar më tej punën studimore dhe eksperimentale me breznitë pasardhëse për të zgjedhur linja mutante.

- Duke qenë se puna me mutagjenezë të induktuar tek fasulja realizohet për herë të parë në Shqipëri duhen stabilizuar dozat e trajtimit me mutagjene për të zgjedhur dozat optimal për të na dhënë mutacionet e dëshiruara.
- Variantet e studiuara paraqesin dallime por puna përzgjedhëse duhet të vazhdoje dhe nga vlerësimet do të identifikohen e individët që plotësojnë kërkesat e objektivit tonë.
- Në breznitë M₃ do të analizohen pigmentet fotosintetike për të vlerësuar linjat mutante. Ndryshimet në përmbajtjen e pigmenteve fotosintetike veçanërisht në raportet e tyre lejojnë të vlerësohen modifikim/reduktimi i tyre.

Do të punohet me materialet mutante të viteve pasardhëse për vlerësimin e azotit në sistemin e tyre rrënjor

BIBLIOGRAFI

1. FAOSTAT, Food and Agricultural Organization of the United Nations, (2009) accessed November 5.
2. Gautam, A.S., K.C. Sood, and R.K. Mittal. (1998). Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays and ethyl methane sulphonate in rajma (*Phaseolus vulgaris* L.).
3. Jacn.org. (Retrieved 2012-01-14) "Pinto Bean Consumption Reduces Biomarkers for Heart Disease Risk".
4. Khan S & Wani MR (2005). Genetic variability and correlations studies in chickpea mutants. *J. Cytol. Genet.* 6 (2): 155-160.
5. Kumar JS & Selvaraj R (2003). Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays and ethyl methane sulphonate in sunflower (*Helianthus annus* L.). *Madras Agric. J.*, 90(7-9): 574-576.
6. Manual on Mutation Breeding. Second Edition (1977). Joint FAO/IAEA.
7. Singh R & Kole C R (2005). Effect of mutagenic treatments with EMS on germination and some seedling parameters in mungbean. *Crop Res.*, 30(2): 236-240.
8. Solanki IS & Phogat DS (2005). Chlorophyll mutation induction and mutagenic effectiveness and efficiency in macrosperma lentil (*Lens culinaris* Medik.). *National J. plant Improv.*, 7(2): 81-84.