

Studying the effect of physical and chemical mutagens on the morphological and biochemical characteristics of the Marguerite plant under greenhouse conditions

Fatemeh Poursaeed Esfahani

MSc Graduate, Department of Biotechnology, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran. Email address: fp13664621@yahoo.com

Amin Baghizadeh 

*Corresponding Author: Associate Professor, Department of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman-Iran. Email address: amin_4156@yahoo.com

Gholamreza Sharifi Sirchi

Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. Email address: sharifi-sirchi@mail.uk.ac.ir

Somayeh Aminizadeh 

PhD, Department of Plant production and genetics, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. Email address: s.aminizade2008@gmail.com

Abstract

Objective

Induction of mutations using chemical and physical agents has become a widely adopted approach for improving desirable traits and generating new cultivars in ornamental plants. The flower production industry is a dynamic sector worldwide, and its growth depends on innovation and the introduction of novel varieties. Marguerite (*Chrysanthemum superbum*) is an important seasonal cut flower, and improving its morphophysiological traits has long attracted the attention of researchers' attention. To investigate the effects of mutagenic agents on variation in marguerite, gamma irradiation, ethyl methane sulfonate, and sodium azide were applied, and the resulting morphological and biochemical traits were evaluated.

Materials and Methods

This study was conducted as a greenhouse experiment using a Completely Randomized Design (CRD) with three replications at the Research Greenhouse of the Graduate University of Advanced Technology in Kerman, Iran. The treatments included gamma irradiation at doses of 50, 100, 150, 200, and 300 Gy; ethyl methane sulfonate at concentrations of 0.3, 0.7, and 1%; and sodium azide at 0.5, 1, and 5 mM. These treatments were applied to marguerite seeds to induce mutation. The collected data included morphological and biochemical characteristics, which were statistically analyzed using Excel and SPSS software.

Results

The results showed that gamma irradiation was the most efficacy at inducing changes across various traits in marguerite, with some doses, such as 300 Gy, significantly improving growth indices. Sodium azide also had notable effects on certain traits, although these were mostly observed as reductions in plant growth and development. Ethyl methane sulfonate exhibited milder effects overall; however, a concentration of 0.7% led to noticeable alterations in certain characteristics. Biochemical indicators such as pigments, flavonoids, and proteins were also affected, with both the type and concentration of the mutagen playing a critical role in the direction and magnitude of these changes. Overall, the findings suggest that mutagenic agents can effectively influence the morphophysiological and biochemical traits of marguerite. Among them, gamma irradiation proved to be the most effective and may serve as a promising strategy for increasing variability in marguerite plants.

Conclusion

The use of gamma radiation under controlled conditions can be considered a promising tool for creating morphological changes. By evaluating the stability and fixation of these changes in subsequent generations, this approach can support breeding programs aimed at developing new varieties of marguerite flowers.

Keywords: Ethyl methane sulfonate, Gamma irradiation, Marguerite, Mutation, Sodium azide.

Paper Type: Research Paper.

Citation: Poursaeed Esfahani F, Baghizadeh A, Sharifi Sirchi Gh, Aminizadeh S (2025) Studying the effect of physical and chemical mutagens on the morphological and biochemical characteristics of the Marguerite plant under greenhouse conditions. *Journal of Genetics and Plant Breeding* 2 (3), 1-28.

Journal of Genetics and Plant Breeding 2 (3), 1-28.

DOI: 10.22103/gpb.2025.5688

Received: July 9, 2025.

Received in revised form: September 14, 2025.

Accepted: September 15, 2025.

Published online: September 25, 2025.

Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production,
Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman and
Iranian Genetics Society.



© the authors



بررسی اثر جهش‌زاهای فیزیکی و شیمیایی بر خصوصیات ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی گل مارگریت (*Chrysanthemum superbum*) در شرایط گلخانه‌ای

فاطمه پورسعید اصفهانی

دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران. رایانامه:

fp13664621@yahoo.com

امین باقی‌زاده 

*نویسنده مسئول: دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی

صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران. رایانامه: amin_4156@yahoo.com

غلامرضا شریفی سیرچی

استاد، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه: sharifi-

sirchi@mail.uk.ac.ir

سمیه امینی‌زاده 

دانش آموخته دکتری، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه:

s.aminizade2008@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۱۸ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۴/۰۶/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۲۴

چکیده

هدف: القای جهش با روش‌های شیمیایی و فیزیکی به‌عنوان یک روش پرکاربرد برای اصلاح خصوصیات مورد نظر و ایجاد واریته‌های جدید در گیاهان زینتی استفاده شده است. صنعت تولید گل در دنیا صنعتی زنده است که رونق آن نیازمند نوآوری و ورود ارقام جدید است. مارگریت یکی از گل‌های شاخه بریده و فصلی مهم است و بهبود صفات مورفوفیزیولوژیکی آن همیشه مورد توجه پژوهشگران بوده است. به‌منظور تعیین اثرات جهش‌زاهای فیزیکی و شیمیایی در جهت ایجاد تنوع در خصوصیات گل مارگریت از پرتو گاما، اتیل‌متان سولفونات و سدیم‌آزاید استفاده شد و خصوصیات ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی گیاه ارزیابی گردید.

مواد و روش‌ها: این پژوهش به صورت آزمایش گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته در کرمان انجام شد. تیمارهای مورد بررسی شامل پرتو گاما (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ گری)، اتیل متان سولفونات (۰/۳، ۰/۷ و ۱ درصد) و سدیم آزاید (۰/۵، ۱ و ۵ میلی‌مولار) بود که به منظور القای جهش به بذر گل مارگریت اعمال شدند. داده‌های جمع‌آوری شده شامل صفات ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی بودند که با استفاده از نرم‌افزارهای Excel و SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

نتایج: نتایج نشان داد پرتو گاما بیشترین توانایی را در ایجاد تغییرات در صفات مختلف در گل مارگریت داشت و در برخی دزها از جمله ۳۰۰ گری باعث بهبود شاخص‌های رشد شد. تیمار سدیم آزاید در برخی صفات مؤثر بود، هرچند اغلب تغییرات به صورت کاهش در رشد و توسعه گیاه مشاهده شد. تیمار اتیل‌متان‌سولفونات نسبت به سایر تیمارها اثرات خفیف‌تری داشت، اما در دز ۰/۷ درصد تغییرات مشخصی در برخی ویژگی‌ها به دنبال داشت. بررسی برخی شاخص‌های بیوشیمیایی شامل رنگدانه‌ها، فلاونوئیدها و پروتئین‌ها نیز نشان داد که نوع تیمار و دز مصرفی نقش تعیین‌کننده‌ای در جهت تغییر میزان این ترکیبات دارد. به طور کلی نتایج نشان داد که استفاده از عوامل جهش‌زا می‌تواند ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی مارگریت را تحت تاثیر قرار دهد. با این حال عامل جهش‌زای پرتو گاما موثرتر از سایر تیمارها بود و می‌توان از این پرتو و القای تنوع به عنوان راهبردی مناسب جهت افزایش تنوع در گیاه مارگریت استفاده نمود.

نتیجه‌گیری: استفاده از تابش گاما در شرایط آزمایشگاهی می‌تواند به عنوان ابزاری امید بخش در ایجاد تغییرات ظاهری مورد بهره‌برداری قرار گیرد و با بررسی نرخ تثبیت تغییرات در نسل‌های بعدی در حمایت از برنامه‌های به‌نژادی برای تولید ارقام جدید گل مارگریت مورد استفاده واقع شود.

کلیدواژه‌ها: اتیل متان سولفونات، پرتو گاما، جهش، سدیم آزاید، مارگریت

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: پورسعید اصفهانی فاطمه، باقی‌زاده امین، شریفی سیرچی غلامرضا، امینی‌زاده سمیه (۱۴۰۴) بررسی اثر جهش‌زاهای فیزیکی و شیمیایی بر خصوصیات ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی گل مارگریت (*Chrysanthemum superbum*) در شرایط گلخانه‌ای. *مجله ژنتیک و به‌نژادی گیاهی*، ۲(۳)، ۲۸-۱.

Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production,
Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman and
Iranian Genetics Society



© the authors

مارگریت با نام علمی (*Chrysanthemum superbum*) گیاهی بوته‌ای، چندساله و علفی است که گل‌های سفید شعاعی با گلبرگ‌های سفید در اطراف یک دیسک زرد تولید می‌کند (Yahel et al. 2019) که هم در کشت فضای سبز و هم به‌صورت گل شاخه بریده کاربرد دارد (Gilman 1999). این گل مورد توجه علاقه‌مندان گل در سراسر جهان است، چرا که می‌توان آن را هم به‌عنوان یک محصول تجاری و هم با اهداف نمایشگاهی پرورش داد. مارگریت‌ها در گذشته با نام علمی *Chrysanthemum maximum* عضوی از خانواده *Chrysanthemum* طبقه بندی می‌شدند اما در چند سال اخیر به جنس *Leucanthemum* منتقل شده‌اند و با نام‌های *Chrysanthemum superbum* یا *Leucanthemum maximum* شناخته می‌شوند (Gilman 1999). مارگریت اولین بار توسط یک باغدار آمریکایی به نام باربانک^۱ در سال ۱۸۹۰ کاشته شد، وی نام این گیاه را شستا نامید. شستاهای اولیه به‌دلیل داشتن رایحه بد کاربرد زینتی نداشتند. در نهایت مارگریت امروزی در نتیجه یک برنامه به‌نژادی توسط آقای باربانک تولید شد، که طی آن با تلاقی بین *Leucanthemum lacustre* (Brot.) Samp. و *Leucanthemen maximum* (Ramond) توانست گونه جدیدی ارائه دهد. تعدادی از اعضای این جنس شامل علف‌های هرز مسموم کننده هستند، اما مارگریت باقی‌مانده یک گیاه محبوب باغی است و امروزه تعداد زیادی از رقم‌های جدید از این گیاه وجود دارد.

در صنعت گلکاری همواره اشتیاق زیادی برای توسعه ارقام جدید به‌منظور جایگزینی واریته‌های قدیمی با انواع جدید وجود دارد. از آنجا که در گیاهان زینتی یک واریته نمی‌تواند برای مدت طولانی جذابیت خود را حفظ کند، تمایل به دستیابی به اشکال جدید از طریق روش‌های گوناگون ژنتیک و به‌نژادی گیاهان، از جمله جهش، همواره مطرح است (Kapoor & Kumar 2015). در گیاهان زینتی مهمی نظیر داوودی (*Chrysanthemum morifolium*)، تاکنون تعداد قابل توجهی از ارقام حاصل از جهش‌زایی به ثبت رسیده‌اند (Matsumura et al. 2010). جهش‌ها تغییرات ناگهانی ارثی هستند که ماده خام گزینش و تکامل را به‌وجود می‌آورند (Khursheed et al. 2019). این تغییرات قسمتی از پدیده‌های اساسی حیات محسوب می‌شوند و بدون وقوع جهش‌ها موجودات زنده توان سازگاری با شرایط مختلف اکولوژیکی را نداشتند. اگرچه جهش‌زایی به‌صورت خود به خود در محیط زیست رخ می‌دهد و به‌عنوان یکی از نیروهای محرک فرآیند تکامل شناخته می‌شود، اما جهش‌زایی القایی را می‌توان از طریق روش‌های آزمایشگاهی و با بهره‌گیری از عوامل جهش‌زا ایجاد کرد که این امر موجب تغییرات ژنتیکی در ژنوم موجودات زنده می‌گردد (Mistry et al. 2022). استفاده از تکنیک‌های ایجاد جهش به‌منظور افزایش تنوع ژنتیکی و با هدف ارتقاء صفات کمی و کیفی در گیاهان زراعی و زینتی مورد توجه ویژه پژوهشگران قرار گرفته است. امروزه استفاده از پرتودهی محصولات کشاورزی به‌عنوان یک روش ایمن برای ایجاد تغییرات ظاهری و جهش در اکثر کشورهای جهان متداول شده است (Fotokian et al. 2018). مطالعات

¹. barbank

انجام شده در این زمینه نشان داده‌اند که پرتوهای گاما از طریق ایجاد تغییرات ژنتیکی، بیوشیمیایی و مورفولوژیکی در سلول‌ها و بافت‌ها، بر رشد گیاهان تأثیرگذار هستند (Gunckel & Sparrow 1967)، از طرفی اکثر به‌نژادگران به‌آسانی به منابع کافی و مناسب از انواع جهش‌زاهای فیزیکی (از جمله پرتو ایکس، پرتو گاما و پرتو بتا) دسترسی ندارند، در حالی که جهش‌زاهای شیمیایی به وفور در دسترس بوده و تا حدودی تغییرات نامطلوب کمتری در مقایسه با جهش‌زاهای فیزیکی ایجاد می‌کنند. اتیل متان سولفونات (EMS) و سدیم آزاید (SA) از جهش‌زاهای شیمیایی مهم و مؤثر در به‌نژادی گیاهان زراعی معرفی شده‌اند (Minocha & Arnason 1962). در تحقیقی با هدف بررسی تأثیر EMS بر تنوع رنگ و ویژگی‌های زینتی گل داوودی "Candid"، از سه دز ۰/۷، ۱ و ۰/۵ درصد استفاده شد. نتایج نشان داد که تیمار با دز ۱ درصد منجر به افزایش قابل توجه در تنوع رنگ، بهبود ویژگی‌های رشدی و ظهور جهش‌های قابل تشخیص شد، که می‌تواند راهکار موثری در توسعه ارقام جدید و ارزشمند زینتی باشد (Din et al. 2023). در پژوهشی دیگر با هدف بررسی تأثیر پرتو دهی با اشعه گاما و کشت درون شیشه‌ای بر القای جهش در رنگ گل داوودی نتایج نشان داد که ترکیب این روش با کشت اندام گل می‌تواند رویکردی موثر برای اصلاح از طریق جهش در این گل و سایر گونه‌های زینتی فراهم کند (Kasetsart 2010). در آزمایشی کولتیوارهایی از گل مارگریت با رنگ متفاوت در اثر اعمال پرتو دهی با پرتو گاما به‌دست آمدند. سپس با استفاده از باززایی مستقیم حفظ و در نهایت قلمه‌های ریشه‌دار حاصل، در مزرعه کشت گردیدند (Mandal et al. 2000). در پژوهشی با هدف القای مقاومت به شوری در *Chrysanthemum morifolium* (ملکه پاییز)، جهش‌هایی از طریق پرتو دهی گاما (۵ گری) در کشت درون شیشه‌ای ایجاد و تأثیر تنش شوری با ارزیابی فنوتیپی و بیوشیمیایی بررسی شد (Hossain et al. 2006).

در سال ۲۰۱۰ در یک تحقیق، کالوس و جوانه‌های تشکیل شده واریته‌ای از *Chrysanthemum morifolium* در محیط کشت با پرتو گاما (۰/۵ و ۱ گری) تیمار شدند. نتایج نشان داد اندازه جوانه‌های حاصل از جهش در مقایسه با شاهد کاهش یافته و بهترین دز برای تغییر فرم گل و تعداد گل دز ۰/۵ گری بود. اگرچه اعمال این دز هیچ‌گونه جهشی در رنگ گل ایجاد نکرد ولی می‌توان تغییرات شیمیری ایجاد شده را با کشت بافت حفظ و در آزمایشات بعدی با هدف تغییر رنگ گل از آن استفاده کرد (Barakat et al. 2010). در مطالعه‌ای دیگر اثر تابش پرتو گاما در افزایش برخی از صفات اقتصادی و تغییرات مولکولی گیاه *Hibiscus sabdariffa* بررسی گردید. در این مطالعه بذره‌های این گیاه تحت پرتو گاما با دزهای (۱۰۰ تا ۷۰۰ گری) قرار گرفتند. نتایج نشان داد که دز ۶۰۰ گری بیشترین تأثیر را بر وزن تر و خشک ریشه و ساقه، محتوای آنتوسیانین و تعداد میوه در هر گیاه داشته است. بیشترین افزایش ابعاد در کاسه گل در دز ۷۰۰ گری گزارش گردید (El Sherif et al. 2011). بررسی اثر پرتو گاما (۱۰۰ تا ۴۰۰ گری) بر دو رقم گندم نشان داد که با افزایش دز پرتو دهی زمان جوانه‌زنی، طول ریشه و ساقه و وزن خشک گیاهچه کاهش یافت، اما درصد نهایی جوانه زنی تغییر معنی‌داری نداشت. بیشترین مقدار آمینواسید و کلروفیل در تیمار ۱۰۰ گری مشاهده شد. رقم شاهد (گندم روشن) نسبت به رقم جهش‌یافته T-65-58-8 از نظر محتوای پروتئین، کلروفیل و وزن خشک گیاهچه عملکرد بهتری نشان داد. نتایج حاکی از آن بود که پرتو گاما می‌تواند موجب بهبود برخی صفات فیزیولوژیکی و افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی شود.

(Borzouei et al. 2010). استفاده از جهش مصنوعی امکان دستیابی به ژنوتیپ‌های جدید با صفات مطلوبی همچون تغییر در فرم، اندازه و رنگ گل را فراهم می‌کند و تنوع فنوتیپی مورد نیاز برای ارتقای ارزش زینتی گیاهان را افزایش می‌دهد. در مورد کاربرد مواد جهش‌زای پرتوگاما، اتیل متان سولفونات و سدیم آزاید در گل مارگریت گزارش‌های زیادی وجود ندارد. لذا با توجه به اهمیت این موضوع، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی اثرات جهش‌زاهای فیزیکی و شیمیایی مذکور با دزهای متفاوت بر خصوصیات مختلف ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی گل مارگریت و مقایسه کارایی این عوامل در القای تنوع فنوتیپی در این گیاه انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

اعمال تیمار فیزیکی: در ابتدا مقداری بذر گیاه مارگریت از شرکت قره داغی قزوین تهیه و پرتوتابی بذرها با استفاده از پرتو گاما در دزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ گری به‌ترتیب با علائم G1 تا G5 با چشمه کبالت ۶۰ (Co ۶۰) در شرکت توسعه کاربرد پرتوهای ایران انجام شد. بذور تا زمان استفاده در ظرف مناسب و شرایط مطلوب نگهداری گردید.

اعمال تیمار شیمیایی: برای اعمال تیمار سدیم آزاید ابتدا محلول سدیم آزاید با غلظت ۵ میلی‌مولار (S3) تهیه گردید، از این محلول، دزهای ۱ میلی‌مولار (S2) و ۰/۵ میلی‌مولار (S1) تهیه شد. سپس مقداری از بذور خشک و سالم مارگریت خریداری شده از شرکت قره داغی قزوین، به مدت دو ساعت در آب دو بار تقطیر خیس و کاملاً شسته شدند. پس از خشک شدن مقدار مشخصی از هر بذر در هر تیمار در کیسه‌های توری قرار داده شد و به مدت ۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با دزهای مختلف سدیم آزاید از S1 تا S3 تیمار شدند. سپس بذرها سه تا ۵ مرتبه با آب مقطر شسته شده و پس از خشک شدن برای ادامه پژوهش در ظروف مناسب و شرایط مطلوب نگهداری شدند (Borkar & More 2010). برای اعمال تیمار اتیل متان سولفونات سه دز ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۷ درصد به‌ترتیب با علائم E1 تا E3 در نظر گرفته شد و تیمار بذرها نیز دقیقاً مطابق دستورالعمل تیمار سدیم آزاید صورت گرفت. لازم به ذکر است مواد جهش‌زای سدیم آزاید و اتیل متان سولفونات از کمپانی مرک تهیه شد. برای تیمار شاهد نیز مراحل شستشو بدون اعمال مواد جهش‌زا انجام شد.

شرایط کشت گلدانی: به‌منظور بررسی اثر جهش‌زاهای فیزیکی و شیمیایی بر خصوصیات ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی گل مارگاریت آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار، در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان اجرا شد. بستر کشت شامل ترکیب خاک باغچه و خاک برگ به نسبت ۷ به ۳ بود که برای بهبود زهکشی با کمی ماسه مخلوط گردید. در ابتدا بذرها در سینی نشاء کشت شدند و بعد از رسیدن به رشد ۱۰ سانتی‌متری به گلدان‌های پلاستیکی بزرگ به سایز ۳۰×۳۵ سانتی‌متر منتقل شدند. به‌منظور مشاهده هر گونه فنوتیپ تغییر یافته برای هر تیمار ۹ گلدان (سه گلدان برای یک تکرار) در نظر گرفته شد و در هر گلدان یک گیاهچه کاشته شد. گلدان‌ها در شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، شدت نور ۱۴ کیلو لوکس، رطوبت ۷۵ درصد و دمای ۲۳±۲ (روز) و ۱۶±۲ (شب) درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. آبیاری در سه ماه

نخست روزانه و سپس هر دو روز یک بار انجام شد. کودهای ریز مغذی شامل، سولو پتاس و سیکو در طول رشد رویشی و کود آهن هر ۱۴ روز یک بار با غلظت یک در هزار به صورت محلول پاشی و یا همراه با آب آبیاری به گلدان‌ها داده شد. برای کنترل آفاتی مانند شته از سم سرزان یک مرتبه و استامی پراید در سه دوره با فاصله ۴ روز استفاده شد.

نمونه‌برداری و اندازه‌گیری صفات: چهار ماه پس از کاشت، صفات ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)، قطر بوته (سانتی‌متر)، سطح پوشش گیاه (سانتی‌متر مربع)، تعداد برگ، تعداد شاخه فرعی، طول و عرض برگ (سانتی‌متر)، مساحت برگ (سانتی‌متر مربع)، طول دمبرگ (سانتی‌متر)، طول ریشه (سانتی‌متر)، وزن تر و خشک ریشه (گرم)، وزن تر و خشک ساقه (گرم)، غلظت پروتئین، محتوای آنتوسیانین، میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی و فلاوونوئیدها ارزیابی شدند.

صفات ریخت‌شناسی: اندازه‌گیری صفات ریخت‌شناسی برای هر تیمار در ۹ گلدان (سه گلدان برای هر تکرار) صورت گرفت. برای اندازه‌گیری ارتفاع گیاه از یقه تا انتهای بالاترین برگ بوته در گلدان با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد و بر حسب سانتی‌متر گزارش شد. برای اندازه‌گیری قطر بوته در گیاه مارگریت، بوته گل به صورت دایره‌ای فرض شد و قطر آن به وسیله خط‌کش اندازه‌گیری و بر حسب سانتی‌متر گزارش شد. به منظور ارزیابی سطح پوششی گیاه، این صفت به صورت یک دایره در نظر گرفته شد و پس از اندازه‌گیری شعاع، مساحت دایره با استفاده از فرمول πr^2 بر حسب سانتی‌متر مربع به دست آمد. تعداد برگ‌ها در گلدان‌های گلخانه با دقت شمرده و گزارش شد. بوته گل مارگریت در حین رشد رویشی خود منشعب می‌شود که تعداد این انشعابات به عنوان تعداد شاخه فرعی در این گیاه گزارش شد. برای اندازه‌گیری طول و عرض برگ، سه عدد از برگ‌های هر گیاه به صورت تصادفی انتخاب شد و سپس اندازه‌گیری طول و عرض برگ به وسیله خط‌کش انجام و بر حسب سانتی‌متر گزارش شد. میانگین حاصلضرب طول در عرض برگ برای سه برگ به عنوان مساحت برگ بر حسب سانتی‌متر مربع گزارش شد. برای سنجش طول دمبرگ، سه برگ از هر گیاه به طور تصادفی انتخاب و طول از ابتدای دمبرگ تا ابتدای برگ با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری و میانگین آن به عنوان طول نهایی گزارش گردید. اندازه‌گیری طول ریشه پس از خروج دقیق گیاهان از گلدان و شست و شوی کامل ریشه‌ها با آب انجام گرفت. فاصله بین یقه تا انتهای ریشه با خط‌کش تعیین شد. به منظور اندازه‌گیری وزن تر ساقه و ریشه، این بخش‌ها پس از جداسازی با ترازوی دقیق توزین گردیدند. سپس نمونه‌ها در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در آون خشک و وزن خشک آن‌ها بر حسب گرم ثبت شد.

سنجش پارامترهای بیوشیمیایی: مطالعات بیوشیمیایی بر روی برگ‌های حاصل از کشت گلدانی انجام گرفت به این صورت که برای انجام هر سنجش از نمونه‌های موجود در گلخانه برگ‌های تازه تهیه شده و با آب مقطر شسته و خشک شدند و برای انجام آنالیزهای بیوشیمیایی عصاره‌گیری شدند.

محتوای پروتئین محلول: مقدار پروتئین محلول به روش Bradford (1976) تعیین شد (Bradford 1976). بدین منظور

یک میلی‌لیتر از معرف برادفورد به همراه ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی مخلوط و پس از اختلاط کامل جذب آن در طول موج ۵۹۵

نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت گردید. غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین گاوی بر حسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه محاسبه گردید.

محتوای آنتوسیانین: میزان آنتوسیانین براساس روش Krizek et al. (۱۹۹۸) اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۰/۲

گرم از بافت برگ در ۳ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول و اسید کلریدریک به نسبت ۹۹ به ۱) کاملاً سائیده شد. سپس عصاره حاصل سانتریفیوژ و محلول روئی به مدت یک شب در تاریکی قرار داده شد. میزان جذب آن در ۵۵۰ نانومتر بر حسب میکرومول به سانتی‌متر قرائت گردید.

سنجش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی: به منظور تعیین محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها، ابتدا ۰/۳ گرم بافت تازه

برگ با استفاده از ترازو وزن شد و سپس در هاون حاوی استن ۸۰ درصد سائیده گردید. عصاره گیاهی پس از صاف شدن به وسیله کاغذ واتمن با استفاده از استن به حجم ۱۵ سی‌سی رسانده شد. جذب محلول در طول موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ (به ترتیب برای کلروفیل a و b) و ۴۷۰ (برای کاروتنوئید) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV Visible مدل Array S2100 Diod) قرائت شد (Lichtenthaler 1987). از استن ۸۰ درصد به عنوان بلنک دستگاه استفاده شد. سپس غلظت این رنگیزه‌ها با استفاده از روابط ۱ تا ۴ محاسبه گردید.

$$\text{Chlorophyll a (mg/gr)} = [(12.5 A_{663.2} - 2.79 A_{646.8}) V/W] \quad \text{رابطه ۱}$$

$$\text{Chlorophyll b (mg/gr)} = [(21.51 A_{646.8} - 5.1 A_{663.2}) V/W] \quad \text{رابطه ۲}$$

$$\text{Total Chlorophyll (mg/gr)} = [(Chl. a + Chl. b) V/W] \quad \text{رابطه ۳}$$

$$\text{Carotenoid (mg/gr)} = [(1000A_{470} - 1.8Chl. a - 85.02 Chl. b)/198] V/W \quad \text{رابطه ۴}$$

که در این روابط:

Chl.a = غلظت کلروفیل a، Chl.b = غلظت کلروفیل b، A = جذب در طول موج‌های خاص، V = حجم نهایی عصاره کلروفیل در استن ۸۰ درصد و W = وزن تازه بافت استخراج شده می‌باشد.

محتوای فلاونوئیدها: میزان ۰/۲ گرم از برگ گیاه را در ۳ میلی‌لیتر اتانول اسیدی (اتانول و اسید کلریدریک به نسبت

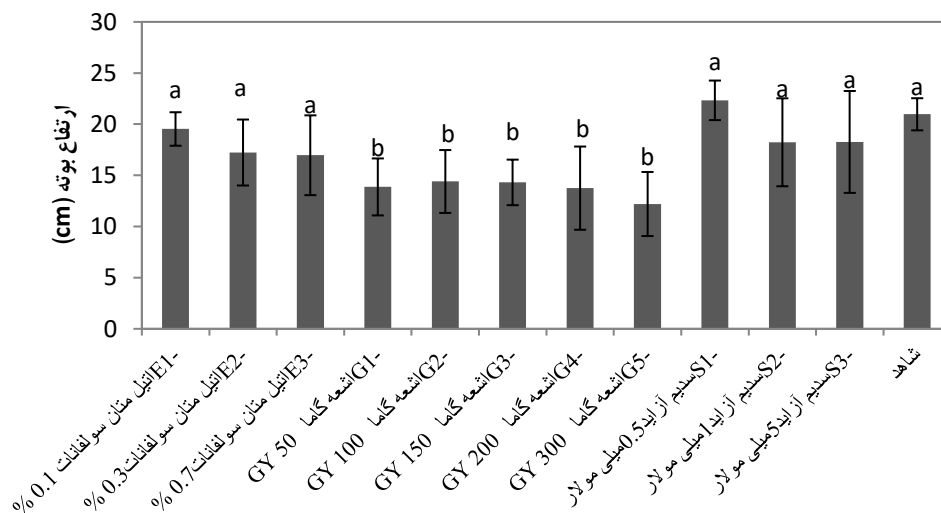
به ۱) سائیده و سپس عصاره حاصل به مدت ده دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. محلول رویی جدا شده و به مدت ۱۰ دقیقه ۹۹ به آرامی در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد در حمام آب گرم حرارت داده شد. سپس میزان جذب آن توسط اسپکتروفتومتر در سه طول موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر خوانده شد. از اتانول اسیدی به عنوان بلنک دستگاه استفاده شد (Krizek et al. 1998).

تجزیه و تحلیل آماری: به منظور ارزیابی اثرات تیمارها بر صفات اندازه گیری شده، مقایسه میانگین داده ها به روش آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد برای صفات معنی دار شده در تجزیه واریانس صورت پذیرفت. از نرم افزار SPSS برای انجام آنالیزها براساس میانگین داده های اندازه گیری شده برای هر صفت و از نرم افزار Excel برای رسم نمودارها با توجه به میانگین و خطای معیار هر صفت استفاده شد.

نتایج و بحث

ارتفاع بوته: بررسی تغییرات ارتفاع بوته مارگریت در شرایط گلخانه، نشان داد که تیمار با پرتو گاما در مقایسه با سایر تیمارها و شاهد کاهش معنی داری در ارتفاع بوته ایجاد کرد. در حالی که سایر تیمارها تفاوت معنی داری نسبت به گیاهان شاهد نشان ندادند (شکل های ۱ و ۲). در یک تحقیق در سال ۲۰۱۵ نیز گزارش شد که با اعمال پرتو گاما ارتفاع بوته نسبت به شاهد کاهش پیدا می کند (Kapoor & Kumar 2015).

قطر بوته: براساس اندازه گیری قطر گیاهان گلدانی و تحلیل آماری نتایج، تیمارهای G2، G3، G4، G5، S2 و S3 موجب کاهش معنی دار قطر بوته در مقایسه با شاهد شدند، در حالی که سایر تیمارها تفاوت معنی داری با گیاه شاهد نشان ندادند (شکل ۳).



شکل ۱. اثر اعمال تیمارهای اتیل متان سولفات، سدیم آزاید و پرتو گاما در دزهای مختلف بر ارتفاع بوته

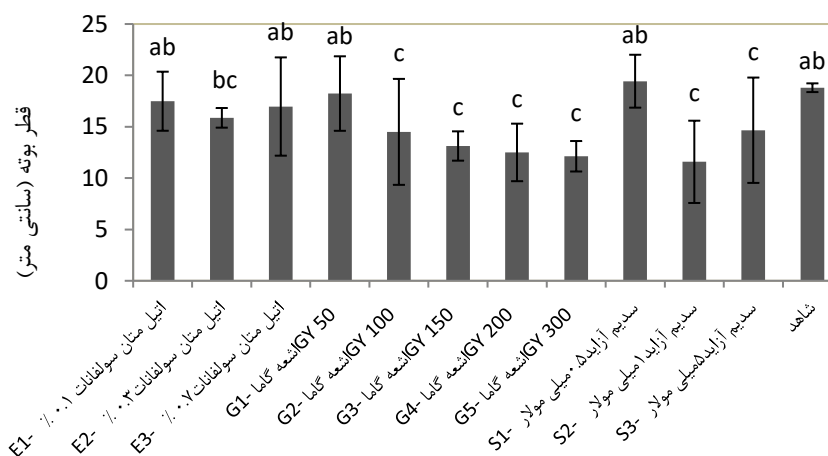
گل مارگریت

Figure 1. The effect of applying ethyl methyl sulfonate, sodium azide, and gamma radiation treatments at different doses on the height of Marguerite flower.



شکل ۲. اثر تیمارهای جهش‌زای فیزیکی و شیمیایی بر ارتفاع بوته مارگریت. a: گیاهان شاهد b: گیاهان شاهد با تیمار پرتو گاما در دز ۳۰۰ گری c: گیاهان تیمار شده با اتیل متان سولفونات ۰/۷ درصد d: گیاهان تیمار شده با سدیم آزاید ۵ میلی‌مولار

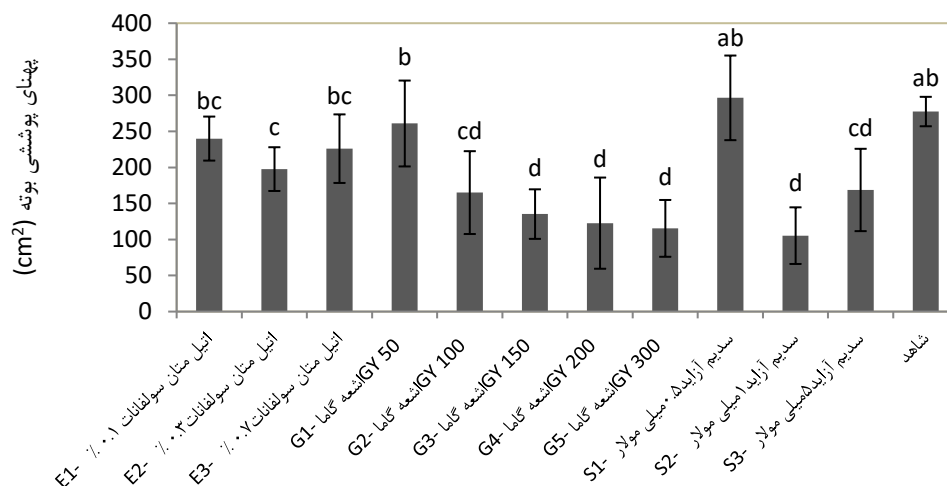
Figure 2. Effect of physical and chemical mutagenic treatments on the plant height of Marguerite plants. a: control plants b: plants treated with gamma radiation at a dose of 300 Gy c: plants treated with 0.7% EMS d: plants treated with 5 mM sodium azide



شکل ۳. اثر اعمال تیمارهای اتیل متان سولفونات، سدیم آزاید و پرتو گاما در دزهای مختلف بر قطر بوته گل مارگریت

Figure 3. The effect of applying EMS, SA and gamma radiation treatments at different doses on the plant diameter of Marguerite flower

پهنای پوششی بوته: همانطور که در شکل‌های ۴ و ۵ مشاهده می‌شود اعمال تیمارهای E1، E2، E3 و G1 و S1 اثر معنی‌داری بر پهنای پوششی گیاه نداشتند. در مقابل تیمارهای S2، S3، G2، G3، G4 و G5 موجب کاهش معنی‌دار پهنای پوششی در مقایسه با گیاهان شاهد اما بین این تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.



شکل ۴. اثر اعمال تیمارهای اتیل متان سولفونات، سدیم آزاید و پرتو گاما در دزهای مختلف بر پهنای

پوششی گل مارگریت

Figure 4. Effect of applying EMS, SA and gamma ray treatments at different doses on the cover area of the Marguerite flower



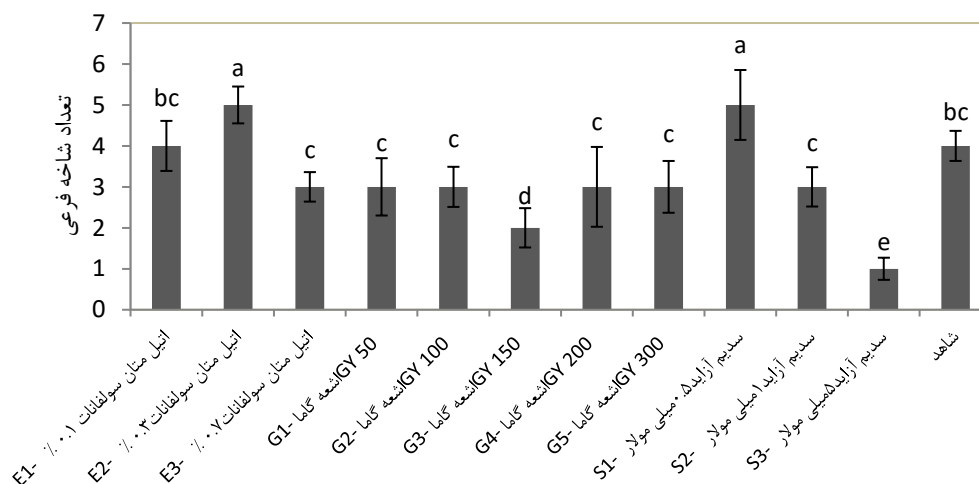
شکل ۵. اثر تیمارهای جهش‌زای فیزیکی و شیمیایی بر پهنای پوششی گل مارگریت a: گیاهان شاهد b:

گیاهان تیمار شده با اتیل متان سولفونات ۰/۱ درصد، c: گیاهان تیمار شده با سدیم آزاید ۰/۵ میلی مولار d:

گیاهان تیمار شده با پرتو گاما با دز ۲۰۰ گری e: گیاهان تیمار شده با سدیم آزاید ۱ میلی مولار

Figure 5. Effect of physical and chemical mutagenic treatments on the cover area of Marguerite flower a: Control plants b: Plants treated with 0.1% EMS c: Plants treated with 0.5 mM SA d: Plants treated with gamma radiation at a dose of 200 Gy e: Plants treated with 1 mM SA

تعداد شاخه فرعی: تعداد شاخه فرعی یکی از شاخص‌های مهم در تعیین فرم و تنوع ظاهری گیاهان زینتی است که مستقیماً بر جلوه بصری و ارزش تزئینی آن‌ها اثر می‌گذارد. نتایج نشان داد که تیمارهای سدیم آزاید ۵ میلی‌مولار (S3) و اشعه گاما با دز ۱۵۰ گری (G3) باعث کاهش معنی‌دار تعداد شاخه فرعی نسبت به گیاهان شاهد شدند که در این میان تیمار S3 اثر کاهشی بیشتری نشان داد. همچنین تیمارهای سدیم آزاید ۵/۰ میلی‌مولار و EMS ۳/۰ درصد باعث افزایش معنی‌دار در تعداد شاخه فرعی نسبت به گیاهان شاهد شدند. سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری با گیاهان شاهد نشان ندادند (شکل ۶).



شکل ۶. اثر اعمال تیمارهای اتیل متان سولفونات، سدیم آزاید و پرتو گاما در دزهای مختلف بر تعداد شاخه

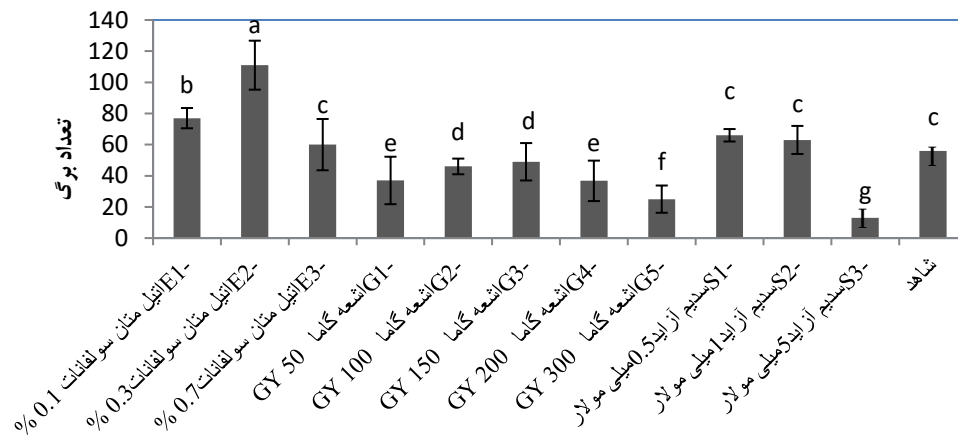
فرعی گل مارگریت

Figure 6. Effect of applying EMS, SA, and gamma radiation treatments at different doses on the number of lateral branches of Marguerite flower

تیمارهای اتیل متان سولفونات ۳/۰ درصد و سدیم آزاید ۵/۰ میلی‌مولار با ایجاد تغییرات افزایشی و سدیم آزاید ۵ میلی‌مولار با تغییرات کاهشی در تعداد شاخه فرعی، به شرط تثبیت تغییرات در نسل‌های بعدی می‌توانند به‌ترتیب در تولید ارقام پرپشت و متراکم برای کشت گلدانی و ارقام مناسب جهت گل شاخه بریده مفید و قابل بهره‌برداری در برنامه‌های به‌نژادی گل مارگریت باشند.

تعداد برگ: بین تیمارهای مورد مطالعه، اعمال پرتو گاما به‌طور معنی‌داری باعث کاهش تعداد برگ نسبت به گیاهان شاهد شد. در بین دزهای مختلف این تیمار نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده شد، به‌طوری‌که دز ۳۰۰ گری (G5) اثر کاهشی بیشتری داشت و پس از آن به‌ترتیب دزهای G1 و G4 اثر مشابهی در کاهش تعداد برگ داشتند. در بین تیمارهای اتیل متان سولفونات و سدیم آزاید، تیمار اتیل متان سولفونات ۳/۰ درصد بیشترین اثر افزایشی و تیمار سدیم آزاید ۵ میلی‌مولار (S3) کمترین اثر افزایشی معنی‌دار را در تعداد برگ‌ها داشتند. تیمار اتیل متان سولفونات ۷/۰ درصد (E3) اختلاف معنی‌داری با گیاهان شاهد و S1 و S2 نشان نداد.

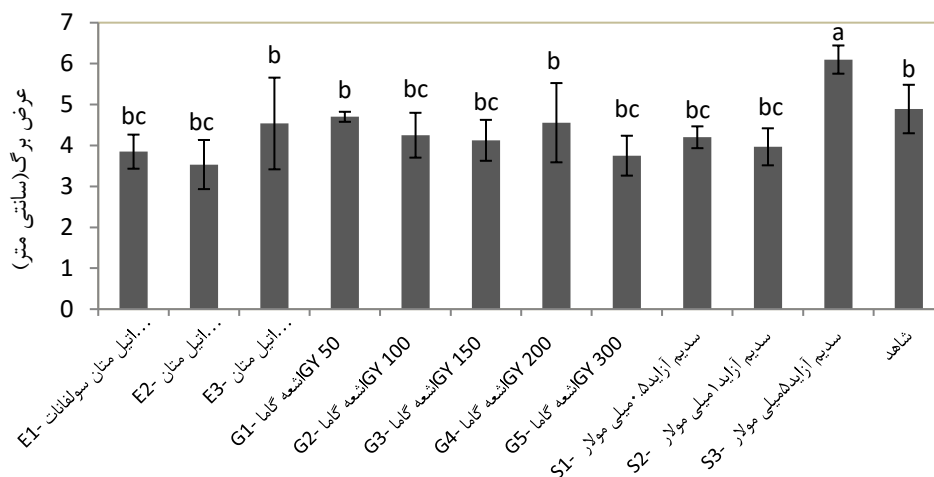
(شکل ۷). در تمام تیمارها با افزایش دز، تعداد برگ کاهش یافت. این کاهش می‌تواند بیانگر کاهش تقسیم سلولی با افزایش دز مورد مطالعه باشد. به‌نژادی به‌روش جهش‌زایی در گیاهان زینتی مانند لیلیوم، بنفشه آفریقایی و داوودی موجب تغییراتی در ویژگی‌های برگ، از جمله شکل، اندازه، تعداد و رنگ آن‌ها شده است (Xi et al. 2012; Sharifi et al. 2024).



شکل ۷. اثر تیمارهای اتیل متان سولفونات، سدیم آزاید و پرتو گاما در دزهای مختلف بر تعداد برگ گل مارگریت

Figure 7. Effect of EMS, SA, and gamma ray treatments at different doses on the number of leaves of Marguerite flowers

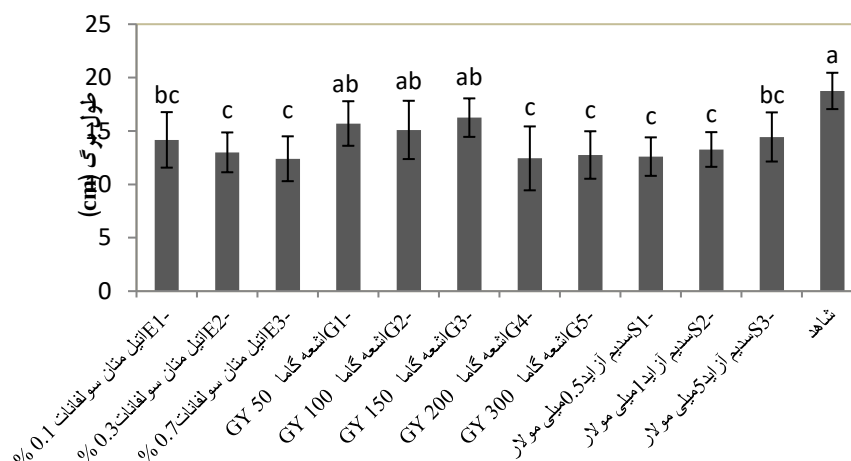
عرض برگ: نتایج مقایسه میانگین تیمارها نشان داد جز تیمار سدیم آزاید ۵ میلی‌مولار (S3) که اثر افزایشی معنی‌داری در مقایسه با گیاه شاهد دارد، سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری با گیاه شاهد نداشتند (شکل ۸).



شکل ۸. تاثیر تیمارهای اتیل متان سولفونات، سدیم آزاید و پرتو گاما در دزهای مختلف بر عرض برگ گل مارگریت

Figure 8. Effect of EMS, SA, and gamma ray treatments at different doses on the leaf width of Marguerite flowers

طول برگ: تیمارهای شیمیایی اتیل متان سولفونات و سدیم آزاید به‌طور معنی‌داری باعث کاهش طول برگ نسبت به گیاهان شاهد شدند و تاثیر مشابهی بر روی طول برگ داشتند. در بین دزهای اشعه گاما (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ گری) تنها دزهای ۲۰۰ و ۳۰۰ گری کاهش معنی‌دار بر طول برگ در مقایسه با گیاهان شاهد نشان دادند (شکل ۹).

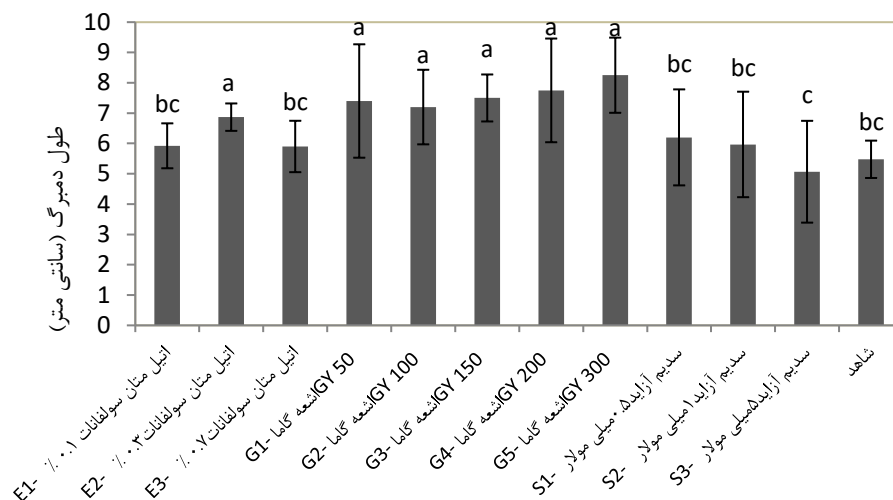


شکل ۹. تاثیر تیمارهای اتیل متان سولفونات، سدیم آزاید و پرتو گاما در دزهای مختلف بر صفت طول برگ در گل مارگریت

Figure 9. Effect of EMS, SA, and gamma ray treatments at different doses on the leaf length of Marguerite flowers

طول دمبرگ: نتایج حاصل از اندازه‌گیری طول دمبرگ نشان داد که دزهای مختلف پرتو گاما با اختلاف معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد باعث افزایش طول دمبرگ شدند ولی در بین دزهای مختلف آن اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بین تیمارهای اتیل متان سولفونات فقط تیمار E2 اثر مشابه با پرتو گاما داشت و باعث افزایش طول دمبرگ شد و اعمال سایر دزها تفاوت معنی‌داری با گیاه شاهد نشان ندادند. تفاوت آماری معنی‌داری بین تیمارهای سدیم آزاید و گیاه شاهد مشاهده نشد (شکل‌های ۱۰ و ۱۱).

طول ریشه: بر اساس نتایج ارائه شده در شکل‌های ۱۲ و ۱۳ اعمال تیمار EMS ۰/۱ درصد (E1) موجب افزایش معنی‌دار طول ریشه نسبت به گیاه شاهد گردید. در مقابل اعمال تیمارهای E2، E3، S1 تا S3 و G3 تا G5 کاهش معنی‌داری در طول ریشه نسبت به گیاهان شاهد نشان دادند. تیمار S3 بیش‌ترین اثر کاهشی معنی‌دار را بر طول ریشه گیاهان گلدانی داشت. علاوه بر این تیمارهای E2، G3 و S2 نیز اثرات کاهشی یکسانی بر طول ریشه نشان دادند. افزایش طول ریشه ناشی از کاربرد EMS ۰/۱ درصد می‌تواند نقش مهمی در بهبود جذب آب و عناصر غذایی، استقرار بهتر گیاه و افزایش تحمل مارگریت نسبت به تنش‌های محیطی ایفا کند.



شکل ۱۰. تاثیر تیمارهای اتیل متان سولفونات، سدیم آزاید و پرتو گاما در دزهای مختلف بر طول دمبرگ گل

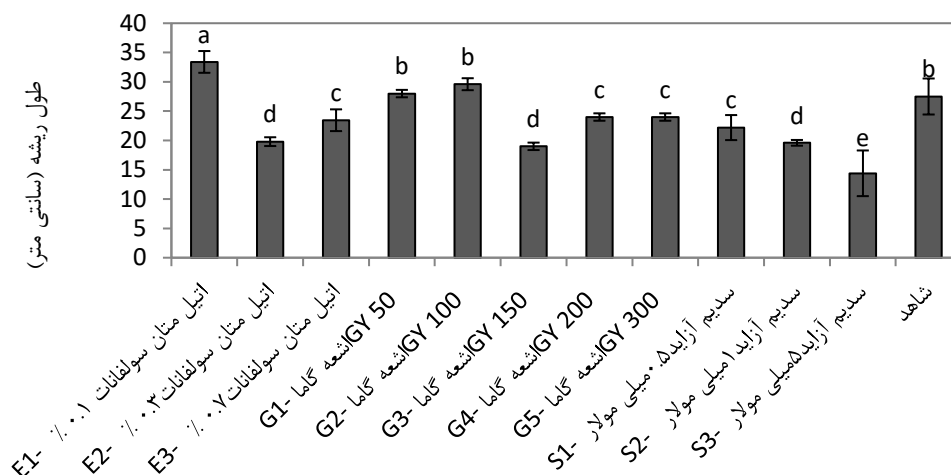
مارگریت

Figure 10. Effect of EMS, SA, and gamma ray treatments at different doses on the petiole length of Marguerite flowers



شکل ۱۱. مقایسه اعمال تیمارهای جهش‌زای فیزیکی و شیمیایی بر طول دمبرگ گل مارگریت. a: گیاهان شاهد b: گیاهان تیمار شده با اتیل متان سولفونات ۰.۷ درصد c: گیاهان تیمار شده با پرتو گاما (۳۰۰ گری) d: گیاهان تیمار شده با سدیم آزاید ۵ میلی مولار

Figure 11. Effect of physical and chemical mutagenic treatments on the leaf petiole of Marguerite flower. a: Control plants b: Plants treated with 0.7% EMS c: Plants treated with gamma radiation (300 Gy) d: Plants treated with 5 mM SA



شکل ۱۲. اثر اعمال تیمارهای اتیل متان سولفونات، سدیم آزاید و پرتو گاما در دزهای مختلف بر طول ریشه گل مارگریت

Figure 12. Effect of applying EMS, SA, and gamma radiation treatments at different doses on the root length of Marguerite flower



شکل ۱۳. مقایسه اعمال تیمارهای جهش‌زای فیزیکی و شیمیایی بر طول ریشه گل مارگریت. a: گیاهان

شاهد b: گیاهان تیمار شده با پرتو گاما در دز ۳۰۰ گری c: گیاهان تیمار شده با اتیل متان سولفونات ۰/۳

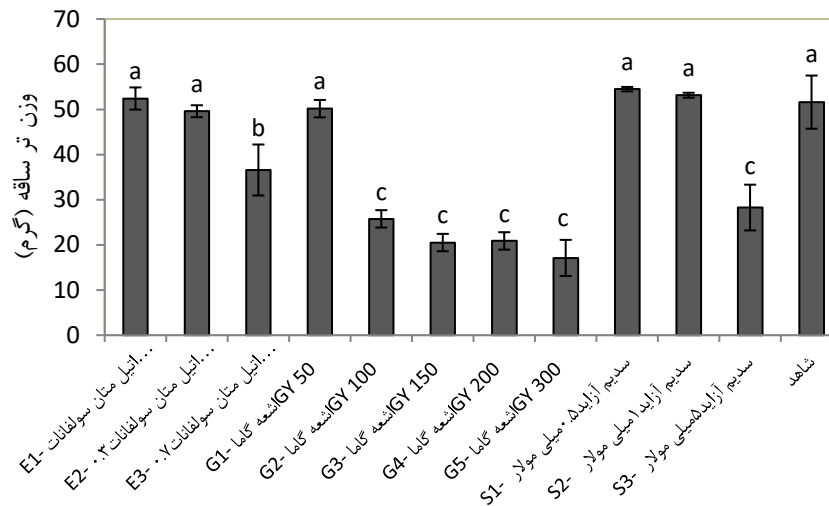
درصد d: گیاهان تیمار شده با سدیم آزاید ۵ میلی مولار

Figure 13. Comparison of physical and chemical mutagenic treatments on root length Marguerite flower. a: Control plants b: Plants treated with gamma radiation (300 Gy) c: Plants treated with 0.3% EMS d: Plants treated with SA at 5 Mm

وزن تر و خشک ساقه: گیاهان تیمار شده از نظر وزن تر ساقه در سه گروه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که اعمال

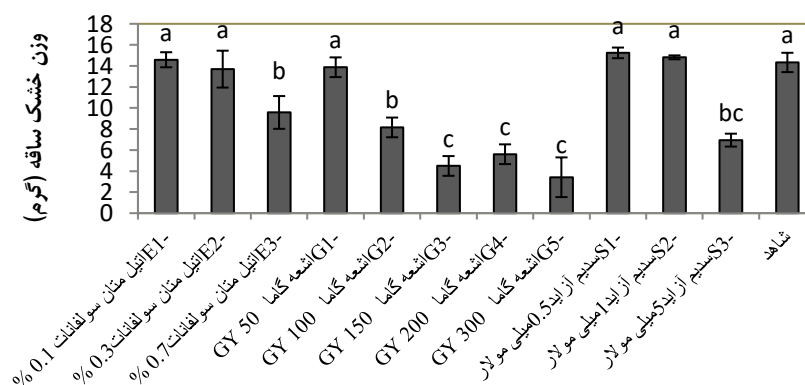
تیمارهای پرتو گاما با دزهای مختلف، به جز تیمار G1 موجب کاهش معنی‌دار وزن تر ساقه گیاه مارگریت در مقایسه با شاهد گردید.

در بین تیمارهای EMS تنها تیمار E3 باعث کاهش معنی‌دار وزن تر گیاه شد و سایر دزها تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. در بین تیمارهای سدیم آزاید، نیز تنها تیمار S3 به‌طور معنی‌داری باعث کاهش وزن تر بوته نسبت به شاهد شد و تغییراتی مشابه با اعمال دزهای اشعه گاما ایجاد نمود. نتایج مربوط به وزن خشک ساقه نیز روندی مشابه با وزن تر ساقه نشان دادند (شکل‌های ۱۴ و ۱۵).



شکل ۱۴. اثر اعمال تیمارهای اتیل متان سولفونات، سدیم آزاید و پرتو گاما در دزهای مختلف بر وزن تر ساقه در گل مارگریت

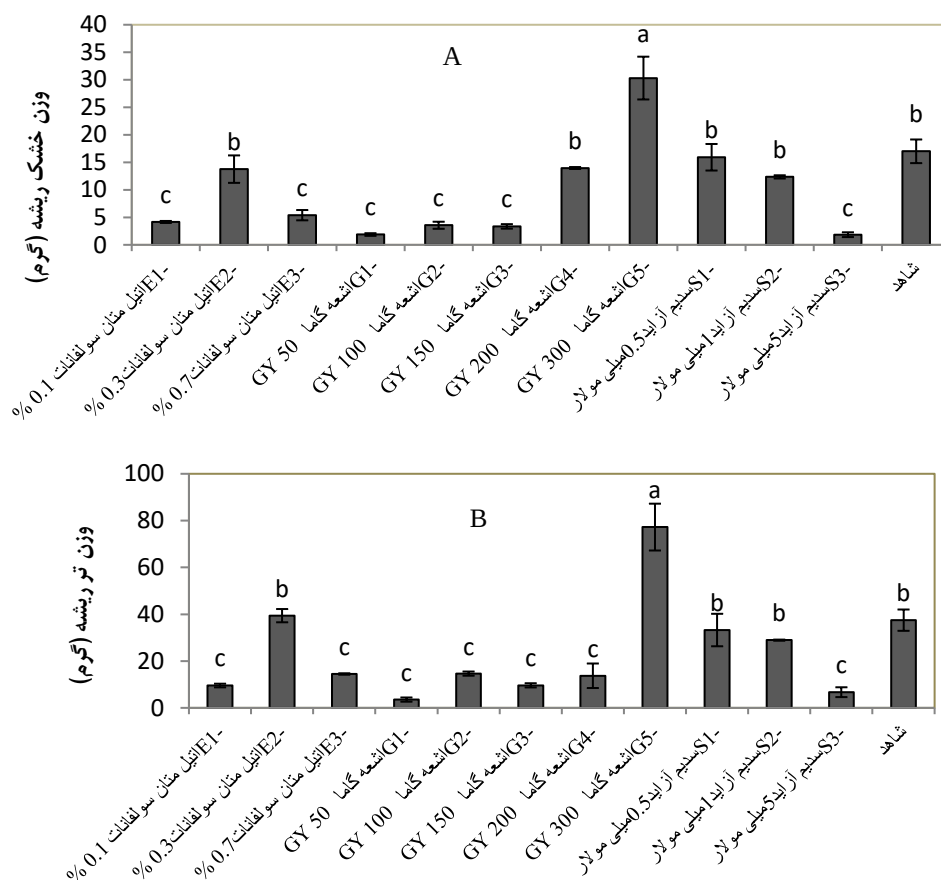
Figure 14. Effect of applying EMS, SA, and gamma radiation treatments at different doses on stem fresh weight of Marguerite flower



شکل ۱۵. اثر تیمارهای اتیل متان سولفونات، سدیم آزاید و پرتو گاما در دزهای مختلف بر وزن خشک ساقه در گل مارگریت

Figure 15. Effect of applying EMS, SA, and gamma radiation treatments at different doses on stem dry weight of Marguerite flower

وزن تر و خشک ریشه: نتایج مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که تیمارهای سدیم آزاید ۵ میلی‌مولار، پرتو گاما با دزهای ۵۰ تا ۲۰۰ گری و EMS ۰/۱ و ۰/۷ درصد باعث کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک ساقه در مقایسه با گیاهان شاهد شدند. تنها اشعه گاما با دز ۳۰۰ گری افزایش قابل توجهی در وزن تر و خشک ریشه نشان داد و بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری با گیاهان شاهد نشان ندادند (شکل ۱۶ A و B). اگرچه تیمار EMS ۰/۱ درصد باعث افزایش طول ریشه شده است، اما به‌طور هم‌زمان باعث کاهش وزن تر و خشک ریشه نیز شده که می‌تواند نشان‌دهنده افزایش طول سلول بدون تحریک تقسیم سلولی باشد. در مقابل پرتو گاما با دز ۳۰۰ گری موجب افزایش وزن تر و خشک ریشه شده که می‌تواند نتیجه افزایش فعالیت تقسیم سلولی باشد. این موضوع اهمیت نوع عامل جهش‌زا برای ایجاد تغییرات ریشه در گیاه مارگریت را نشان می‌دهد.

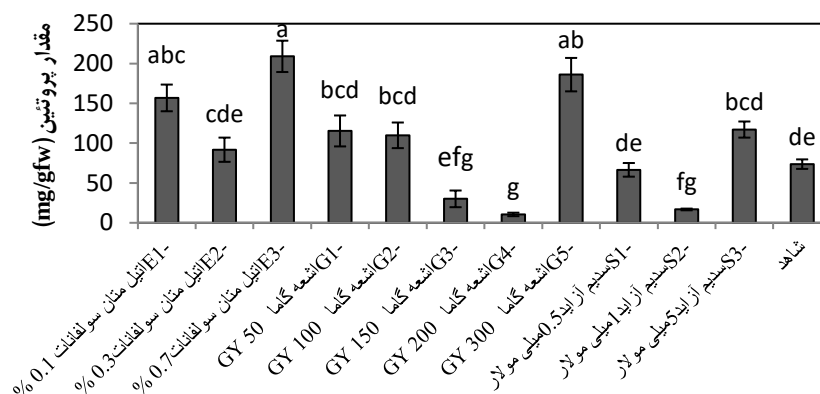


شکل ۱۶. تاثیر تیمارهای اتیل متان سولفونات، سدیم آزاید و پرتو گاما در دزهای مختلف بر وزن خشک

ریشه (A) و وزن تر ریشه (B) گل مارگریت

Figure 16. Effect of applying EMS, SA, and gamma radiation treatments at different doses on root dry weight (A) and root fresh weight (B) of Marguerite flower

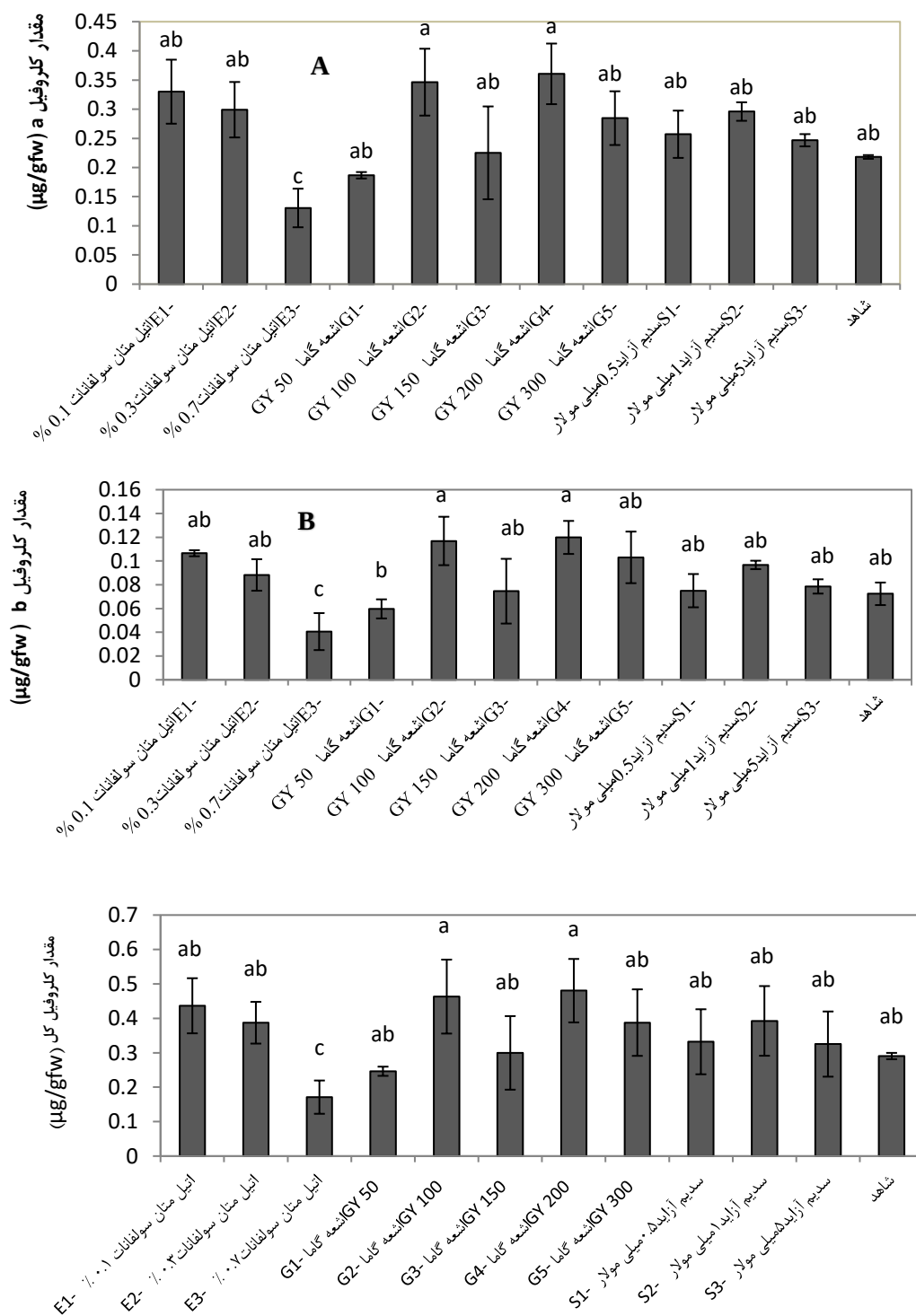
میزان پروتئین: تغییرات در میزان پروتئین با اعمال مواد جهش‌زای فیزیکی و شیمیایی دامنه تنوع بالایی داشت. تیمارهای E1 و G5، E3 به ترتیب باعث افزایش میزان پروتئین نسبت به گیاهان شاهد شدند. در ارتباط با اعمال تیمارهای اشعه گاما دزهای ۵۰ و ۱۰۰ گری تفاوت معنی‌داری با گیاهان شاهد نداشتند با افزایش دز از ۱۰۰ به ۱۵۰ و سپس ۲۰۰ گری میزان پروتئین نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد و با رسیدن به ۳۰۰ گری به یک باره میزان پروتئین افزایش قابل توجهی یافت که می‌تواند نشان‌دهنده بهبود وضعیت فیزیولوژیکی و در نهایت ارتقا کیفیت و ماندگاری گل باشد. در بین دزهای سدیم آزاید تیمار ۱ میلی‌مولار باعث کاهش معنی‌دار پروتئین نسبت به گیاهان شاهد شد که می‌تواند بیانگر اختلال در فرآیند متابولیسم سلول‌ها و کاهش توانایی گیاه در مقابل تنش‌های محیطی باشد. سایر تیمارها تغییر معنی‌داری در میزان پروتئین برگ نسبت به گیاهان شاهد ایجاد نکردند (شکل ۱۷).



شکل ۱۷. تاثیر تیمارهای اتیل متان سولفونات، سدیم آزاید و پرتو گاما در دزهای مختلف بر میزان پروتئین موجود در برگ گل مارگریت

Figure 17. Effect of applying EMS, SA, and gamma radiation treatments at different doses on leaf protein content of Marguerite flower

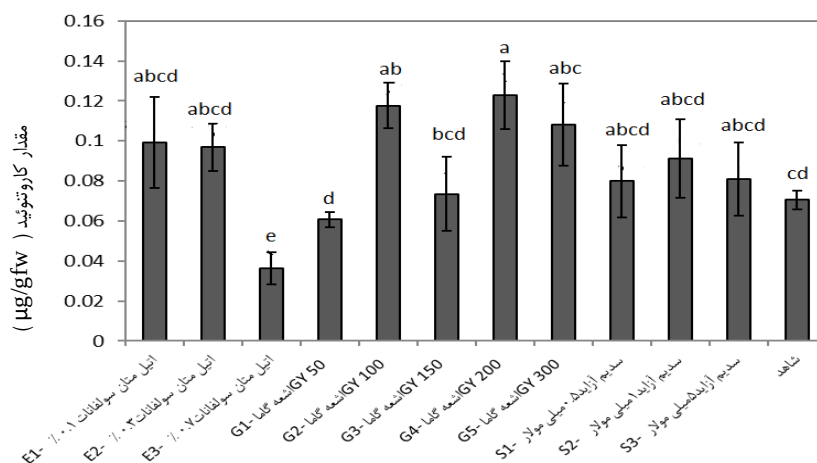
محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل: نتایج نشان داد میزان تغییرات در محتوای رنگرزه‌های فتوسنتزی در هر یک از تیمارهای EMS، SA و اشعه گاما به‌طور جداگانه تقریباً یکسان بود. تیمارهای EMS ۰/۱ و ۰/۳ درصد تفاوت معنی‌داری در محتوای کلروفیل a، b و کل در مقایسه با شاهد ایجاد نکردند اما EMS ۰/۷ درصد باعث کاهش معنی‌دار این صفات در مقایسه با شاهد گردید. این دز با ایجاد جهش در ژن‌های مؤثر بر ساخت یا پایداری کلروفیل، احتمالاً می‌تواند روند تولید آن را مختل کرده و با کاهش توان فتوسنتزی، منجر به کاهش رشد گیاه شود (Hasbullah et al. 2012)؛ چنان‌که نتایج همین آزمایش نشان داد وزن تر و خشک ساقه و ریشه در این دز کاهش یافته است. اعمال دزهای مختلف پرتو گاما تفاوت معنی‌داری در محتوای کلروفیل a، b و کل نسبت به شاهد ایجاد نکرد. با اعمال تیمار سدیم آزاید نیز تغییرات معنی‌داری در محتوای کلروفیل a، b و کل در مقایسه با شاهد مشاهده نگردید (شکل ۱۸ A, B, C).



شکل ۱۸. تاثیر تیمارهای اتیل متان سولفونات، سدیم آزاید و پرتو گاما در دزهای مختلف بر محتوای کلروفیل (A) a، (B) b و کل (C) در گل مارگریت

Figure 18. Effect of applying EMS, SA, and gamma radiation treatments at different doses on the chlorophyll a (A), chlorophyll b (B) and total chlorophyll (c) content of Marguerite flower

میزان کاروتنوئید: کاروتنوئیدها به عنوان رنگدانه کمکی نقش آنتی اکسیدانی قوی در حفظ دستگاه فتوسنتزی در برابر تجمع اکسیژن فعال دارند. بررسی میزان کاروتنوئید برگ‌ها نشان داد (شکل ۱۹) که جهش‌زای سدیم آزاید تفاوت معنی‌داری در محتوای کاروتنوئید نسبت به گیاهان شاهد ایجاد نکرد. تنها EMS ۰/۷ درصد باعث کاهش معنی‌دار محتوای کاروتنوئید شد. در بین دزهای پرتو گاما، دزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ گری باعث افزایش معنی‌دار محتوای کاروتنوئید در مقایسه با گیاهان شاهد گردیدند. در تحقیقی کاربرد پرتو گاما روی زنبق باعث افزایش میزان کاروتنوئیدها شده بود (Jazghasemi & Rabiei 2019).

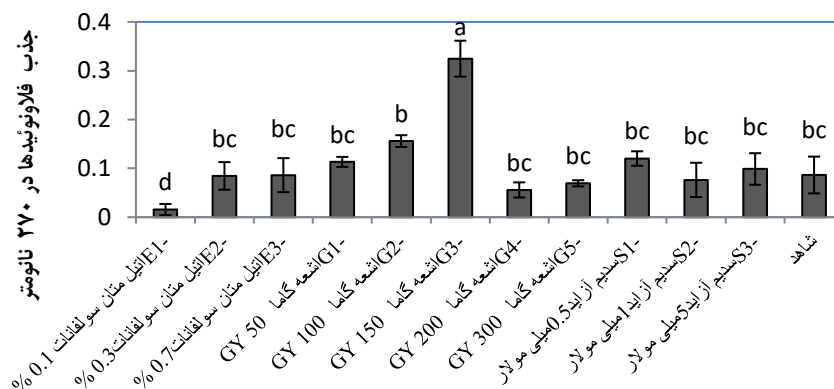


شکل ۱۹. تاثیر تیمارهای اتیل متان سولفونات، سدیم آزاید و پرتو گاما در دزهای مختلف، بر محتوای کاروتنوئید گل مارگریت

Figure 19. Effect of applying EMS, SA, and gamma radiation treatments at different doses on carotenoid content of Marguerite flower

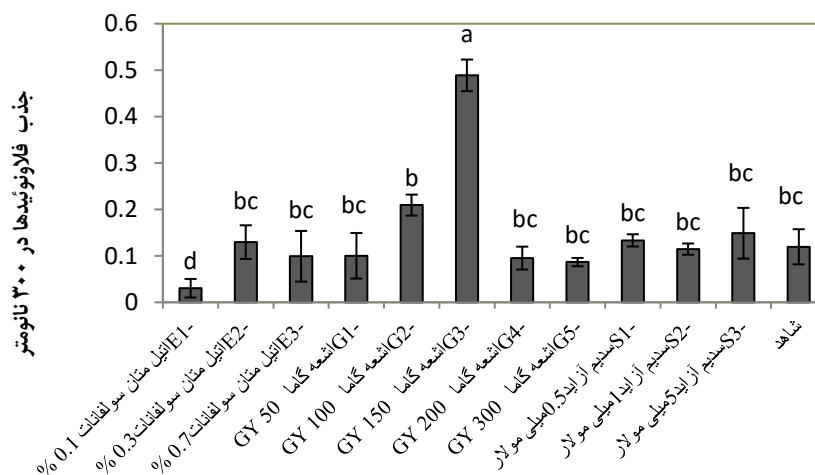
میزان فلاونوئید: فلاونوئیدها از جمله مهم‌ترین ترکیبات فنولی ثانویه در گیاهان زینتی هستند که علاوه بر ایفای نقش در مقاومت به تنش‌های محیطی می‌توانند بر کیفیت ظاهری و طول عمر پس از برداشت تاثیرگذار باشند. نمودار حاصل از میزان جذب فلاونوئید در طول موج ۲۷۰ نانومتر نشان می‌دهد (شکل ۲۰) که تیمار پرتو گاما با دز ۱۵۰ گری (G3) با اختلاف معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد باعث افزایش محتوای فلاونوئید در طول موج ۲۷۰ نانومتر شده و تیمار EMS ۰/۱ درصد (E1) به‌طور معنی‌داری محتوای فلاونوئید را کاهش داد که این میزان کاهش نسبت به شاهد معنی‌دار بود. این تفاوت در پاسخ گیاه به تیمارها ممکن است ناشی از تفاوت در شدت تنش و نوع مکانیسم اثر هر جهش‌زا باشد، به‌گونه‌ای که پرتو گاما در دز ۱۵۰ گری با القای تنش اکسیداتیو کنترل‌شده موجب فعال‌سازی مسیرهای دفاعی و افزایش سنتر فلاونوئید شده است، در حالی که EMS در دز ۰/۱ درصد احتمالاً با ایجاد آسیب مستقیم به ژن‌ها یا آنزیم‌های کلیدی مسیر بیوسنتز، منجر به کاهش محتوای فلاونوئید گردیده است. سایر تیمارها در محتوای فلاونوئید اختلاف معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد نشان ندادند. به‌نظر می‌رسد تیمار سدیم آزاید تحت شرایط اعمال شده

موجب بروز تغییر موثری در مسیر سنتز فلاونوئیدها نشده است. در نمودارهای حاصل از میزان جذب فلاونوئید در طول موج ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر (شکل‌های ۲۱ و ۲۲) نیز اعمال تیمارهای مختلف با دزهای مختلف روندی مشابه با جذب در طول موج ۲۷۰ نانومتر داشت.



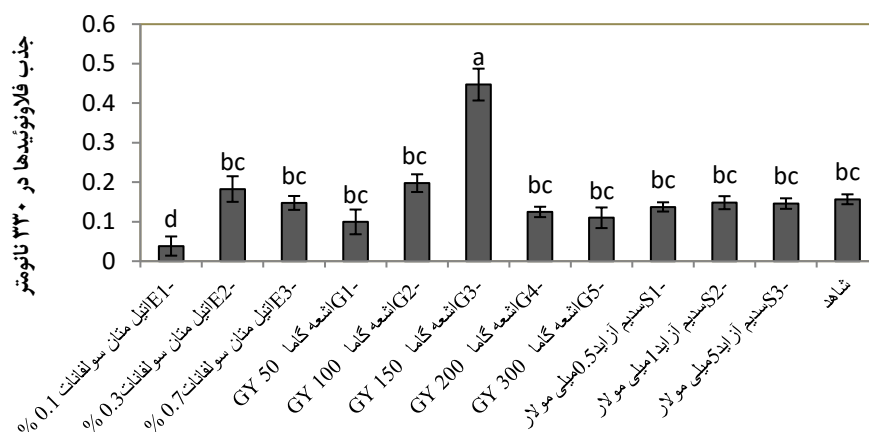
شکل ۲۰. تاثیر تیمارهای اتیل متان سولفونات، سدیم آزاید و پرتو گاما در دزهای مختلف، بر میزان جذب فلاونوئید (طول موج ۲۷۰ نانومتر) در گل مارگریت

Figure 20. Effect of applying EMS, SA, and gamma radiation treatments at different doses on the flavonoid absorption rate (wavelength 270 nm) in Marguerite flower



شکل ۲۱. تاثیر اعمال تیمارهای اتیل متان سولفونات، سدیم آزاید و اشعه گاما در دزهای مختلف، بر میزان جذب فلاونوئید (۳۰۰ نانومتر) در گل مارگریت

Figure 21. Effect of applying EMS, SA, and gamma radiation treatments at different doses on the flavonoid absorption rate (300 nm) in Marguerite flower.

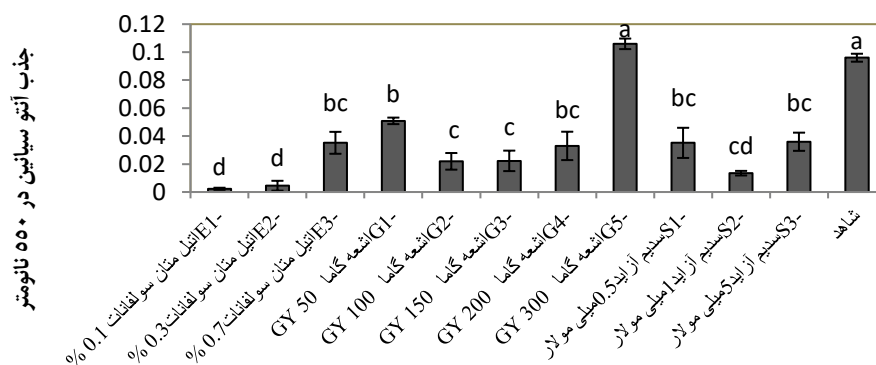


شکل ۲۲. تاثیر اعمال تیمارهای اتیل متان سولفونات، سدیم آزاید و پرتو گاما در دزهای مختلف بر میزان جذب فلاونوئید (۳۳۰ نانومتر) در گل مارگریت

Figure 22. Effect of applying EMS, SA, and gamma radiation treatments at different doses on the flavonoid absorption rate (330 nm) in Marguerite flower

به طور کلی تیمار G3 با اختلاف معنی داری نسبت به گیاه شاهد باعث افزایش جذب فلاونوئید در سه طول موج ۳۰۰، ۲۷۰ و ۳۳۰ نانومتر شد. همچنین تیمار E1 با اختلاف معنی داری نسبت به شاهد باعث کاهش جذب فلاونوئید در همین طول موج ها گردید. سایر تیمارها در میزان جذب فلاونوئید در طول موج های مذکور اختلاف معنی داری نسبت به گیاه شاهد نشان ندادند (شکل های ۲۰، ۲۱ و ۲۲).

آنتوسیانین: این رنگدانه یکی از مهم ترین رنگدانه های فلاونوئیدی است که در ایجاد رنگ های متنوع گلبرگ ها در گیاهان زینتی کاربرد دارد (Kong et al. 2003). رنگ گل تأثیر زیادی بر انتخاب مشتری برای گل های شاخه بریده، گل های گلدانی و گل های باغی دارد (Mekapogu et al. 2020). با توجه به شکل ۲۴ اعمال تیمارهای EMS، SA و پرتو گاما در دزهای مختلف به جز تیمار G5 باعث کاهش معنی دار آنتوسیانین موجود در برگ در مقایسه با گیاهان شاهد شد. پرتو گاما ۳۰۰ گری باعث افزایش آنتوسیانین گردید هرچند این افزایش با شاهد تفاوت معنی داری نداشت. تیمارهای E1 و E2 با اثر کاهشی قوی تری نسبت به سایر تیمارها عمل کرده و باعث کاهش در میزان آنتوسیانین شدند. اثر کاهشی سایر تیمارها مشابه با هم ولی کمتر از دو تیمار قبلی بود. چنانچه هدف، تولید گل مارگریت با رنگ گلبرگ های متنوع باشد، می توان امیدوار بود که با افزایش دز پرتو گاما به این هدف دست یافت. هرچند با توجه به بازارپسندی رنگ سفید در مارگریت، اعمال دزهای مختلف پرتو گاما ضمن حفظ رنگ کلاسیک، این امکان را فراهم می کند که سایر صفات مطلوب بدون تغییر در رنگ اصلی اصلاح شوند.



شکل ۲۳. تاثیر تیمارهای اتیل متان سولفونات، سدیم آزاید و پرتو گاما در دزهای مختلف، بر میزان

آنتوسیانین در گل مارگریت

Figure 23. Effect of applying EMS, SA, and gamma radiation treatments at different doses on the anthocyanin content in the Marguerite flower

نتیجه‌گیری: تحلیل نتایج پژوهش نشان داد تیمارهای اتیل متان سولفونات، سدیم آزاید و پرتو گاما توانستند موجب بروز تغییرات قابل توجهی در ویژگی‌های ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی گیاه مارگریت شوند. این تغییرات در صورت تثبیت در نسل‌های بعدی، زمینه را برای انتخاب و معرفی جهش‌یافته‌های بهبودیافته با صفات برتر فراهم کرده و پتانسیل بالای روش‌های جهش‌زایی را در ایجاد تنوع ژنتیکی در گل مارگریت نمایان می‌سازد. البته لازم است برای اطمینان از تغییرات ژنتیکی نسل‌های بعدی جهش‌یافته نیز مورد مطالعه قرار گیرند. چنین دستاوردی می‌تواند به توسعه ارقام جدید و متنوع در صنعت گلکاری و افزایش توان رقابتی در بازار گیاهان زینتی کمک کند.

سپاسگزاری

این پژوهش در قالب طرح پژوهشی شماره ۱/۶۷۱ با استفاده از اعتبارات پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران انجام شده است.

References

- Barakat, M. N., Abdel Fattah, R. S., Badr, M., & El-Torky, M. G. (2010). In vitro mutagenesis and identification of new variants via RAPD markers for improving *Chrysanthemum morifolium*. *African Journal of Agricultural Research*, 5(8), 748-757. <https://doi.org/10.5897/AJAR09.679>
- Borkar, A. T., & More, A. D. (2010). Induced flower colour mutations in *Phaseolus vulgaris* Linn through physical and chemical mutagens. *Advances in Bioresearch*, 1(1), 22-28.

- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Borzouei, A., Kafi, M., Khazaei, H., Naseriyan, B., & Majdabadi, A. (2010). Effects of gamma radiation on germination and physiological aspects of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Pak. J. Bot*, 42(4), 2281-2290.
- Din, A., Qadri, Z. A., Wani, M. A., Banday, N., Iqbal, S., Nazki, I. T., & Wani, F. J. (2023). Enhancing flower color diversity in chrysanthemum cv. "Candid" through ethyl methane sulfonate mutagenesis: A promising approach for ornamental crop improvement. *ACS Agricultural Science & Technology*, 3(11), 1004-1013.
- El Sherif, F., Khattab, S., Ghoname, E., Salem, N., & Radwan, K. (2011). Effect of gamma irradiation on enhancement of some economic traits and molecular changes in *Hibiscus sabdariffa* L. *Life Science Journal*, 8(3), 220-229.
- Fotokian, M. H. (2018). Induction of mutation for traits related to pod in rapeseed (*Brassica Napus* L.) cultivars using gamma rays. *Journal of Nuclear Science, Engineering and Technology*, 82, 75-83. [In Persian]
- Gilman, E. F. (1999). *Leucanthemum x superbum*. *Fact Sheet FPS-127*
- Gunckel, J. E., & Sparrow, A. H. (1967). *Ionizing radiations: Biochemical, physiological, and morphological aspects of their effects on plants*. Rutgers University, New Brunswick, NJ.
- Hasbullah, N. A., Taha, R. M., Saleh, A., & Mahmad, N. (2012). Irradiation effect on in vitro organogenesis, callus growth and plantlet development of *Gerbera jamesonii*. *Horticultura Brasileira*, 30, 252-257. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362012000200012>
- Hossain, Z., Mandal, A. K. A., Datta, S. K., & Biswas, A. K. (2006). Isolation of a NaCl-tolerant mutant of *Chrysanthemum morifolium* by gamma radiation: in vitro mutagenesis and selection by salt stress. *Functional Plant Biology*, 33(1), 91-101. <https://doi.org/10.1071/FP05149>
- Jozghasemi, S., & Rabiei, V. (2019). The assessment and feasibility of breeding study in *Iris persica* by gamma-ray. *Applied Crop Breeding*, 4(1), 75-89. [In Persian]
- Kapoor, M., Kumar, A., & Lal, S. (2015). Induction of genetic variability through gamma irradiation in mini marguerite (*Chrysanthemum paludosum* Poir.) and their RAPD-based genetic relationship. *Indian Journal of Horticulture*, 72(1), 77-83. <https://doi.org/10.5958/0974-0112.2015.00014.6>
- Khursheed, S., Raina, A., Parveen, K., & Khan, S. (2019). Induced phenotypic diversity in the mutagenized populations of faba bean using physical and chemical mutagenesis. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 18(2), 113-119. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2017.03.001>
- Kong, J. M., Chia, L. S., Goh, N. K., Chia, T. F., & Brouillard, R. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64(5), 923-933. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00438-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00438-2)
- Krizek, D. T., Britz, S. J., & Mirecki, R. M. (1998). Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New Red Fire lettuce. *Physiologia Plantarum*, 103(1), 1-7. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1030101.x>
- Lichtenthaler, H. K. (1987). [34] Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In *Methods in enzymology* (Vol. 148, pp. 350-382). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)

- Mandal, A. K. A., Chakrabarty, D., & Datta, S. K. (2000). In vitro isolation of solid novel flower colour mutants from induced chimeric ray florets of chrysanthemum. *Euphytica*, 114(1), 9-12. <https://doi.org/10.1023/A:1003960906646>
- Matsumura, A., Nomizu, T., Furutani, N., Hayashi, K., Minamiyama, Y., & Hase, Y. (2010). Ray florets color and shape mutants induced by 12C5+ ion beam irradiation in chrysanthemum. *Scientia Horticulturae*, 123(4), 558-561. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.11.004>
- Mekapogu, M., Vasamsetti, B. M. K., Kwon, O. K., Ahn, M. S., Lim, S. H., & Jung, J. A. (2020). Anthocyanins in floral colors: biosynthesis and regulation in chrysanthemum flowers. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(18), 6537. <https://doi.org/10.3390/ijms21186537>
- Minocha, J. L., & Arnason, T. J. (1962). Mutagenic effectiveness of ethyl methanesulphonate and methyl methanesulphonate in barley. *Nature*, 196(4853), 499-499. <https://doi.org/10.1038/196499a0>
- Mistry, V., Tiwari, P., Patel, P., Vishwakarma, G. S., Lee, G. J., & Sharma, A. (2022). Ethyl methane sulfonate and sodium azide-mediated chemical and x-ray-mediated physical mutagenesis positively regulate peroxidase 1 gene activity and biosynthesis of antineoplastic vinblastine in *Catharanthus roseus*. *Plants*, 11(21), 2885. <https://doi.org/10.3390/plants11212885>
- Sharifi, A., Sargazi Moghaddam, Z., Kharrazi, M., Khadem, A., & Moradian, M. (2024). Production of African violet mutants (*Saintpaulia ionantha*) using gamma radiation. *Journal of Nuclear Science, Engineering and Technology*, 109(3), 66-74. <https://doi.org/10.24200/nst.2024.1603.74-66> [In Persian]
- Xi, M., Sun, L., Qiu, S., Liu, J., Xu, J., & Shi, J. (2012). In vitro mutagenesis and identification of mutants via ISSR in lily (*Lilium longiflorum*). *Plant cell reports*, 31(6), 1043-1051. <https://doi.org/10.1007/s00299-011-1222-8>
- Yahel, H., Kadman-Zahavi, A., & Tsukamoto, Y. (2019). Chrysanthemum (*perennial species*). In *Handbook of Flowering* (pp. 258-264). CRC Press.