Journal of Plant Production Research

Print ISSN: 2322-2050
Online ISSN: 2322-2778

Evaluation of biochemical and physiological traits in the leaves of Malase Saveh pomegranate mutants and its relationship with spring cold tolerance

Mohamad Reza Rahemi*

Corresponding Author, Nuclear Agricultural Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Karaj, Iran. E-mail: mrezarahemi@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 02.26.2023
Revised: 03.27.2023
Accepted: 04.04.2023

Keywords:
Chlorophyll,
Gamma irradiation,
Malondialdehyde,
Mutant,
Pomegranate

ABSTRACT

Background and Objectives: In biological studies, low dose gamma radiation has been used as a stimulus to high dose as an inhibitor. Gamma ray is a physical mutagen. Cold and frost are limiting factors for pomegranate cultivation in many parts of the world, including Iran. The purpose of this study was to investigate the effect of gamma radiation on the physiological and biochemical characteristics of pomegranate leaves after exposure to gamma radiation and its relationship with tolerance to spring cold stress.

Materials and Methods: The latent buds on one-year-old branches of Meles Saveh pomegranate were subjected to gamma radiation with a dose of 36 Gy from the cobalt 60 source. After that, the irradiated shoots were kept in the vault for almost one year and these mutant plants were used for vegetative propagation and production of second generation vegetative plants (mV2). In the winter of the following year, mV2 mutant clones were transferred to the main garden in Saveh. After a four-year growth period, all trees entered the flowering stage. The plants in the fifth growing season (mV5) were selected based on their resistance to winter cold and diseases visually (based on the percentage of dry shoots and browning of branches). 18 genotypes were selected from mV5 generation. One-year-old branches were harvested from the middle of each tree in April 1401 and kept on ice to be analyzed in the laboratory for physiological and biochemical traits such as frost tolerance, malondialdehyde, proline, soluble carbohydrates, total phenol, Antioxidant capacity and photosynthetic pigments should be used.

Results: The results of variance analysis of the data showed that there was a significant difference in the freezing tolerance of pomegranate mutant clones. Among the mutant clones, the highest and lowest freezing tolerance was observed in mutants 6 and 3, respectively. The highest amount of proline was observed in mutant 4, while the lowest amount was assigned to mutants 9, 2, 7, 10 and control. Among the mutant clones, mutants 1, 4, 13 and 18 had the highest leaf soluble carbohydrate content, while the lowest was found in mutant 9. The highest content of total phenol was observed in mutants 1, 4, 6, 13, 16, 17 and 18 and the lowest in control. The highest antioxidant capacity was related to mutants 4, 6, 13 and 18, while the lowest was found in control and mutants 2, 3 and 9. The results showed that the lowest and highest amount of malondialdehyde was related to mutants 13 and 2, respectively. Comparing the average data of

photosynthetic pigments showed that the highest amount of chlorophyll a and carotenoid was observed in mutant 18 and the highest amount of chlorophyll b and total chlorophyll was observed in mutants 4, 6 and 18. There was a negative and significant correlation between LT_{50} and proline, soluble carbohydrates, total phenol, antioxidant capacity and photosynthetic leaf pigments, while a significant positive correlation was observed between LT_{50} and malondialdehyde. In general, gamma irradiation increased membrane lipid peroxidation and electrolyte leakage and decreased membrane stability. Although some pomegranate mutants were able to protect cell membranes against oxidative damage caused by gamma irradiation by increasing the concentration of osmolytes (such as carbohydrates and proline) and phenolic compounds, and thus increased cold tolerance.

Conclusion: Irradiation of plant buds is an effective method to improve plant varieties. Pomegranate mutant clones 6, 4, 13 and 18 had significantly more proline, soluble carbohydrates, total phenol, antioxidant capacity and photosynthetic pigments and less malondialdehyde and as a result more cold-tolerance than the control. Mutant clones can be used in future breeding programs to produce cold-tolerant cultivars for cultivation in cold regions.

Cite this article: Rahemi, Mohamad Reza. 2024. Evaluation of biochemical and physiological traits in the leaves of Malase Saveh pomegranate mutants and its relationship with spring cold tolerance. *Journal of Plant Production Research*, 31 (2), 85-101.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/JOPP.2023.21132.3024
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

شاپا چاپی: ۲۳۲۲-۲۰۵۰
شاپا آنلاین: ۲۳۲۲-۲۷۷۸

ارزیابی صفات زیست‌شیمیایی و فیزیولوژیکی در برگ موتانت‌های انار رقم ملس ساوه و ارتباط آن با تحمل به سرمای بهاره

محمدرضا راحمی*

نویسنده مسئول، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، کرج، ایران. رایانامه: mrezarahemi@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۰۷
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۱/۰۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۱/۱۵

واژه‌های کلیدی:
انار،
پرتو گاما،
کلروفیل،
مالون دی آلدهید،
موتانت

چکیده

سابقه و هدف: در مطالعه‌های زیستی، از تابش گاما با دوز پایین به‌عنوان محرک تا دوز بالا به‌عنوان مهارکننده استفاده شده است. پرتو گاما یک جهش‌زای فیزیکی برای القای جهش است. سرما و یخبندان از عوامل محدودکننده کشت انار در بسیاری از مناطق جهان از جمله ایران به‌شمار می‌رود. هدف از این مطالعه، بررسی چگونگی تأثیر تابش گاما بر صفات فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی برگ انار پس از قرارگیری در معرض پرتو گاما و ارتباط آن با تحمل به تنش سرمای بهاره بود.

مواد و روش‌ها: جوانه‌های نهفته روی شاخه‌های یک‌ساله انار رقم ملس ساوه تحت تابش گاما با دوز ۳۶ گری از منبع کبالت ۶۰ قرار گرفتند. پس از آن، شاخساره‌های پرتودهی شده تقریباً یک سال در خزانه نگهداری شدند و این گیاهان موتانت برای تکثیر رویشی و تولید گیاهان نسل دوم رویشی (mV2) مورد استفاده قرار گرفتند. در زمستان سال بعد، کلون‌های موتانت mV2 به باغ اصلی در ساوه منتقل شدند. پس از یک دوره رشد چهار ساله، تمام درختان وارد مرحله گلدهی شدند. گیاهان در فصل پنجم رویشی (mV5) بر اساس مقاومت به سرمای زمستانه و بیماری‌ها به‌صورت بصری (بر اساس درصد خشکیدگی شاخساره‌ها و قهوه‌ای شدن شاخه‌ها) انتخاب شدند. ۱۸ ژنوتیپ از نسل mV5 انتخاب شد. شاخه‌های یک ساله از وسط هر درخت در فروردین‌ماه ۱۴۰۱ برداشت شدند و روی یخ نگهداری شدند تا در آزمایشگاه برای آنالیز صفات فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی مانند تحمل به یخزدگی، مالون دی آلدهید، پرولین، کربوهیدرات‌های محلول، فنول کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و رنگیزه‌های فتوسنتزی استفاده شوند.

یافته‌ها: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اختلاف معنی‌داری در تحمل به یخزدگی برگ کلون‌های موتانت انار وجود داشت. در بین کلون‌های موتانت، بیش‌ترین و کم‌ترین تحمل به

یخ‌زدگی به‌ترتیب در موتانت‌های ٦ و ٣ مشاهده شد. بیش‌ترین میزان پرولین در موتانت ٤ مشاهده شد، در حالی‌که کم‌ترین آن به موتانت‌های ٩، ٢، ، ٧، ١٠ و شاهد اختصاص یافت. در بین کلون‌های موتانت، موتانت‌های ١، ٤، ١٣ و ١٨ دارای بالاترین محتوای کربوهیدرات محلول برگ بودند، در حالی‌که کم‌ترین آن در موتانت ٩ یافت شد. بیش‌ترین محتوای فنول کل در موتانت‌های ١، ٤، ٦، ١٣، ١٦، ١٧ و ١٨ و کم‌ترین آن در شاهد مشاهده شد. بیش‌ترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به موتانت‌های ٤، ٦، ١٣ و ١٨ بود، در حالی‌که کم‌ترین آن در شاهد و موتانت‌های ٢، ٣ و ٩ یافت شد. نتایج نشان داد کم‌ترین و بیش‌ترین میزان مالون دی آلدهید به‌ترتیب مربوط به موتانت‌های ١٣ و ٢ بود. مقایسه میانگین داده‌های رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان داد که بیش‌ترین میزان کلروفیل a و کاروتنوئید در موتانت ١٨ و بیش‌ترین میزان کلروفیل b و کلروفیل کل در موتانت‌های ٤، ٦ و ١٨ مشاهده شد. همبستگی منفی و معنی‌داری بین LT_{50} با پرولین، کربوهیدرات‌های محلول، فنول کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ وجود داشت، در حالی‌که همبستگی مثبت معنی‌داری بین LT_{50} و مالون دی آلدهید مشاهده شد. به‌طورکلی پرتودهی گاما، پراکسیداسیون لیپیدی غشاء و نشت الکترولیت را افزایش و پایداری غشاء را کاهش داد. اگرچه برخی موتانت‌های انار توانستند با افزایش غلظت اسمولیت‌ها (مانند کربوهیدرات و پرولین) و ترکیبات فنولی، از غشاهای سلولی در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از پرتودهی گاما، محافظت کنند و در نتیجه تحمل به سرما را افزایش دهند.

نتیجه‌گیری: پرتودهی جوانه‌های گیاهان روشی مؤثر برای اصلاح ارقام گیاهی است. کلون‌های موتانت انار ٦، ٤، ١٣ و ١٨ به‌طور معنی‌داری میزان پرولین، کربوهیدرات‌های محلول، فنول کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و رنگیزه‌های فتوسنتزی بیش‌تر و مالون دی آلدهید کم‌تر و در نتیجه تحمل به سرمای بیش‌تری نسبت به شاهد داشتند، بنابراین از این کلون‌های موتانت می‌توان در برنامه‌های اصلاحی آینده به‌منظور تولید ارقام متحمل به سرما جهت کشت در مناطق سردسیر استفاده کرد.

استناد: راحمی، محمدرضا (١۴٠٣). ارزیابی صفات زیست شیمیایی و فیزیولوژیکی در برگ موتانت‌های انار رقم ملس ساوه و ارتباط آن با تحمل به سرمای بهاره. *نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی*، ٣١ (٢)، ١٠١-٨٥.
DOI: 10.22069/JOPP.2023.21132.3024

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
© نویسندگان.

مقدمه

در مطالعات بیولوژیکی، از تابش گاما با دوز پایین به‌عنوان محرک تا دوز بالا به‌عنوان مهارکننده استفاده شده است (۱). پرتو گاما یک جهش‌زای فیزیکی برای القای جهش است. برای تشکیل رادیکال‌های آزاد، پرتو گامای یونیزان با اتم‌ها یا مولکول‌های درون سلول‌ها برهمکنش می‌کند. از آن‌جایی‌که این رادیکال‌ها می‌توانند آسیب قابل‌توجهی به DNA یا کروموزوم‌های داخل سلول وارد کنند، ممکن است باعث بروز جهش ژنتیکی در گیاهان شوند (۲). پرتوهای گاما بسته به دوز تابش با ایجاد برهمکنش با اتم‌ها یا مولکول‌های سلول، به‌ویژه آب، موجب تشکیل رادیکال‌های آزاد و ایجاد تغییرات در مورفولوژی، آناتومی، صفات زیست‌شیمیایی و فیزیولوژیکی گیاهان می‌شوند (۳). این رادیکال‌های آزاد می‌توانند به اجزای ضروری سلول‌های گیاهی آسیب برساند یا آن را تغییر دهد (٤). سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی اعم از آنزیمی و غیرآنزیمی نقش مهمی در از بین بردن گونه‌های مخرب اکسیژن فعال در داخل سلول‌های گیاهی و دفاع از گیاه در برابر تنش‌های مختلف از جمله پرتوهای یونیزان دارند (۵، ٦). رادیکال‌های اکسیژن اضافی می‌توانند عملاً با تمام اجزای سلول واکنش نشان دهند. در نتیجه این فعل و انفعال، واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد رخ می‌دهد که منجر به پراکسیداسیون لیپیدی غشاء می‌شود. مالون دی آلدهید به‌عنوان محصول جانبی پراکسیداسیون لیپیدی، می‌تواند با پروتئین‌های غشاء و باقی‌مانده اسیدهای نوکلئیک واکنش نشان دهد، ثبات غشاء را کاهش داده و نفوذپذیری غشاء را افزایش دهد. رادیکال‌های آزاد را می‌توان توسط مواد فنولی از بین برد. وجود ساختارهای حلقه‌ای مزدوج و گروه‌های هیدروکسیل در ترکیبات فنولی، منجر به ایجاد خواص آنتی‌اکسیدانی شده و به آن‌ها اجازه می‌دهد تا به‌عنوان احیاکننده، اهداکننده هیدروژن و خاموش‌کننده اکسیژن منفرد عمل کنند (۷). فلاونوئیدها با جلوگیری از توسعه محصول پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلولی و حفظ نفوذپذیری غشاء، توانایی گیاه را برای محافظت از خود در طی تنش پرتودهی گاما افزایش می‌دهند (۸). در کشت کالوس رزماری، تابش گاما در ۲۰ گری باعث افزایش تجمع مواد فنولی و فلاونوئیدی کل شد (۹). تابش گاما در ۱۰ گری سطح اسید فنولیک در دارچین را افزایش داد (۱۰). به‌طور مشابه، پرتودهی طولانی‌مدت اشعه ماوراءبنفش به بذرهای گندم منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در جوانه‌های گندم شد (۱۱). بسیاری از پژوهش‌گران اثرات فیزیولوژیکی را در طیف وسیعی از گیاهانی که در معرض تابش گاما قرار دارند بررسی کردند (۳، ۱۲، ۱۳، ١٤).

شواهدی وجود دارد مبنی بر این‌که پرتودهی گاما بر تولید پرولین، که در مکانیسم‌های حفاظتی نقش دارد، اثر می‌گذارد. با افزایش دوزهای گاما، محتوای پرولین در دانهال‌های برنج پرتودهی شده با گاما افزایش یافت (۱۵). در پژوهشی در گیاهان آفتابگردان پرتودهی شده، افزایش قابل‌توجهی در میزان پروتئین، کربوهیدرات و DNA، اما کاهش قابل‌توجهی در محتوای RNA گزارش شد (١٦). سنتز پرولین یکی از مکانیسم‌های دفاعی در تولید اسمولیت‌ها بوده که برای رشد گیاه ضروری است (۱۷). در پژوهشی گزارش شد که گیاهان پرتودهی شده شنبلیله دارای محتوای پرولین بالاتری بودند (۱۸). از سوی دیگر، فلاحتی و همکاران (۲۰۰۷)، ادعا کردند که پرتودهی با گاما ممکن است سطوح آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهد و نیاز بیش‌تر به پرولین را برای مقابله با تنش اکسیداتیو از بین ببرد (۱۹). محتوای کربوهیدرات به‌دلیل ارتباط مستقیم آن‌ها با فعالیت‌های فیزیولوژیکی از جمله فتوسنتز، انتقال مواد و تنفس از اهمیت

ویژه‌ای برخوردار است. در پژوهشی دیگر گزارش شد که پرتودهی گاما با ۲۰ گری منجر به افزایش سطوح کربوهیدرات‌های محلول در طی دوره ریشه‌زایی قلمه‌های گل داوودی شد، اگرچه دوزهای پرتودهی بیش از ۲۰ گری، اثر مهارکننده داشت (۲۰).

انار با نام علمی *Punica granatum* L. درختچه‌ای بزرگ متعلق به خانواده Punicaceae است. انار گونه‌ای نیمه گرمسیری است که در نواحی ساحلی و مرطوب به‌صورت درخت همیشه سبز است ولی در نواحی خشک با زمستان‌های سخت به‌صورت درخت خزان‌دار است. بهترین کیفیت میوه انار در مناطقی با زمستان‌های نسبتاً سرد و تابستان‌های گرم و خشک حاصل می‌شود (۲۱). اگرچه انار نسبت به طیف وسیعی از شرایط آب و هوایی متحمل است، ناهمگونی قابل‌توجه زیستگاه‌های رشد جدید در سراسر جهان چالشی جهانی برای تولید تجاری میوه‌های با کیفیت و عملکرد بالا ایجاد کرده است. سرما و یخبندان از عوامل محدودکننده کشت انار در بسیاری از مناطق جهان از جمله ایران به‌شمار می‌رود (۲۲).

مطالعات نشان داده است که تغییرات فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی متعددی مانند تغییر در سرعت تنفس، تنظیم‌کننده‌های رشد، متابولیسم کربوهیدرات، محتوای نسبی آب، سنتز پروتئین‌های تنش مانند دهیدرین‌ها، کاهش ناقل‌های غشاء و ترکیبات فسفولیپیدها، افزایش غلظت پرولین، سنتز پلی‌آمین‌ها در افزایش مقاومت به تنش سرما نقش دارند (۲۳). غشای سلولی اولین جایی است که تحت‌تأثیر عوامل نامساعد محیطی قرار می‌گیرد. در شرایط تنش سرما، فعالیت بخش‌های ساختاری غشاء مانند فعالیت آنزیم‌های چسبیده به غشاء و آنزیم‌هایی که محل حضورشان در غشاء است دچار اختلال می‌شوند. ترکیبات شیمیایی غشاء و به‌خصوص نسبت اسیدهای چرب غیراشباع به اشباع، نوع پیوندهای شیمیایی و محل قرار گرفتن آن‌ها نیز در سیالیت غشاء تأثیرگذار است که خود این موارد، تحت کنترل عوامل ژنتیکی گیاه و شرایط محیطی می‌باشد. نتایج پژوهش‌ها بیانگر این است که تنش سرما می‌تواند منجر به تغییر فرم غشاء از حالت مایع کریستالی به حالت جامد ژل شود که در نتیجه موجب کاهش تراوایی غشاء و ایجاد اختلال در فعالیت سلولی و اندامک‌ها می‌شود (۲٤). یکی از مهم‌ترین آسیب‌ها در مواجهه با سرما، وقوع پراکسیداسیون در چربی‌های غشاء است که طی آن رادیکال‌های هیدروکسیل باعث تغییر در سیالیت، انسجام و نفوذپذیری غشاء می‌شوند (۲۵). مالون دی آلدهید یکی از محصولات سمی حاصل از تخریب غشاها است که به‌عنوان یک نشانگر زیستی حاصل از تخریب غشاها به‌طور وسیع برای بررسی مقاومت به سرما استفاده شده است (۲٦). پرولین اسید آمینه محلول در آبی است که در هنگام مواجهه گیاهان با تنش‌های محیطی از جمله سرما، خشکی و شوری افزایش می‌یابد. پرولین با تنظیم اسمزی و کاهش پتانسیل آب، باعث افزایش مقاومت گیاه به تنش آبکشیدگی می‌شود. هم‌چنین این اسید آمینه با خنثی کردن گونه‌های فعال اکسیژن باعث افزایش مقاومت به یخزدگی می‌شود. پایداری غشای سلولی و حفاظت از آن در مقابل صدمات آب‌کشیدگی ناشی از تنش یخزدگی از دیگر وظایف پرولین در راستای کاهش خسارت دمای پایین می‌باشد (۲۷). همبستگی مثبت و معنی‌داری بین غلظت پرولین و تحمل به سرما در بسیاری از درختان میوه مانند زیتون (۲۸)، انار (۲۹) و انگور (۳۰) مشاهده شده است. قندها، در فرآیندهای فتوسنتز، پیری و سازگار شدن به سرما نقش مهمی دارند. پژوهش‌گران در پژوهش‌های اولیه عامل اصلی رکود را قندها معرفی کردند و مقدار ناکافی آن را باعث رکود و علت پایان رکود توسط سرما را،

تحریک و تبدیل نشاسته به قند می‌دانستند. در پژوهشی روی انگور نشان داده شده است که سطوح درون‌زاد قندهای محلول همبستگی نزدیکی با تحمل به یخ‌زدگی جوانه‌ها و بافت‌های شاخه انگور دارد (۳۰). ارتباط بین تجمع کربوهیدرات‌های محلول و تحمل سرما در گیاهان دیگر مانند انار نیز گزارش شده است (۲۹).

غلظت ترکیبات فنولی با تحمل به سرما همبستگی مثبت دارد. افزایش این ترکیبات به‌طور مثبت با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه در ارتباط است (۳۱). پلیمرهای فنولی مانند لیگنین و سوبرین موجود در جوانه‌های گل ارقام مقاوم به سرمای آزالیا از پیشرفت بلورهای یخ در شاخه و فلس‌ها به درون سرآغازه‌های گل جلوگیری می‌کنند (۳۲). رسوب ترکیبات فنولی مانند لیگنین با بالا بردن درجه چوبی شدن بافت‌ها در جوانه‌های انگور (۳۳) و پسته (۳٤) و نیز رسوب سوبرین در صنوبر (۳۵) طی مواجهه با سرما، باعث افزایش مقاومت این درختان به سرما شده است.

کلروز برگ‌ها نشانه اولیه سرما است که به علت کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی پدید می‌آید. کاهش رنگیزه‌ها می‌تواند به‌علت تأثیر سرما در افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء باشد. این تخریب لیپیدهای غشاء می‌تواند در غشای کلروپلاست‌ها و تیلاکوئیدها رخ دهد و به کاهش میزان رنگیزه منجر شود (۳٦). کاهش کلروفیل در سویا (۱۷) و نارنگی (۳٦) در شرایط تنش سرما نیز گزارش شده است.

به‌طورکلی با توجه به ظهور گل در انار که اواخر فروردین تا اوایل اردیبهشت است، خسارت سرمای بهاره در گل‌ها بسیار کم‌تر از خسارت سرمای بهاره در برگ‌ها می‌باشد، بنابراین سرمای بهاره در انار بیش‌تر به برگ‌ها آسیب می‌رساند، زیرا بین زمان ظهور برگ قرمز و گل حدوداً ۲۰ روز فاصله است (۲۲). هدف از این مطالعه، بررسی چگونگی تأثیر تابش گاما بر صفات فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی برگ انار پس از قرارگیری در معرض پرتو گاما و ارتباط آن با تحمل به تنش سرمای بهاره بود.

مواد و روش‌ها

در پژوهشکده کشاورزی، پژوهشگاه علوم و فناوری هسته‌ای ایران، جوانه‌های نهفته روی شاخه‌های یک‌ساله انار رقم ملس ساوه تحت تابش گاما با دوز ۳٦ گری از منبع کبالت ٦۰ قرار گرفتند. در آزمایش پیشین (۳۷)، دوز بهینه پرتودهی گاما تعیین شد. پس از آن، شاخساره‌های پرتودهی شده تقریباً یک سال در خزانه نگهداری شدند و این گیاهان موتانت برای تکثیر رویشی از طریق قلمه‌گیری و تولید گیاهان نسل دوم رویشی (mV2) مورد استفاده قرار گرفتند. در زمستان سال بعد، کلون‌های موتانت mV2 به باغ اصلی در ساوه منتقل و در ردیف‌های شرقی- غربی در خاک لومی شنی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار کاشته شدند. تمام عملیات باغی مانند آبیاری، کوددهی و دفع آفات و بیماری‌ها برای هر دو گروه شاهد و کلون‌های موتانت یکسان بود. پس از یک دوره رشد چهار ساله، تمام درختان وارد مرحله گلدهی شدند. گیاهان در فصل پنجم رویشی (mV5) بر اساس مقاومت به سرمای زمستانه و بیماری‌ها به صورت بصری (بر اساس درصد خشکیدگی شاخساره‌ها و قهوه‌ای شدن شاخه‌ها) انتخاب شدند. ۱۸ ژنوتیپ از نسل mV5 انتخاب شد. شاخه های یک‌ساله از وسط هر درخت در فروردین‌ماه ۱٤۰۱ برداشت شدند و روی یخ نگهداری شدند تا در آزمایشگاه برای آنالیز صفات فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی استفاده شوند.

برای اندازه گیری تحمل به یخ‌زدگی یا (LT_{50}) دمایی که در آن ۵۰ درصد نشت یونی کامل اتفاق می‌افتد از روش نشت یونی با ترسیم نمودار دما-

نشت یونی در نرم‌افزار Excel استفاده شد (۳۸). روش توصیف شده توسط بیتس و همکاران (۱۹۷۳) برای تعیین محتوای پرولین استفاده شد (۳۹). محتوای کل کربوهیدرات محلول بافت برگ با استفاده از معرف آنترون تعیین شد (٤٠). فنول کل با استفاده از روش فولین سیوکاتیو اندازه‌گیری شد (٤١). برای تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل (DPPH) استفاده شد (٤٢). محتوای مالون دی آلدهید با استفاده از تری کلرو استیک اسید تعیین شد (٤٣). کاروتنوئید کل و کلروفیل‌ها با استفاده از استون ۸۰ درصد تعیین شدند (٤٤).

این پژوهش به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. آنالیز همبستگی پیرسون برای تشخیص ارتباط بین ویژگی‌های فیزیولوژیکی و زیست شیمیایی برگ با تحمل به یخزدگی در کلون‌های موتانت انار ملس ساوه استفاده شد.

نتایج و بحث

تحمل به یخزدگی (با کاهش LT_{50}): نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد در تحمل به یخزدگی برگ کلون‌های موتانت انار وجود داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد، در بین کلون‌های موتانت، بیش‌ترین تحمل به یخزدگی در موتانت ٦ و پس از آن در موتانت‌های ٤، ۱۸ و ۱۳ مشاهده شد. کم‌ترین تحمل به یخزدگی در موتانت‌های ۳ و ۹ مشاهده شد، بین موتانت ۹ و شاهد از نظر این صفت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). نتایج جدول همبستگی صفات نشان داد که همبستگی منفی و معنی‌داری بین LT_{50} با پرولین، کربوهیدرات‌های محلول، فنول کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ وجود دارد، در حالی‌که همبستگی مثبت معنی‌داری بین LT_{50} و مالون دی آلدهید مشاهده شد.

به‌طورکلی، رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید شده توسط یونیزاسیون می‌توانند ویژگی‌های فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی گیاهان را مختل کنند (٤٥، ٤٦). با این‌حال، در شرایط دیگر، تشعشعات یونیزان با دوز پایین تأثیر مطلوبی بر رشد گیاه دارند، پدیده‌ای که به‌نام هورمسیس شناخته می‌شود (٤٧). رادیکال‌های آزاد اکسیژن که یک عامل استرس اکسیداتیو قوی است که به لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA در سلول‌های گیاهی آسیب می‌رساند، می‌تواند توسط پرتودهی گاما القاء شود (٤٨، ٤٩، ٥٠). افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن باعث پراکسیداسیون لیپیدی و نشت الکترولیت و کاهش پایداری غشاء می‌شود (٥١).

پرولین: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر وجود اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بین موتانت‌های انار در میزان پرولین برگ است (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیش‌ترین میزان پرولین در موتانت ٤ و پس از آن در موتانت‌های ۱۸، ٦ و ۱۳ مشاهده شد. کم‌ترین میزان پرولین برگ در موتانت‌های ۹، ۲، ۳، ۷ و ۱۰ مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشتند (جدول ۲). همبستگی مثبت معنی‌داری بین پرولین با کربوهیدرات‌های محلول، فنول کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ مشاهده شد، در حالی‌که میزان پرولین با LT_{50} و مالون دی آلدهید همبستگی منفی‌داری داشت (جدول ۳).

گیاهان چندین مکانیسم دفاعی را برای مقابله با اثرات رادیکال‌های آزاد اکسیژن ایجاد کرده‌اند تا از آسیب اکسیداتیو جلوگیری کنند. سنتز پرولین یکی از

فرآیندهای دفاعی در سنتز اسمولیت‌ها بود که برای رشد گیاه ضروری است (۵۲). در این پژوهش، موتانت‌هایی که دارای محتوای پرولین برگ بالاتری بودند، تحمل به یخزدگی بالایی نیز داشتند که نشان‌دهنده نقش محافظتی پرولین در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن و محافظت از غشاء است.

کربوهیدرات محلول: بر اساس جدول ۱، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد در محتوای کربوهیدرات محلول برگ در بین موتانت‌های انار مشاهده شد. موتانت‌های ۱، ٤، ۱۳ و ۱۸ دارای بالاترین محتوای کربوهیدرات محلول برگ بود که به‌طور قابل‌توجهی بیش‌تر از شاهد بود. کم‌ترین محتوای کربوهیدرات محلول در برگ در موتانت ۹ یافت شد. موتانت‌های ۲، ۳، ۱۲ و ١٤ پس از موتانت ۹ میزان کربوهیدارت کمی را نشان دادند و بین این موتانت‌ها با شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). مطابق جدول ۳، بین کربوهیدرات محلول برگ با LT_{50} و مالون دی آلدهید همبستگی منفی معنی داری وجود داشت؛ در حالی‌که بین این صفت با پرولین، فنول کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و رنگیزه‌های فتوسنتزی به‌جز کلروفیل a همبستگی مثبت معنی‌داری یافت شد. در پژوهشی بیش‌ترین مقدار قندهای محلول در قلمه‌های گل داوودی در پرتودهی گاما با دوز پایین مشاهده شد؛ اگرچه پرتودهی گاما با دوز بالا به‌عنوان یک بازدارنده عمل می‌کند (۲۰). عقیده بر این است که افزایش در غلظت کربوهیدرات‌های محلول، یکی از مکانیسم‌های سازگاری گیاهان با سرما است که با افزایش غلظت شیره سلولی، موجب بهبود اثرات پسابیدگی مرتبط با یخزدگی می‌شود (۵۳).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی در موتانت‌های انار رقم ملس ساوه.

Table 1. Variance analysis of physiological and biochemical traits in Malase Saveh pomegranate mutants.

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	تحمل به یخزدگی LT_{50}	پرولین Proline	کربوهیدرات‌های محلول Soluble carbohydrates	فنول کل Total phenolic	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant capacity	مالون دی آلدهید Malondialdehyde	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	کاروتنوئید کل Total carotenoid
بلوک Block	2	0.354	15.648	0.649	0.155	1.529	0.001	0.086	0.017	0.181	0.002
موتانت Mutant	18	8.178**	121.247**	28.878**	10.879**	13.732**	0.007**	0.216**	0.791**	1.652*	0.059**
خطا Error	36	0.102	6.841	0.795	0.747	0.549	0.002	0.105	0.139	0.415	0.014
ضریب تغییرات CV (%)		6.87	13.84	5.63	4.58	5.46	4.19	4.31	12.25	6.10	3.32

* و ** به‌ترتیب بیانگر عدم معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱ و بیانگر می‌باشند

*, ** significant at P≤0.05 or P≤0.01, respectively

جدول ۲- مقایسه میانگین تغییر در برخی صفات زیست‌شیمیایی و فیزیولوژیکی برگ در موتانت‌های انار ملس ساوه.

Table 2. Comparison of the average change in some biochemical and physiological traits of leaves in Malase Saveh pomegranate mutants.

کاروتنوئید کل Total carotenoid (mg g^{-1} FW)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg g^{-1} FW)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg g^{-1} FW)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg g^{-1} FW)	مالون دی آلدهید Malondialdehyde (nmol g^{-1} FW)	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant capacity (%)	فنول کل Total phenolic (mg g^{-1} FW)	کربوهیدرات محلول Soluble carbohydrates (mg g^{-1} FW)	پرولین Proline (µmol g^{-1} FW)	تحمل به یخ‌زدگی LT_{50} (°C)	
3.21 f	10.15 defg	2.77 defg	7.38 bcd	0.30 b	70.33 a	14.25 k	12.67 i	12.25 h	-3.30 gh	Control
3.45 de	9.187 g	2.17 g	7.02 d	0.21 i	73.96 bc	21.01 ab	20.47 a	18.91 de	-4.80 def	Mutant 1
3.63 bcd	10.34 def	2.68 defg	7.66 bc	0.34 a	70.67 c	17.39 hij	13.83 hi	10.96 h	-3.45 g	Mutant 2
3.46 cde	9.890 efg	2.54 efg	7.35 bcd	0.30 b	70.25 a	17.78 ghi	13.18 hi	13.73 gh	-2.49 i	Mutant 3
3.68 b	11.65 ab	4.01 a	7.64 bc	0.17 l	76.55 a	21.01 ab	20.70 a	33.38 a	-7.18 b	Mutant 4
3.48 cde	9.590 fg	2.31 fg	7.23 cd	0.22 fg	72.65 d	16.53 ij	18.47 bc	23.53 c	-4.97 cde	Mutant 5
3.51 bcde	11.50 abc	3.66 ab	7.84 b	0.18 k	77.27 a	20.32 abcd	18.23 cd	25.47 bc	-8.10 a	Mutant 6
3.53 bcde	10.76 bcde	3.28 bcd	7.48 bcd	0.30 b	74.41 b	16.34 j	15.44 fg	12.71 h	-3.42 g	Mutant 7
3.67 bcd	10.72 bcde	3.19 bcd	7.52 bcd	0.23 e	74.41 b	18.56 efgh	16.45 ef	23.46 c	-5.46 c	Mutant 8
3.41 e	10.17 defg	2.67 defg	7.49 bcd	0.26 d	70.37 e	17.68 hij	9.260 j	10.19 h	-2.88 hi	Mutant 9
3.65 bc	10.61 bcdef	3.07 bcde	7.54 bcd	0.26 c	74.60 b	19.29 cdef	13.51 hi	13.21 h	-3.45 g	Mutant 10
3.46 cde	10.55 cdef	3.09 bcde	7.46 bcd	0.23 e	74.47 b	18.14 fgh	14.20 gh	18.37 def	-3.46 g	Mutant 11
3.50 bcde	10.13 defg	2.72 defg	7.40 bcd	0.22 f	74.02 bc	18.72 efgh	13.66 hi	18.12 def	-4.41 f	Mutant 12
3.66 bc	10.51 cdef	3.57 abc	7.55 bcd	0.15 m	76.23 a	20.71 abc	19.29 abc	24.19 bc	-6.95 b	Mutant 13
3.47 cde	10.36 def	2.86 def	7.50 bcd	0.23 e	72.59 d	19.14 defg	13.08 hi	14.18 fgh	-3.50 g	Mutant 14
3.49 bcde	11.12 bcd	3.03 cde	7.48 bcd	0.21 hi	72.97 cd	19.60 bcde	15.39 fg	22.15 cd	-3.44 g	Mutant 15
3.52 bcde	10.57 cdef	3.05 bcde	7.51 bcd	0.22 gh	73.69 bcd	20.78 ab	16.94 de	17.56 efg	-4.53 ef	Mutant 16
3.47 cde	10.48 cdef	3.08 bcde	7.40 bcd	0.24 d	73.43 bcd	20.33 abcd	16.17 ef	18.37 def	-5.23 cd	Mutant 17
3.90 a	12.46 a	4.07 a	8.40 a	0.19 j	76.17 a	21.19 a	19.92 ab	28.28 b	-7.11 b	Mutant 18

میانگین‌هایی با حروف کوچک مشابه در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌دار ندارند

Means followed by the similar lowercase letters are not statistically different (P≤0.05) as compared by LSD test

جدول ۳- ضریب همبستگی پیرسون بین صفات فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی در موتانت‌های انار رقم ملس ساوه.

Table 3. Pearson's correlation coefficient between physiological and biochemical traits in Malase Saveh pomegranate mutants.

	تحمل به یخ‌زدگی LT_{50}	پرولین Proline	کربوهیدرات محلول Soluble carbohydrates	فنول کل Total phenolic	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant capacity	مالون دی آلدهید Malondialdehyde	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	کاروتنوئید کل Total carotenoid
تحمل به یخ‌زدگی LT_{50}	1									
پرولین Proline	-0.79**	1								
کربوهیدرات محلول Soluble carbohydrates	-0.76**	0.72**	1							
فنول کل Total phenolic	-0.57**	0.52**	0.59**	1						
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant capacity	-0.77**	0.67**	0.66**	0.61**	1					
مالون دی آلدهید Malondialdehyde	0.66**	-0.67**	-0.65**	-0.52**	-0.79**	1				
کلروفیل a Chlorophyll a	-0.37**	0.28*	0.11ns	0.14ns	0.30*	-0.16ns	1			
کلروفیل b Chlorophyll b	-0.60**	0.53**	0.36**	0.34**	0.61**	-0.50**	0.73**	1		
کلروفیل کل Total hlorophyll	-0.55**	0.47**	0.28*	0.28*	0.53**	-0.40**	0.89**	0.95**	1	
کاروتنوئید کل Total carotenoid	-0.35**	0.34**	0.28*	0.43**	0.40**	-0.30*	0.65**	0.52**	0.61**	1

ns، * و ** به‌ترتیب بیانگر عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱ می‌باشند

ns, *, ** Non significant, significant at P≤0.05 or P≤0.01, respectively

فنول کل: موتانت‌های مورد مطالعه از نظر محتوای فنول کل اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد داشتند (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیش‌ترین محتوای فنول کل در موتانت‌های ۱، ٤، ٦، ۱۳، ۱٦، ۱۷ و ۱۸ و کم‌ترین آن در شاهد مشاهده شد (جدول ۲). همبستگی منفی معنی‌داری بین فنول کل با LT_{50} و میزان مالون دی آلدهید مشاهده شد، اما بین فنول کل با سایر صفات اندازه‌گیری‌شده به‌جز کلروفیل a همبستگی مثبت معنی‌دار مشاهده شد (جدول ۳).

در راستای یافته‌های ما، پرتودهی گاما باعث تغییر محتوای کلی فنولی و فلاونوئیدی پوست و پالپ میوه‌های موتانت مرکبات و هم‌چنین برگ‌ها شد (٥٤). ترکیبات فنولی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بوده و نقش مهمی در جذب و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و در نتیجه حفاظت از غشاء و ماکرومولکول‌ها بر عهده دارند و از این طریق موجب افزایش تحمل به یخ‌زدگی در موتانت‌های انار می‌شود. ترکیبات فنولی به‌دلیل دارا بودن خواص احیاکنندگی می‌توانند در جذب و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و جاروب گونه‌های اکسیژن یگانه و سه‌گانه و یا تجزیه پراکسیدها نقش مهمی داشته باشد. در پژوهشی، افزایش ترکیبات فنولی در برگ‌های زیتون، سبب افزایش مقاومت این درختان به سرما شد (٥٥).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بین موتانت‌های انار از نظر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی است (جدول ۱). همان‌طورکه در جدول ۲ نشان داده شده است، بیش‌ترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به موتانت‌های ٤، ٦، ۱۳ و ۱۸ بود، در حالی‌که کم‌ترین آن در شاهد و موتانت‌های ۲، ۳ و ۹ یافت شد. یک همبستگی منفی بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با LT_{50} و مالون دی آلدهید وجود داشت، در حالی‌که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با سایر صفات اندازه‌گیری همبستگی مثبت معنی‌دار داشت (جدول ۳).

افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ به‌طور مؤثری موجب کاهش رادیکال‌های آزاد و در نتیجه حفاظت از غشاء و سایر ماکرومولکول‌ها در برابر گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود و از این طریق تحمل به یخ‌زدگی را در گیاه افزایش می‌دهد. نتایج مشابه با پژوهش حاضر در زیتون نیز گزارش شده است (٥٤، ٥٥).

مالون دی آلدهید: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که موتانت‌های انار در میزان مالون دی آلدهید اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد داشتند (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌های مالون دی آلدهید نشان داد که کم‌ترین آن در موتانت ۱۳ و پس از آن به‌ترتیب در موتانت‌های ٤، ٦ و ۱۸ مشاهده شد، در حالی‌که بیش‌ترین آن در موتانت ۲ و پس از آن در موتانت‌های ۳، ۷ و شاهد یافت شد (جدول ۲). مالون دی آلدهید همبستگی مثبت معنی‌دار با LT_{50} داشت، در حالی‌که با سایر صفات مورد اندازه‌گیری به‌جز کلروفیل a همبستگی منفی معنی‌دار داشت (جدول ۳).

غشای پلاسمایی اولین مکان اصلی ایجاد آسیب ناشی از تنش یخ‌زدگی است. هنگامی که اسیدهای چرب غیراشباع تجزیه می‌شود، قطعات هیدروکربنی کوچک مانند مالون دی آلدهید تولید می‌شود. بنابراین، تصور می‌شود که اندازه‌گیری مالون دی آلدهید یک شاخص زیست شیمیایی کارآمد برای بررسی آسیب تنش اکسیداتیو در سلول است (٥٦). در پژوهش حاضر همبستگی مثبتی بین محتوای مالون دی آلدهید و LT_{50} مشاهده شد. کم‌ترین مقدار مالون دی آلدهید در موتانت‌های متحمل به یخ‌زدگی یافت شد. بنابراین، حفظ سطوح پایین‌تر تجمع مالون دی آلدهید با بهبود

مقاومت موتانت‌ها به تنش یخ‌زدگی مرتبط بود. مطابق با یافته‌های ما، محتوای مالون دی آلدهید در ارقام متحمل به سرما کم‌تر از حساس به سرما بود که منجر به کاهش سیالیت غشای گیاهی و تخریب هموستاز یونی شد (۲۷، ۵۷).

رنگیزه‌های فتوسنتزی: با توجه به جدول تجزیه واریانس داده‌ها موتانت‌های انار اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد در کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید کل، و در سطح ۵ درصد در کلروفیل کل نشان دادند (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌های کلروفیل a نشان داد که بیش‌ترین آن در موتانت ۱۸ مشاهده شد، در حالی‌که سایر موتانت‌ها با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند. بیش‌ترین میزان کلروفیل b در موتانت‌های ٤، ٦ و ۱۸ مشاهده شد، در حالی‌که کم‌ترین آن در موتانت ۱ مشاهده شد که با موتانت‌های ۲، ۳، ۵، ۹، ۱۲ و شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. بیش‌ترین میزان کلروفیل کل در موتانت‌های ٤، ٦ و ۱۸ مشاهده شد، در حالی‌که کم‌ترین آن متعلق به موتانت‌های ۱، ۵، ۹، ۱۲ و شاهد بود. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان کاروتنوئید، به‌ترتیب متعلق به موتانت ۱۸ و شاهد بود (جدول ۲). همبستگی منفی معنی‌داری بین میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی با LT_{50} و غلظت مالون دی آلدهید مشاهده شد، در حالی‌که با سایر صفات اندازه‌گیری شده این همبستگی مثبت و معنی‌دار بود (جدول ۳).

افزایش بیش‌تر در محتوای کلروفیل در کلون‌های موتانت نسبت به شاهد ممکن است به این واقعیت نسبت داده شود که پرتودهی گاما با دوز پایین (۳٦ گری) باعث بهبود قابلیت‌های فتوسنتزی گیاهان تحت پرتودهی شود. پژوهش‌ها نشان داده است سطوح بالای پرتو گاما با ایجاد اختلال در بیوسنتز یا تجزیه کلروفیل، فتوسنتز را کاهش می‌دهد، هم‌چنین این امر هم‌چنین می‌تواند به‌دلیل کاهش الگوی سازمان‌یافته گرانا و استرومای تیلاکوئیدهای تحت تیمار پرتودهی باشد (۵۸). اگرچه، پرتودهی گاما با دوز پایین ممکن است با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن رنگدانه‌های کلروفیل را از بین ببرد. در پژوهشی محتوای کلروفیل در گیاهان *Lablab purpureus* L.، *Vigna unguiculata* L. و *Phaseolus vulgaris* L. در دوزهای پایین کاهش و در دوزهای بالاتر افزایش یافت (۵۹، ٦۰). پرتودهی گاما در کاهو در دوزهای ۲ تا ۳۰ گری، سطح رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها) افزایش داد، اما پرتودهی با دوزهای بالاتر (تا ۷۰ گری) سطح رنگدانه‌های فتوسنتزی را کاهش داد (٤۸). پس از پرتودهی فلفل قرمز (۱٦ گری) و لوپین (۲۰ گری) محتوای کلروفیل کل به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت (۱۲، ٦۱). علاوه‌بر این، در پژوهشی دیگر کلروفیل عملاً تحت‌تأثیر سطوح پایین تابش گاما قرار نگرفت (۱۳).

نتیجه‌گیری

پرتودهی جوانه‌های گیاهان روشی مؤثر برای اصلاح ارقام گیاهی است. در مطالعه حاضر اختلاف معنی‌داری بین موتانت‌های انار از نظر تحمل به یخ‌زدگی مشاهده شد. در این مطالعه، کلون‌های موتانت ٦، ٤، ۱۳ و ۱۸ به‌طور معنی‌داری میزان پرولین، کربوهیدرات‌های محلول، فنول کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و رنگیزه‌های فتوسنتزی بیش‌تر و مالون دی آلدهید کم‌تری نسبت به شاهد داشتند، بنابراین به‌نژادگران قادر خواهند بود از پتانسیل ژنتیکی این موتانت‌ها در برنامه‌های اصلاحی آینده جهت کشت در مناطق سرد استفاده کنند.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای برای حمایت‌های لازم از این پژوهش قدردانی می‌گردد.

منابع

1.Beyaz, R., & Yildiz, M. (2017). The use of gamma irradiation in plant mutation breeding. *Plant engineering*, 17, 32-43.

2.Jankowicz-Cieslak, J., Tai, T. H., Kumlehn, J., & Till, B. J. (2017). Biotechnologies for plant mutation breeding: *Springer Nature Protocols*, (p. 340).

3.Kovacs, E., & Keresztes, A. (2002). Effect of gamma and UV-B/C radiation on plant cells. *Micron*, 33 (2), 199-210.

4.Ashraf, M. U. H. A. M. M. A. D., Cheema, A. A., Rashid, M. U. H. A. M. M. A. D., & Qamar, Z. (2004). Effect of gamma rays on M~ l generation in basmati rice. *Pakistan Journal of Botany*, 35 (5; SPI), 791-796.

5.Fan, J., Shi, M., Huang, J. Z., Xu, J., Wang, Z. D., & Guo, D. P. (2014). Regulation of photosynthetic performance and antioxidant capacity by 60Co γ-irradiation in *Zizania latifolia* plants. *Journal of Environmental Radioactivity*, 129, 33-42.

6.Beyaz, R., Sancak, C., Yildiz, Ç., Kuşvuran, Ş., & Yildiz, M. (2016). Physiological responses of the M1 sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop) plants to gamma radiation. *Applied Radiation and Isotopes*, 118, 73-79.

7.Gumus, T., Albayrak, S., Sagdic, O., & Arici, M. (2011). Effect of gamma irradiation on total phenolic contents and antioxidant activities of Satureja hortensis, Thymus vulgaris, and Thymbra spicata from Turkey. *International Journal of Food Properties*, 14 (4), 830-839.

8.Peng, Q., & Zhou, Q. (2008). Effect of lanthanum on the flavonoids contents and antioxidant capacity in soybean seedling under ultraviolet-B stress. *Huanjing Kexue*, 29 (7), 2024-2027.

9.El-Beltagi, H. S., Ahmed, O. K., & El-Desouky, W. (2011). Effect of low doses γ-irradiation on oxidative stress and secondary metabolites production of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) callus culture. *Radiation Physics and chemistry*, 80 (9), 968-976.

10.Variyar, P. S., & Bandyopadhyay. (1998). Effect of gamma-irradiation on the phenolic acids of some Indian spices. *International journal of food science & technology*, 33 (6), 533-537.

11.Rogozhin, V. V., Kuriliuk, T. T., & Filippova, N. P. (2000). Change in the reaction of the antioxidant system of wheat sprouts after UV-irradiation of seeds. *Biofizika*, 45 (4), 730-736.

12.Khodary, S., & Moussa, H. (2003). Influence of gamma radiation and/or salinity stress on some physiological characteristics of lupine plants. *Egyptian Journal of Biotechnol*, 13, 29-36.

13.Kim, J. H., Baek, M. H., Chung, B. Y., Wi, S. G., & Kim, J. S. (2004). Alterations in the photosynthetic pigments and antioxidant machineries of red pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings from gamma-irradiated seeds. *Journal of Plant Biology*, 47, 314-321.

14.Wi, S. G., Chung, B. Y., Kim, J. H., Baek, M. H., Yang, D. H., Lee, J. W., & Kim, J. S. (2005). Ultrastructural changes of cell organelles in Arabidopsis stems after gamma irradation. *Journal of Plant Biology*, 48, 195-200.

15.Dehpour, J. A. A., Gholampour, M., Rahdary, P., Jafari, T. M. R., & Hamdi, S. M. M. (2011). Effect of gamma irradiation and salt stress on germination, callus, protein and proline in rice (*Oryza sativa* L.). *Iranian Journal of Plant Physiol*, 1 (4), 251-256.

16.Omar, M. S., Yousif, D. P., Al-Jibouri, A. J. M., Al-Rawi, M. S., & Hameed, M. K. (1993). Effects of gamma rays and sodium chloride on growth and cellular constituents of sunflower (*Helianthus annuus* L.) callus cultures. *Journal of Islamic Academic of Science*, 6 (1), 69-72.

17.Yadegari, L. Z., Heidari, R., & Carapetian, J. (2007). The influence of cold acclimation on proline, malondialdehyde (MDA), total protein and pigments contents in soybean (*Glycine max*) seedlings. *Journal of Biological Sciences*, 23 (3), 1141-1436.

18.Al-Rumaih, M. M., & Al-Rumaih, M. M. (2008). Influence of ionizing

radiation on antioxidant enzymes in three species of Trigonella. *American Journal of Environmental Sciences*, 4 (2), 151.

19. Falahati, A., Kazemitabar, S. K., Bahrami, A. R., Lahouti, M., & Rahimi, M. F. (2007). The study of gamma irradiation effects on drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Indian Journal of Crop Science*, 2 (1), 155-158.
20. Noh, S. A., & Kim, J. K. (2003, July). The relationship between carbohydrate content and gamma irradiation during rooting of chrysanthemum cuttings. In Proceedings of the Korean Nuclear Society Spring Meeting. *Proceedings of the Korean Nuclear Society Spring Meeting*, 10p.
21. Meerts, I. A. T. M., Verspeek-Rip, C. M., Buskens, C. A. F., Keizer, H. G., Bassaganya-Riera, J., Jouni, Z. E., ... & Van de Waart, E. J. (2009). Toxicological evaluation of pomegranate seed oil. *Food and Chemical Toxicology*, 47 (6), 1085-1092.
22. Yazdanpanah, P., Jonoubi, P., Zeinalabedini, M., Rajaei, H., Ghaffari, M. R., Vazifeshenas, M. R., & Abdirad, S. (2021). Seasonal metabolic investigation in pomegranate (*Punica granatum* L.) highlights the role of amino acids in genotype-and organ-specific adaptive responses to freezing stress. *Frontiers in Plant Science*, 12, 699139.
23. Vitasse, Y., Lenz, A., & Körner, C. (2014). The interaction between freezing tolerance and phenology in temperate deciduous trees. *Frontiers in Plant Science*, 5, 107326.
24. Campos, P. S., nia Quartin, V., chicho Ramalho, J., & Nunes, M. A. (2003). Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of *Coffea* sp. plants. *Journal of plant physiology*, 160 (3), 283-292.
25. Thomashow, M. F. (1999). Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. *Annual review of plant biology*, 50 (1), 571-599.
26. Gao, J. C., Wang, H. X., & Li, X. X. (2010). Relationship between soluble protein, MDA, and jujube (Ziziphus mauritiana) tree cold hardiness. *Beifang Yuanyi (Northern Horticulture)*, 23, 18-20.
27. Santarius, K. A. (1992). Freezing of isolated thylakoid membranes in complex media. VIII. Differential cryoprotection by sucrose, proline and glycerol. *Physiologia Plantarum*, 84 (1), 87-93.
28. Saadati, S., Baninasab, B., Mobli, M., & Gholami, M. (2019). Measurements of freezing tolerance and their relationship with some biochemical and physiological parameters in seven olive cultivars. *Acta Physiologiae Plantarum*, 41, 1-11.
29. Soloklui, A. A. G., Ershadi, A., & Fallahi, E. (2012). Evaluation of cold hardiness in seven Iranian commercial pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. *HortScience*, 47(12), 1821-1825.
30. Karimi, R. (2020). Cold hardiness evaluation of 20 commercial table grape (*Vitis vinifera* L.) cultivars. *International journal of fruit science*, 20 (3), 433-450.
31. Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99 (1), 191-203.
32. Chalker-Scott, L. (1988). Relationships between endogenous phenolic compounds of rhododendron tissues and organs and cold hardiness development. Oregon State University. *Horticulture*. 300p.
33. Hubackova, M. (1982). Effect of the lignification of grapevine shoots on the frost resistance of buds in winter. *Sbornik UVTIZ*, 9, 271-274.
34. Rahemi, M., & Pakkish, Z. (2009). Determination of chilling and heat requirements of pistachio (Pistacia vera L.) cultivars. *Agricultural Sciences in China*, 8 (7), 803-807.
35. Johnson-Flanagan, A. M., & Owens, J. N. (1985). Peroxidase activity in relation to suberization and respiration in white spruce (*Picea glauca* [Moench]

Voss) seedling roots. *Plant Physiology*, 79 (1), 103-107.
36. Tadjvar, Y., Fotouhi Ghazvini, R., Hamidoghli, Y., & Hassan Sajedi, R. (2011). Physiological and biochemical responses of page mandarin on citrange rootstock to low temperature stress. *Iranian Journal of Plant Biology*, 3 (9), 1-12. [In Persian]
37. Vedadi, S., Naserian, B., Tabatabei, S. Z., & Rahimi, M. (2014). Determination of suitable dose of gamma ray for mutation induction in pomegranate buds (*Punica granatum* L. cv. Malase Saveh). *Journal of Nuclear Science, Engineering and Technology*, 35 (3), 85-85. [In Persian]
38. Barranco, D., Ruiz, N., & Gómez-del Campo, M. (2005). Frost tolerance of eight olive cultivars. *HortScience*, 40 (3), 558-560.
39. Bates, L. S., Waldren, R. P. A., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39, 205-207.
40. Irigoyen, J. J., Einerich, D. W., & Sánchez-Díaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia plantarum*, 84 (1), 55-60.
41. Folin, O., & Ciocalteu, V. (1927). On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *The Journal of biological Chemistry*, 73 (2), 627-650.
42. Cheung, L. M., Cheung, P. C., & Ooi, V. E. (2003). Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chemistry*, 81 (2), 249-255.
43. Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of biochemistry and biophysics*, 125 (1), 189-198.
44. Lichtenthaler, H. K. (1987). [34] Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology*. (Vol. 148, pp. 350-382). Academic Press.
45. Aly, A. A., & El-Beltagi, H. E. (2010). Influence of ionizing irradiation on the antioxidant enzymes of *Vicia faba* L. *Grasas Y aceites*, 61 (3), 288-294.
46. Jan, S., Parween, T., Siddiqi, T. O., & Mahmooduzzafar. (2012). Effect of gamma radiation on morphological, biochemical, and physiological aspects of plants and plant products. *Environmental Reviews*, 20 (1), 17-39.
47. Calabrese, E. J. (2002). Hormesis: changing view of the dose-response, a personal account of the history and current status. *Mutation Research/ Reviews in Mutation Research*, 511 (3), 181-189.
48. Marcu, D., Cristea, V., & Daraban, L. (2013). Dose-dependent effects of gamma radiation on lettuce (Lactuca sativa var. capitata) seedlings. *International Journal of Radiation Biology*, 89 (3), 219-223.
49. Shikazono, N., Suzuki, C., Kitamura, S., Watanabe, H., Tano, S., & Tanaka, A. (2005). Analysis of mutations induced by carbon ions in Arabidopsis thaliana. *Journal of Experimental Botany*, 56 (412), 587-596.
50. Rana, S., Kumar, R., Sultana, S., & Sharma, R. K. (2010). Radiation-induced biomarkers for the detection and assessment of absorbed radiation doses. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 2 (3), 189-196.
51. Kaur, H., Bhardwaj, R. D., & Grewal, S. K. (2017). Mitigation of salinity-induced oxidative damage in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings by exogenous application of phenolic acids. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39, 1-15.
52. Kiong, A. L. P., Lai, A. G., Hussein, S., & Harun, A. R. (2008). Physiological responses of Orthosiphon stamineus plantlets to gamma irradiation. *American-Eurasian journal of sustainable agriculture*, 2 (2), 135-149.
53. Cansev, A., Gulen, H., & Eris, A. (2009). Cold-hardiness of olive (*Olea europaea* L.) cultivars in cold-acclimated and non-acclimated stages: seasonal alteration of antioxidative enzymes and dehydrin-like proteins.

The Journal of Agricultural Science, 147 (1), 51-61.

54. Kim, M. Y., Im, S. J., Kim, J. H., Kim, I. J., Lee, H. Y., Lee, D. S., & Moon, S. (2012). Changes in the phenolic composition of citrus fruits and leaves prepared by gamma irradiation of budsticks. *Life Science Journal*, 9 (3), 1281-1285.
55. Saadati, S., Baninasab, B., Mobli, M., & Gholami, M. (2021). Foliar application of potassium to improve the freezing tolerance of olive leaves by increasing some osmolite compounds and antioxidant activity. *Scientia Horticulturae*, 276, 109765.
56. Hodges, D. M., DeLong, J. M., Forney, C. F., & Prange, R. K. (1999). Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 207, 604-611.
57. Li, J., Arkorful, E., Cheng, S., Zhou, Q., Li, H., Chen, X., ... & Li, X. (2018). Alleviation of cold damage by exogenous application of melatonin in vegetatively propagated tea plant (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). *Scientia Horticulturae*, 238, 356-362.
58. Strid, Å., Chow, W. S., & Anderson, J. M. (1990). Effects of supplementary ultraviolet-B radiation on photosynthesis in Pisum sativum. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1020 (3), 260-268.
59. Azigwe, C., Zoryeku, P. A. D., Asante, I. K., & Oppong-Adjei, F. (2020). Effect of gamma irradiation on chlorophyll content in the cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). *Ghana Journal of Science*, 61 (2), 113-117.
60. Sinha, S. S. N., & Himanshu, R. S. (1984). Effect of gamma irradiation on chlorophyll metabolism in Dolichos, vigna and Phaseolus species. *Cytologia*, 49 (2), 279-287.
61. Kim, J. H., Chung, B. Y., Kim, J. S., & Wi, S. G. (2005). Effects of in planta gamma-irradiation on growth, photosynthesis, and antioxidative capacity of red pepper (*Capsicum annuum* L.) plants. *Journal of Plant Biology*, 48, 47-56.