



مقاله پژوهشی

ارزیابی تحمل به شوری ژنوتیپ‌های موتانت برنج (M_3) با تاکید بر شاخص‌های تحمل به تنش در مرحله گیاهچه‌ای

لیلا خزائی^۱، رضا شیرزادیان خرم‌آباد^۲، علی اکبر عبادی^۳ و علی مومنی^۴

۱- دانش آموخته دکتری، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، پردیس دانشگاهی، دانشگاه گیلان، و محقق، موسسه تحقیقات برنج کشور،

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

۲- دانشیار گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت، ایران، (نویسنده مسئول: R.shirzadian@guilan.ac.ir)

۳- استادیار پژوهش، موسسه تحقیقات برنج کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

۴- استاد پژوهش، موسسه تحقیقات برنج کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، معاونت مازندران، آمل، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۵/۱

صفحه: ۶۹ تا ۸۲

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: تنش شوری یکی از سخت‌ترین محدودیت‌های تولید برنج در سراسر جهان است. بنابراین، با توسعه ارقام برنج متحمل به شوری می‌توان زمینه افزایش تولید این محصول را به دلیل اثرات تغییرات اقلیمی فراهم نمود.

مواد و روش‌ها: جهت بررسی واکنش ژنوتیپ‌های موتانت نسبت به تنش شوری در مرحله گیاهچه، ۳۰۹ ژنوتیپ موتانت منتخب در نسل سوم به همراه رقم محلی هاشمی و رقم $FL478$ (متحمل) در دو سطح شوری NaCl (۰ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر مربع) به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در دو تکرار در گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفتند. پارامترهای رشدی مانند طول ریشه، طول ساقه، وزن خشک و تر ریشه، وزن گیاهچه، نسبت طول ساقه به ریشه و نسبت وزن ساقه به ریشه اندازه‌گیری شد. شاخص تحمل به تنش (STI)، شاخص شدت تنش (SSI)، میانگین حسابی عملکرد (MP)، شاخص تحمل (TOL) و میانگین هندسی عملکرد (GMP) هر ژنوتیپ برای همه صفات محاسبه شد.

یافته‌ها: گستره وسیعی از تنوع ژنتیکی در میان ژنوتیپ‌ها برای صفات مورد مطالعه مشاهده شد که صفات ریشه‌ای به‌عنوان بهترین شاخص برای تحمل در شرایط تنش شوری شناسایی شدند. بر اساس نتایج حاصل از همبستگی بین شاخص‌ها در سطح تنش، STI، HMP و GMP به‌عنوان شاخص‌های مطلوب مقاومت تعیین شدند. شاخص‌های پاسخ به تنش شوری به‌منظور گروه‌بندی تعداد ۱۴۴ ژنوتیپ موتانت استفاده شد. ۲۵ ژنوتیپ موتانت (۱۷/۴ درصد) به‌عنوان بسیار حساس به شوری، ۴۶ ژنوتیپ موتانت (۳۲/۶ درصد) همراه با والد هاشمی در گروه حساس به شوری، ۴۱ ژنوتیپ موتانت با $FL478$ (۲۹/۲ درصد) در گروه متحمل و ۳۰ ژنوتیپ موتانت (۲۰/۸ درصد) به‌عنوان بسیار متحمل به‌شوری شناسایی شدند. در میان ژنوتیپ‌های موتانت، ۴ ژنوتیپ موتانت em_3hs290 ، em_3hs292 ، em_3hs165 و em_3hs84 بر اساس شاخص‌های تحمل به تنش، حداقل لوله شدن برگ، میزان زیست‌توده بالا و توانایی جبران بهتر تنش، به‌عنوان متحمل‌ترین ژنوتیپ‌ها شناسایی شدند. همچنین ژنوتیپ موتانت em_3hs31 نیز با داشتن حداقل عملکرد در سطح تنش به‌عنوان حساس‌ترین ژنوتیپ معرفی شد.

نتیجه‌گیری: جهش‌القایی EMS تأثیر مطلوبی در ایجاد ژنوتیپ‌های موتانت متحمل به شوری داشته و از شاخص‌های مورد مطالعه می‌توان برای جداسازی ژنوتیپ‌های موتانت متحمل به شوری در جمعیت‌های موتانت برنج استفاده کرد. این جمعیت موتانت می‌تواند به‌عنوان یک منبع ژنتیکی ارزشمند برای توسعه ارقام جدید مقاوم به شوری برای مناطق مستعد شوری زیر کشت برنج استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: اتیل متان سولفانات، برنج محلی، جهش، شوری، متحمل

مقدمه

تنش‌های غیرزیستی محدودیت بزرگی برای تولید محصول و امنیت غذایی در جهان می‌باشند (۱۶). در میان تنش‌های غیرزیستی، نفوذ نمک به‌عنوان یک مشکل نوظهور در ۸۳۰ میلیون هکتار زمین از مناطق ساحلی سراسر جهان، به‌ویژه کشورهای در حال پیشروی سطح دریا است (۴۹، ۱۲). شوری خاک از طریق انباشت یون‌های سدیم با آنیون‌های غالب کلراید و سولفات مشخص می‌شود که باعث افزایش هدایت الکتریکی بیشتر از چهار دسی‌زیمنس بر متر می‌شود (۴، ۹). معمولاً تجمع زیاد نمک‌های محلول در سطح خاک از طریق عوامل طبیعی یا انسانی، باعث شوری خاک می‌شود (۲۹). شوری به‌عنوان یک محدودیت بزرگ در تولید محصولات کشاورزی باعث ایجاد شرایط نامطلوب محیطی و هیدرولوژیکی می‌شود که می‌تواند تولید محصول را در سراسر مناطق ساحلی محدود کند (۲۵، ۵۴). برنج غذای اصلی و مهم، نیمی از جمعیت روبرشد جهان است که بیش از ۲۰ درصد کالری مصرفی این جمعیت رو به رشد را تأمین می‌کند. از آنجاکه رشد فزاینده جمعیت جهان و تغییرات آب‌وهوایی غیرقابل‌انکار است، بنابراین موضوع شوری در کشت برنج به‌عنوان یک موضوع مهم برای استفاده بالقوه از این اراضی از طریق توسعه ارقام مناسب برنج با عملکرد بالا و متحمل به تنش شوری به‌منظور پاسخگویی به این اندازه جمعیت در حال رشد تبدیل شده است (۲۴، ۵۲). برنج معمولاً یک محصول حساس به تنش شوری است، اما سطح حساسیت آن در مراحل مختلف رشد و نمو متفاوت است (۵۱). برنج در مراحل اولیه رویشی و اواخر زایشی بسیار حساس است (۱۰). تغییرات فرایندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مختلف که در سلول‌های گیاهی تحت تنش شوری رخ می‌دهد، باعث مهار رشد و در نتیجه کاهش شدید عملکرد می‌شود (۲۱). شوری بر رشد گیاهچه برنج تأثیر می‌گذارد و باعث آسیب برگ، تأخیر در ظهور خوشه و کاهش عملکرد با کاهش در طول خوشه، تعداد سنبلچه در خوشه‌ها و در نتیجه کاهش تعداد دانه‌ها می‌شود (۶۱). به‌طور کلی، شوری از طریق تنش اسمزی، تنش سمیت یونی، تنش هموستازی یونی و تنش اکسیداتیو روی روی رشد برنج تأثیر منفی می‌گذارد (۲۱، ۳۲). تحمل به شوری به‌دلیل اثرات متعدد حاصل از غلظت بالای نمک،

تنش‌های غیرزیستی محدودیت بزرگی برای تولید محصول و امنیت غذایی در جهان می‌باشند (۱۶). در میان تنش‌های غیرزیستی، نفوذ نمک به‌عنوان یک مشکل نوظهور در ۸۳۰ میلیون هکتار زمین از مناطق ساحلی سراسر جهان، به‌ویژه کشورهای در حال پیشروی سطح دریا است (۴۹، ۱۲). شوری خاک از طریق انباشت یون‌های سدیم با آنیون‌های غالب کلراید و سولفات مشخص می‌شود که باعث افزایش هدایت الکتریکی بیشتر از چهار دسی‌زیمنس بر متر می‌شود (۴، ۹). معمولاً تجمع زیاد نمک‌های محلول در سطح خاک از طریق عوامل طبیعی یا انسانی، باعث شوری خاک می‌شود (۲۹). شوری به‌عنوان یک محدودیت بزرگ در تولید محصولات کشاورزی باعث ایجاد شرایط نامطلوب محیطی و هیدرولوژیکی می‌شود که می‌تواند تولید محصول را در سراسر مناطق ساحلی محدود کند (۲۵، ۵۴). برنج غذای اصلی و مهم، نیمی از جمعیت روبرشد جهان است که بیش از ۲۰ درصد کالری مصرفی این جمعیت رو به رشد را تأمین می‌کند. از آنجاکه رشد فزاینده جمعیت جهان و تغییرات آب‌وهوایی

هدف از اجرای این پژوهش بررسی و ارزیابی تحمل به تنش شوری کلریدسديم ($NaCl$) جمعیت موتانت انتخابی نسل M_3 همراه با دو رقم شاهد یعنی هاشمی و رقم متحمل بین المللی ($FL478$) در مرحله گیاهچه‌ای و عکس‌العمل آنها نسبت به تنش شوری با استفاده از پارامترهای مختلف رشدی می‌باشد. همچنین ژنوتیپ‌های متحمل به تنش شوری با استفاده از شاخص‌های تحمل به تنش برای استفاده در برنامه‌های بهترادی نیز شناسایی شده است.

مواد و روش‌ها

ابتدا به‌منظور بررسی آستانه تحمل رقم والد هاشمی برای تعیین غلظت بهینه، تعداد ۲۰ بذر جوانه‌دار رقم هاشمی در دو تکرار در پنج ظرف حاوی محلول یوشیدا قرار داده شد. دو هفته پس از استقرار گیاهچه‌ها، $NaCl$ به محلول‌های غذایی اضافه شد. آزمایش بررسی تأثیر تنش شوری بر رقم شاهد هاشمی در پنج سطح (صفر، ۶، ۱۰، ۱۴ و ۱۸ دسی زیمنس بر متر) انجام شد. هدایت الکتریکی و pH محلول تا دوهفته پس از تنش شوری کنترل شد. گیاهچه‌های هاشمی از نظر وضعیت رشدی ساقه، ریشه و برگ گیاهچه‌ها تا ۱۴ روز پس از تنش شوری کنترل شد. صفات مورد بررسی شامل کاهش رشد و سطح برگ‌ها، لوله‌ای شدن برگ‌ها، سفیدی نوک برگ‌ها و نکروزه شدن آنها و در نهایت مرگ گیاهچه‌ها بود. سپس صفات مورد اشاره ۱۴ روز پس از اعمال تنش شوری در تمامی گیاهچه‌های رقم شاهد در همه سطوح شوری اعمال شده ثبت و بررسی شد. سپس بعد از انتخاب غلظت بهینه، تأثیر تنش شوری بر صفات مورفولوژیکی ۳۰۹ ژنوتیپ موتانت برنج هاشمی (M_3) حاصل از ماده جهش‌زای اتیل متان سولفونات (۰/۸ درصد) به همراه والد مادری و رقم متحمل ($FL478$) در سال ۱۳۹۸ در مؤسسه تحقیقات برنج کشور در رشت در آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در دو تکرار در سطوح شوری صفر و ۱۰ دسی زیمنس بر متر مورد بررسی قرار گرفت.

بذور موتانت، ابتدا با محلول دو درصد هیپوکلریت سدیم برای ۱۰ دقیقه ضدعفونی و سپس بذرهای ژرمیناتور منتقل و به مدت پنج‌روز در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا عمل جوانه‌زنی انجام شود. بذرهای جوانه‌زده به صفحات یونولیت مشبک با ابعاد $30 \times 34 \times 2$ سانتی‌متر حاوی سوراخ‌های با قطر یک سانتی‌متر انتقال داده شدند. در هر سوراخ روی یونولیت دو بذر جوانه‌زده، نشاء شد. صفحه‌های یونولیت روی ظروف ۱۰ لیتری حاوی محلول یوشیدا (۶۰) قرار داده شدند و محلول هر هشت روز یکبار تعویض شد. در هر ظرف ۱۱ ژنوتیپ و از هر ژنوتیپ ۱۰ گیاه قرار داشت. pH محلول (۵/۵)، هفته‌ای سه بار کنترل شده تا در صورت افزایش توسط HCl یک نرمال تنظیم شود. پس از گذشت دوهفته از نگهداری بذرهای جوانه‌دار در محلول غذایی یوشیدا، تیمار شوری $NaCl$ با غلظت (صفر و ۱۰ دسی زیمنس بر متر) بر روی گیاهچه‌های سه برگی اعمال شد. برای اندازه‌گیری خصوصیات گیاهچه (مرتبط با تنش شوری) از گیاهانی که ۱۴ روز در محلول یوشیدا (۶۰) کشت شده‌اند و

به‌عنوان یک صفت پیچیده به شمار می‌رود؛ بنابراین غربال تحمل به تنش شوری به چندین روش و آزمایش در مراحل مختلف رشدی نیاز دارد. به‌طورکلی مراحل حیاتی متعددی در غربال تحمل برنج به تنش شوری وجود دارد که عبارتند از: مرحله جوانه‌زنی (۴۷)، مرحله اولیه رویشی یا گیاهچه (۵۶) و مرحله زایشی (۶۵،۵۵). غربال جوانه‌ها و مرحله اولیه رویشی یک روش غربال سریع برای شناسایی ارقام متحمل برنج است که به طور گسترده استفاده می‌شود (۵، ۱۳، ۴۷).

امروزه اساس اصلاح گیاهان بر تنوع ژنتیکی، انتخاب، ارزیابی، شناسایی و کلون کردن واریته‌های جدید است. تنوع ژنتیکی اساس فرایندهای تکاملی و بهترادی گیاهان را تشکیل می‌دهد که ایجاد و توسعه آن از طریق جهش یا هیبریداسیون و به دنبال آن انتخاب ژنوتیپ‌ها امکان‌پذیر است (۳۶، ۳۵). میزان جهش خودبه‌خودی در گیاهان عالی بسیار پایین (۱۰^{-۵} تا ۱۰^{-۸}) است (۳۷). لذا القای جهش یک روش مهم برای افزایش فراوانی جهش به‌شمار می‌رود (۱۱، ۴۱) و امکان مطالعات ژنومیک کارکردی و توسعه ژنوتیپ‌های جدید را فراهم می‌کند. لذا محصولات زراعی با محدودیت تنوع ژنتیکی، به جهش‌زایی یا القاء جهش به‌منظور ایجاد تنوع مطلوب و وراثت‌پذیر نیاز دارند (۴۸). استفاده از مواد جهش‌زای فیزیکی و شیمیایی می‌تواند برای توسعه و ترکیب ژنهای جدید یا آللهایی با اهمیت زراعی، بسیار مهم باشد و باعث سازگاری و پایداری بیشتر ژنوتیپ‌ها به شرایط آب و هوایی و خاک شود. مواد جهش‌زای شیمیایی، خصوصاً اتیل متان سولفونات (EMS)^۱ به‌دلیل کارایی بالا، سهولت استفاده، فراوانی بالای موتاسیون نقطه‌ای، برگشت‌ناپذیری و قابل استفاده بودن در هر ژنوتیپی، بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۷، ۵۹). روش جهش برای بهبود صفات مهم زراعی، از تحمل به تنش‌های زنده (مانند شوری، سرما، اسیدیته و...) تا مقاومت به بیماری، از کیفیت غذایی تا بازاریابی و از ساختار گیاه تا پتانسیل عملکرد محصول به کار گرفته شده است (۵۲، ۲۶). استراتژی اصلی در اصلاح بر پایه جهش، ایجاد سریع واریته‌های گیاهی سازگار با تغییر یک یا دو صفت اصلی است (۲، ۳۱). لی و همکاران (۳۹) با استفاده از پرتوتابی لاین‌های القایی جهش‌یافته متحمل به تنش شوری در برنج ایجاد کردند.

باقری و همکاران (۸) برای دستیابی به لاین‌های مناسب برای اراضی شور، نسل چهارم موتانت حاصل از ارقام طارم محلی، حسنی و عنبربو تحت تیمار پرتو گاما را در قالب طرح آگمنت در آمل در شرایط نرمال و در ناحیه جویبار، شور کشت و ارزیابی کردند. بر اساس عملکرد و شاخص‌های ارزیابی تحمل به شوری تعداد ۱۴ لاین موتانت برتر نسبت به شاهد (رقم طارم محلی) متحمل به شوری شناخته شده و انتخاب شدند. احمدی خواه و همکاران (۳)، تنوع ژنتیکی لاین‌های موتانت نسل M_2 برنج رقم ندا با ماده جهش‌زای اتیل متان سولفونات را در مرحله گیاهچه‌ای و شرایط مزرعه برای تحمل به شوری مورد بررسی قرار دادند. نه لاین متحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای و سه لاین متحمل به شوری در شرایط مزرعه شناسایی شدند.

بوته تصادفی از هر تکرار اندازه‌گیری و سپس میانگین آن‌ها ثبت شد.

۵- وزن کل گیاهچه: شامل وزن تر و خشک کل گیاهچه توسط ترازوی حساس بادقت ۰/۰۰۱ گرم در پنج بوته تصادفی از هر تکرار اندازه‌گیری و سپس میانگین آن‌ها ثبت شد.

۶- کد ژنوتیپی: توسط جدول ۱ (۲۳) در پنج بوته تصادفی از هر تکرار سنجش شد. در این روش امتیازدهی نسبی است و مطابق روش استاندارد ارزیابی تهیه شده توسط IRRI با نمره یک برای تحمل و نه برای حساس انجام می‌شود (۲۳).

بیشتر صفاتی که در این مرحله مورد ارزیابی قرار می‌گیرند، به‌عنوان صفات و خصوصیات مرتبط با تحمل یا حساسیت به تنش شوری معرفی شده‌اند (۲۳).

سپس ۱۴ روز تیمار شوری روی آنها اعمال شد، استفاده شد. صفات مورد بررسی عبارتند از:

۱- طول ریشه: فاصله نوک ریشه اصلی تا محل طوقه بر حسب سانتی‌متر با خط‌کش در پنج بوته تصادفی از هر تکرار اندازه‌گیری و سپس میانگین آن‌ها ثبت شد.

۲- طول اندام هوایی: فاصله طوقه تا نوک ساقه اصلی بر حسب سانتی‌متر با خط‌کش در پنج بوته تصادفی از هر تکرار اندازه‌گیری و سپس میانگین آن‌ها ثبت شد.

۳- وزن ریشه: شامل وزن تر و وزن خشک ریشه توسط ترازوی حساس مدل سارتریوس بادقت ۰/۰۰۱ گرم در پنج بوته تصادفی از هر تکرار اندازه‌گیری و سپس میانگین آن‌ها ثبت شد.

۴- وزن اندام هوایی: شامل وزن تر اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی توسط ترازوی حساس بادقت ۰/۰۰۱ گرم در پنج

جدول ۱- ارزیابی استاندارد ژنوتیپ‌ها برای تحمل به شوری

Table 1. Standard evaluation of genotypes fot salinity tolerance (Gregorio et al., 1997).

Score کد	observation مشاهده	Tolerance تحمل
1	رشد نرمال، بدون علائم برگری (Normal growth, no leaf symptoms)	بسیارمقاوم (Highly tolerance)
3	رشد تقریباً نرمال، برگ‌ها در نوک سفید شده و تعداد کمی از برگ‌ها سفید و لوله شده (Nearly normal growth, but leaf tips or few leaves whitish and rolled)	مقاوم (Tolerance)
5	رشد عقب افتاده، بسیاری از برگ‌ها لوله شده، تعدادی از برگ‌ها بلندند (Growth severely retarded; most leaves moderately rolled; only a few are elongating)	نسبتاً مقاوم (Moderately tolerance)
7	رشد متوقف، بسیاری از برگ‌ها خشک و تعدادی از گیاهان مرده‌اند (Complete cessation of growth; most Susceptible leaves dry; some plants dying)	حساس (Susceptible)
9	همه گیاهان مرده و خشک‌اند (Almost all plants dead or dying)	بسیار حساس (Highly susceptible)

(HMP)^۶ طبق روابط موجود در جدول ۲ محاسبه شد. در این روابط Y_p وزن خشک کل گیاهچه‌ها در شرایط بدون تنش، Y_s وزن خشک کل گیاهچه‌ها در شرایط تنش، $Y_p - Y_s$ میانگین وزن خشک کل گیاهچه‌ها در شرایط بدون تنش، Y_s میانگین وزن خشک کل گیاهچه‌ها در شرایط تنش می‌باشد.

همچنین برای تعیین میزان تحمل ژنوتیپ‌های مورداستفاده و ارزیابی واکنش آنها به شوری برای دو سطح شوری صفر و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر، شاخص‌های شدت تنش (۱۸) SSI^1 ، تحمل به تنش فرناندز (۱۷) STI^2 ، تحمل روزیل و هامبلین (۲۸) TOL^3 ، میانگین حسابی عملکرد روزیل و هامبلین (۲۸) MP^4 ، میانگین هندسی عملکرد (۱۷) GMP^5 و میانگین هارمونیک عملکرد (۵۳)

1- Stress susceptibility index
4- Mean Productivity

2- Stress Tolerance Index
5- Geometric Mean Productivity

3- Tolerance index
6- Harmonic Mean Productivity

جدول ۲- شاخص‌های تحمل به تنش مورد مطالعه در این تحقیق

Table 2. Stress tolerance indices studied in this research

منبع Source	روابط Relations	شاخص‌های تحمل به تنش Stress tolerance indices
Fischer and Maurer, 1978	$SSI = \frac{1 - (\frac{Y_s}{Y_p})}{1 - (\frac{\bar{Y}_s}{\bar{Y}_p})}$	شاخص حساسیت به تنش (Stress susceptibility index)
Fernandez, 1992	$STI = \frac{(Y_s \times \bar{Y}_p)}{\bar{Y}_p^2}$	شاخص تحمل به تنش (Stress Tolerance Index)
Hossain et al., 1990	$TOL = Y_p - Y_s$	تحمل (Tolerance index)
Hossain et al. 1990	$MP = \frac{1}{2} (Y_p + Y_s)$	میانگین حسابی عملکرد (Mean Productivity)
Fernandez, 1992	$GMP = (Y_p \times Y_s)^{0.5}$	میانگین هندسی عملکرد (Geometric Mean Productivity)
Rosielle and Hamblin, 1981	$HMP = \frac{2(Y_s \times Y_p)}{(Y_s + Y_p)}$	میانگین هارمونیک (Harmonic Mean Productivity)

Y_s: وزن خشک کل گیاهچه‌ها در شرایط تنش (Plantlet total weight under stress)، Y_p: وزن خشک کل گیاهچه‌ها در شرایط بدون تنش (Plantlet dry weight under normal condition)، $\bar{Y}_s$: میانگین وزن خشک کل گیاهچه‌ها در شرایط تنش (Mean of dry weight of all plantlets under stress)، $\bar{Y}_p$: میانگین وزن خشک کل گیاهچه‌ها در شرایط بدون تنش (Mean of dry weight of all plantlets under normal condition)

دسی زیمنس بر متر در مقایسه با تیمار شاهد بدون تنش قرار گرفتند و خصوصیات مورفولوژیکی آنها پس از تنش و بدون تنش با رقم والد هاشمی و رقم مقاوم بین‌المللی FL478 مقایسه شد. اثرات شوری را به‌راحتی می‌توان به‌صورت علائم سفید شدن و نکروز برگ‌های پایین، کاهش سطح برگ‌ها، مرگ نوک برگ‌ها، لوله شدن برگ‌ها و در نهایت مرگ گیاهچه مشاهده کرد. معیارهای ارزیابی و غربال کردن تحمل به شوری در گیاهان زراعی بسته به سطح و مدت‌زمان تنش شوری و مرحله رشدی گیاه متفاوت است. به‌طور کلی، ارزیابی تحمل به تنش شوری از نظر میزان زیست‌توده یا عملکرد نسبت به شرایط بدون تنش انجام می‌شود. در شرایط شوری کم تا متوسط، پتانسیل تولید ژنوتیپ اغلب مناسب‌ترین روش اندازه‌گیری است، درحالی‌که اغلب در سطوح شوری بالا از توانایی زنده‌مانی گیاه استفاده می‌شود (۱۵). بر اساس این استاندارد IRRI در روز چهاردهم تنش شوری، گیاهچه‌های متحمل اثرات جزئی مانند قهوه‌ای شدن نوک برگ‌ها نشان دادند. گیاهچه‌های نسبتاً متحمل اثرات بیشتری روی برگ‌ها نشان دادند یعنی برگ‌های مسن‌تر مرده و برگ‌های جوان‌تر فقط قسمت‌های پایین آنها سبز مانده و گیاهچه‌های حساس مرده‌اند. توانایی ژنوتیپ برای زنده ماندن و تکمیل چرخه زندگی در شوری بسیار بالا، صرف‌نظر از پتانسیل عملکرد در سطح شوری متوسط، به‌عنوان مفهوم مطلق متحمل محسوب می‌شود؛ بنابراین غربال کردن برای تحمل به شوری با خسارت برگی روش رایجی است (۲۳). پس از دوهفته تنش شوری، تنها ۱۴۲ ژنوتیپ موتانت موفق به تولید هر دو بخش (ریشه‌چه و ساقه‌چه) شدند و بقیه ژنوتیپ‌ها بر اثر تنش از بین رفتند. بنابراین، خصوصیات مورفولوژیکی ۱۴۲ گیاهچه فوق در این آزمایش اندازه‌گیری شد. کد ژنوتیپی آنها بر اساس معیارهای امتیاز مقاومت جدول (۲۳) نمره‌دهی شدند (جدول ۳ ضمائم) و بر اساس جدول کد ژنوتیپی، ۱۶۷ ژنوتیپ موتانتی که بر اثر آزمایش تنش شوری از بین رفتند و کد ژنوتیپی ۹، یعنی وضعیت بسیار حساس را گرفتند. بر اساس این نتایج، ۱۶۷ ژنوتیپ موتانت به‌دلیل کاهش معنی‌دار طول ساقه و

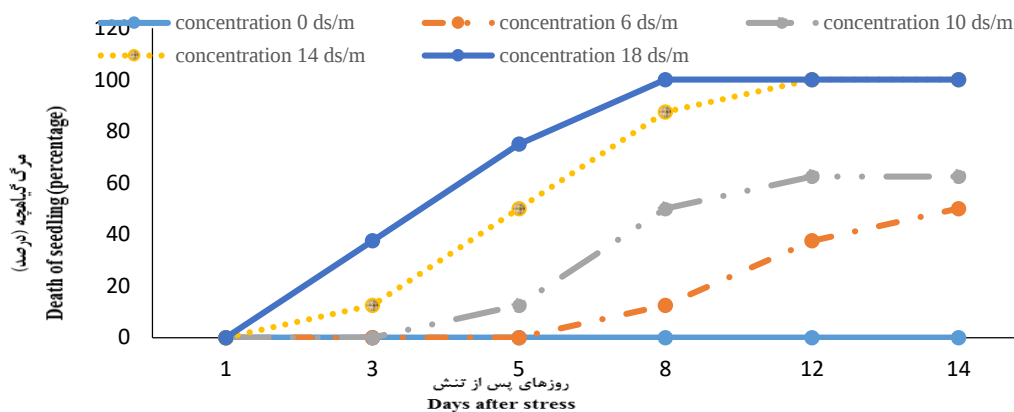
داده‌های حاصل با نرم‌افزارهای SAS نسخه ۹/۲ و SPSS نسخه ۲۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین آنها نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد انجام شد. ضریب همبستگی بین شاخص‌های تحمل به تنش و گروه‌بندی ژنوتیپ‌های موتانت از نظر شاخص‌های تحمل به تنش نیز محاسبه شد.

نتایج و بحث

نتایج بررسی آستانه تحمل به شوری در غلظت‌های مختلف بر روی رقم هاشمی نشان داد که پس از ۱۴ روز تنش شوری، ۱۰۰ درصد گیاهچه‌های هاشمی تحت تنش شوری ۱۴ و ۱۸ دسی زیمنس بر متر، و ۵۰ درصد و ۶۲/۵ درصد گیاهچه هاشمی نیز در غلظت‌های شش و ۱۰ دسی زیمنس بر متر از بین رفتند. نتایج نشان داد در غلظت شش دسی زیمنس بر متر گیاهچه‌های هاشمی متحمل به تنش کمترین افت خصوصیات رشد و نمو را داشتند، اما تیمار ۱۰ دسی زیمنس بر متر تأثیر منفی شدیدی بر تمام خصوصیات مورد مطالعه نشان داد، به‌طوری‌که میزان رشد ساقه‌چه و ریشه‌چه در مقایسه با شاهد تفاوت قابل‌توجهی نشان داد که نشان‌دهنده آستانه کاهش عملکرد خصوصیات رشد و نمو گیاهچه‌های هاشمی در غلظت ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر بوده است. نتایج حاکی از آن است که با افزایش شوری آستانه تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای کاهش می‌یابد. منحنی واکنش درصد مرگ گیاهچه‌های هاشمی نسبت به سطوح شوری در کلیه سطوح بعد از آستانه تحمل به‌صورت خطی است و با افزایش شوری از درصد تحمل به تنش کاسته شد (شکل ۱). افزایش شوری باعث کاهش طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه در گیاهچه برنج می‌شود. در واقع اثرات شوری روی برنج موجب کاهش جوانه‌زنی بذر، کاهش رشد و بقای گیاهچه‌ها می‌شود (۴۰). در نهایت مقدار ۱۰ دسی زیمنس بر متر به‌عنوان حد بحرانی برای گیاهچه‌های موتانت مورد مطالعه انتخاب و ۳۰۹ ژنوتیپ موتانت M₃ پس از ۱۴ روز تحت تیمار NaCl در غلظت ۱۰

NaCl و جذب نامتعادل مواد غذایی به‌وسیله گیاهچه‌ها باشد. این اثرات زیان‌بار شوری باعث کاهش معنی‌دار در میزان فتوسنتز و افزایش میزان تنفس گیاهچه‌ها می‌شود که موجب عدم هماهنگی در اندام‌های درحال‌رشد و کند شدن یا توقف کامل رشد می‌شود (۱۴).

ریشه و کاهش زیست‌توده ریشه و ساقه و نیز کاهش شدید رشد گیاهچه‌ها، این ژنوتیپ‌ها به‌عنوان ژنوتیپ‌های حساس شناخته شدند و در آزمایش‌های بعدی مورد استفاده قرار نگرفتند و تنها ۱۴۲ گیاهچه متحمل برای مطالعات بیشتر به نسل‌های بعد منتقل شد. کاهش قابل‌توجه در رشد گیاهچه‌ها تحت تنش شوری ممکن است به‌دلیل اثرات سمی افزایش



شکل ۱- مرگ گیاهچه‌های والد هاشمی (درصد) در غلظت‌ها و روزهای مختلف پس از تیمار شوری تا روز چهاردهم
Figure 1. Death of Hashemi parent seedlings (percentage) in different concentrations and days after salinity treatment until the fourteenth day

درحالی‌که ژنوتیپ‌های حساس در شرایط تنش در غلظت ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر کمترین مقدار را نشان دادند (شکل ۲). طبق نظر پژوهشگران اندازه‌گیری میزان رشد اندام‌های هوایی از معیارهای مهم در انتخاب رقم‌های مقاوم به شوری است (۴۲).

نتایج آزمایش تنش شوری نشان داد که صفات طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و نسبت طول ساقه به ریشه و نسبت وزن ساقه به ریشه بیشترین مقدار را در تیمار شاهد (در شرایط نرمال) و ژنوتیپ‌های متحمل در شرایط تنش (کد ۳) داشتند،



شکل ۲- وضعیت رشد و نمو گیاهچه‌های موتانت مورد مطالعه در شرایط تنش شوری
Figure 2. Growth and developmental status of studied mutant seedlings under salinity stress conditions

M_3 بود و عمل انتخاب را می‌توان برای صفات مرتبط با شوری و میزان حداکثری عملکرد ژنوتیپ‌ها را در شرایط تنش شوری فراهم ساخت. در واقع نشان‌دهنده این است که شرایط بدون تنش و تنش شوری (۱۰ دسی‌زیمنس بر متر) پس از ۱۴ روز اثر یکسانی روی صفات نداشتند. این بیانگر این است که تمامی صفات اندازه‌گیری شده تحت‌تأثیر اثرات اصلی فاکتورهای اعمال شده قرار گرفته‌اند و تغییر کرده‌اند.

تجزیه واریانس تفاوت معنی‌دار ($p \leq 0.001$) بین ۱۴۲ ژنوتیپ موتانت M_3 ، رقم والد هاشمی و رقم مقاوم بین‌المللی FL478، تیمارهای شوری (صفر و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر) و بر همکنش آنها برای همه صفات اندازه‌گیری شده مورفولوژیکی ساقه و ریشه نشان داد (جدول ۴). این نتیجه بیانگر وجود تنوع برای صفات ارزیابی‌شده در مرحله گیاهچه‌ای در شرایط تنش شوری روی ۱۴۲ ژنوتیپ موتانت

جدول ۴- تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی ۱۴۲ ژنوتیپ موتانت M₃ و ارقام شاهد در شرایط تنش شوریTable 4. Analysis of variance of morphological traits on 142 M₃ mutant genotypes and control varieties under salinity stress

منابع تغییر	درجه آزادی	طول ساقه	طول ریشه	وزن ساقه	وزن ریشه	وزن کل گیاهچه	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه	وزن خشک کل	نسبت طول ساقه به ریشه	نسبت وزن ساقه به ریشه
Source change	df	Stem lenght	Root lenght	Stem weight	Root weight	Plant total weight	Stem dry weight	Root dry weight	Total dry weight	Rate of stem length to root	Total dry weight
رقم (Variety)	143	46.57**	12.97**	0.054**	0.051**	0.18**	0.002**	0.0001**	0.003**	0.92**	0.04**
تنش (Stress)	1	86736.2**	719.15**	40.9**	16.8**	110.05**	0.6**	0.028**	0.88**	340.5**	15.18*
رقم × تنش (Variety*Stress)	143	38.02**	3.27**	0.04**	0.032**	0.13**	0.002**	0.0001**	0.002**	0.579**	0.04**
خطا (Error)	292	24.85	1.31	0.026	0.011	0.06	0.001	0.00003	0.001	0.196	0.02
ضریب تغییرات		13.07	10.7	22.5	18.6	19.8	12.6	2.5	7.3	12.4	13.9

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

** is significant at probability of 1%

و *em₃hs157* کاهش ۴۵ و ۵۸/۳ درصدی این صفت در ژنوتیپ‌های *em₃hs53* و *em₃hs69* شد. ژنوتیپ‌ها از نظر طول ریشه‌چه در شرایط شاهد تنوع بیشتری نسبت به تیمار تنش داشتند، علت این موضوع می‌تواند فراهم بودن عوامل مطلوب برای رشد ریشه در شرایط بدون تنش و کاهش آن با افزایش شوری باشد. در تنش شوری اعمال شده، طول ریشه‌چه در اکثر ژنوتیپ‌ها به جز لاین‌های *em₃hs116*، *em₃hs122*، *em₃hs141*، *em₃hs157*، *em₃hs187* و *em₃hs292* کاهش پیدا کرده است. در این ژنوتیپ طول ریشه‌چه در شوری ds/m10 نسبت به شاهد افزایش نشان داده است، این ژنوتیپ‌های موتانت سطح بیشتری از ریشه را برای جذب آب دارند، وجود غشاء سلول‌های ریشه به عنوان اولین مانع در برابر ورود سدیم و کلر به درون گیاه، سازوکاری جهت تحمل به شوری در آنها است (۱۹). صفت وزن‌تر گیاهچه برای همه ژنوتیپ‌های مورد بررسی در شرایط تنش شوری کاهش یافت و گستره آن از ۰/۹۷۵ گرم (*em₃hs290*) تا ۰/۱۶۵ گرم (*em₃hs109*) با میانگین ۰/۴۲ گرم متغیر بود، به طوری که در مقایسه با شرایط نرمال از ۲/۱۱ گرم (*em₃hs121*) تا ۰/۴۶۵ گرم (*em₃hs145*) با میانگین ۱/۲۴ گرم برای هر گیاهچه متفاوت بود. همچنین وزن تر گیاهچه رقم متحمل *FL478* و والد هاشمی در شرایط تنش به ترتیب ۰/۳۱ گرم و ۰/۲۲۵ گرم بود. هرچه ژنوتیپ‌های موتانت زیست توده بالاتری داشته باشند، کد ژنوتیپی پایین‌تر و مقبول‌تری را در مواجهه با شوری خواهند داشت. تنش شوری ابتدا باعث کاهش پتانسیل آب در اطراف ریشه و در نتیجه تنش اسمزی می‌شود. این تنش باعث کاهش توانایی گیاه در جذب آب و در نهایت کاهش رشد و نمو برگ و رشد گیاه می‌شود. این عامل باعث کاهش قابل‌ملاحظه وزن تر و خشک شاخساره می‌شود (۴۳). نتایج شیو و همکاران (۵۶) نشان داد، لاین‌های موتانت گیاه *Tainung 67* حاصل از تیمار EMS، ارتفاع بیشتر و وزن تر بیشتری در مقایسه با تیپ وحشی (بدون موتاژن) داشتند. این لاین‌ها از نظر ظاهر نیز مطلوب‌تر از لاین شاهد (بدون موتاژن) بودند.

نتایج میانگین صفات مورد مطالعه روی ۱۴۲ ژنوتیپ موتانت M₃، رقم والد هاشمی و رقم متحمل *FL478* در جدول (۳) ضماّم) آمده است. نتایج مقایسه میانگین صفت طول ساقه‌چه نشان داد، طول ساقه‌چه ژنوتیپ‌های مورد بررسی در شرایط تنش شوری در مقایسه با شرایط نرمال کاهش یافت. تیمار NaCl به طور قابل توجهی رشد ساقه‌چه ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را مهار کرد. در شرایط نرمال طول ساقه‌چه از ۶۴/۶ سانتی‌متر (*em₃hs166*) تا ۳۶/۱ سانتی‌متر (*em₃hs137*) با میانگین ۵۰/۷ سانتی‌متر متغیر بود، اما در شرایط تنش شوری طول ساقه‌چه برای همه ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به طور قابل توجهی از ۴۱ سانتی‌متر (*em₃hs187*) تا ۱۹ سانتی‌متر (*em₃hs64*) با میانگین ۲۵/۷ سانتی‌متر کاهش یافت. این در حالی است که طول ساقه‌چه گیاهچه‌های متحمل *FL478* و رقم والد هاشمی در شرایط تنش به ترتیب ۲۴/۷۵ سانتی‌متر و ۲۱/۵ سانتی‌متر بود. تفاوت بین مهار رشد در ساقه‌چه ژنوتیپ‌های موتانت و والد هاشمی ۷ روز بعد از اعمال تنش شوری آشکارتر شد. کاهش طول ساقه‌چه در اثر شوری می‌تواند به علت کاهش رشد سلول و سنتز مواد دیواره‌ای باشد (۲۰). احتمالاً اثر منفی شوری بر روی گیاهان، برانگیزنده پتانسیل اسمزی در محیط کشت می‌گردد. بنابراین سلول‌های ریشه نمی‌توانند آب مورد نیاز را از محیط کشت دریافت و به سمت اندام هوایی انتقال دهند. به هر حال جذب بسیاری از مواد غذایی حل‌شده در آب برای گیاهان از طریق شوری محدودکننده است (۳۲). صفت طول ریشه نیز در ژنوتیپ‌های مورد بررسی روند مشابهی را دنبال کرد، به طوری که در شرایط تنش شوری نسبت به شرایط نرمال کاهش معنی‌دار نشان داد. نتایج مقایسه میانگین صفت طول ریشه‌چه در شرایط شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر نشان داد که ژنوتیپ‌های موتانت *em₃hs292* (۱۵ سانتی متر) و *em₃hs157* (۱۴/۵ سانتی متر) بیشترین و ژنوتیپ‌های *em₃hs53* (۵/۵ سانتی متر) و *em₃hs69* (۵ سانتی متر) کمترین طول ریشه را در مقایسه با والد هاشمی (۷/۵ سانتی‌متر) و رقم *FL478* (۱۱ سانتی‌متر) داشتند. تنش شوری ناشی از کلرید سدیم به ترتیب باعث افزایش ۳/۳ و ۷/۴ درصدی طول ریشه‌چه در ژنوتیپ‌های *em₃hs292*

داده‌های صفت وزن خشک ریشه‌چه ۱۴۲ گیاهچه موتانت بیانگر این است ۶۷ ژنوتیپ موتانت دارای وزن خشک ریشه چه بیشتری نسبت به والد هاشمی داشتند. مقایسه میانگین صفات نشان داد که بیشترین وزن خشک ریشه‌چه در بین ژنوتیپ‌های موتانت در شرایط تنش و بدون تنش به‌ترتیب متعلق به ژنوتیپ‌های موتانت *em3hs290* (0/03 گرم) و *em3hs185* (۰/۰۷ گرم) بود، در صورتی که وزن خشک ریشه‌چه در رقم والد هاشمی و رقم متحمل *FL478* به‌ترتیب ۰/۱۵ و ۰/۰۱ گرم بود. وزن خشک ریشه‌چه ژنوتیپ‌های موتانت در شرایط تنش شوری نسبت به شرایط بدون تنش به‌ترتیب ۴۸ درصد کاهش نشان دادند که بیانگر تفاوت شدت اثر تنش بر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه است که بر توانمندی ژنتیکی ژنوتیپ‌های موتانت نسبت محیط شاهد و اهمیت آن در حفظ عملکرد ماده خشک در محیط تنش تاکید می‌کند. در بررسی انجام شده روی رقم برنج ایرانی و خارجی در چهار سطح شوری (۰، ۳۰، ۶۰ و ۷۰ میلی‌مولار) وزن خشک ریشه‌چه در ارقام برنج تحت شرایط افزایش غلظت کلرید سدیم کاهش معنی‌داری یافت (۳۰). نتایج مقایسه میانگین صفت وزن خشک ساقه‌چه نشان داد شوری اثر بیشتری بر کاهش رشد و وزن خشک ساقه‌چه نسبت به ریشه‌چه دارد که می‌توان نتیجه گرفت، ساقه‌چه به شوری حساس‌تر از ریشه‌چه است. در شرایط تنش شوری، ژنوتیپ‌های *em3hs292* (۰/۰۷) و *em3hs290* (۰/۰۷ گرم) بیشترین و ژنوتیپ‌های *em3hs15* (۰/۰۱۱۵ گرم)، *em3hs88* (۰/۰۱۱ گرم) و *em3hs43* (۰/۰۱۱۵ گرم) کمترین وزن خشک ساقه‌چه را تولید کردند، در حالی که وزن خشک ساقه‌چه رقم والد هاشمی و رقم متحمل *FL478* به‌ترتیب ۰/۰۲ گرم و ۰/۰۳ گرم بود. نتایج بالا نشان می‌دهد که ساقه‌چه ژنوتیپ‌های موتانت نسبت به تنش شوری پاسخ متفاوتی را نشان دادند. حسینی و همکاران (۳۰) بیان داشتند که وزن خشک اندام هوایی در ارقام برنج خارجی و داخلی، با افزایش غلظت کلرید سدیم در محیط ریشه گیاه، کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد. به‌طور کلی، گونه‌ها و یا ژنوتیپ‌های مختلف یک گیاه باتوجه به سازوکارهای مختلف فیزیولوژیک و مورفولوژیک، تحمل متفاوتی به تنش شوری از خود بروز می‌دهند. اثر صفت وزن خشک کل گیاهچه بر روی ژنوتیپ‌ها، تیمار تنش و بر همکنش ژنوتیپ در تنش شوری معنی‌دار شد (جدول ۴). ژنوتیپ‌های موتانت *em3hs290* (۰/۱ گرم) و *em3hs292* (۰/۰۹۵ گرم) در شرایط تنش شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر کلرید سدیم بیشترین و ژنوتیپ موتانت *em3hs15* (۰/۰۲ گرم) کمترین وزن خشک گیاهچه را تولید کردند. نتایج مقایسه میانگین حاصل از صفت وزن خشک کل گیاهچه نشان داد که این شاخص در ژنوتیپ‌های موتانت *em3hs292* و *em3hs290* از شوری متأثر نشده و تغییر معنی‌داری نسبت به شرایط نرمال نداشته‌اند. احتمال می‌رود توانایی ژنوتیپ‌های *em3hs292* و *em3hs290* در ممانعت از انتقال سدیم به برگ‌ها به دلیل کاهش نیافتن وزن خشک گیاهچه‌ها بر اثر شوری در این ژنوتیپ‌ها باشد. جدول ۳ (پیوست) نشان داد بیشتر ژنوتیپ‌های موتانت حاصل از رقم هاشمی وزن خشک گیاهچه بیشتری نسبت به رقم شاهد

(۰/۰۴۵ گرم) و والد هاشمی (۰/۰۳ گرم) داشتند و از نظر آماری به روش 5% LSD معنی‌دار بودند. در شرایط نرمال، ژنوتیپ‌های موتانت *em3hs9* (۰/۰۴۱ گرم) و *em3hs15* (۰/۰۳ گرم) به ترتیب بیشترین و کمترین وزن خشک گیاهچه را تولید کردند. تنش شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر باعث کاهش ۴۴/۴ و ۳۳/۳ درصدی وزن خشک گیاهچه در ژنوتیپ‌های موتانت *em3hs290* و *em3hs15* شد. ژنوتیپ موتانت *em3hs290* با داشتن زیست‌توده بالا توانستند با رقیق‌سازی یون سدیم در اندام‌های خود واکنش بهتری به شوری داشته باشد. این توانمندی به گیاهچه ژنوتیپ‌های ذکر شده کمک می‌کند که به‌رغم عدم افزایش چشمگیر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، در تنش شوری به رشد و نمو طبیعی خود ادامه دهند و تنش محیطی حداقل آسیب را به آنها وارد کند. در صورتی که رشد یک گیاه تحت‌تأثیر شوری به نسبتی از رشد تحت شرایط غیر شور، می‌تواند معیار مناسبی برای مقاومت به شوری باشد. در این صورت ماده خشک کل، معیار مناسبی برای سنجش رشد گیاه است (۷). براین اساس چنانچه ماده خشک تولیدی یک گیاه بیشتر باشد، امتیاز ژنوتیپی کمتری را به خود اختصاص می‌دهد. نتایج مقایسه میانگین صفت نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه نشان داد بیشترین نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه گیاهچه در شرایط تنش مربوط به ژنوتیپ‌های موتانت *em3hs188* (۵۵/۰۵) و *em3hs290* (۵۰/۷) و کمترین نسبت مربوط به ژنوتیپ موتانت *em3hs64* (۲۵/۳) در مقایسه با والد هاشمی (۲۹) و رقم متحمل (۳۵/۷۵) بود. با افزایش شوری نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه کاهش یافت که نشان‌دهنده حساسیت بیشتر ریشه‌چه به تنش شوری نسبت به ساقه‌چه است. نتایج مقایسه میانگین صفت نسبت وزن تر ساقه‌چه به ریشه‌چه نشان داد بیشترین نسبت وزن تر ساقه‌چه به ریشه‌چه گیاهچه در شرایط تنش مربوط به ژنوتیپ‌های موتانت *em3hs293* (۰/۰۹۵) و *em3hs290* (۰/۱) و کمترین نسبت مربوط به ژنوتیپ موتانت *em3hs88* (۰/۰۲۱) در مقایسه با والد هاشمی (۰/۰۳) و رقم متحمل (۰/۰۴۵) بود. نتایج نشان داد در شرایط تنش شوری، ۸۴ ژنوتیپ موتانت دارای نسبت وزن تر ساقه‌چه به ریشه‌چه بیشتری نسبت به والد هاشمی دارند. متوسط نسبت وزن تر ساقه‌چه به ریشه‌چه در شرایط تنش ۰/۰۵ بود. تنوع بالاتر نسبت وزن تر ساقه‌چه به ریشه‌چه در شرایط تنش و همچنین نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه نشان داد که گیاه در شرایط تنش از سازوکارهای مرتبط با ریشه مانند استفاده از موایع مانند غشای سلول‌های سطح ریشه یا غشای سلول‌های پارانشیمی بین ریشه و ساقه برای جلوگیری از ورود سدیم استفاده می‌کند، ولی اختلاف بین ارقام متحمل و حساس نسبت به تنش شوری از نظر اندام‌های هوایی در تنش‌های بالاتر ظاهر می‌شود. نتایج این تحقیق نشان داد که میزان کاهش این نسبت در ارقام متحمل نسبت به ارقام حساس به‌مراتب کمتر بود. کاهش در این نسبت احتمالاً به این دلیل رخ می‌دهد که در ریشه واکوئل یکی از مکان‌های ذخیره یون‌های نمکی در شرایط تنش شوری است. از طرفی با افزایش شوری ریشه یون‌ها را به سمت شاخساره هدایت

می‌کند و یا آن‌ها را به سمت خاک خارج می‌نماید. درحالی‌که یون‌های نمکی موجود در شاخساره فقط می‌توانند به سمت ریشه حرکت نمایند که این عمل در مقایسه با سرعت حرکت یون‌های نمکی ریشه به مراتب کندتر انجام گرفته و بنابراین صدمات بیشتری به شاخساره وارد می‌آید. از طرفی در منابع مختلف عنوان شده است که یکی دیگر از دلایل کاهش بیشتر رشد شاخساره نسبت به ریشه کمتر کردن نیاز آبی گیاه از طریق می‌باشد که از نظر تکاملی یک راه بسیار مطلوب برای سازگاری گیاه به تنش اسمزی می‌باشد (۴۴). تنوع طبیعی قابل توجهی برای پارامترهای رشدی در شرایط تنش شوری مشاهده شد و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به تیمار شوری واکنش‌های متفاوتی داشتند که نشان‌دهنده تنوع زیاد در بین ژنوتیپ‌ها می‌باشد. به‌طور کلی، تیمارهای شوری بر روی پارامترهای رشدی تأثیر منفی داشتند (شکل ۱).

ارزیابی شاخص‌های تنش شوری در جمعیت موتانت نسل M₃

یکی از شاخص‌های مورد مطالعه در این آزمایش، شاخص حساسیت به تنش (SSI) بود که پایین بودن مقدار آن نشان‌دهنده تحمل بیشتر ژنوتیپ به تنش است. نتایج نشان داد که بر پایه SSI ژنوتیپ‌های موتانت *em₃hs9* و *em₃hs13* در گروه حساس به شوری و ژنوتیپ‌های موتانت *em₃hs165* و *em₃hs301* در گروه مقاوم به شوری قرار می‌گیرند. از نظر شاخص تحمل (TOL)، مقادیر بالای آن نشانگر حساسیت بیشتر به تنش بوده و مقادیر کمتر آن مطلوب‌تر است. ژنوتیپ موتانت *em₃hs9* و *em₃hs13* کمترین حساسیت را به تنش نشان داد، پس از آن ژنوتیپ‌های موتانت *em₃hs165*، *em₃hs301* و *em₃hs303* به‌عنوان محتمل‌ترین ژنوتیپ شناخته شدند. از لحاظ شاخص تحمل به تنش (STI) و میانگین بهره‌وری تولید (MP) ژنوتیپ موتانت *em₃hs15* کمترین و ژنوتیپ‌های موتانت *em₃hs9* و *em₃hs290* بیشترین مقدار این شاخص‌ها را به‌ترتیب به خود اختصاص دادند. باین‌حال انتخاب ژنوتیپ‌ها بر اساس این شاخص زمانی سودمند است که شدت تنش و اختلاف بین عملکرد در سطح بدون تنش و دارای تنش زیاد نباشد (۵۸). همچنین ژنوتیپ موتانت *em₃hs137* و *em₃hs15* و ژنوتیپ‌های موتانت *em₃hs137* و *em₃hs290* از لحاظ شاخص GMB و HMB به‌ترتیب کمترین و بیشترین مقدار را به خود اختصاص دادند. بیشترین مقدار شاخص STI، MP، GMP و HMP متعلق به ژنوتیپ‌های

جدول ۵- نتایج همبستگی شاخص‌های تحمل به تنش شوری در گیاهچه ژنوتیپ‌های مورد مطالعه

Table 5. Correlation coefficients of stress tolerance indices in studied genotypes seedling

	Y _s	Y _p	SSI	STI	TOL	MP	GMP	HMP
Y _s	1							
Y _p	0/15	1						
SSI	-0.545**	0.573**	1					
STI	0.747**	0.712**	0.064	1				
TOL	-0.184*	0.944**	0.751**	0.459**	1			
MP	0.441**	0.953**	0.354**	0.873**	0.801**	1		
GMP	0.466**	0.936**	0.361**	0.874**	0.775**	0.991**	1	
HMP	0.924**	0.435**	-0.201*	0.917**	0.124	0.676**	0.705**	1

* و ** معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

*, ** are significant at probability of 5 % and 1%

همبستگی‌های بالای ۰/۶ به‌عنوان همبستگی معنی‌دار و اثرگذار هستند. همبستگی‌های کمتر از ۰/۶ که معنی‌دار شده به علت تعداد زیاد ژنوتیپ‌های مورد مطالعه می‌باشد و گرته ارتباط بین صفاتی که همبستگی آنها از ۰/۶ کمتر است ارتباط معنی‌دار نمی‌باشد.

تجزیه خوشه‌ای شاخص‌های تنش

نمودار تجزیه خوشه‌ای شاخص‌های تحمل به تنش حاصل از گروه‌بندی ژنوتیپ‌های موتانت، رقم والد هاشمی و رقم متحمل FL478 به روش Ward و به‌صورت نمودار درختی آمده است (شکل ۳). بر اساس تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌ها در چهار گروه اصلی بسیار حساس، حساس، متحمل و بسیار متحمل به شوری قرار گرفتند. ۲۵ ژنوتیپ در گروه بسیار حساس، ۴۶ ژنوتیپ به همراه رقم والد هاشمی در گروه حساس، ۴۱ ژنوتیپ موتانت به همراه رقم متحمل FL478 در گروه متحمل به شوری و ۳۰ ژنوتیپ موتانت در گروه بسیار متحمل قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تفاوت چهار گروه برای صفات مورد مطالعه معنی‌دار می‌باشد.

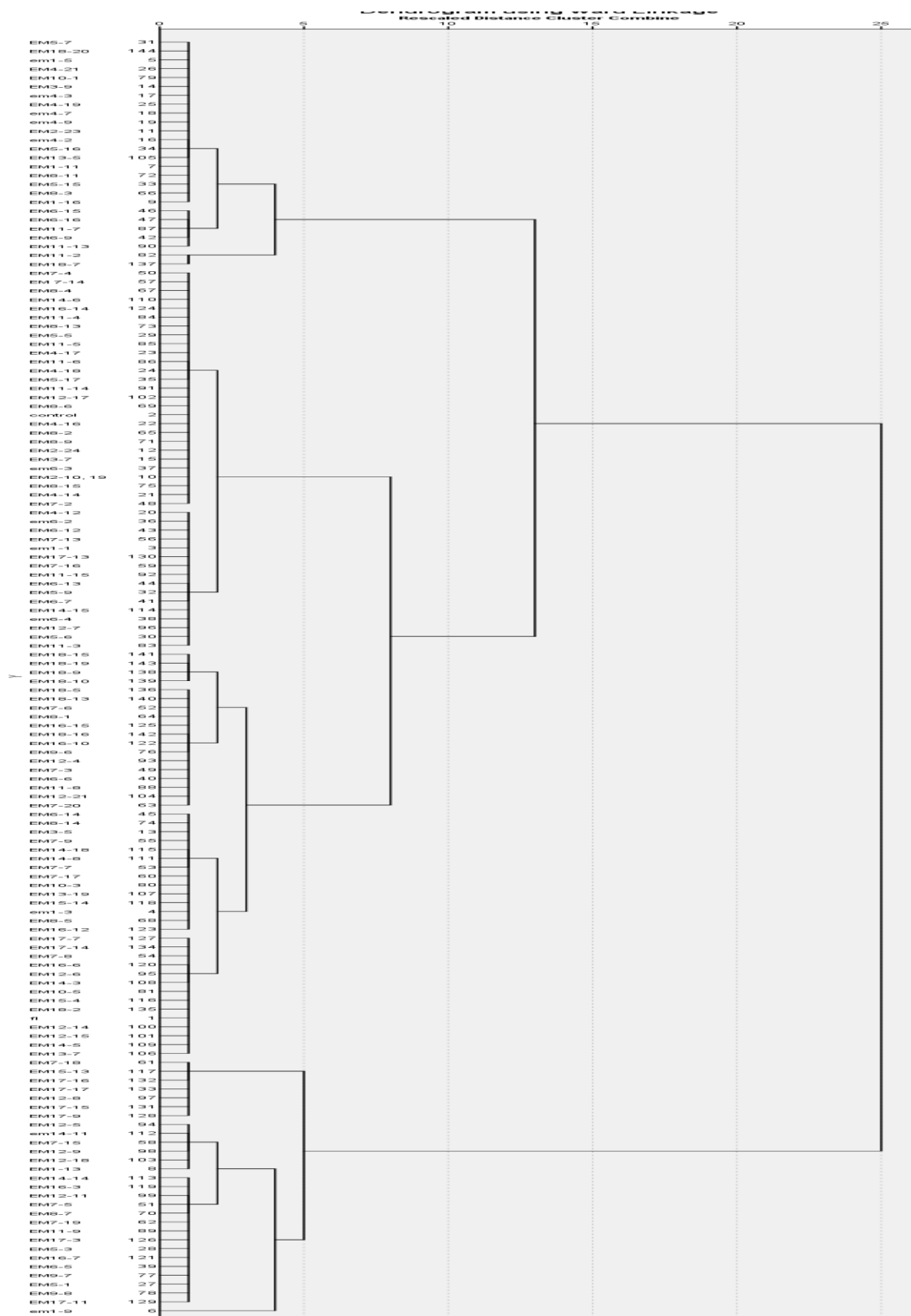
نخستین گروه شامل ژنوتیپ‌های موتانت و لاین متحمل به شوری FL478 را در خود جای داد. ژنوتیپ‌های این گروه مقادیر بسیار بالایی را برای بیشتر صفات نشان دادند که نشان‌دهنده تحمل این ژنوتیپ‌ها به تنش شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر بود. ژنوتیپ‌های متحمل *em3hs84*، *em3hs301* و *em3hs165* در این گروه قرار گرفت. گروه اول، دارای صفات‌های گیاهچه‌ای شاخصی (از جمله طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، طول کلئوپتیل، وزن تر گیاهچه و وزن خشک ساقه‌چه) نسبت به سایر ژنوتیپ‌های مورد بررسی بودند. گروه دوم شامل ژنوتیپ‌های بودند که از نظر بیشتر صفات مورد مطالعه دارای مقادیر کمی بودند. از ویژگی مهم ارقام گروه دوم می‌توان به وضعیت نامطلوب همه صفات‌های گیاهچه‌ای نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها اشاره کرد. گروه سوم شامل ژنوتیپ‌های موتانت حساس و رقم والد هاشمی بود که از نظر بیشتر صفات همانند گروه دوم مقادیر کمی داشتند. گروه چهارم نیز شامل ژنوتیپ‌های متحمل و بسیار متحمل *em3hs290* و *em3hs292* بود که از نظر صفات مورد مطالعه مقادیر بالایی داشتند. نسبت طول ریشه‌چه به طول ساقه‌چه، وزن تر ریشه‌چه، وزن تر ساقه‌چه، نسبت وزن تر ریشه‌چه به وزن تر ساقه‌چه ژنوتیپ‌های موتانت متحمل در گروه اول و چهارم در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌های موتانت حساس و رقم والد هاشمی در وضعیت مطلوب‌تری قرار داشتند. برای حصول اطمینان از نقطه برش دندوگرام و تعیین تعداد واقعی گروه‌ها از تابع تشخیص استفاده شد که نتایج آن صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای را ۱۰۰ درصد نشان داد. مطالعات متعددی برای ارزیابی تحمل به شوری در برنج از تجزیه کلاستر استفاده و ارقام حساس و متحمل را تفکیک کردند (۱، ۳۴).

نتایج این مطالعه نشان داد که ژنوتیپ‌های موتانت از نظر ویژگی‌های مورفولوژیکی در شرایط تنش و نرمال، تنوع

ژنتیکی قابل‌توجهی دارند. همچنین، در بین ژنوتیپ‌های موتانت تنوع چشمگیری در پاسخ به تنش شوری مشاهده شد. در مقایسه با اندام هوایی، ریشه گیاه برنج به تنش شوری حساس‌تر بوده و با سرعت بیشتری به تنش پاسخ داد (۵۰). هنگامی که ریشه به‌شدت آسیب می‌بیند، رشد ساقه‌ها به‌دلیل مهار جذب عناصر ضروری از طریق سیستم آوند چوبی در ریشه‌ها متوقف می‌شود (۳۸). به طور کلی رشد اندام‌های هوایی به‌دلیل کاهش تنش اسمزی ناشی از سطح برگ نسبت به ریشه در شرایط تنش شوری حساسیت بیشتری نشان داد (۴۶). حفظ سطح برگ سبز یا سبزمان گیاه از عوامل مؤثر در تحمل به شوری در ژنوتیپ‌های موتانت برنج بود، اختلاف بین ژنوتیپ‌های جهش‌یافته و رقم والد مادری از نظر صفات مورد بررسی نشان‌دهنده تنوع بین آنها می‌باشد، به نظر می‌رسد که بتوان از تنوع ژنتیکی مشاهده شده در توسعه تحمل به شوری در جمعیت موتانت و نیز در راستای مدیریت زراعی تولید برنج در شرایط شور بهره‌برداری کرد. البته تنها تنوع و اختلاف نمی‌تواند مهم باشد، بلکه تنوعی ارزشمند است که مفید و مطلوب باشد. یعنی ژنوتیپ‌های جهش‌یافته از نظر صفات مورد بررسی نسبت به رقم مادری برتر باشند. در این آزمایش نیز با مقایسه میانگین‌ها مشخص شد که بسیاری از ژنوتیپ‌های موتانت جهش‌یافته از نظر صفات مورد بررسی نسبت به والد خود برتری داشتند. این برتری احتمالاً به‌دلیل توانایی تحمل به شوری این ژنوتیپ‌ها با اتخاذ برخی مکانیسم‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و شیمیایی است (۳۳). وجود ژنوتیپ‌های برتر از نظر این صفات در شرایط تنش شوری حائز اهمیت است. چون ژنتیک این‌گونه صفات در نسل‌های پیشرفته جهش (M_3 و M_4) تثبیت می‌شود. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از غربال ۳۰۹ ژنوتیپ موتانت حاصل از جهش‌زایی رقم محلی هاشمی با ماده جهش‌زای EMS در مرحله گیاهچه‌ای بر اساس ارزیابی خصوصیات رشدی (وزن زیست‌توده، نسبت ساقه به ریشه)، زنده‌مانی گیاهچه و شاخص‌های تحمل به تنش در شرایط شوری ژنوتیپ‌های موتانت *em3hs290*، *em3hs292*، *em3hs165* و *em3hs84* که دارای زیست‌توده خشک و تر بیشتری در مقایسه با والد هاشمی بودند و از نظر رشد ظاهری نیز مطلوب‌تر بودند، به‌عنوان ژنوتیپ‌های با پتانسیل تحمل به شوری انتخاب شدند، تا به همراه رقم مادری و ارقام شاهد حساس و مقاوم در شرایط شوری هیدروپونیک مورد ارزیابی فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی نیز قرار گیرند.

این نتایج نشان‌دهنده پتانسیل و کارایی جهش با ماده جهش‌زای اتیل متان سولفونات در ایجاد تنوع ژنتیکی و مورفولوژیکی می‌باشد و زمینه مناسبی برای انتخاب لاین‌های جهش‌یافته با صفات فنوتیپی مطلوب را فراهم می‌کند؛ بنابراین القای مصنوعی تنوع ژنتیکی با مواد جهش‌زا می‌تواند به طور مؤثر برای القا موتاسیون و انتخاب لاین‌های موتانت با ویژگی‌های مطلوب و اصلاح نقایص مورفولوژیکی توارثی بکار رود.

ارزیابی تحمل به شوری ژنوتیپ‌های موتانت برنج (M_3) با تاکید بر شاخص‌های تحمل به تنش در مرحله گیاهچه‌ای ۷۸



شکل ۳- نمودار درختی ژنوتیپ‌های موتانت مورد مطالعه (M_3) به همراه ارقام شاهد در شرایط تنش شوری با استفاده از روش ward
Figure 3. Dendrogram from studied mutant genotypes (M_3) with control varieties under salinity stress using ward method.

منابع

1. Afkhami Ghadi, A., F. Habibzadeh and S.J. Hosseini. 2021. Evaluation of Rice Genotypes from Crossing based on Salinity Stress Tolerance Indices. *Journal of Crop Breedin*, 13(39): 108-121 (In Persian).
2. Ahloowalia, B.S., M. Maluszynski and K. Nichterlein. 2004. Global impact of mutation-derived varieties. *Euphytica*, 135: 187-204.
3. AhmadiKhah, A., H. Shojaeian, M.H. Pahlevani and L. Nayeripasand. 2014. Identification of salt tolerant mutants in rice and their fingerprinting using ISSR markers. *Modern Genetics Journal*, 9(3): 299-312 (In Persian).
4. Ali, S., R.K. Gautam, R. Mahajan, S.L. Krishnamurthy, S.K. Sharma, R.K. Singh and A.M. Ismail. 2013. Stress indices and selectable traits in SALTOL QTL introgressed rice genotypes for reproductive stage tolerance to sodicity and salinity stresses. *Field Crops Research*, 154: 65-73.
5. Ali, M.N., L. Yeasmin, S. Gantait, R. Goswami and S. Chakraborty. 2014. Screening of rice landraces for salinity tolerance at seedling stage through morphological and molecular markers. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 20(4): 411-423.
6. Anshori, M.F., B.S. Purwoko, L.S. Dewi, W.B. Suwarno and S.W. Ardie. 2020. Cluster heatmap for detection of good tolerance trait on doubled-haploid rice lines under hydroponic salinity screening. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 484(1): 12001.
7. Ashraf, M. 1994. Breeding for salinity tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 13, pp. 17-42.
8. Bagheri, L. and A. Fallah. 2016. Producing of tolerant cultivars to salinity stress in rice (*Oryza sativa* L.) using mutation and biotechnology. *Agricultural Research, Education and Extension Organization Publications*, 50 pp (In Persian).
9. Chinnusamy, V., A. Jagendorf and J.K. Zhu. 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science*, 45: 437-448.
10. Chowdhury, A.D., G. Haritha, T. Sunitha, S.L. Krishnamurthy, G. Divya B Padmavathi, T. Ram and N. Sarla. 2016. Haplotyping of rice genotypes using simple sequence repeat markers associated with salt tolerance. *Rice Science*, 23: 317-325.
11. Da Luz, V.K., S.F.S. da Silveira, G.M. da Fonseca, E.L. Groli, R.G. Figueiredo, D. Baretta and et al. 2016. Identification of variability for agronomically important traits in rice mutant families. *Bragantia*, 75: 41-50.
12. Dasgupta, S., M.M. Hossain, M. Huq and D. Wheeler. 2015. Climate change and soil salinity: the case of coastal Bangladesh. *Ambio*, 44: 815-826.
13. Diaguna, R., F.C. Suwarno and M. Surahman. 2017. Testing method for salinity tolerance at germination stage on rice genotypes. *International Journal of Applied Science and Technology*, 7(3): 69-76.
14. El-Hendawy, S.E., Y. Hu, G.M. Yakout, A.M. Awad, S.E. Hafiz and U. Schmidhalter. 2005. Evaluating salt tolerance of wheat genotypes using multiple parameters. *European Journal of Agronomy*, 22: 243-253.
15. Epstein, E.J.D., D.W. Norlyn, R.W. Rush, D.B. Kinsbury, G.A. Kelly and A.F. Cunningham. 1980. Wrona Saline culture of crops: a genetic approach *Science*, 210: 399-404.
16. Fahad, S., A.A. Bajwa, U. Nazir, S.A. Anjum, A. Farooq, A. Zohaib, S. Sadia, W. Nasim, S. Adkins, S., Saud, M.Z. Ihsan, H. Alharby, C. Wu, D. Wang and J. Huang. 2017. Crop production under drought and heat stress: plant responses and management options. *Front Plant Science*, 8: 1147.
17. Fernandez, G.C.J. 1992. Effective Selection Criteria for Assessing Stress Tolerance. In: Kuo, C.G., Ed., *Proceedings of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and Other Food Crops in Temperature and Water Stress*, AVRDC Publication, Tainan, 257-270.
18. Fischer, R. and R. Maurer. 1978. Drought Resistance in Spring Wheat Cultivars. I. Grain Yield Responses. *Australian Journal of Agricultural Research*, 29: 897-912.
19. Flowers, T.J. and A.R. Yeo. 1981. Variability in the resistance of sodium chloride salinity within rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *New Phytology*, 88: 363-373.
20. Francois, L.E. and E.V. Maas. 1994. Crop response and management on salt-affected soils. In *Handbook of Plant and Crop Stress*. *Biologia Plantarum*, Marcel Dekker, New York, USA. 149-181 pp.
21. Ghosh, B., M.D.N. Ali and G. Saikat. 2016. Response of rice under salinity stress: a review update. *Journal of Rice Research*, 4: 167.
22. Golkar, H., M. Asadi, G. Mohammadi-Nejad, H. Naghavi and B. Nakhoda. 2012. Assessment of salinity tolerance of different promising lines of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Advances in Applied Science Research*, 3(2): 1117-1121 (In Persian).
23. Gregorio, G.B., D. Senadhira and R.D. Mendoza. 1997. Screening rice for salinity tolerance. *IRRI Discussion Paper Series no. 22*. International Rice Research Institute, P.O. Box 933, Manila 1099, Philippines.

- ارزیابی تحمل به شوری ژنوتیپ‌های موتانت برنج (M_3) با تاکید بر شاخص‌های تحمل به تنش در مرحله گیاهچه‌ای ۸۰
24. Hakim, M.A., A.S. Juraimi and M.M. Hanafi. 2014. Biochemical and anatomical changes and yield reduction in rice (*Oryza sativa* L.) under varied salinity regimes. *BioMed Research International*, 208584: 1-11.
 25. Haque, S.A. 2006. Salinity problems and crop production in coastal regions of Bangladesh. *Pakistan Journal of Botany*, 38: 1359-1365.
 26. He, S., Y. Han, Y. Wang, H. Zhai and Q. Liu. 2009. In vitro selection and identification of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) plants tolerant to NaCl. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 96: 69-74.
 27. Henikoff, S. and L. Comai. 2003. Single-nucleotide mutations for plant functional genomics. *Annual Review of Plant Biology*, 54: 375-401.
 28. Hossain, A.B.S., R.G. Sears, T.S. Cox and G.M. Paulsen. 1990. Desiccation tolerance and its relationship to assimilate partitioning in winter wheat. *Crop Science*, 30: 622-627.
 29. Hussain S., Z. Jun-hua, Z. Chu, Z. Lian-feng, C. Xiao-chuang, Y. Sheng-miao, A.B. James, H. Ji-jie and J. Qian-yu. 2017. Effects of salt stress on rice growth and development characteristics and the regulating ways: a review. *Journal of Integrative Agriculture*, 16: 2357-2374.
 30. Hosseini, S.J., Z. Tahmasebi and H. Pirdashti. 2012. Screening of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes for NaCl tolerance at early seedling stage. *International Journal of Plant Production*, 3: 274-283 (In Persian).
 31. Ilirjana, S., Y. Ariana and D. Andon. 2007. Induced mutations for improving production on bread and durum wheat. *AIP Conference Proceedings*, 899: 747.
 32. Ismail, A.M., J.D. Platten and B. Miro. 2013. Physiological bases of tolerance of abiotic stresses in rice and mechanisms of adaptation. *ORYZA-An International Journal on Rice*, 50(2): 91-99.
 33. Islam, MZ., MA. Baset Mia, MR. Islam, A. Akter. 2007. Effect of different saline levels on growth and yield attributes of mutant rice. *Journal of Soil and Nature*, 1: 18-22.
 34. Izaddoost, H., H. Samizadeh, B. Rabiei and S.H. Abdollahi. 2013. Evaluation of salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars and lines with emphasis on stress tolerance indices. *Cereal Research*, 3 (3): 167-180 (In Persian).
 35. Jalata, Z., A. Ayana and H. Zeleke. 2011. Variability, heritability and genetic advance for some yield and yield related traits in Ethiopian barley (*Hordeum vulgare* L.) landraces and crosses. *International Journal of Plant Breeding and Genetics*, 5: 44-52.
 36. Jennings, P.R., W.R. Coffman and H.E. Kauffman. 1981. *Mejoramiento de arroz*. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical.
 37. Jiang, S.Y. and S. Ramachandran. 2010. Natural and artificial mutants as valuable resources for functional genomics and molecular breeding. *International Journal of Biological Sciences*, 6: 228-251.
 38. Lauchli, A. and S.R. Grattan. 2007. Plant growth and development under salinity stress. In: Jenks MA, Hasegawa PM, Jain SM (eds) *Advances in molecular breeding toward drought and salt tolerant crops*. Springer, Dordrecht, 1-32 pp.
 39. Lee, S.Y., J.I. Cheong and T.S. Kim. 2003. Production of doubled haploids through anther culture of M1 rice plants derived from mutagenized fertilized egg cells. *Plant Cell Report*, 22: 218-223.
 40. Lutts, S., J.M. Kinet and J. Bouharmont. 1995. Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. *Journal of Experimental Botany*, 46: 1843-1852.
 41. Maluszynski, M., K. Nichterlein, L. Van Zanten and S. Ahloowalia. 2000. Officially released mutant varieties-the FAO/IAEA Database (INIS-XA-291). International Atomic Energy Agency (IAEA): IAEA.
 42. Munns, R. 1993. Physiological processes limiting plant growth in saline soil: some dogmas and hypotheses. *Plant Cell Environment*, 16: 15-24.
 43. Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environment*, 25(2): 239-250.
 44. Munns, R. and M. Tester. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59: 651-681.
 45. Nematollahi, Z. and G. Saeidi. 2011. Study Of Drought Tolerance In Some Flax Genotypes. *Iranian Journal Of Water Research In Agriculture*, 25(1): 57-66.
 46. Omisun T, S. Sahoo, B. Saha and SK. Panda. 2018. Relative salinity tolerance of rice cultivars native to North East India: a physiological, biochemical and molecular perspective. *Protoplasma*, 255: 193-202.
 47. Pradheeban, L., N. Nissanka and L.D.B. Suriyagoda. 2014. Clustering of rice (*Oryza sativa* L.) varieties cultivated in Jaffna District of Sri Lanka based on salt tolerance during germination and seedling stages. *Tropical Agricultural Research*, 25(3): 358-375.
 48. Parry, M.A.J., P.J. Madgwick, C. Bayon, K. Tearall, A. Hernandez-Lopez, M. Baudo, M. Rakszegi, W. Hamada, A. Al-Yassin, H. Ouabbou, M., Labhilili and A.L. Phillips. 2009. Mutation discovery for crop improvement. *Journal of Experimental Botany*, 60(10): 2817-2825.

49. Qadir, M., E. Quillérou, V., Nangia, V. Murtaza, M. Singh, R.J. Thomas, P. Drechsel, A.D. Noble. 2014. Economics of salt-induced land degradation and restoration. *Nat Resour Forum A U N Sustain Dev*, 38: 282-295.
50. Rasel, MD., MD. Tahjib-Ul-Arif, M. Anwar Hossain, L. Hassan, S. Farzana and M. Brestic. 2020. Screening of Salt-Tolerant Rice Landraces by Seedling Stage Phenotyping and Dissecting Biochemical Determinants of Tolerance Mechanism. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40(5): 1853-1868.
51. Razzaque, S., T. Haque, S.M. Elias, M.Z. Rahman, S. Biswas, S. Schwartz, A.M. Ismail, H. Walia, T.E. Juenger and Z.I. Seraja. 2017. Reproductive stage physiological and transcriptional responses to salinity stress in reciprocal populations derived from tolerant (Horkuch) and susceptible (IR29) rice. *Scientific Reports*, 7: 46138.
52. Rahman, M.A., M.J. Thomson, M. Shah-E-Alam, M.D. Ocampo, J. Egdane and A.M. Ismail. 2016. Exploring novel genetic sources of salinity tolerance in rice through molecular and physiological characterization. *Annals of Botany*, 117: 1083-1097.
53. Rosielle, A.A. and J. Hamblin. 1981. Theoretical aspects of selection for yield in stress and nonstress environments. *Crop Science*, 21: 943-946.
54. Salehin, M., M.M.A. Chowdhury, D. Clarke, S. Mondal, S. Nowreen, M. Jahiruddin and A. Haque. 2018. Mechanisms and drivers of soil salinity in Coastal Bangladesh. In: Nicholls R, Hutton CW, Adger W, Hanson S, Rahman M, Salehin M (eds) *Ecosystem services for well-being in deltas*. Cham, Palgrave Macmillan: 333-347.
55. Safitri, H., B.S. Purwoko, I.S. Dewi and S.W. Ardie. 2016. Morpho-physiological response of rice genotypes grown under saline conditions. *Journal of International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences*, 22(1): 52-63.
56. Shiu-Cho, W., V. Ching-Kit and K. Su-Wan. 1985. Cell mutations for salt tolerance screening in tissue culture. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 26: 195-201.
57. Shu, Q.Y. and P.J.L. Lagoda. 2007. Mutation techniques for gene discovery and crop improvement. *Molecular Plant Breeding*, 5: 193-195.
58. Sio-Se Mardeh, A., A. Ahmadi, K. Poostini and V. Mohammadi. 2006. Evaluation of drought resistance indices under various environmental conditions. *Field Crops Research*, 98: 222-229.
59. Talebi, A.B., A.B. Talebi and B. Shahrokhifar. 2012. Ethyl methane sulphonate (EMS) induced mutagenesis in Malaysian rice (cv. MR219) for lethal dose determination. *American Journal of Plant Sciences*, 3: 1661-1665 (In Persian).
60. Yoshida, S., D.A. Forno, J.H. Cock and K.A. Gomez. 1976. *Laboratory manual for physiological studies of rice*. IRRI, Las Banos, Laguna, 83 p.
61. Zeng, L., M.C. Shannon and C.M. Grieve. 2002. Evaluation of salt tolerance in rice genotypes by multiple agronomic parameters. *Euphytica*, 127: 235-245.

Assessing Salinity Tolerance in Rice (*Oryza sativa* L.) Mutant Genotypes (M₃) with Emphasis on Stress Tolerance Indices in Seedling Stage

Leila Khazaie¹, Reza Shirzadian-Khoramabad², Ali-Akbar Ebadi³ and Ali Moumeni⁴

1- Ph.D Graduate, Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University Campus 2, University of Guilan and Researcher, Rice Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

2- Associate Professor, Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran, (Corresponding author: R.shirzadian@guilan.ac.ir)

3- Assistant Professor, Rice Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

4- Professor, Rice Research Institute of Iran, Mazandaran Branch, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Iran

Received: 14 March, 2022 Accepted: 23 July, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: Salinity stress is one of the most severe constraints limiting rice production worldwide. Thus, the development of salt-tolerant rice can provide increasing food demand due to climate change effects.

Material and Methods: To investigate the reaction of mutant genotypes to salinity stress in the seedling stage, 309 selected mutant genotypes selected in the third generation along with Hashemi local cultivar and *FL478* (resistant) in two levels of NaCl salinity (0 and 10 dS/cm) were evaluated as a completely randomized factorial design with two replications. Growth parameters like root length, shoot length, root fresh and dry weight, shoot fresh and dry weight and plant biomass were measured after 14 days of exposure to two levels of stress namely, non-stress (EC ~ 1.2 dS/m) and saline stress (EC ~ 10 dS/m) in hydroponics at seedling stage. The Stress tolerance index (STI), Stress susceptibility index (SSI), Mean productivity (MP), Stress tolerance (TOL) and Geometric mean productivity (GMP) for each genotype was calculated for all the traits.

Results: The results of analysis of variance showed a significant difference between genotypes for all traits that indicated genetic diversity between them. A wide range of genetic variability was observed among genotypes for studied traits that root traits were identified as the best descriptors for tolerance to salt stress conditions. Results of correlation coefficients among the indices showed that STI, HMP and GMP indices were the most suitable resistance indices. Salt stress response indices (SSRI) were used to classify the number of 144 mutant genotypes; 25 mutant genotypes (17.4%) were identified as salt-sensitive, 46 (32.6%) with Hashemi parent in salt-sensitive group, 41 (32.6%) with *FL478* each in salt-tolerant group, and 30 (20.8%) as highly salt tolerant. Among the mutant genotypes, four mutant genotypes *em₃hs290*, *em₃hs292*, *em₃hs165* and *em₃hs84* were identified as the most tolerant genotypes based on stress tolerance indicators, minimum leaf tubing, high biomass rate and better stress compensation ability. Also, the mutant genotype *em₃hs31* was introduced as the most sensitive genotype with a minimal performance at the stress level.

Conclusions: Induced mutation of EMS has desirable effect on creation of salinity tolerant mutant genotypes and the studied indices can utilize for separating of salinity tolerant mutant genotypes in rice mutant populations. This mutant population could serve as a valuable genetical resource in the development of novel salt-tolerant varieties for the salinity prone regions under rice cultivation.

Keywords: Ethylmethane sulfonate, Local Rice, Mutation, Salinity, Tolerant