

## ارزیابی برخی لاین‌های موتانت برنج (*Oryza sativa* L.) تحت تنش شوری از طریق صفات زراعی، فیزیولوژیک و آنزیمی

فرهاد باقری<sup>۱</sup>، همت‌اله پیردشتی<sup>۲\*</sup>، مرتضی اولادی<sup>۱</sup> و مریم جنابیان<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

<sup>۲</sup>گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

<sup>۳</sup>گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۰۱/۲۹)

### چکیده

امروزه تنش شوری امنیت غذایی و پایداری تولیدات کشاورزی را تهدید می‌کند. پاسخ گیاهان به تنش شوری نیز همواره یکی از موضوعات مهم مطالعات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی بوده است. به منظور ارزیابی لاین‌های موتانت از نظر صفات زراعی، فیزیولوژیک و آنزیمی تحت تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی در سه تکرار با استفاده از خاک شالیزار و تنظیم شوری آن در گلدان اجرا شد. در این آزمایش از چهار لاین موتانت (MLST1، MLTH1، MLTH2 و MLTH3) به همراه دو شاهد متحمل (دیلمانی و نونابوکرا) و دو شاهد حساس (IR29 و سپیدرود) استفاده شده و در سه سطح شوری (صفر، چهار و هشت دسی‌زیمنس بر متر) برخی صفات زراعی، فیزیولوژیک و آنزیمی آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. براساس نتایج، بیشترین میزان پرولین در سطح شوری چهار دسی‌زیمنس بر متر در موتانت MLTH2 حاصل گردید که نسبت به شرایط عدم تنش شوری بیش از ۱/۳ برابر افزایش نشان داد. از طرفی کمترین میزان صفت مذکور نیز در شرایط عدم تنش شوری در موتانت MLTH1 به‌دست آمد. بیشترین و کمترین میزان مالون دی‌آلدئید به ترتیب در سطح شوری چهار دسی‌زیمنس بر متر و عدم تنش شوری مربوط به ژنوتیپ MLTH3 بود. براساس نتایج، بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به ترتیب مربوط به موتانت MLTH2 در شوری چهار دسی‌زیمنس بر متر و کمترین آن مربوط به موتانت MLST1 در شوری هشت دسی‌زیمنس بر متر بود. در شرایط عدم تنش شوری بیشترین میزان عملکرد شلتوک در رقم شاهد حساس به شوری سپیدرود حاصل گردید. در مقایسه، پس از اعمال تنش شوری کمترین کاهش عملکرد در موتانت MLTH2 به‌دست آمد. در مجموع و براساس نتایج صفات بیوشیمیایی و عملکرد، ژنوتیپ MLTH2 به‌عنوان بهترین لاین متحمل به شوری شناسایی و برای مطالعات تکمیلی آینده پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: برنج، پرولین، شوری، کلروفیل، نشت الکترولیت

### مقدمه

شوری از عوامل تنش‌زای محیطی است که نه تنها رشدونمو گیاهان را تهدید می‌کند بلکه محدوده توزیع و پراکندگی

شده‌اند (IAEA, 2022). با بهره‌گیری از روش موتاسیون می‌توان به لاین‌های موتانت متحمل به شوری نائل شد (Ando, 1970). القای موتانت می‌تواند برای افزایش تحمل به شوری در برنج نیز مورد استفاده قرار گیرد (Shereen *et al.*, 2009). در همین زمینه، مجیدی و همکاران (۱۳۹۵) در ارزیابی واکنش لاین‌های موتاسیون به تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای، دو لاین موتانت برنج از رقم طارم محلی را به همراه نونابوکرا در گروه متحمل قرار دادند. اولادی و همکاران (۱۳۹۳) به منظور ارزیابی لاین‌های موتانت برنج حاصل از پرتودهی اشعه گاما تحت تنش شوری، ۴۲ لاین برنج شامل سنگ طارم، نعمت و طارم هاشمی را در خاکی با شوری ۷ دسی‌زیمنس بر متر کلرید سدیم به‌صورت تک بوته و براساس استاندارد IRRI مورد ارزیابی قرار داده و گزارش نمودند که ۳۵ درصد لاین‌ها در گروه متحمل، ۵۷ درصد در گروه با تحمل متوسط و ۸ درصد در گروه حساس قرار گرفتند.

شوری سبب ایجاد دو نوع تنش در گیاه می‌شود. (۱) واکنش‌های عمومی شوری که شامل اثرات یونی و اسمزی است. اثرات یونی سلامت و فعالیت غشا را به خطر انداخته و تعادل مواد محلول داخلی را دچار اختلال می‌سازد. تأثیرات اسمزی نمک‌ها بر گیاهان، ناشی از کاهش پتانسیل آب خاک است که در اثر افزایش غلظت ماده محلول در ناحیه ریشه به وجود می‌آید. (۲) اثرات متقابل محیطی: شوری و اثرات محیطی به صورت‌های مختلف روی هم تأثیر گذاشته و مطالعات توارثی تحمل نمک را مبهم می‌سازند (عبدمیشانی و شاه‌نجات بوشهری، ۱۳۹۴). همچنین شوری از طریق اثرات دیگری همچون کاهش تعادل عنصرهای غذایی، افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و القای تنش اکسیداتیو موجب خسارت به گیاه می‌گردد (Chawla *et al.*, 2013). گونه‌های اکسیژن فعال همچون سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل گونه‌های مخرب اکسیژن هستند که به دنبال تنش‌های محیطی از جمله تنش شوری تولید می‌شوند و خود سبب ایجاد تنشی به نام تنش اکسیداتیو می‌گردند (Parida and Das, 2005; Sudhakar *et al.*, 2001

گیاهان را در اکوسیستم‌های مختلف تعیین می‌نماید (Ismail and Horie, 2017). طبق گزارش فائو، مساحت جهانی خاک‌های متأثر از شوری، ۴۲۴ میلیون هکتار خاک سطحی با عمق صفر الی ۳۰ سانتی‌متر و ۸۳۳ میلیون هکتار خاک با عمق ۳۰ الی ۱۰۰ سانتی‌متر (براساس ۷۳ درصد از زمین‌های نقشه‌برداری شده تا کنون) را پوشش می‌دهد (FAO, 2021). براساس آخرین گزارش در دسترس در حدود نیمی از اراضی قابل کشت ایران (۲۷ میلیون هکتار) متأثر از خاک‌های شور و سدیمی است که اثر عمده‌ای در کاهش سطح زیرکشت و عملکرد محصولات زراعی دارد (حیدری شریف‌آباد، ۱۳۹۶).

برنج (*Oryza sativa* L.) غذای اصلی بیش از نیمی از مردم جهان بوده و تولید جهانی این غله در دهه‌های اخیر در برابر افزایش تقاضا زیاد شده است (Kaur *et al.*, 2016). کشت برنج در ایران جایگاه ویژه‌ای دارد و سطح زیرکشت این گیاه در ایران در سال ۱۳۸۹، ۸۵۴ هزار هکتار گزارش شده است. ۸۰۰ هزار هکتار از این میزان در استان‌های مازندران، گلستان، گیلان، خوزستان، فارس و مابقی در سایر استان‌های کشور پراکنده بوده است (آمارنامه جهاد کشاورزی، ۱۴۰۰). برنج به شوری حساس بوده و بیشترین حساسیت آن در مرحله گیاهچه‌ای و گلدهی گزارش شده است (حسینی و همکاران، ۱۳۹۱). کاهش عملکرد دانه ارقام برنج تحت شرایط شوری توسط محققان زیادی از جمله Zhang و همکاران (۲۰۲۲)، Shereen و همکاران (۲۰۰۹)، Rani و Sharam (۲۰۱۷)، Hussain و همکاران (۲۰۱۳) و همچنین سعیدزاده و همکاران (۱۳۹۵) گزارش شده است. در نتیجه ضروری است با استفاده از روش‌های اصلاحی لاین‌های متحمل به شوری را شناسایی نمود. اصلاح بر مبنای موتانت روشی جهت بهبود بسیاری از صفات مهم زراعی مانند تحمل به تنش‌های غیرزنده، مقاومت به بیماری‌ها، کیفیت و بازاریابی است (Okamura *et al.*, 2012). بیشترین وارپته‌های موتاسیون، در اصلاح بر مبنای موتانت به روش پرتودهی معرفی شدند (Ahloowalia and Maluszynski, 2001). بیش از ۳۴۰۲ وارپته موتانت در دنیا معرفی شده که از این تعداد ۶۴ درصد با پرتو گاما اصلاح

شجره موتانت‌های مورد مطالعه در این پژوهش از پرتوتابی اشعه گاما با دز ۲۰۰ گری از چشمه کبالت ۶۰ روی ارقام سنگ طارم و هاشمی بود. این پروژه از سال ۱۳۸۹ در پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان در حال اجرا بوده و بعد از اداره نسل‌های در حال تفکیک و رسیدن به جمعیت M9 تعدادی از این لاین‌های موتاسیون جهت مطالعات شوری در این تحقیق انتخاب شدند. در این آزمایش نشاها در مرحله سه برگی به تعداد سه عدد نشاء به گلدان‌های با ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر و قطر ۴۰ سانتی‌متر انتقال داده شدند. تنش شوری از طریق آبیاری با آب شور در مرحله چهارالی پنج برگی و یک هفته پس از استقرار بوته‌ها در گلدان اعمال شد. جهت ثابت نگه‌داشتن سطح شوری با گرفتن عصاره اشباع خاک تیمار شده، ضریب هدایت الکتریکی (EC) و اسیدیته (pH) خاک اندازه‌گیری و با استفاده از رابطه ۱ میزان کل نمک مورد نیاز جهت تعیین و اعمال سطح شوری محاسبه شد (هاشمی‌نیا و همکاران، ۱۳۷۶).

رابطه ۱

$$\text{TDS (Total dissolved solids)(mg/lit)} = \text{EC(ds/m)} \times 640$$

در مرحله زایشی کد ۶۱ BBCH (آغاز گلدهی به‌طوریکه بساک در بالای خوشه قابل مشاهده است) از برگ‌های بالایی در هر بوته نمونه‌گیری شد. برای سنجش پرولین از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. استانداردهای پرولین در مقادیر صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تهیه و نمونه‌ها به همراه شاهد استاندارد در طول موج ۵۲۰ نانومتر به کمک دستگاه اسکتوفتومتر خوانده شد. همچنین منحنی استاندارد پرولین نیز رسم و در ادامه غلظت پرولین نمونه‌ها بدست آمد و براساس منحنی استاندارد تفسیر شد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز براساس روش Beauchamp و Fridovich (۱۹۷۱) و میزان پراکسید هیدروژن به روش Alexieva و همکاران (۲۰۰۱) تعیین شد. همچنین جهت اندازه‌گیری میزان پروتئین کل موجود از نمونه‌ها از روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده شد.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و پاکسازی مقادیر بالای اکسیژن فعال تولید شده، راهبردهای مختلفی را به کار می‌گیرند که شامل افزایش آنتی‌اکسیدانی‌های غیرآنزیمی مانند فنول‌ها، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، آسکوربات، گلوکاتینون و آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مانند سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز است (Karuppanapandian *et al.*, 2015; Rakhmankulova *et al.*, 2011). این آنزیم‌ها نقش بسیار مهمی در پاکسازی رادیکال‌های فعال اکسیژن داشته و میزان فعالیت آنها بسته به گونه گیاهی و شدت تنش متفاوت است (Gupta and Huang, 2014). پرولین نیز به عنوان یک اسمولیت مهم در تعدیل فشار اسمزی سلول تحت تنش‌هایی مانند خشکی و شوری نقش اساسی در برخی از گیاهان دارد. در واقع پرولین باعث پایداری ساختار طبیعی پروتئین‌ها شده و از به‌هم‌خوردن شکل طبیعی ترکیبات آنزیمی ممانعت می‌کند. یکی دیگر از مهمترین شاخص‌های نشان‌دهنده فشارهای محیطی وارده بر گیاه، میزان کلروفیل برگ است. مقدار کلروفیل در گیاهان تحت تنش به‌طور نسبی کاهش یافته، یعنی میزان جذب نور توسط کانوپی گیاه کمتر و در نتیجه کل نور جذب شده از طریق گیاه کاهش می‌یابد (Zarco-Tejada *et al.*, 2000). پژوهش حاضر با هدف شناسایی لاین‌های متحمل به شوری و بررسی سازوکارهای تحمل به تنش شوری در لاین‌های موتانت نسل M9 برنج از طریق مطالعات آنزیمی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک به همراه عملکرد تک بوته طراحی و اجرا شد.

## مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. در این آزمایش شوری در سه سطح (صفر، ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر) و ژنوتیپ‌های برنج شامل چهار موتانت داده شده (جدول ۱) به همراه دو رقم شاهد حساس (IR29 و سپیدرود) و دو رقم شاهد متحمل (دیلمانی و نونابوکرا) به عنوان تیمارهای آزمایش در نظر گرفته شدند.

جدول ۱- فهرست موتانت یافته‌های مورد بررسی در آزمایش

ردیف	کد لاین	شناسه لاین (خلاصه شده)	ردیف	کد لاین	شناسه لاین (خلاصه شده)
۱	M9-P1-7-2-1	MLST1	۳	M9-P3-4-7-3	MLTH2
۲	M9-P3-4-5-3	MLTH1	۴	M9-P3-21-1-1	MLTH3

M = موتانت داده شده، L = لاین، ST = سنگ طارم، TH = طارم هاشمی

جهت اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a (Chl<sub>a</sub>)، کلروفیل b (Chl<sub>b</sub>)، کلروفیل کل (Chl<sub>t</sub>) و کارتنوئید (Car) از روش Lichtenthaler و Wellburn (۱۹۸۳) استفاده شد. غلظت رنگیزه‌ها با استفاده از روابط ۴ الی ۷ محاسبه و بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تر گزارش شد.

رابطه ۴

$$\text{Chl}_a = 12.25 \text{ A663.2} - 2.79 \text{ A646.8}$$

رابطه ۵

$$\text{Chl}_b = 21.21 \text{ A646.8} - 5.1 \text{ A663.2}$$

رابطه ۶

$$\text{Chl}_t = 7.15 \text{ A663.2} - 18.71 \text{ A646.8}$$

رابطه ۷

$$\text{Car} = (1000 \text{ A470} - 1.8 \text{ Chl}_a - 85.02 \text{ Chl}_b) / 198$$

میزان عملکرد شلتوک برنج نیز به صورت تک بوته اندازه‌گیری شد. در نهایت، داده‌ها با سه تکرار در نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ تجزیه و تحلیل و میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد مقایسه شدند.

### نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های آزمایش (جدول ۲) نشان داد که اثر ساده بلوک، شوری و ژنوتیپ و همچنین برهمکنش دو تیمار شوری و ژنوتیپ برای تمام صفات معنی‌دار بودند. به نظر می‌رسد علت معنی‌دار شدن اثر بلوک در بیشتر اندازه‌گیری‌های شاخص‌های مورد بررسی به‌خاطر متفاوت بودن زمان اندازه‌گیری و نمونه‌برداری و اثرگذاری شرایط دمایی محیط بر بلوک‌ها باشد.

اهمیت کاربرد پرولین به‌عنوان یک آنزیم حفاظتی در طول شرایط تنش غیرزیستی شناخته شده است (Okuma *et al.*, 2000). براساس یافته‌ها، بیشترین میزان پرولین در لاین

جهت سنجش میزان مالون دی‌آلدهید از روش Stewart و Bewley (۱۹۸۰) استفاده شد. در حدود ۰/۵ گرم از برگ‌های گیاه در ۱۰ میلی‌لیتر از محلول ۰/۱ درصد تری‌کلرو استیک اسید هموژن و به مدت ده دقیقه در دور  $15000 \times g$  سانتریفیوژ گردید. ۲ میلی‌لیتر از سوپرناتانت حاصل با ۴ میلی‌لیتر از محلول ۲۰٪ تری کلرواستیک اسید محتوی ۰/۵ درصد تیوباریتوریک اسید مخلوط شد. کمپلکس حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد نگهداری و سپس به حمام آب سرد منتقل گردید. نمونه‌ها دوباره به مدت ۱۰ دقیقه در دور  $10000 \times g$  سانتریفیوژ شده و جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر ثبت شد. میزان پراکسید شدن لیپیدها از اختلاف بین طول‌موج‌های جذبی در ضریب خاموشی  $115 \text{ cm}^{-1} \text{ mM}^{-1}$  محاسبه گردید (رابطه ۲).

رابطه ۲

$$[(E532 - E600) \times 155] \times 5 = (\text{میکرومول بر گرم وزن تر}) \text{ مالون دی‌آلدهید}$$

به منظور اندازه‌گیری نشت الکترولیت، نمونه برگ‌ها در لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفت. پس از گذشت ۲۴ ساعت، هدایت الکتریکی هر نمونه با استفاده از دستگاه EC متر (CON 410) اندازه‌گیری شد (EC1). به منظور اندازه‌گیری میزان کل نشت الکترولیت در اثر مرگ سلول، لوله‌های آزمایش به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه بن‌ماری با دمای ۹۰ درجه قرار گرفته و هدایت الکتریکی نمونه‌ها ثبت شد (EC2). سپس درصد نشت الکترولیت با استفاده از رابطه ۳ محاسبه گردید (Lutts *et al.*, 1996).

رابطه ۳

$$100 \times (\text{EC1} / \text{EC2}) = (\text{درصد}) \text{ نشت الکترولیت}$$

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر تنش شوری بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی در موتانت‌ها و رقم‌های شاهد برنج

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		سوپراکسید دیسموتاز	پراکسید هیدروژن	نشت الکترولیت	مالون دی‌آلدئید
بلوک	۲	۰/۰۱۵**	۰/۰۰۶*	۳/۳۶۱**	۲/۷۴۹**
شوری	۲	۰/۰۱۰*	۰/۹۷۴**	۱۰۰۱/۰۵**	۳۴۹۳۵/۹۷**
ژنوتیپ	۷	۰/۱۳۷**	۰/۲۷۴**	۱۷۳/۱۵**	۲۳۷۶/۷۲۲**
شوری × ژنوتیپ	۱۴	۰/۱۵۸**	۰/۱۴۲**	۲۰۸/۱۰**	۸۲۹۳/۸۱**
خطای آزمایش	۴۶	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۳۹۰/۵۴	۰/۰۵۴
ضریب تغییرات (%)		۴/۳۰	۴/۱۲	۰/۸۷	۰/۱۳

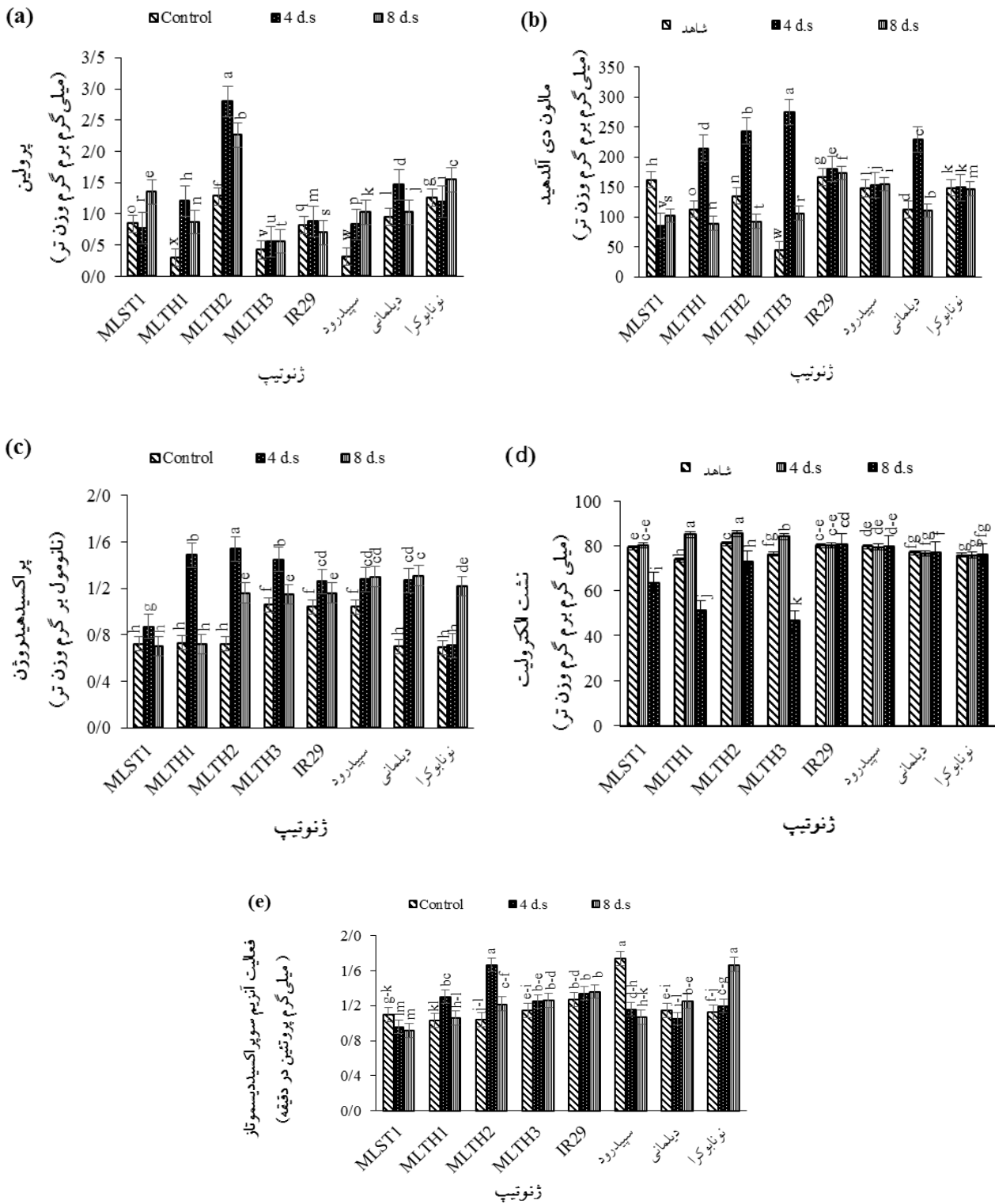
\* و \*\* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

سطح تنش ۸ دسی‌زیمنس بر متر در موتانت‌های MLTH1 و MLTH2 و رقم دیلمانی موجب کاهش غلظت مالون دی‌آلدئید شد. یکی از آسیب‌های جدی تنش شوری خسارت به غشاهای سلولی و رهاسازی یون‌ها از سلول به فضای بین سلولی است. این پدیده نتیجه تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن است که منجر به پراکسیداسیون لیپید و در نتیجه افزایش غلظت مالون دی‌آلدئید، نفوذپذیری غشاء و خسارت به سلول می‌شود (آذری و همکاران، ۱۳۹۱). هر نوع رادیکال آزاد که قادر به برداشتن هیدروژن متصل به گروه فعال متیل موجود در زنجیره اسید چرب غیراشباع باشد، می‌تواند باعث پراکسیداسیون لیپیدها شود (Halliwell, 1999).

همچنین در بررسی میزان پراکسید هیدروژن در گیاه برنج مشاهده گردید که در شرایط عدم تنش میزان پارامتر مذکور در موتانت MLTH3 برابر با ارقام حساس IR29 و سپیدرود و در سایر موتانت‌ها مشابه ارقام مقاوم نونابوکرا و دیلمانی بود. از طرفی اعمال سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر در رقم نونابوکرا و هر دو سطح شوری ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر در سایر ارقام به ویژه در سطح ۴ دسی‌زیمنس بر متر به صورت قابل توجهی موجب افزایش میزان پراکسید هیدروژن نسبت به شرایط عدم تنش شوری گردید (شکل ۱-۳). در پژوهش مشابهی افزایش پراکسید هیدروژن در بیشتر گیاهان تیمار شده با نمک نشان داده شده است (Sofa et al., 2015).

MLTH2 در سطح شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر و کمترین میزان آن در شرایط عدم تنش شوری در رقم MLTH1 حاصل شد (شکل ۱-a). افزایش پرولین ناشی از افزایش مقدار کلرید سدیم را می‌توان ناشی از فعال شدن آنزیم‌های مسیر گلوتامات تحت تنش کلرید سدیم و در نتیجه افزایش سنتز پرولین دانست. در پژوهشی که توسط Kanawapee و همکاران (۲۰۱۲) با مطالعه تأثیر تنش شوری بر شاخص‌های فیزیولوژیک در ۱۰۶ ژنوتیپ برنج انجام گردید گزارش شد که پرولین می‌تواند به عنوان یک شاخص مناسب جهت شناسایی ارقام حساس از متحمل به شوری به کار گرفته شود. این نتایج با نتایج سایر پژوهشگران مبنی بر افزایش میزان پرولین با افزایش میزان سطح شوری مطابقت دارد (Mirza Masoumzadeh et al., 2012; Farkhondeh, 2012 و همکاران، ۱۳۸۹؛ موسوی‌زاده و همکاران، ۱۳۹۷).

تأثیر تنش شوری بر غلظت مالون دی‌آلدئید به عنوان شاخص شدت پراکسیداسیون غشاء لیپیدها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). اثر متقابل شوری و ژنوتیپ نشان داد بیشترین غلظت مالون دی‌آلدئید در لاین MLTH3 تحت تیمار شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر بود که افزایشی پنج برابری نسبت به کمترین میزان مالون دی‌آلدئید در تیمار عدم تنش شوری در همان لاین داشت (شکل ۱-b). سطوح تنش ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر در موتانت MLST1 و



شکل ۱- اثر تنش شوری بر میزان پرولین (a)، مالون دی آلدئید (b)، پراکسید هیدروژن (c)، شاخص نشست الکترولیت (d) و سوپراکسیددیسموتاز (e) در ژنوتیپ‌های برنج. میانگین‌های دارای حرف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح پنج درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های آزمایش (جدول ۳) نشان داد که اثر ساده بلوک تنها بر میزان کلروفیل a و b و علاوه بر آن بر میزان پروتئین محلول برگ معنی‌دار بود. از طرفی اثر ساده شوری و ژنوتیپ بر تمامی شاخص‌های مورد بررسی بجز میزان کارتنوئید در سطح یک درصد ( $P < 0/01$ ) معنی‌دار گردید. بین ژنوتیپ و شوری نیز از نظر تمام صفات در سطح یک درصد ( $P < 0/01$ ) برهمکنش معنی‌داری مشاهده شد.

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که افزایش میزان شوری سبب کاهش کلروفیل (کلروفیل a، b و کلروفیل کل) در تمامی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بجز لاین MLTH2 شد (شکل ۲-a, b, c). کاهش محتوای کلروفیل ناشی از تنش شوری در ارقام برنج توسط Rachoski و همکاران (۲۰۱۵) و Singh و Sarkar (۲۰۱۴) نیز گزارش شده است. کاهش محتوای کلروفیل ارقام برنج تحت تنش شوری ممکن است به علت اختلال در غشای تیلاکوئیدها، تخریب مولکول‌های کلروفیل در اثر فعالیت آنزیم کلروفیلاز و عدم ثبات کمپلکس پروتئین رنگدانه و در نتیجه تخریب کلروپلاست‌ها در اثر افزایش غلظت یون‌های سمی سدیم، کلر و افزایش سطح گونه‌های اکسیژن فعال باشد (حسینی و همکاران، ۱۳۹۱).

براساس نتایج اعمال تنش شوری (در هر دو سطح شوری ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر) منجر به افزایش میزان کارتنوئید در لاین MLST1 و رقم مقاوم نونابوکرا بر خلاف میزان آن در رقم حساس IR20 و لاین MLTH3 گردید. از طرفی سطوح شوری ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب موجب کاهش و افزایش پارامتر مذکور در ارقام سپیدرود و دیلمانی گردید. در مقایسه، تنش شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر موجب افزایش میزان کارتنوئید را در لاین‌های MLTH1 و MLTH2 (به ترتیب ۲۹/۸ و ۹/۹ درصد) و تنش شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر موجب کاهش آن (به ترتیب ۳ و ۲۸/۹ درصد) نسبت به شرایط عدم تنش شد (شکل ۲-d). افزایش کارتنوئیدها تحت شرایط مواجهه با تنش، ممکن است نشان‌دهنده سازوکار آنتی‌اکسیدانی کارآمدتر، برای حفظ رنگدانه‌های فتوسنتزی و

بررسی اثر سطوح شوری بر میزان نشت الکترولیت در ارقام حساس، متحمل به شوری و همچنین موتانت‌های مورد بررسی در این آزمایش حاکی از آن بود در ارقام حساس و مقاوم بین سطوح مختلف شوری از نظر میزان نشت الکترولیت تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. با این وجود میزان نشت الکترولیت در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر در ارقام موتانت به صورت قابل توجهی کمتر از ارقام حساس و مقاوم در این سطح شوری بود از طرفی بیشترین میزان نشت الکترولیت در ارقام موتانت در سطح شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده گردید (شکل ۱-d). نتایج به دست آمده با نتایج لطف‌اللهی و همکاران (۱۳۹۴) در گیاه بابونه تحت تنش شوری مطابقت دارد. در همین راستا، فاروق و فاروق (Farooq and Farooq, 2006) بیان داشتند آسیب یونی ناشی از تنش شوری یکی از عوامل اصلی تخریب غشاء سلولی بوده و سبب افزایش نشت‌پذیری غشاء سلولی گندم می‌گردد. همچنین در برنج تخریب غشاء‌های سلولی تحت تأثیر تنش شوری یکی از عوامل اصلی خسارت‌زا به گیاه بوده و تخریب غشاهای سلولی در گیاهان حساس به شوری بیشتر از گیاهان مقاوم است. در همین راستا، ارقامی که در شرایط تنش مقدار نشت الکترولیتی کمتری داشته‌اند، از پایداری غشاء بالاتری برخوردار بودند.

بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در رقم سپیدرود و لاین‌های MLTH2 و نونابوکرا به ترتیب در سطوح صفر، ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده گردید (شکل ۱-e). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در واکنش به تنش شوری توسط دیگر پژوهشگران نیز گزارش شده است (Kibria et al., 2017; Chunthaburee et al., 2016). یونسی‌ملردی و همکاران، (۱۳۹۸). در همین راستا، Kaur و همکاران (۲۰۱۶) گزارش دادند که فعالیت این آنزیم‌ها در برگ برنج‌های حساس و متحمل به شوری افزایش می‌یابد. Bowler و همکاران (۱۹۹۲) بیان کردند که افزایش غلظت پراکسید هیدروژن به‌عنوان پیامی برای افزایش بیان ژن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی عمل کرده و در نتیجه فراوانی و فعالیت این آنزیم‌ها در گیاه در شرایط تنش‌زا افزایش پیدا می‌کند.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس تنش شوری بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و عملکردی در موتانت‌ها و رقم‌های شاهد برنج

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		کارتنوئید	کلروفیل a	کلروفیل b	پروتئین	کلروفیل کل
بلوک	۲	۰/۰۰۵ ns	۰/۲۷۲*	۰/۱۰۱**	۰/۰۴*	۰/۱۴۱ ns
شوری	۲	۰/۰۲۴ ns	۱۶/۰۴**	۱۳/۶۷**	۱/۰۶۶**	۵۸/۳۳**
ژنوتیپ	۷	۰/۲۳۹**	۴۴/۷۶**	۱۲/۷۱**	۶/۶۲۰**	۱۱۹/۱۴**
شوری × ژنوتیپ	۱۴	۱/۶۴۹**	۱۵/۰۹**	۵/۶۰**	۵/۲۷**	۳۷/۶۰**
خطای آزمایش	۴۶	۰/۰۲۱	۰/۰۵۸	۰/۰۱۹	۰/۰۲۷	۰/۰۲۲
ضریب تغییرات (/.)		۴/۱۵	۱/۹۱	۲/۷۵	۹/۷۸	۰/۸۳

\* و \*\* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

پروتئین در برخی رقم‌های پیاز خوراکی تحت تنش شوری به صورت افزایش و در برخی به صورت کاهش بوده است، هم‌سو است.

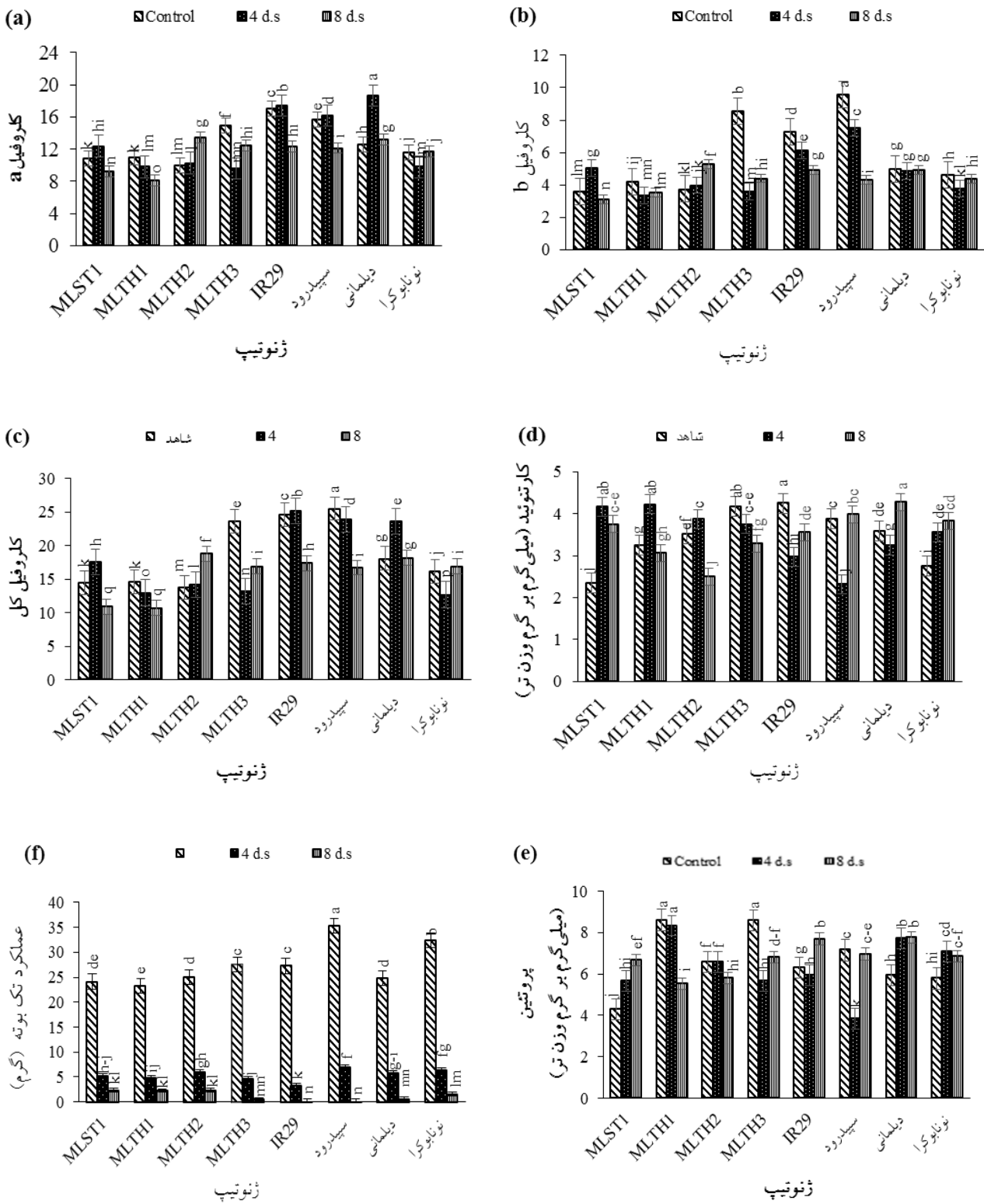
از جمله رویدادهای مهم بیوشیمیایی در گیاهان تحت تنش شوری تغییراتی به صورت کاهش و یا افزایش پروتئین در گیاه بیان شده است (آروین و کاظمی‌پور، ۱۳۸۰) با توجه به گزارش‌های یادشده می‌توان چنین نتیجه گرفت که سنتز پروتئین با درجه تحمل ژنوتیپ گیاه مرتبط است (Demiral and Turkan, 2006). تنش‌های غیرزیستی معمولاً موجب عملکرد ناقص پروتئین‌ها می‌شوند (Joseph and Jinni, 2010). تنش شوری سبب تغییرات کمی و کیفی در میزان پروتئین‌های محلول سلول می‌شود. پروتئین‌هایی که در گیاهان طی تنش شوری افزایش می‌یابند، ممکن است شکل ذخیره‌ای از نیتروژن باشند که بعداً مورد استفاده گیاه قرار می‌گیرند یا ممکن است در تطابق اسمزی نقش داشته باشند. همچنین، ممکن است موجب مصرف مجدد آنها برای سنتز پروتئین‌های شبه اسموتین یا پروتئین‌های ساختاری گردند، یا سبب تغییر ساختار دیواره سلولی شوند. این پروتئین‌ها ممکن است در پاسخ به تنش شوری سنتز شوند یا به صورت ساختاری در غلظت‌های اندک وجود داشته باشند (Parvaiz and Satyawati, 2008).

براساس یافته‌ها، بیشترین میزان عملکرد تک بوته در شرایط عدم تنش و سطح شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر در رقم

فتوسیستم‌ها باشد. کارتنوئیدها افزون بر نقش خود به عنوان رنگدانه‌های جمع‌آوری‌کننده نور و مشارکت‌کننده در فرآیند فتوسنتز با مهار اکسیژن منفرد و رادیکال‌های پیروکسیل، کلروفیل را در برابر تنش اکسیداتیو محافظت می‌کنند (Stahl and Sies, 2005).

براساس نتایج شوری موجب افزایش میزان پروتئین محلول برگ (در هر دو سطح ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر) در ارقام نونابوکرا، دیلمانی و لاین MLST1 و کاهش آن در رقم MLTH3 گردید. از طرفی این افزایش در رقم شاهد حساس IR29 تنها در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد. همچنین نتایج حاکی از کاهش میزان پروتئین محلول برگ در پی تنش شوری در ارقام سپیدرود و IR29 (در سطح شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر) و لاین‌های MLTH1 و MLTH2 (در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر) بود (شکل ۲-e). نتایج به‌دست آمده درباره اثر سطوح شوری بر میزان پروتئین محلول برگ نشان داد که در رقم‌های متحمل میزان پروتئین افزایش و در ارقام حساس و برخی موتانت‌ها کاهش یافت و شدت کاهش در رقم‌های حساس بیشتر بود. Demiral و Turkan (۲۰۰۶) در گزارش خود عنوان نمودند که محتوای پروتئین‌های محلول کل در ژنوتیپ تحمل‌کننده شوری افزایش یافت، درحالی‌که در نوع حساس به شوری کاهش یافت که با نتایج تحقیق حاضر هم‌سو است. همچنین، نتایج این پژوهش با نتایج آروین و کاظمی‌پور (۱۳۸۰) که گزارش کردند میزان





شکل ۲- اثر تنش شوری بر میزان کلروفیل a (a)، کلروفیل b (b)، کلروفیل کل (c)، کارتنوئید (d)، پروتئین (e) و عملکرد تک بوته (f) در ژنوتیپ‌های برنج. میانگین‌های دارای حرف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح پنج درصد براساس آزمون دانکن ندارند.

جدول ۴- ماتریس همبستگی بین صفات برای شرایط تنش شوری در ژنوتیپ‌های برنج (n=۲۴)

(۱) پروتئین	(۲) پراکسید هیدروژن	(۳) سوپراکسید دیسموتاز	(۴) کلروفیل a	(۵) کلروفیل b	(۶) کلروفیل کل	(۷) کارتنوئید	(۸) مالون دی‌الدهید	(۹) پرولین	(۱۰) نشست الکترولیت	(۱۱) عملکرد تک بوته
۱										
۰/۱۶	۱									
۰/۱۲	۰/۵۱*	۱								
۰/۰۱	۰/۲۹	۰/۱۵	۱							
۰/۰۳	۰/۱۲	۰/۳۳	۰/۷۵**	۱						
۰/۰۰۱	۰/۲۸	۰/۲۶	۰/۹۶**	۰/۸۸**	۱					
۰/۶۱**	۰/۲۵	۰/۲۰	-۰/۰۶	۰/۰۷	-۰/۰۱	۱				
-۰/۰۶	۰/۵۷	۰/۳۶	۰/۰۳	-۰/۲۲	-۰/۰۳	۰/۰۲	۱			
-۰/۰۹	۰/۲۶	۰/۲۲	-۰/۱۵	-۰/۳۵	-۰/۲۳	-۰/۰۹	۰/۰۲۵	۱		
-۰/۱۳	-۰/۳۷	-۰/۰۴	۰/۲۸	۰/۲۵	۰/۲۶	-۰/۳۹	۰/۵۱**	۰/۰۹۱	۱	
۰/۰۰۰	-۰/۴۶*	۰/۰۱	۰/۲۰	۰/۴۷*	۰/۳۰	-۰/۰۴	-۰/۱۵	-۰/۳۴	۰/۱۰	۱

\* و \*\* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

نسبت به واریته‌های متحمل به شوری نونابوکرا و پوکالی تولید کرد. در مطالعه توسط Khan و همکاران (۲۰۰۷)، کاهش عملکرد دانه ژنوتیپ‌های Khirman، V-7012 و Bakhtawar نشان داد که این ژنوتیپ‌ها نسبت به شوری حساس بودند در حالیکه ژنوتیپ‌های Sarsabz، Bhittai و Lu-26s عملکرد بهتری را نسبت به تحمل شوری نشان دادند.

به‌طورکلی تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROSها) در اثر تنش شوری افزایش می‌یابد. به‌طور طبیعی با افزایش سطح تولید گونه‌های فعال اکسیژن در گیاه جهت تعادل فیزیولوژیک، سامانه‌های آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی شامل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز فعال می‌شوند (Fayez and Bazaid, 2014; Borzouei et al., 2012). در این پژوهش نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری بین میزان پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مشاهده گردید (جدول ۴). همچنین نتایج جدول همبستگی

سپیدرود حاصل گردید. با این وجود، با افزایش سطح شوری تا ۸ دسی‌زیمنس بر متر کمترین میزان کاهش عملکرد تک بوته در لاین MLTH2 و پس از آن در لاین‌های MLTH1 و MLST1 مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری با رقم متحمل نونابوکرا نداشتند (شکل ۲-f). نتایج مشابهی توسط مجیدی‌مهر و امیری فهلیانی (۱۳۹۵) در گیاه برنج گزارش شد. در همین راستا، Krishnamurthy و همکاران (۲۰۱۶) نیز گزارش نمودند که یکی از نشانه‌های ناشی از آسیب وارده به وسیله نمک، کاهش عملکرد دانه می‌باشد (Krishnamurthy et al., 2016). Sayed و همکاران (۲۰۰۷) یک واریته موتانت به نام شو ۹۲ و دو رقم برنج موتانت از طریق اصلاح موتانتی از دو واریته استاندارد IR8 و پوکالی به‌دست آوردند و برای دو سال جهت ارزیابی کارایی عملکرد در خاک‌های شور با EC ۷/۱ تا ۸ دسی‌زیمنس بر متر مورد بررسی قرار دادند. واریته موتانت شو ۹۲ به ترتیب ۴۰ و ۴۹ درصد محصول بیشتری در خاک شور

(جدول ۴) نشان می‌دهد که در تمامی ارقام مورد بررسی همبستگی مثبت و معنی‌دار بالایی بین کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل وجود دارد که این نتایج با نتایج انفراد و همکاران (۱۳۸۲) که عنوان نمودند همبستگی بسیار بالا و معنی‌داری بین کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل وجود دارد همخوانی دارد. همچنین همبستگی مثبت و معنی‌داری بین میزان کلروفیل b با میزان پروتئین محلول برگ و عملکرد تک بوته و میزان نشت الکترولیت با مالون دی‌آلدهید مشاهده شد. همبستگی مثبت و معنی‌دار صفات محتوای کلروفیل b برگ و عملکرد دانه نشان دهنده ارتباط قوی و مثبت بین این صفات در شرایط تنش شوری است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که در شرایط تنش شوری ژنوتیپ‌های متحمل و دارای عملکرد زیاد از محتوای کلروفیل برگ بالاتری برخوردارند.

افزایش غلظت مالون دی‌آلدهید نشان‌دهنده افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء در سطوح بالای تنش می‌باشد (Weisany *et al.*, 2012). بررسی غلظت مالون دی‌آلدهید بافت گیاهی بیانگر میزان تخریب غشاء سلولی است. زیرا این ترکیب تحت تأثیر تخریب و پراکسیده شدن غشاء سلولی آزاد می‌شود. با توجه به نتایج به‌دست آمده با اعمال تنش شوری به ویژه سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر میزان مالون دی‌آلدهید نسبت به تیمار شاهد به میزان چشمگیری افزایش یافت. مالون دی‌آلدهید محصول پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده در فسفولیپیدها است (Kumar *et al.*, 2009). از میزان پراکسیداسیون لیپید به عنوان نشانه رادیکال آزاد مضر برای غشاء سلولی تحت شرایط تنش در تحقیقات مختلف استفاده شده است (Dermiral and Turkan, 2005). بنابراین مالون دی‌آلدهید می‌تواند به عنوان یک معرف برای بررسی میزان صدمات غشاء در شرایط تنش مورد استفاده قرار گیرد. در پژوهش حاضر نیز میزان مالون دی‌آلدهید با پراکسید هیدروژن از همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح یک درصد برخوردار بود. از طرفی نتایج حاکی از همبستگی منفی و معنی‌داری میزان پراکسید هیدروژن با عملکرد در سطح پنج درصد بود. به علت کوتاه شدن طول دوره رشد گیاه و تسریع پیری برگ‌ها

در اثر تنش شوری، فتوسنتز و کلروفیل جاری و انتقال کربوهیدرات‌های تولیدشده به دانه‌ها به‌طور مستقیم کاهش می‌یابد و علت احتمالی عملکرد تک بوته در ارقام حساس سپیدرود و IR29 را می‌توان تسریع پیرشدن برگ‌ها و در نتیجه کوتاه‌شدن طول دوره رشد گیاه عنوان کرد. به‌نظر می‌رسد تنش شوری از طریق محدودیت در جذب عناصر غذایی، کمبود آب قابل استفاده گیاه و سمی بودن عناصر غذایی، سبب کاهش قدرت رشد سلولی می‌شود و کاهش سطح برگ، فتوسنتز و در نهایت محتوای کلروفیل را به‌دنبال دارد. این موارد سبب کاهش کربوهیدرات تولیدی و در نتیجه کاهش رشد اجزای مختلف گیاه می‌شود و در نهایت کاهش عملکرد تک بوته را در پی دارد. در تحقیقی توسط قدیرنژاد شیاده و همکاران (۱۳۹۹) اظهار نمودند که همبستگی منفی بین عملکرد دانه، مقدار پروتئین، فعالیت پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدهید در گیاه برنج وجود دارد.

### نتیجه‌گیری

در مجموع، براساس نتایج بدست آمده تنش شوری موجب افزایش کلیه شاخصه‌های ناشی از آسیب گیاه و نیز سیستم آنزیم دفاعی گیاه گردید. در این میان میزان آسیب وارده به موتانت MLTH2 کمتر از سایر ارقام مورد بررسی بود که می‌تواند به دلیل افزایش پارامترهایی دفاعی چون افزایش میزان پرولین و کاهش میزان مالون دی‌آلدهید به دنبال تولید پایین‌تر میزان پراکسید هیدروژن و در نتیجه کاهش نشت‌پذیری غشاء در شرایط تنش‌زا در این موتانت باشد. همچنین کاهش کمتر عملکرد تک بوته در این رقم تحت شرای مواجه با تنش شوری نسبت به سایر ارقام مورد بررسی نشانگر آمادگی بالاتر این موتانت برای مقابله با آسیب‌های ناشی از تنش شوری است.

### سپاسگزاری

به این وسیله از مدیریت پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان به خاطر تأمین مالی و همچنین بخش

مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده برای کمک در اجرای این پژوهش  
سپاسگزاری می‌شود.

## منابع

- آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی. (۱۴۰۰). آمارنامه کشاورزی ایران. گزارش سطح، تولید و عملکرد محصولات زراعی. مرکز آمار ایران، معاونت برنامه‌ریزی و نظارت راهبردی ریاست جمهوری ایران.
- انفراد، اکبر، پوستینی، کاظم، مجنون‌حسینی، ناصر، و خواجه احمد عطاری، احمدعلی (۱۳۸۲). واکنش‌های فیزیولوژیکی ارقام کلزا (*Brassica napus L.*) در مرحله رشد رویشی نسبت به تنش شوری. *مجله علوم آب و خاک*، ۴(۷)، ۱۰۳-۱۱۳.
- اولادی، مرتضی، نعمت‌زاده، قربانعلی، قلی‌زاده، عمار، و افخمی، عمار (۱۳۹۳). ارزیابی لاین‌های موتانت برنج حاصل از پرتودهی اشعه گاما (y-rays) تحت تنش شوری. چهاردهمین همایش ملی برنج. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ساری، ایران.
- آذری، آرمان، مدرس ثانوی، سیدعلی محمد، عسکری، حسین، قناتی، فائزه، ناجی، امیرمحمد، و علیزاده، بهرام (۱۳۹۱). اثر تنش شوری بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک دو گونه کلزا و شلغم روغنی (*Brassica napus and B. rapa*). *نشریه علوم زراعی ایران*، ۱۴(۲)، ۱۲۱-۱۳۵.
- آروین، محمدجواد، و کاظمی‌پور، نسرین (۱۳۸۰). آثار تنش‌های شوری و خشکی بر رشد و ترکیب شیمیایی و بیوشیمیایی چهار رقم پیاز خوراکی. *نشریه علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی*، ۵(۴)، ۴۱-۵۱.
- حسینی، جابر، طهماسبی، زین‌العابدین، و پردشتی، همت‌اله (۱۳۹۱). غربالگری ژنوتیپ‌های برنج (*Oryza sativa L.*) از نظر تحمل به NaCl در مرحله اولیه گیاهچه. *مجله بین‌المللی زراعت و تولید گیاهی*، ۳(۸)، ۲۷۴-۲۸۳.
- حیدری شریف‌آباد، حسین (۱۳۹۶). تنش شوری. اولین کنفرانس تأثیر تنش‌های محیطی بر گیاهان، تهران، ایران.
- راهداری، پروانه، توکلی، شاهرخ، و اسدی، محمود (۱۳۸۹). بررسی اثر سطوح مختلف تنش شوری بر فاکتورهای رشد گیاهچه‌های خرفه (*Portulaca oleracea L.*). همایش ملی گیاهان دارویی، ساری، ایران.
- سعیدزاده، فرزین، تقی‌زاده، رضا، و قربان، اف‌الشاد. (۱۳۹۵). ارزیابی تحمل به شوری تعدادی از ژنوتیپ‌های برنج تحت شرایط غرب استان گیلان (آستارا). *نشریه تحقیقات غلات*، ۶(۱)، ۳۱-۴۱.
- عبدمیشانی، سیروس، و شاه‌نجات بوشهری، علی‌اکبر (۱۳۹۴). اصلاح نباتات تکمیلی. انتشارات دانشگاه تهران، تهران.
- قدیرنژاد شیاده، سیده رقیه. اسماعیلی، محمدعلی، پردشتی، همت‌اله، و نعمت‌زاده، قربانعلی (۱۳۹۹). ارزیابی فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نسل ششم لاین‌های موتانت برنج (*Oryza sativa L.*) تحت تنش شوری. *نشریه فرآیند و کارکرد گیاهی*، ۹(۳۵)، ۵۷-۷۲.
- لطف‌اللهی، لیلما، ترابی، حسین، و امیدی، حشمت (۱۳۹۴). بررسی تأثیر سطوح مختلف شوری بر پرولین، رنگدانه‌های فتوسنتزی و رطوبت نسبی برگ گیاه دارویی بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla L.*) در محیط آبکشت. *مجله پژوهش‌های تولید گیاهی*، ۲۲(۱)، ۸۹-۱۰۴.
- مجیدی، احمد، و امیری فهلیانی، رضا (۱۳۹۵). تجزیه و تحلیل اثر شوری بر میزان کلروفیل، شاخص‌های فلورسانس کلروفیل و عملکرد دانه برخی ارقام برنج. *پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی*، ۸(۱۸)، ۱۸۳-۱۹۰.
- مجیدی، زهرا، رنجبر، غلامعلی، بابائیان جلودار، نادعلی، و باقری، نادعلی (۱۳۹۵). کاربرد روش اصلاح موتاسیونی جهت ارزیابی لاین‌های موتانت برنج (*Oryza sativa L.*) متحمل به شوری. *نشریه تنش‌های محیطی در علوم زراعی*، ۹(۴)، ۳۸۷-۳۹۴.

موسوی‌زاده، زهرا سادات، نجفی زرینی، حمید، هاشمی پطرودی، سید حمیدرضا و کاظمی‌تبار، کمال (۱۳۹۷). ارزیابی میزان پرولین، کلروفیل و مالون دی‌آلدئید در ارقام حساس و متحمل برنج تحت تنش کلرید سدیم. *پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی*، ۱۰(۲۵)، ۲۸-۳۵.

هاشمی‌نیا، سیدمجید، کوچکی، عوض، و قهرمان، نوذر (۱۳۷۶). بهره‌برداری از آب‌های شور در کشاورزی پایدار. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، مشهد.

یونسی ملردی، الهام، نعمت‌زاده قربانعلی، و پاکدین پاریزی، علی (۱۳۹۸). پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی بافت‌های مختلف گیاه آلروپوس لیتورالیس به تنش شوری. *نشریه فرآیند و کارکرد گیاهی*، ۸(۳۲)، ۴۴۶-۴۳۳.

Ahloowalia, B. S. & Maluszynski, M. (2001). Induced mutations—A new paradigm in plant breeding. *Euphytica*, 118, 167-173. <https://doi.org/10.1023/A:1004162323428>

Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., & Karanov, E. (2001). The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant Cell and Environment*, 24, 1337-1344. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x>

Ando, A. (1970). Rice Breeding with Induced Mutant II. IAEA, Austria, Vienna.

Bates, I. S., Waldern, R. P., & Tear, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.

Beauchamp, C. & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44, 276-287. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90370-8](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8)

Borzouei, A., Kafi, M., Akbari-Ghogdi, E., & Mousavi-Shalmani, M. A. (2012). Long term salinity stress in relation to lipid peroxidation super oxide dismutase activity and proline content of salt sensitive and salt-tolerant wheat cultivars. *Chili Journal of Agriculture Research*, 72(4), 476-482. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392012000400003>

Bowler, C., Van Montagu, M., & Inze, D. (1992). Superoxide dismutase and stress tolerance. *Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 43, 83-116. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.43.060192.000503>

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitative titration of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

Chawla, S., Jain, S., & Jain, V. (2013). Salinity induced oxidative stress and antioxidant system in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 1, 27-34. <https://doi.org/10.1007/s13562-012-0107-4>

Chunthaburee, S., Dongsansuk, A., Sanitchon, J., Pattanagul, W., & Theerakulpisut, P. (2016). Physiological and biochemical parameters for evaluation and clustering of rice cultivars differing in salt tolerance at seedling stage. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(4), 467-477. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.05.013>

Dermiral, T. & Turkan, I. (2005). Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense system and proline content in root of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 53(3), 247-257. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.03.017>

Demiral, T. & Turkan, I. (2006). Exogenous glycinebetaine affects growth and proline accumulation and retards senescence in two rice cultivars under NaCl stress. *Environmental and Experimental Botany*, 56, 72-79. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.01.005>

FAO. (2021). Global Map of Salt Affected Soils Version 1.0. <https://www.fao.org/soils-po>.

Fayez, K. A. & Bazaid, S. A. (2014). Improving drought and salinity tolerance in barley by application of salicylic acid and potassium nitrate. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Science*, 13, 45-55. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2013.01.001>

Farkhondeh, R., Nabizadeh, E., & Jalilnezhad, N. (2012). Effect of salinity stress on proline content, membrane stability and water relations in two sugar beet cultivars. *International Journal of Agricultural Science*, 2(5), 385-39.

Farooq, S. H. & Farooq, A. (2006). The use of cell membrane stability (CMS) technique to screen for salt tolerant wheat varieties. *Journal of Plant Physiology*, 163, 629-637. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.06.006>

Gupta, B. & Huang, B. (2014). Mechanism of salinity tolerance in plants: Physiological, biochemical, and molecular characterization. *International Journal of Genomics*, 1-18. <https://doi.org/10.1155/2014/701596>

Halliwell, B. (1999). Antioxidant defense mechanism from the beginning to the end. *Free Radical Research*, 31, 261-272. <https://doi.org/10.1080/10715769900300841>

Hussain, S., Ramzan, M., Rana, M. A., Mann, R. A., & Akhter, M. (2013). Effect of various planting techniques on yield and yield components of rice. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 23(2), 672-674.

- IAEA. (2022). International Ministerial Conference on Nuclear Power in the 21<sup>st</sup> Century (IAEA). 26–28 October 2022, Washington D.C., USA.
- Ismail, A. M. & Horie, T. (2017). Genomics, physiology, and molecular breeding approaches for improving and tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 68, 405-434. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042916-040936>
- Joseph, B. & Jini, D. (2010). Proteomic analysis of salinity stress-responsive proteins in plants. *Asian Journal of Plant Sciences*, 9, 307-313.
- Khan, M. A., Yasmin, S., Ansari, R., Shirazi., & Ashraf, M. Y. (2007). Screening for salt tolerance in wheat genotypes at an early seedling stage. *Pakistan Journal of Botany*, 39(7), 2501-2509.
- Kanawapee, N., Sanitchon, J., Lontom, W., & Threerakulpisut. P. (2012). Evaluation of salt tolerance at the seedling stage in rice genotypes by growth performance, ion accumulation, proline and chlorophyll content. *Plant and Soil*, 358, 235-249. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1179-6>
- Karuppanapandian, T., Moon, J. C., Kim, C., Manoharan, K., & Kim, W. (2011). Reactive oxygen species in plants: Their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. *Australian Journal of Crop Science*, 5(6), 709-725.
- Kaur, N., Dhawan, M., Sharma, I., & Pati, P. K. (2016). Interdependency of reactive oxygen species generating and scavenging system in salt sensitive and salt tolerant cultivars of rice. *BMC Plant Biology*, 16(1), 1-31. <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0824-2>
- Kibria, M. G., Hossain, M., Murata, Y., & Hoque, M. A. (2017). Antioxidant defense mechanisms of salinity tolerance in rice genotypes. *Rice Science*, 24(3), 155-162. <https://doi.org/10.1016/j.rsci.2017.05.001>
- Krishnamurthy, S. L., Gautam, R. K., Sharma, P. C., & Sharma, D. K. (2016). Effect of different salt stresses on agro-morphological traits and utilisation of salt stress indices for reproductive stage salt tolerance in rice. *Field Crops Research*, 190, 26-33. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2016.02.018>
- Kumar, M., Yadav, V., Tuteja, N., & Johri, A. K. (2009). Antioxidant enzyme activities in maize plants colonized with *Piriformospora indica*. *Microbiology*, 155, 780-790. <https://doi.org/10.1099/mic.0.019869-0>
- Lichtenthaler, H. K. & Wellburn, A. R. (1983). Determination of total carotenoids and chlorophyll an and b of leaf extract in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11, 591-592.
- Lutts, S., Kient, J. M., & Bauharmont, J. (1996). NaCl induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa*) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany*, 78, 389-398.
- Mirza Masoumzadeh, B., Imani, A. A., & Khayamaim, S. (2012). Salinity stress effect on proline and chlorophyll rate in four beet cultivars. *Scholars Research Library*, 3(12), 5453-5456.
- Okuma, E., Soeda, K., Tada, M., & Murata, Y. (2000). Exogenous proline mitigates the inhibition of growth of *Nicotiana tabacum* cultured cells under saline conditions. *Soil Science and Plant Nutrition*, 46, 257-63. <https://doi.org/10.1080/00380768.2000.10408781>
- Okamura, M., Umemoto, N., & Onishi, N. (2012). Breeding glittering carnations by an efficient mutagenesis system. *Plant Biotechnology*, 29, 209-214. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.12.0104a>
- Parida, A. K. & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60, 324-349. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.010>
- Parvaiz, A. & Satyawati, S. (2008). Salt stress and phytochemical responses of plants. *Plant, Soil and Environment*, 54, 89-99. <https://doi.org/10.17221/2774-PSE>
- Rachoski, M., Gazquez, A., Calzadilla, P., Bezus, R., Rodriguez, A., Ruiz, O., & Maiale, S. (2015). Chlorophyll fluorescence and lipid peroxidation changes in rice somaclonal lines subjected to salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37, 117-128. <https://doi.org/10.1007/s11738-015-1865-0>
- Rakhmankulova, Z., Shuyskaya, E., Shcherbakov, A., Fedyayev, V., Biktimerova, G., Khafisova, R., & Usmanov, I. (2015). Proline and flavonoids in the shoots of halophytes inhabiting the South Urals. *Russian Journal of Plant Physiology*, 62, 71-76. <https://doi.org/10.1134/S1021443715010112>
- Rani, B. & Sharma, V. K. (2017). Screening of rice genotypes for salt tolerance in relation to morphological traits and yield components under field condition. *International Journal of Agriculture Sciences*, 9(33), 4493-4497.
- Sayed, O. E. E., Rizkalla, A. A., & Sabri, S. R. S. (2007). In vitro Mutagenesis for genetic improvement of salinity tolerance in wheat. *Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 4, 377-383.
- Shereen, A., Ansari, R., Mumtaz, S., Bughio, H. R., Mujtaba, S. M., Shirazi, M. U., & Khan, M. A. (2009). Impact of gamma irradiation induced changes on growth and physiological responses of rice under saline conditions. *Pakistan Journal of Botany*, 41, 2487-2495.
- Singh, D. P. & Sarkar, R. K. (2014). Distinction and characterization of salinity tolerant and sensitive rice cultivars as probed by the chlorophyll fluorescence characteristics and growth parameters. *Functional Plant Biology*, 41, 727-736. <https://doi.org/10.1071/FP13229>
- Sofo, A., Scopa, A., Nuzzaci, M., & Vitti, A. (2015). Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 13561-78. <https://doi.org/10.3390/ijms160613561>

- Stahl, W. & Sies, H. (2005). Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1740, 101-107. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2004.12.006>
- Stewart, R. R. C. & Bewley, J. D. (1980). Lipid peroxidation associated aging of soybean axes. *Plant Physiology*, 65, 245-248.
- Sudhakar, C., Lakshmi, A., & Giridarakumar, S. (2001). Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science*, 141, 613-619. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00450-2](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00450-2)
- Weisany, W., Sohrabi, Y., Heidari, Gh., Siosemardeh, A., & Ghassemi-Golezani, K. (2012). Changes in antioxidant enzymes activity and plant performance by salinity stress and zinc application in soybean (*Glycine max* L.). *Plant Omics Journal*, 5, 60-67.
- Zarco-Tejada, P. J., Miller, J. R., Mohammad, G. H., Noland T. L., & Sampson, P. H. (2000). Chlorophyll fluorescence effects on vegetation apparent reflectance. *Remote Sensing of Environment*, 74, 596-608. [https://doi.org/10.1016/S0034-4257\(00\)00148-6](https://doi.org/10.1016/S0034-4257(00)00148-6)
- Zhang, R., Wang, Y., Hussain, S., Yang, S., Li, R., Liu, S., Chen, Y., Wei, H., Dai, Q., & Hou, H. (2022). Study on the effect of salt stress on yield and grain quality among different rice varieties. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1-14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.918460>

## Evaluation some of rice mutant lines (*Oryza sativa* L.) under salt stress through agronomic, physiological and enzymatic traits

Farhad Bagheri<sup>1</sup>, Hemmatollah Pirdashti<sup>2\*</sup>, Morteza Oladi<sup>1</sup>, Maryam Jenabiyani<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

<sup>2</sup>Department of Agronomy, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

<sup>3</sup>Department of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

(Received: 2023/01/30, Accepted: 2023/04/18)

### Abstract

Since, salinity stress threatens food security and sustainable agriculture production, the response of plants to salinity stress has always been one of the most important subjects of physiological and biochemical studies. In order to evaluate the mutant lines in terms of agronomic, physiological and enzymatic traits under salt stress, a factorial experiment was carried out based of a randomized complete block design in three replications using paddy soil and adjusting its salinity in pots. The treatments included four mutant lines (MLST1, MLTH1, MLTH2 and MLTH3) along with two tolerant controls (Deilamani and Nonabukra) and two sensitive controls (IR29 and Sepidrood) at three salinity levels (zero, 4 and 8 dS/m). Results indicated that the highest amount of proline was obtained at a salinity level of 4 dS/m in the MLTH2 mutant, which showed an increase of more than 1.3 times compared to the conditions of no salinity stress. Obtained. The highest and lowest amounts of malondialdehyde (MDA) were respectively at the salinity level of 4 dS/m and no salinity stress related to the MLTH3 genotype. According to the results, the highest level of superoxide dismutase (SOD) enzyme activity was related to the MLTH2 mutant at 4 dS/m salinity and the lowest was related to the MLST1 mutant at 8 dS/m salinity. In the absence of salinity stress, the highest paddy yield was recorded in the salt sensitive cultivar of Sepidrood. By comparison, after applying salinity stress, the lowest yield reduction was obtained in the MLTH2 mutant. In general, based on the biochemical and yield evaluation, the MLTH2 genotype was identified as the best salt tolerant line, which will be to recommend for further research

**Keywords:** Chlorophyll, Electrolyte leakage, Proline, Rice, Salinity

Corresponding author, Email: h.pirdashti@sanru.ac.ir