تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد نهم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۹۵
۳۸۷-۳۹٤
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2017.466

کاربرد روش اصلاح موتاسیونی جهت ارزیابی لاین‌های موتانت برنج (*Oryza sativa* L.) متحمل به شوری

زهرا مجیدی[۱]، غلامعلی رنجبر[۲*]، نادعلی بابائیان جلودار[۳]، نادعلی باقری[۴]

۱ . دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.
۲. دانشیار گروه بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.
۳. استاد گروه بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.
۴. استادیار گروه بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.

تاریخ دریافت: ۹۲/۰۲/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۶/۱۷

چکیده

اصلاح ارقام برنج مقاوم به شوری یکی از بهترین راه‌ها برای بهره‌برداری از خاک‌های شور است. استفاده از اصلاح موتاسیونی با ایجاد تنوع ژنتیکی فراوان می‌تواند به انتخاب ارقام جدید برای بهبود برخی از صفات مهم اقتصادی کمک کند. بدین منظور بذور برنج رقم طارم محلی را تحت تیمار دو موتاژن شیمیایی اتیل متان سولفونات و تیمار ترکیبی متیل نیتروز اوره+سدیم آزید قرار داده و در نسل دوم بوته‌هایی که ازنظر صفات مهم اقتصادی مطلوب بودند انتخاب و در نسل سوم تحت استرس شوری قرار داده شدند. این آزمایش به‌منظور ارزیابی واکنش لاینهای موتانت در برابر شوری در مرحله گیاهچه‌ای انجام گرفت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار، در محیط هیدروپونیک در سطوح شوری صفر و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر اجرا شد. بنا بر نتایج به‌دست‌آمده، دو لاین موتانت حاصل از تیمار اتیل متان سولفانات با دارا بودن میزان زیست‌توده بالا و نسبت سدیم به پتاسیم کم به همراه رقم نونابوکرا در گروه متحمل قرار گرفتند. این گیاهان در مقایسه با طارم محلی (غیر موتاژن) در تنش شوری تحمل بالاتری داشتند. دو لاین حساس به شوری نیز تحت تیمار این موتاژن مشاهده شدند، درحالی‌که اکثر لاین‌های موتانت حاصل از تیمار متیل نیتروز اوره+ سدیم آزید به تنش شوری حساسیت نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: **اصلاح موتاسیونی، تحمل به شوری، اتیل متان سولفونات، متیل نیتروز اوره+ سدیم آزید.**

مقدمه

شوری یکی از تنش‌های اصلی و شایع در جهان است که سبب کاهش تولیدات کشاورزی و محدودیت رشد رستنی-های طبیعی در نواحی وسیعی از سطح زمین شده است. امروزه به علت استفاده بی‌رویه از منابع طبیعی و به‌کارگیری تکنولوژی‌های نامناسب در تولید محصولات کشاورزی به‌ویژه در رابطه با آب آبیاری بخش قابل‌توجهی از زمین‌های کشاورزی در مناطق خشک با پدیده شوری مواجه هستند (Koocheki et al., 1994)، به‌طوری‌که پنج درصد اراضی زراعی دنیا و نود درصد شالیزارهای دنیا به‌نوعی تحت تأثیر این تنش می‌باشند (Ansari et al., 2001; Flowers et al., 1997).

وضعیت حساسیت و مقاومت برنج به شوری در مراحل مختلف رشد و نمو متفاوت است، به‌طوری‌که گیاه در مرحله جوانه‌زنی به شوری نسبتاً متحمل و در اوایل دوره گیاهچه-ای (۳ برگی) خیلی حساس شده و در مرحله رشد رویشی مقاوم می‌گردد. گیاه در مرحله گرده‌افشانی و لقاح نیز به شوری حساس شده و در مرحله رسیدن به‌طور فزاینده‌ای مقاوم می‌گردد (Lang et al., 2001; Moradi, 2002). گیاهان در محیط شور با دو عامل اصلی مواجه هستند: (۱)

* نگارنده پاسخگو: غلامعلی رنجبر. پست الکترونیک: ali.ranjbar@gmail.com

املاح زیاد موجود در محلول خاک که پتانسیل اسمزی خاک را پائین می‌آورد و باعث کاهش جذب آب در گیاه می‌شود (Abdolzadeh et al., 1998; Marschner, 1986). این امر هم در تقسیم سلول و بزرگ شدن سلول‌ها اختلال ایجاد نموده و کلیه واکنش‌های متابولیکی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد؛ و (۲) بالا بودن یون‌های سدیم و کلر موجب کاهش جذب یون‌های ضروری ازجمله یون‌های پتاسیم، کلسیم، آمونیوم و نیترات شده و نیز از فعالیت آنزیم‌ها کاسته و ساختار غشاء را برهم می‌زند (Greenwey et al., 1980; Lacan et al., 1996; Marschner, 1986). این اثرات سبب کاهش فعالیت‌های متابولیکی گیاه ازجمله فتوسنتز شده و از رشد گیاهان در محیط‌های شور می‌کاهد (Greenwey et al., 1980; Marschner, 1986). در برنج چندین مکانیسم برای تحمل به شوری شناسایی شده است (Yeo et al., 1986) که عبارت‌اند از ممانعت از ورود نمک، جذب نمک اضافی از آوند چوبی پس از جذب اولیه، ارتباط الکترولیتی ریشه با اندام هوایی، انتقال نمک اضافی از برگ‌های جوان به برگ‌های پیرتر، ذخیره نمک در واکوئل و رقیق نگه‌داشتن نمک در داخل برگ. این مکانیسم‌ها باعث کاهش یون سدیم در بافت‌های فعال و درنتیجه منجر به کاهش نسبت سدیم به پتاسیم در اندام-های هوایی می‌گردد. نسبت سدیم به پتاسیم معیار مناسبی برای ارزیابی تحمل به شوری است. ژنوتیپ‌های برنج متحمل به شوری فقط یکی یا دو نوع از مکانیسم فوق را دارا هستند. انتخاب و جدا کردن ژنوتیپ‌های متحمل به تنش به دو روش مستقیم (سنجش عملکرد) و غیرمستقیم (بر اساس صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک هم‌بسته باتحمل به تنش) انجام می‌شود (Singh, 2001).

استفاده از روش اصلاح موتاسیونی در شناسایی موتانت-های مقاوم به استرس‌های غیرزنده در برخی از محصولات ازجمله برنج موفقیت‌آمیز گزارش شده است (Ahloowalia et al., 2004). القاء موتاسیون می‌تواند برای افزایش تحمل به شوری در برنج مورداستفاده قرار گیرد (Lee et al., 2003; Uddin et al., 2007; Shereen et al., 2009). موتاسیون با ایجاد جهش و تنوع ژنتیکی فراوان زمینه را برای انتخاب ژنوتیپ‌های موتانت همراه با صفات مهم اقتصادی فراهم می‌کند. اراضی شور زمینه‌ی مناسبی برای شناسایی لاین‌های موتانت متحمل به شوری با عملکرد بالا، بلوغ زودتر و دیگر صفات مطلوب از بین تنوع حاصل از موتاسیون می‌باشند (Baloch et al., 2003).

هدف از اجرای این آزمایش بررسی عکس‌العمل موتانت‌های حاصل از موتاژن‌های شیمیایی اتیل متان سولفونات و تیمار ترکیبی متیل نیتروز اوره + سدیم آزید تحت استرس شوری بوده است.

مواد و روش‌ها

برای انجام این آزمایش ۵۰ گرم بذور رقم طارم محلی برای هر یک از تیمارهای موتاژنی شامل، اتیل متان سولفونات[1] (EMS) و تیمار ترکیبی متیل‌نیتروز اوره+سدیم آزید[2] (NUM+AZ) به‌صورت زیر تحت تیمار قرار گرفتند:

تیمار EMS: بذرها به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق در آب مقطر خیسانده شدند. سپس آب ظرف تخلیه‌شده و به مدت ۱۸ ساعت در محلول ۱۴ میلی مولار EMS قرار گرفتند. پس‌ازآن ۳ مرتبه و هر بار ۵ دقیقه با آب مقطر شستشو شدند. سپس دوباره سه مرتبه و هر بار ۲۰ دقیقه در آب مقطر قرار داده‌شده و درنهایت به مدت ۲ ساعت زیر شیر آب جاری شستشو شدند (Bradley et al., 2007).

تیمار NUM +AZ: بذور به مدت ۱۸-۱۴ ساعت در آب دوبار تقطیر خیسانده شده پس‌ازآن آب از داخل ظرف تخلیه‌شده و سپس به مدت ۳ ساعت در محلول ۲ میلی مولار AZ و بافر فسفات سدیم با pH =۳/۵ قرار گرفتند سپس محلول از داخل ظرف تخلیه و بذور ۳ مرتبه و هر بار به مدت ۵ دقیقه در آب شستشو شده و مجدداً ۱۸- ۱۴ ساعت در آب مقطر خیسانده شدند. پس‌ازآن در محلول ۳۰ میلی مولار NUM به مدت ۳ ساعت تیمار شده و بعد به مدت یک ساعت در زیر شیر آب جاری قرار گرفتند تا کاملاً شستشو شده و آماده کشت شوند (Bradley et al., 2007).

بذور لاین های حاصل از موتاسیون بعد از اعمال تیمار (لاین ۱ الی ۱۳) به همراه شاهد (طارم محلی، نانوبوکرا و IR29 بدون اعمال موتاژن) به‌طور جداگانه در مزرعه‌ی تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری خزانه‌گیری شدند و پس از ۳۰ روز نشاءها در زمین اصلی به‌صورت تک بوته و با فاصله ۲۰×۲۰ سانتی‌متر کشت شدند. پرورش نسل اول به روش متداول (مطابق عرف

[1] Ethyl Methane Sulfonate
[2] Nitrous Urea Methyl + Sodium Azide

منطقه) انجام گرفت و بذرهای هر بوته برای هر تیمار موتاژنی به‌طور جداگانه برداشت و در نسل دوم کشت شدند. در این نسل از بین تنوع ایجادشده توسط موتاسیون بوته-هایی که ازنظر صفات مهم اقتصادی نظیر ارتفاع کوتاه، بلوغ زودتر و عملکرد بیشتر نسبت به سایر بوته‌ها برتری داشتند برای هر تیمار به‌طور جداگانه انتخاب و در نسل سوم تحت استرس شوری قرار گرفتند. بدین منظور بذور ژنوتیپ‌های موردمطالعه بعد از ضدعفونی با قارچ‌کش کربوکسی تیرام با غلظت دو در هزار، داخل پتری که ته آن با کاغذ صافی مرطوب پوشانده شده بود، قرار داده شدند. سپس پتری‌های حاوی بذر در ژرمیناتور در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از ۵ الی ۷ روز بذور جوانه‌دار شده به ظروف کشت که حاوی محلول غذایی یوشیدا (Youshida et al., 1976) بود، منتقل شدند. محیط کشت یوشیدا هر هفته یک‌بار تعویض و در تمام مدت رشد به‌طور روزانه pH محلول کنترل و با NaOH و HCl در سطح ۵/۵ ثابت نگه داشته شد. متوسط دمای محیط در روز ۳۰ درجه سانتی-گراد و در شب ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. در مرحله‌ی رشد رویشی، در مرحله ۳ برگچه‌ای (۱۴ روز بعد از انتقال) گیاهچه‌های موردمطالعه در ۲ سطح صفر و ۱۲ دسی‌زیمنس تحت تیمار قرار گرفتند. چهارده روز بعد از اعمال تیمار شوری فاکتورهایی مانند طول اندام هوایی و طول ریشه‌چه اندازه‌گیری و برای اندازه‌گیری وزن خشک به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا وزن آن‌ها ثابت شود، سپس با ترازوی حساس و با دقت یک‌هزارم گرم، وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد. پس‌ازآن غلظت عناصر سدیم و پتاسیم در این اندام‌ها به کمک دستگاه فلایم فتومتر اندازه‌گیری شد. با توجه به به‌کارگیری ۲ فاکتور (سطوح شوری و ژنوتیپ)، این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به مورداجرا گذاشته شد. درنهایت از نرم‌افزار SAS و MSTAT-C برای تجزیه آماری داده‌های حاصله استفاده گردید.

نتایج و بحث

مطابق نتایج به‌دست‌آمده از جدول مقایسه میانگین (جدول ۱)، کمترین میزان جذب سدیم در لاین‌های موتانت حاصل از تیمار EMS در استرس شوری مربوط به لاین شماره‌ی ۱۲، ۴ و نونابوکرا و بیشترین مقدار جذب سدیم مربوط به لاین‌های شماره‌ی ۱۳، ۱ و IR29 می‌باشد.

دندروگرام شماره‌ی ۱ لاین‌ها موتانت حاصل از EMS را در محیط شور ازنظر جذب سدیم در ۳ گروه آماری قرار داده که دراین‌بین لاین‌های ۱، ۵، ۱۳ به همراه رقم IR29 در گروه حساس و لاین‌های ۱۲ و ۴ و رقم نونابوکرا در گروه بسیار متحمل قرار گرفتند.

نتایج تحقیقات مانز و تستار (Munns & Testar, 2008) نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌های حساس تحت تنش شوری مقدار بیشتری سدیم در اندام هوایی خود نسبت به ژنوتیپ‌های شور دارا می‌باشند؛ بنابراین با توجه به مقدار زیاد تجمع یون سدیم، میزان رشد در آن‌ها به‌مراتب کمتر از ارقام متحمل می‌باشد.

مقایسه‌ی میانگین برای میزان جذب پتاسیم نشان می-دهد که تنوع بین ارقام ازلحاظ جذب پتاسیم کمتر از تنوع ارقام در جذب سدیم بود. این خود نشان‌دهنده‌ی این مطلب است که ارقام ترجیح می‌دهند میزان جذب سدیم را کم کنند تا اینکه با تغییر در جذب پتاسیم اثرات منفی ناشی از حضور یون سدیم را در محیط سلول خنثی نمایند.

نسبت سدیم به پتاسیم در اکثر لاین‌های موتانت حاصل از موتاژن موردمطالعه با قرار گرفتن تحت تنش شوری افزایش یافت (شکل ۲). نتایج مقایسه میانگین برای نسبت سدیم به پتاسیم نشان می‌دهد که نونابوکرا و لاین‌های شماره‌ی ۴ و ۱۲ کمترین نسبت سدیم به پتاسیم را دارند که اختلاف بسیار معنی‌داری نیز با شاهد طارم محلی نشان می‌دهند و مطابق شکل ۳ در یک گروه آماری قرار می-گیرند این در حالی است که رقم IR29 و لاین‌های ۱ و ۱۳ بیشترین میزان سدیم به پتاسیم را داشته و در یک گروه آماری قرار دارند. لی و همکاران (Lee et al., 2003) بیان کردند که مقدار سدیم یا پتاسیم تنها نمی‌تواند در تفکیک ارقام متحمل و حساس معیار مفیدی باشد بلکه باید نسبت این دو یون موردتوجه قرار گیرد. آن‌ها همبستگی نسبت سدیم به پتاسیم باتحمل به شوری را به‌عنوان یکی از شاخص‌های مناسب برای انتخاب معرفی نمودند (Dvorak, 1994). نشان داده شده است که ارقام متحمل برنج، نمک را جذب می‌کنند اما آن را در واکوئل‌های داخل سلول‌های اندام هوایی ذخیره می‌کنند درنتیجه از صدمات نمک اضافی مصون می‌مانند (Yeo & Flowers, 1986). احتمالاً

لاین‌های موجود در گروه آماری بسیار متحمل از چنین سازوکاری استفاده کرده‌اند.

همچنین مطابق جدول مقایسه‌ی میانگین شماره ۱، بیشترین میزان زیست‌توده مربوط به رقم نونابوکرا و لاین‌های ۴ و ۱۲ و کمترین زیست‌توده تحت تنش شوری مربوط به رقم IR29 و لاین شماره‌ی ۲ بود. همان‌طور که در جدول مقایسه‌ی میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و شوری ملاحظه می‌شود لاین شماره‌ی ۷ در صفات زیست‌توده، درصد پتاسیم، درصد سدیم و نسبت سدیم به پتاسیم در مقایسه با شاهد طارم محلی (بدون موتاژن) غیر معنی‌دار شده است مابقی لاین‌ها در صفات نامبرده به‌جز زیست‌توده در مقایسه با شاهد طارم محلی اختلاف معنی‌داری را نشان دادند به‌طوری‌که درصد پتاسیم در لاین‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ در مقایسه با طارم محلی به‌طور معنی‌داری کاهش‌یافته و لاین‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۸ و ۱۰ در صفات درصد سدیم به‌طور معنی‌داری افزایش‌یافته است و بر همین اساس این لاین‌ها به همراه رقم IR29 در گروه حساس قرارگرفته‌اند.

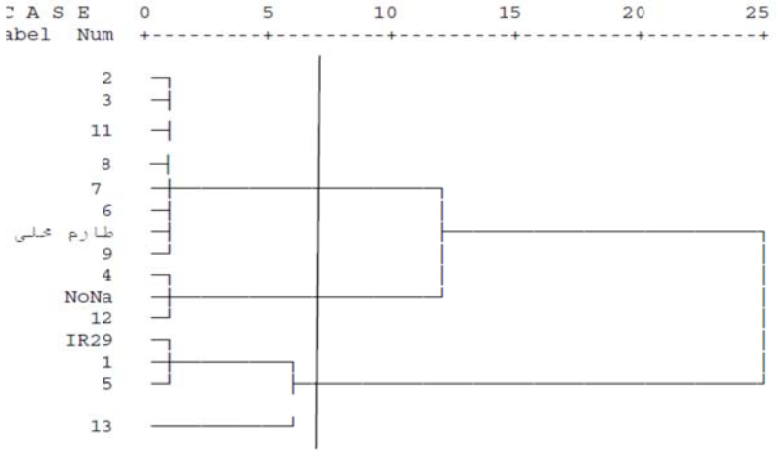
جدول ۱. مقایسه‌ی میانگین اثر متقابل ژنوتیپ در شوری در سطح شوری برای ژنوتیپ‌های موردمطالعه EMS.

Table 1. Mean comparison of genotype × salinity in levels of salinity for EMS studied genotypes.

ژنوتیپ Genotype	طول ساقه‌چه (سانتی‌متر) Shoot length (cm)	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر) Root length (cm)	وزن خشک ریشه (گرم) Root dry weight (gr)	وزن خشک ساقه (گرم) Shoot dry weight (gr)	زیست‌توده (گرم) Biomass (gr)	درصد پتاسیم K (%)	درصد سدیم Na (%)	نسبت سدیم/پتاسیم Na/K Ratio
طارم محلی[1] Local Tarom	29.993	10.073	5.567	27.967	33.833	3.325	3.89	1.17
1	28.958^{ns}	10.203^{ns}	5.367^{ns}	30.700^{ns}	36.067^{ns}	2.466**	6.766**	2.750**
2	27.167^{ns}	10.250^{ns}	4.500^{ns}	20.267^{ns}	24.767^{ns}	3.082^{ns}	4.601**	1.505**
3	29.773^{ns}	9.960^{ns}	7.300^{ns}	32.767^{ns}	40.067^{ns}	3.096^{ns}	4.587**	1.483**
4	35.967**	9.787^{ns}	15.067**	71.200**	86.267**	3.058^{ns}	2.447**	0.804**
5	29.802^{ns}	10.262^{ns}	5.600^{ns}	33.600^{ns}	39.200^{ns}	2.924*	5.755**	1.982**
6	35.123**	11.553**	4.700^{ns}	35.600^{ns}	40.300^{ns}	2.867**	4.071^{ns}	1.420**
7	26.083^{ns}	10.875^{ns}	18.300**	23.700^{ns}	42.000^{ns}	2.810**	5.161**	1.836**
8	35.432**	8.145**	8.367^{ns}	44.333**	52.700*	3.440^{ns}	5.046**	1.467**
9	32.267^{ns}	11.567**	6.000^{ns}	33.733^{ns}	39.733^{ns}	3.325^{ns}	4.186^{ns}	1.255^{ns}
11	31.655^{ns}	12.625**	5.233^{ns}	28.933^{ns}	34.167^{ns}	3.173^{ns}	4.817**	1.519**
12	38.933**	10.738^{ns}	11.867^{ns}	69.300**	81.167**	3.899**	1.548**	0.400**
13	30.657**	12.705**	7.433^{ns}	36.900^{ns}	44.333^{ns}	2.637**	9.289**	3.537**
NaNo[2]	32.223^{ns}	12.553**	18.033**	68.333**	86.367**	3.325^{ns}	2.293**	0.689**
IR29[3]	19.214**	10.630^{ns}	60.330^{ns}	23.467^{ns}	29.500^{ns}	2.727**	6.358**	2.331**
$Lsd_{\%5}$	3.8	0.837	8.042	11.956	16.885	0.268	0.5086	0.200
$Lsd_{\%1}$	5.054	1.113	10.700	15.901	22.455	0.356	0.676	0.260

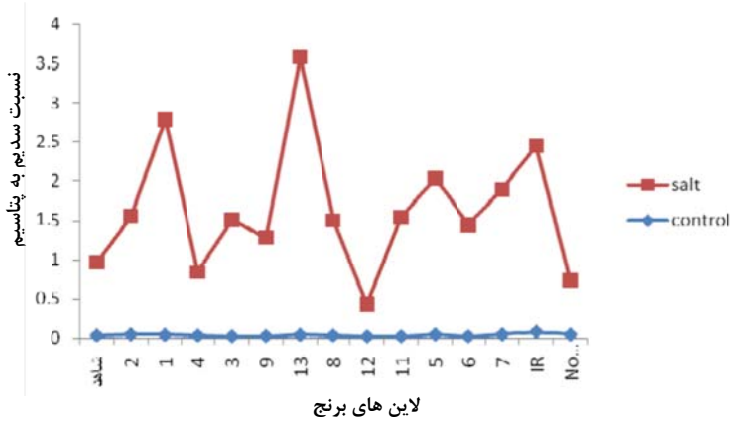
۱،۲،۳ ارقام شاهد بدون اعمال تیمار موتاژن

1,2,3 Genotypes with no mutagen treatment



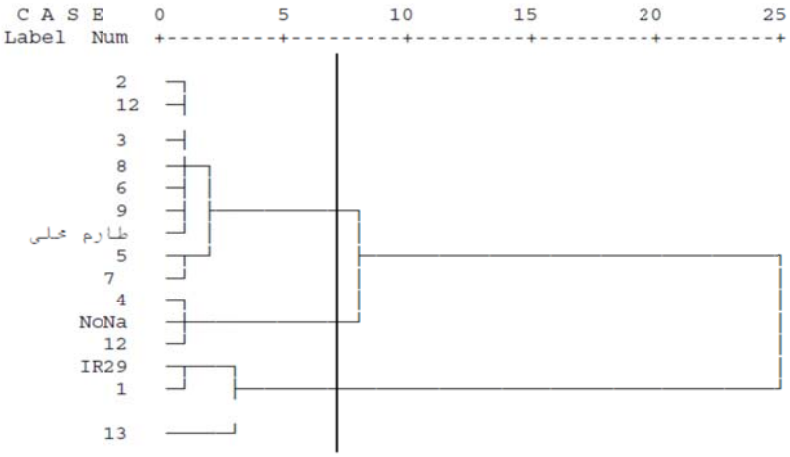
شکل ۱. دندروگرام تجزیه‌ی خوشه‌ای لاین‌های موتانت حاصل از EMS برای درصد سدیم

Fig. 1. Cluster analysis dendrogram of mutant lines obtained from EMS for sodium percentage.



شکل ۲. تأثیر شوری بر نسبت سدیم به پتاسیم در لاین‌های موتانت حاصل از EMS تحت تنش شوری.

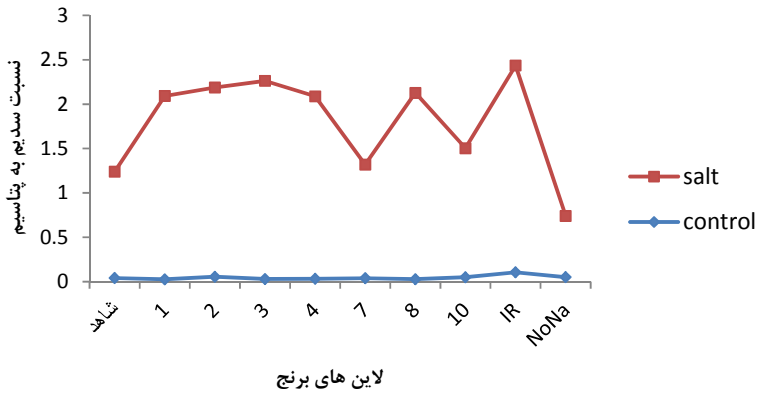
Fig. 2. Salinity effects on sodium to potassium ratio in mutant lines obtained from EMS under salt stress.



شکل ۳. دندروگرام تجزیه‌ی خوشه‌ای لاین‌های موتانت حاصل از EMS برای نسبت سدیم به پتاسیم

Fig. 3. Cluster analysis dendrogram of mutant lines obtained from EMS for sodium to potassium ratio.

نتایج مقایسه میانگین برای نسبت سدیم به پتاسیم نشان می‌دهد که نونابوکرا کمترین نسبت سدیم به پتاسیم را دارد که اختلاف بسیار معنی‌داری را در مقایسه با شاهد طارم محلی نشان می‌دهد. لاین‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۸ و ۱۰ در صفت نسبت سدیم به پتاسیم در مقایسه با طارم محلی به‌طور معنی‌داری افزایش‌یافته است و لاین شماره‌ی ۷ اختلاف معنی‌داری را با شاهد نشان نداده است (جدول ۲).



شکل ۴. تأثیر شوری بر نسبت سدیم به پتاسیم در لاین‌های موتانت حاصل از MNU+AZ تحت تنش شوری.

Fig. 4. Salinity effects on sodium to potassium ratio in mutant lines obtained from MNU+AZ under salt stress.

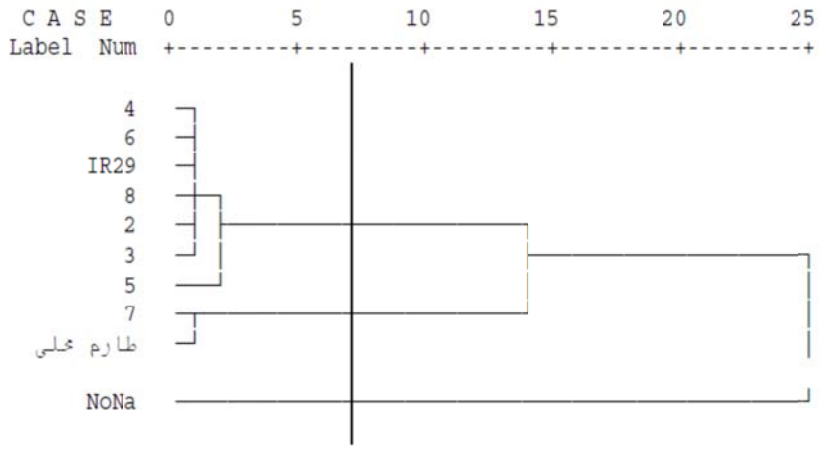
جدول ۲. مقایسه‌ی میانگین اثر متقابل ژنوتیپ در شوری در سطح شوری برای ژنوتیپ‌های موردمطالعه MNU+AZ.

Table 2. Mean comparison of genotype × salinity in levels of salinity for MNU+AZ studied genotypes.

ژنوتیپ Genotype	طول ساقه‌چه (سانتی‌متر) Shoot length (cm)	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر) Root length (cm)	وزن خشک ریشه (گرم) Root dry weight (gr)	وزن خشک ساقه (گرم) Shoot dry weight (gr)	زیست‌توده (گرم) Biomass (gr)	درصد پتاسیم K (%)	درصد سدیم Na (%)	نسبت سدیم/پتاسیم Na/K Ratio
طارم محلی[1] Local Tarom	29.993	10.073	5.867	35.342	33.833	3.325	3.933	1.199
1	28.405^{ns}	11.376**	3.5*	23.833^{ns}	27.333^{ns}	3.44^{ns}	7.11**	2.067**
2	31.079^{ns}	13.685**	5.5^{ns}	31.7^{ns}	37.2^{ns}	2.984**	6.364**	2.133**
3	28.658^{ns}	11.271*	4.733^{ns}	25.033^{ns}	29.767^{ns}	2.927**	6.536**	2.233**
4	29.196^{ns}	11.736**	4.733^{ns}	27.5^{ns}	32.233^{ns}	2.982**	6.135**	2.057**
7	25.167**	11.310**	4.8^{ns}	23^{ns}	27.8^{ns}	3.096^{ns}	3.954^{ns}	1.281^{ns}
8	28.589^{ns}	12.022**	4.3*	22.5^{ns}	26.8^{ns}	3.44^{ns}	7.224**	2.1**
10	26.667*	10.553^{ns}	6.99^{ns}	28.3^{ns}	35.29^{ns}	3.553^{ns}	5.162**	1.454**
IR29[2]	19.214**	10.630^{ns}	6.033^{ns}	23.467^{ns}	29.5^{ns}	2.727^{ns}	6.358**	2.331**
NoNa[3]	32.223**	12.553**	18.033**	68.333**	86.367**	3.325^{ns}	2.293**	0.689**
$Lsd_{\%5}$	2.861	0.946	1.433	6.778	7.7021	0.255	0.448	0.138
$Lsd_{\%1}$	3.826	1.265	1.918	9.082	10.305	0.342	0.6	0.183

۱،۲،۳ ژنوتیپ های شاهد بدون اعمال تیمار موتاژن

1,2,3 Genotypes with no mutagen treatment



شکل ۵- دندروگرام تجزیه‌ی خوشه‌ای لاین‌های موتانت حاصل از MNU+AZ.

Fig. 5. Cluster analysis dendrogram of mutant lines obtained from MNU+AZ

مقایسه‌ی شکل ۲ و ۴ نشان می‌دهد که تیمار EMS در شرایط شوری تنوع بیشتری را در لاین‌ها نسبت به تیمار ترکیبی MNU+AZ ایجاد کرده است. لاین‌های EMS در دامنه بیشتر و مقادیر متنوع‌تری سدیم را جذب کردند ولی تیمار ترکیبی در دامنه‌ی کمتر و تقریباً تمام لاین‌ها در تنش شوری به یک نسبت سدیم جذب کردند.

در بررسی‌هایی که توسط یوشی و همکاران (YU-SHI et al., 2006) بر روی واریته‌ی Sweet Potato تحت تیمار موتاژنی EMS با غلظت ۰/۵٪ در محیط کشت MS انجام دادند به واریته‌های موتانتی دست یافتند که در شوری ۲۰۰ میلی مولار NaCl در مقایسه با شاهد بهتر عمل می‌کرد. شیو و همکاران (Shiu-Cho et al., 1985) گزارش کردند که بذور گیاه ۶۷ Tainung تحت تیمار EMS لاین‌های موتانتی را ایجاد کرد که در تنش شوری در شرایط کشت هیدروپونیک دارای ارتفاع بیشتر و وزن تر بیشتری در مقایسه با تیپ وحشی (بدون موتاژن) بودند این لاین‌ها ازنظر ظاهر نیز مطلوب‌تر از لاین شاهد (بدون موتاژن) بودند. همان‌طوری که در شکل شماره‌ی ۵ ملاحظه می‌شود لاین‌های موتانت حاصل از موتاژن ترکیبی MNU+AZ در ۳ گروه آماری قرارگرفته‌اند. لاین شماره‌ی ۷ و رقم طارم محلی در گروه متحمل و لاین‌های شماره‌ی ۱، ۲، ۳، ۴، ۸ و ۱۰ به همراه رقم IR29 در گروه بسیار حساس و رقم نونابوکرا در گروه مقاوم قرار گرفته است. همان‌طور که در نتایج ملاحظه می‌شود رقم طارم محلی تحت تأثیر تیمار ترکیبی MNU+AZ لاین‌های موتانتی را ایجاد کرده که نسبت به تنش شوری بسیار حساس می‌باشند یا با شاهد اختلاف معنی‌داری ندارند.

منابع

Abdolzadeh, A., Kazuto, S., Chiba, K., 1998. Effect of salinityon growth and ion content in *Loliumm ultiflorum*, *L. perenne* and *Festuca arundinacea*. Journal of the Japanese Society of Revegetation Technology. 23, 161-169.

Ahloowalia, B.S., Malusznyski, M., Nichterlin, K., 2004. Global impact of mutation derived varieties. Euphytica. 135, 187-204.

Ansari R., Shereen, A., Flowers, T.J., Yeo, A.R., 2001. Identification rice lines for improved salttolerance from a mapping population. In: Peng, S., Hardy, B., (eds.), Rice Research for Food Security and Poverty Alleviation. Proceeding of the International Rice Research Conference, 31 March- 3 April 2000, Los Banos, Philippines. pp. 285-291.

Baloch, A., Soomro, A., Javed, M., Bughio, H., Alam, S., Bughio, M., Mohammed, T., Mastoi, N., 2003. Induction of salt tolerance in rice through mutation breeding. Asia Journal of Plant Sciences. 2(3), 273-276.

Bradley J T., Cooper, J., Tai, Th.H., Colowit, P., Greene, V., Henikoff, S., Comai, L., 2007. Discovery of chemically induced mutations in rice by TILLING. BioMedCentral (BMC). Plant Biology. 7, 19.

Dvorak, J., Norman, M.M., Goyal, S., 1994. Enhancement of the salt tolerance in *Triticum turgidum* L. by the Knal locus transferred from the *Triticum aestivum* L. chromosome 4D by homologous recombination. Theoretical and Applied Genetics. 87, 872-877.

Flowers, T.J., Garcia, A., Koyama, M., Yeo, AR., 1997. Breeding for salinity resistance in crop plants: The role of molecular biology. Acta Physiologia Plantarum. 19(4), 427-433.

Greenwey, H., Munns, R., 1980. Mechanism of salt tolerancein nonhalophytes. Annual Reviwe in Plant Physiology. 31,149-190.

Koocheki, A., Mahalati, M.N., 1994. Feed value of some halophytic range plants of arid regions of Iran. In: Squires, V.R., Ayoub, A.T., (eds), Halophytes as a Resource for Livestock. Kluwer Academic Publishers. 249-253.

Lacan, D., Durand, M., 1996. Na^+-K^+ exchange at the xylem/symplast boundary. Plant Phyiology. 110, 705-711.

Lang N.T., Yanagihara, S., Buu, B.C., 2001. A microsatellite marker for a gene contributing salttolerance on rice at the vegetative and reproductive stages. SABRAO Journal of Breeding and Genetics. 33(1),1-10.

Lang, N.T., Yanagihara, S., Buu, B.C., 2001. QTL analysis of salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). SABRAO Journal of Breeding and Genetics. 33(1),11-20

Lee, S.Y., Choi, W.Y., Ko, J.C.S., Kim, T., Gregorio, G.B., 2003. Salinity tolerance of japonica and indica rice (*Oryza sativa* L.) at seedling stage. Planta. 216(6), 1043-1046.

Lee, I.S., Kim, D.S., Lim, Y.P., Lee, K.S., Song, V., Lee, Y.I., 2003. Generation and performance evaluation of tolerant mutants in rice. SABRAO Journal of Breeding and Genetics. 35, 93-102.

Marschner, H., 1986. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press London. pp. 862

Moradi, F., 2002. Physiological characterization of rice cultivars for salinity tolerance during vegetative and reproductive stages. Ph.D. thesis. University of Philippines, LosBanos. Philippines. 308p.

Munns, R., Testar, M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Reviews in Plant Biology. 59, 651-681.

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.

Shiu-Cho, W., Ching-Kit, V., Su-Wan, K., 1985. Cell mutations for salt tolerance screening in tissue culture. Botanical Bulletin of Academia Sinica. 26, 195-201.

Singh, B.D., 2001. Plant Breeding: Principles and Methods. Kalyani publisher. 898 p.

Uddin, I., Rashid, H., Khan, N., Perveen, F., Tai, T.H., Tanaka, K., 2007. Selection of promising salt tolerant rice mutants derived from cultivar drew and their antioxidant enzymes activity under salt stress. SABRAO Journal of Breeding and Genetics. 39, 89-98.

Yeo, A.R., Flowers, T.J., 1984. Mechanism of salinity resistance in rice and their role as physiological criteria in plant breeding. In: Salinity tolerance in Plants. Willey.Intersci. New York, pp. 151-170.

Yeo, A.R., Flowers, T.J., 1986. Salinity resistance in rice and a pyramiding approach to breedingvarieties for saline soils. Australian Journal of Plant Physiology. 13, 161-173.

Yoshida, S., Forno, D.A., Cock, J.H., Gomez, K.A., 1976. Laboratory manual for physiological studies of rice. IRRI, Los Babos, Philippines. 83 p.

Yu-Shi, L., Zhang, J., Xiao-Rong, G., Li-Jia, A., 2006. Mutation induced by ethylmethanesulphonate (EMS), in vitro screening for salt tolerance and plant regeneration of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). Plant, Cell, Tissue and Organ Culture. 88 (1), 77-81.