Vol. 7, No. 2, Autumn & Winter, 2026, p. 217-228

Plant Production and Genetics

https://doi.org/ 10.22034/plant.2026.145777.1198

The effect of ethyl methane sulfonate (EMS) on morphophysiological traits of spinach (*Spinacia oleracea* L. cv. Viroflay) under salinity stress

Farnoosh Sabouri[1], Zahra Ghahremani[1], Yavar Vafaee[*2], Taher Barzegar[1], Fahimeh Salehi[1]

1. Department of Horticultural Sciences and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
2. Department of Horticultural Sciences and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran
*Corresponding Author Email: Y.Vafaee@uok.ac.ir

Received: 01-05-2026 **revised:** 06-06-2026 **Accepted**: 27-06-2026

Abstract

Introduction: Spinach (*Spinacia oleracea* L.) is a valuable leafy vegetable sensitive to salinity, with yield decreases under saline conditions. Developing salt-tolerant cultivars through the induction of genetic variability is a key strategy to address this challenge. Chemical mutagenesis using mutagens such as ethyl methanesulfonate (EMS) is a valuable tool in breeding programs due to its ability to induce point mutations and broad phenotypic variation. The present study evaluated the effects of different EMS concentrations and salinity stress levels on morphophysiological traits of spinach cv. Viroflay and determined the optimum EMS concentration for alleviating the adverse effects of salinity

Materials and Methods: This study was conducted in the greenhouse of the University of Kurdistan during 2022 and 2023 as a factorial arrangement based on a completely randomized design with three replications. The first factor was four EMS levels (control, 0.25, 0.5, and 1%) and the second was four salinity levels (control, 0.75, 4, and 8 dS m^{-1}) applied via sodium chloride. After surface sterilization and pericarp removal, seeds were treated with EMS in 100 mM phosphate buffer for 75 minutes in darkness, then sown in 3.5-L pots containing cocopeat, perlite, sand, and compost. Salinity treatments were applied through irrigation three times per week. Measured traits included leaf length and width, petiole length and diameter, leaf number, shoot fresh and dry weight, chlorophyll a and b (Lichtenthaler method), proline (Bates), protein (Bradford), and concentrations of sodium, potassium, phosphorus, and iron. Data were analyzed with SAS (version 9.4), and means were compared using Duncan's test at the 5% probability level.

Results: Increasing salinity, especially at 8 dS m^{-1}, significantly reduced leaf length and width, leaf number, petiole length and diameter, shoot fresh and dry weight, chlorophyll *a* and *b*, potassium, phosphorus, and protein contents, while increasing sodium and proline accumulation. The lowest shoot fresh weight (9.76 g) and dry weight (0.788 g) were recorded at 8 dS m^{-1}. Among EMS treatments, 0.25% showed the best performance, with the highest leaf length (10.73 cm), leaf number (18.40), shoot fresh weight (16.93 g), chlorophyll *a* (2.536 mg g^{-1}), and iron (29.45 mg kg^{-1}) obtained in this treatment. The interaction effect showed the highest proline under 8 dS m^{-1} combined with 0.25% EMS and the lowest in control, while the highest shoot fresh and dry weights (16.93 and 2.14 g, respectively) were observed under non-saline conditions combined with 0.25% EMS.

Conclusion: The reduction in growth and physiological parameters under salinity is attributed to osmotic imbalance, degradation of the photosynthetic protein-pigment complex, inhibition of magnesium uptake, and increased reactive oxygen species. Proline accumulation plays a vital role in maintaining cell turgor, osmotic adjustment, and scavenging of free radicals. EMS at 0.25%, through inducing beneficial point mutations, alleviated the negative effects of salinity and improved growth attributes, photosynthetic pigments, and mineral nutrient balance. Controlled application of 0.25% EMS can be an effective tool for inducing genetic variability and enhancing salinity tolerance in spinach breeding programs.

Keywords: Ethyl methane sulfonate, Genetic diversity, Mutation, Salinity, Spinach

Citation: Sabouri, F., Ghahremani, Z., Vafaee, Y., & Barzegar, T. (2026). The effect of ethyl methane sulfonate (EMS) on morphophysiological traits of spinach (*Spinacia oleracea* L. cv. Viroflay) under salinity stress. *Plant Production and Genetics*, *7*(2), 217-228. https://doi.org/10.22034/plant.2026.145777.1198

Copyrights:
Copyrights rights for this article is retained by the author (s), with publication rights granted to Plant Production and Genetics. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

جلد ۷، شماره۲، پاییز و زمستان، ۱۴۰۵، صفحات ۲۲۸-۲۱۷

تولید و ژنتیک گیاهی

https://doi.org/ 10.22034/plant.2026.145777.1198

اثر اتیل‌متان‌سولفونات (EMS) بر صفات مورفوفیزیولوژیکی اسفناج (*Spinacia oleracea* L. cv. Viroflay) تحت تنش شوری

فرنوش صبوری[۱]، زهرا قهرمانی[۱]، یاور وفایی*[۲]، طاهر برزگر[۱]، فهیمه صالحی[۱]

۱. گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

۲. گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

*ایمیل نویسنده مسئول: Y.Vafaee@uok.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۲/۱۱ **تاریخ بازنگری:** ۱۴۰۵/۰۳/۱۶ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۵/۰۴/۰۶

چکیده

مقدمه: اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) سبزی برگی پرارزشی است که نسبت به شوری حساس بوده و عملکرد آن در خاک‌های شور کاهش می‌یابد. توسعه ارقام متحمل به شوری با ایجاد تنوع ژنتیکی، از راهکارهای کلیدی برای مقابله با این چالش به‌شمار می‌رود. جهش‌زایی شیمیایی با موتاژن‌هایی نظیر اتیل‌متان‌سولفونات (EMS)، به‌دلیل توانایی ایجاد جهش‌های نقطه‌ای و تنوع فنوتیپی گسترده، ابزاری ارزشمند در برنامه‌های اصلاحی محسوب می‌شود. این پژوهش با هدف ارزیابی اثرات سطوح مختلف EMS و تنش شوری بر صفات مورفوفیزیولوژیکی اسفناج رقم Viroflay و تعیین غلظت بهینه EMS برای تعدیل اثرات منفی شوری انجام شد.

مواد و روش‌ها: این پژوهش در گلخانه دانشگاه کردستان طی سال‌های ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول شامل چهار سطح EMS (شاهد، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد) و فاکتور دوم چهار سطح شوری آب آبیاری با کلرید سدیم (شاهد، ۰/۷۵، ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر) بود. بذرهای اسفناج پس از ضدعفونی و حذف پریکارپ، با غلظت‌های موردنظر EMS در بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار به‌مدت ۷۵ دقیقه و در تاریکی تیمار شدند و سپس در گلدان‌های ۳/۵ لیتری حاوی مخلوط کوکوپیت، پرلیت، ماسه و کمپوست کشت گردیدند. تیمار شوری سه بار در هفته اعمال شد. صفات اندازه‌گیری‌شده شامل طول و عرض برگ، طول و قطر دمبرگ، تعداد برگ، وزن تر و خشک شاخساره، کلروفیل a و b (روش Lichtenthaler-)، پرولین (روش Bates)، پروتئین (روش Bradford) و غلظت سدیم، پتاسیم، فسفر و آهن بود. تجزیه داده‌ها با نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۴) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح پنج درصد انجام گرفت.

نتایج: افزایش شوری به‌ویژه در هشت دسی‌زیمنس بر متر، باعث کاهش معنی‌دار طول و عرض برگ، تعداد برگ، طول و قطر دمبرگ، وزن تر و خشک شاخساره، کلروفیل a و b، پتاسیم، فسفر و پروتئین و افزایش سدیم و پرولین گردید. کمترین وزن تر شاخساره (۹/۷۶ گرم) و وزن خشک (۰/۷۸۸گرم) در شوری هشت دسی‌زیمنس مشاهده شد. در میان تیمارهایEMS، غلظت ۰/۲۵ درصد بهترین عملکرد را داشت و بیشترین مقدار طول برگ (۱۰/۷۳ سانتی‌متر)، تعداد برگ (۱۸/۴۰)، وزن تر شاخساره (۱۶/۹۳ گرم)، کلروفیل a (۲/۵۳۶ میلی‌گرم بر گرم) و آهن (۲۹/۴۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در این تیمار به‌دست آمد. اثر متقابل نشان داد بیشترین پرولین در هشت دسی‌زیمنس بر متر همراه با ۰/۲۵ درصد EMS و کمترین در شاهد ثبت شد و بیشترین وزن تر و خشک شاخساره (به‌ترتیب ۱۶/۹۳ و ۲/۱۴ گرم) در شاهد شوری همراه با ۰/۲۵ درصد EMS مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: کاهش رشد و پارامترهای فیزیولوژیکی تحت شوری به‌دلیل اختلال در تعادل اسمزی، تخریب کمپلکس پروتئین-رنگیزه فتوسنتزی، مهار جذب منیزیم و افزایش گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد. افزایش پرولین نقش حیاتی در حفظ تورژسانس سلولی، تنظیم اسمزی و پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد دارد. کاربرد EMS در غلظت ۰/۲۵ درصد با ایجاد جهش‌های نقطه‌ای مفید، اثرات منفی شوری را تعدیل و موجب بهبود صفات رشدی، رنگیزه‌های فتوسنتزی و تعادل عناصر معدنی گردید. کاربرد کنترل‌شده EMS با غلظت ۰/۲۵ درصد می‌تواند ابزاری مؤثر برای ایجاد تنوع ژنتیکی و افزایش تحمل اسفناج به تنش شوری در برنامه‌های اصلاحی باشد.

کلید واژگان: اتیل متان سولفونات، اسفناج، تنوع ژنتیکی، جهش، شوری

منبع: صبوری، ف.، قهرمانی، ز.، وفایی، ی.، برزگر، ط.، و صالحی، ف. (۱۴۰۵). اثرات اتیل‌متان‌سولفونات (EMS) بر صفات مورفوفیزیولوژیکی اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) رقم Viroflay تحت تنش شوری، *مجله تولید و ژنتیک گیاهی*، ۷ (۲)، ۲۲۸-۲۱۷. https://doi.org/ 10.22034/plant.2026.145777.1198

CC BY

مقدمه

اسفناج (*Spinacia oleracea* L) گیاهی یکساله و روزبلند است که در آب و هوای خنک رشد می‌کند (Salehi Sheikhi *et al*., 2020). محققان معتقدند این گیاه احتمالاً متعلق به ایران باستان است، زیرا ایرانیان به ارزش غذایی آن آگاه بودند (Abolghasemi *et al*., 2019). اسفناج حاوی مواد معدنی مانند منگنز، منیزیم، آهن، کلسیم، سلنیوم، ویتامین‌های E، K، B2، B6، B12 و فیبرهای خوراکی است(Aisha *et al*., 2013)

شوری به‌عنوان یک مشکل رو به گسترش در خاک‌های کشاورزی، رشد گیاهان را در مناطق خشک و نیمه‌خشک محدود می‌کند (Navarro *et al*., 2001). ایران با حدود ۲۳ میلیون هکتار اراضی شور و کویری با این چالش مواجه است. شوری با افزایش فشار اسمزی، سمیت یونی، محدود کردن جذب آب، تجمع مواد سمی و تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، بر رشد گیاه و عملکرد محصول تأثیر منفی می‌گذارد (Alkharabsheh *et al*., 2021; Abbasi *et al*., 2024). این تنش به‌دلیل اختلال در فتوسنتز، افزایش دمای برگ و مهار رشد طولی ساقه، مورفولوژی گیاه را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد (Lemos Neto *et al*., 2020). تجمع یون‌های سدیم و کلرید ناشی از شوری، جذب مواد مغذی ضروری را مهار می‌کند (Isayenkov & Maathuis, 2019). چون بسیاری از محصولات کشاورزی به شوری حساس‌اند، افزایش تحمل آن‌ها از طریق راهکارهای مختلف ضروری است (Wani *et al*., 2020; Rasheed *et al*., 2022).

جهش‌زایی به‌ویژه جهش‌زایی شیمیایی، یکی از روش‌های مؤثر برای افزایش تنوع ژنتیکی و بهبود مقاومت به تنش در گیاهان است (Manzoor *et al*., 2019; Nasri *et al*., 2022). نرخ پایین جهش طبیعی، استفاده از فرآیندهای القایی برای ایجاد تنوع و انتخاب صفات به‌نژادی مطلوب را ضروری می‌سازد (Nasri *et al*., 2018; Ahn *et al*., 2020). بنابراین استفاده از فرآیندهای تصادفی یا هدفمند برای ایجاد تنوع و انتخاب صفات به‌نژادی مطلوب اهمیت دارد (Jankowicz & Till, 2016). اتیل‌متان‌سولفونات (Ethyl Methanesulfonate) به‌دلیل کاربرد آسان و سمیت کم، از رایج‌ترین موتاژن‌های شیمیایی است (Agrawal, 2000). این ماده با جایگزینی بازهای گوانین و سیتوزین با آدنین و تیمین، جهش‌های نقطه‌ای ایجاد کرده و می‌تواند به تغییر پروتئین‌ها منجر شود (Naderi *et al*., 2007; Wattoo *et al*., 2012) غربالگری فنوتیپی پس از کاربرد EMS، به بهبود صفات کمک می‌کند (Jankowicz & Till, 2016).

تحقیقات قبلی نشان داده است که تنش شوری در مرزه باعث کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه و طول ساقه و ریشه می‌شود (Mehdizadeh *et al*., 2019). در سیر نیز شوری به کاهش معنی‌دار تعداد برگ، وزن تر و خشک و قطر سوخ منجر شده است (Singh & Wani, 2019). در عدس نیز کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت شوری گزارش شده است (Heydari *et al*., 2023). در سطح جهانی، ارقام جهش‌یافته بسیاری با بهبود ویژگی‌های ظاهری، تحمل به تنش‌ها (شوری، سرما، اسیدیته)، مقاومت به بیماری‌ها و افزایش کیفیت و عملکرد محصول معرفی شده‌اند (Okamura *et al*., 2012; Fu *et al*., 2008). تحقیقات متعددی اثر عوامل جهش‌زای شیمیایی و فیزیکی بر رشد گیاهان را بررسی کرده‌اند. در اسپرس، تیمار EMS باعث افزایش ارتفاع بوته، تعداد ساقه و شاخه‌های فرعی شد (Majidi & Arzani, 2005). بیشترین رشد در درختچه طاووسی با غوطه‌وری ۱۰ دقیقه‌ای در EMS به‌دست آمد (Taghizadeh *et al*., 2019). همچنین مواد جهش‌زا نقش بسزایی در تغییرات فنوتیپی نعنا فلفلی داشتند (Rajabi *et al*., 2016). استفاده از EMS در برنج نیز به مقاومت این گیاه در برابر تنش شوری کمک کرد (Theerawitaya *et al*., 2011). EMS به‌عنوان یک عامل ایجاد جهش نقطه‌ای، می‌تواند دامنه گسترده‌ای از آلل‌های جهش‌یافته با تغییر یا ازدست‌دادن کارکرد ژن یا کسب کارکرد جدید ایجاد کند که این موارد به تغییرات مورفوفیزیولوژیکی و درنهایت مقاومت گیاه به تنش‌ها منجر می‌شود (Bodnar & Scott, 2010). در مطالعه‌ای روی چغندر، غلظت ۰/۵ و یک درصد EMS باعث افزایش ۳۰ درصدی عملکرد و رشد شد (Hohmann *et al*., 2005). همچنین در گل رز، تیمار با اتیل‌متان‌سولفونات در غلظت ۰/۲۰ درصد، رشد، گلدهی و وزن تر را بهبود بخشید (Sangram 2015). در بنفشه آفریقایی نیز کاربرد EMS در غلظت‌های پایین (۰/۲ درصد) باعث افزایش وزن تر و خشک شاخساره شد، اما غلظت‌های بالاتر روند کاهشی داشتند (Fang, 2011). کاهش رشد گیاه با افزایش غلظت EMS می‌تواند ناشی از تأخیر در فعالیت آنزیمی، عدم تعادل هورمونی و بازداری از تقسیم و گسترش سلولی باشد (Yusuf & Nair, 1974). میزان جهش

ایجادشده توسط EMS به غلظت ماده بستگی دارد (Lee *et al.*, 2003) و در سویا نیز Zhu *et al.* (1995) گزارش کردند غلظت بالای EMS (بیش از ۰/۹ درصد) سبب کاهش اثرات مطلوب جهش می‌شود. کاهش طول دمبرگ و برگ در غلظت‌های بالاتر ممکن است به‌دلیل تغییر در فرآیندهای فیزیولوژیکی طبیعی، آسیب‌های کروموزومی و تأخیر در تقسیم میتوز باشد (Singh & Kole, 2005). بنابراین انتخاب غلظت بهینه EMS، که در پژوهش حاضر ۰/۲۵ درصد بود، نقش کلیدی در ایجاد تنوع ژنتیکی مفید و افزایش تحمل گیاه به شوری ایفا می‌کند.

این پژوهش با هدف بررسی اثر اتیل‌متان‌سولفونات (EMS) به‌عنوان یک ماده جهش‌زای شیمیایی بر پاسخ‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی اسفناج رقم ویروفلای تحت تنش شوری و همچنین ارزیابی پتانسیل این ماده در ایجاد تغییرات ژنتیکی مؤثر بر افزایش تحمل به شوری انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌منظور بررسی اثر تنش شوری و ماده شیمیایی اتیل‌متان‌سولفونات (EMS) بر صفات مورفوفیزیولوژیکی اسفناج رقم Viroflay در گلخانه پلاستیکی بخش علوم باغبانی دانشگاه کردستان طی سال‌های ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ و به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. شرایط گلخانه با میانگین دمای روز ۲۶ و دمای شب ۲۲ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵۰ تا ۶۰ درصد تنظیم گردید. فاکتور اول شامل چهار سطح EMS (صفر، ۰/۲۵، ۰/۵ و یک درصد) بوده که این غلظت‌ها بر اساس دامنه‌های رایج گزارش‌شده در مطالعات جهش‌زایی گیاهان و با هدف انتخاب سطوحی مؤثر برای القای تغییرات ژنتیکی، همراه با جلوگیری از بروز سمیت شدید و کاهش شدید رشد گیاه، انتخاب شدند. و فاکتور دوم شامل چهار سطح شوری آب آبیاری با کلرید سدیم (شاهد بدون شوری، ۰/۷۵، چهار و هشت دسی‌زیمنس بر متر) بود.

بذرهای خریداری‌شده از شرکت فردین‌کشت کرج ابتدا به‌مدت ۱۰ دقیقه در محلول ۲۰ درصد وایتکس تجاری (حاوی سدیم هیپوکلریت) ضدعفونی شدند و پس از شست‌وشو با آب مقطر، پریکارپ آن‌ها برای نفوذ بهتر ماده جهش‌زا جدا گردید. برای تیمار با ماده جهش‌زا، بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار تهیه شد (۰/۹۴ گرم پودر فسفات در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) و سپس ۱۰ میلی‌لیتر از این بافر به فالکون‌های حاوی بذور بدون پریکارپ اضافه گردید. Ethyl Methanesulfonate با غلظت‌های موردنظر زیر هود اضافه و فالکون‌ها به‌مدت ۷۵ دقیقه روی همزن با سرعت ۹۰ دور در دقیقه و در تاریکی قرار داده شدند. سپس بذرها به‌مدت دو دقیقه با آب جاری شست‌وشو داده شدند تا باقی‌مانده ماده جهش‌زا به‌طور کامل پاک شود (Jankowicz-Cieslak & Till, 2016).

برای کشت در گلدان، ابتدا بذرها روی کاغذ صافی مرطوب در اتاق رشد با دمای ۲۰ درجه سلسیوس در تاریکی به‌مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. سپس برای شکستن خواب بذر و جوانه‌زنی یکنواخت، در یخچال در دمای چهار درجه سلسیوس به‌مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند. پس از این مرحله مجدداً در اتاق رشد با دمای ۲۰ درجه سلسیوس و در روشنایی نگهداری شدند تا ساقه‌چه‌های دو سانتی‌متری ظاهر شوند. در مرحله بعد، بذرهای جوانه‌زده در گلدان‌هایی با اندازه ۳/۵ لیتری حاوی مقادیر یکسانی از کوکوپیت، پرلیت، ماسه و کمپوست کشت شدند و تا ظهور برگ‌های حقیقی تحت آبیاری معمولی قرار گرفتند.

تیمارهای شوری از طریق آب آبیاری با غلظت‌های ۰/۷۵، چهار و هشت دسی‌زیمنس بر متر سه بار در هفته اعمال شد و گلدان‌های شاهد فقط با آب معمولی آبیاری شدند. برای جلوگیری از تجمع نمک و افزایش بیش از حد EC، هر هفته یک‌بار EC خاک اندازه‌گیری شد و در صورت تجمع نمک، آبشویی با آب معمولی انجام گرفت. اعمال تیمارها تا سه هفته پس از مرحله دوبرگی ادامه یافت و سپس صفات مورفولوژیکی شامل طول و عرض برگ، طول و قطر دمبرگ، تعداد برگ، وزن تر و خشک شاخساره، و صفات فیزیولوژیکی شامل کلروفیل a و b، پرولین، پروتئین و غلظت سدیم، پتاسیم، فسفر و آهن اندازه‌گیری شدند.

برای اندازه‌گیری طول و عرض برگ، از هر بوته در هر تکرار سه برگ به‌طور تصادفی انتخاب و با خط‌کش بر حسب سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. قطر دمبرگ با کولیس اندازه‌گیری گردید. برای تعیین وزن تر و خشک شاخساره، از هر گلدان یک بوته به‌طور تصادفی انتخاب و با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شد؛ سپس بوته‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و پس از خشک‌شدن کامل، وزن خشک ثبت گردید.

غلظت پتاسیم و سدیم به روش Chapman & Pratt (1982) میزان فسفر به روش Dry Ash بر اساس Chapman & Pratt (1982) گرفت. غلظت آهن نیز با روش هضم اسیدی (Chapman & Pratt, 1982) و قرائت با اسپکتروفتومتر جذب اتمی تعیین گردید.

کلروفیل a و b و کل

اندازه‌گیری میزان کلروفیل با استفاده از استون و با روش لیختن تالر (Lichtenthaler, 1987) انجام شد. مقدار ۰/۱ گرم از بافت تر برگ در هاون چینی ساییده و ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به نمونه اضافه گردید. سپس عصاره در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت. عصاره رویی به کووت اسپکتروفتومتر منتقل و میزان جذب در طول‌موج‌های ۶۶۳، ۶۴۷ نانومتر با اسپکتروفتومتر مدل Analytik Jena Specord 250 قرائت گردید. سپس مقادیر کلروفیل a، b و کل با استفاده از روابط زیر محاسبه شد:

$$\text{Chl a} = (12.25 \times A663 - 2.79 \times A647) \times V / (1000 \times W)$$

$$\text{Chl b} = (21.50 \times A647 - 5.10 \times A663) \times V / (1000 \times W)$$

$$\text{Total chlorophyll} = \text{Chl a} + \text{Chl b}$$

که در آن A جذب در طول‌موج موردنظر، V حجم نهایی استون ۸۰ درصد بر حسب میلی‌لیتر و W وزن بافت تازه برگ بر حسب گرم است. مقادیر بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر گزارش شد. . غلظت پروتئین کل به روش Bradford (1976) و با استفاده از سرم آلبومین گاوی به‌عنوان استاندارد سنجش شد.

پرولین

ابتدا ۰/۵ گرم از برگ توزین و در هاون چینی همراه با ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک سه درصد ساییده شد. سپس در سانتریفیوژ با ۶۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت پنج دقیقه قرار گرفت. دو میلی‌لیتر از فاز رویی به فالکون‌ها منتقل و دو میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین (۱/۵ گرم نین‌هیدرین + ۳۶ میلی‌لیتر اسید استیک گلایسیال + ۲۴ میلی‌لیتر اسید فسفریک شش مولار) و دو میلی‌لیتر اسید استیک گلایسیال به آن اضافه گردید. فالکون‌ها به‌مدت یک ساعت در بن‌ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از سرد شدن، چهار میلی‌لیتر تولوئن اضافه و فالکون‌ها به‌مدت ۱۰ تا ۱۵ ثانیه تکان داده شدند. درنهایت، فاز رویی قرمزرنگ حاوی پرولین جدا و جذب آن همراه با نمونه‌های استاندارد در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر قرائت گردید. غلظت پرولین بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه برگ با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد (Bates *et al.*, 1973).

تجزیه آماری

تجزیه واریانس داده‌ها (ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه (۹/۴) (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) و رویه PROC GLM بر اساس طرح کاملاً تصادفی در قالب آزمایش فاکتوریل انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ($P < 0.05$) صورت گرفت و رسم نمودارها با نرم‌افزار Microsoft Excel 2019 انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی تنش شوری بر صفات طول برگ، طول دمبرگ، عرض برگ، تعداد برگ، وزن تر و خشک شاخساره، کلروفیل a، کلروفیل b، غلظت سدیم، پتاسیم و فسفر در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱ و ۲). اثر اصلی EMS نیز بر برخی صفات از جمله طول برگ، طول دمبرگ، وزن تر و خشک شاخساره، کلروفیل a و غلظت سدیم معنی‌دار شد. همچنین اثر متقابل شوری × EMS بر صفات وزن تر و خشک شاخساره، کلروفیل a، غلظت آهن، سدیم و پروتئین معنی‌دار بود. درمقابل، برخی صفات از جمله پرولین و پروتئین تحت اثر اصلی شوری یا EMS تغییر معنی‌داری نشان ندادند.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف تنش شوری و اتیل‌متان‌سولفونات بر صفات مورفولوژی گیاه اسفناج

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		طول برگ	عرض برگ	تعداد برگ	طول دمبرگ	قطر دمبرگ	وزن تر شاخساره	وزن خشک شاخساره
تنش شوری	۳	۴۰/۹۸**	۸/۳۳**	۱۲۲/۷۰**	۸۹/۶۵**	۱/۲۲۱**	۱۱۲/۰۲۸**	۱/۱۰۸**
اتیل‌متان‌سولفونات	۳	۳/۴۵۸**	۰/۳۸۲^{ns}	۱۲/۰۷*	۱۵/۱۱**	۰/۲۲۷**	۰/۴۷۵^{ns}	۰/۱۸**
اتیل‌متان‌سولفونات × تنش شوری	۹	۰/۸۵۷^{ns}	۰/۱۹۰^{ns}	۱۰/۵۰۰**	۲/۲۰۹^{ns}	۰/۲۲۷**	۵/۰۱**	۰/۲۴**
خطا	۳۲	۰/۶۹۰	۰/۱۷۳	۱/۶۸	۱/۵۴	۰/۰۶۷	۰/۵۲۷	۰/۰۰۹
ضریب تغییرات (٪)	–	۱۱/۹۹	۹/۴۳	۱۰/۵۱	۹/۶۷	۹/۸۹	۶/۳۵	۹/۴۸

*، ** و ^{ns} به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد و عدم معنی‌داری است.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف تنش شوری و اتیل‌متان‌سولفونات بر صفات فیزیولوژیکی گیاه اسفناج

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	پرولین	پروتئین	سدیم	پتاسیم	فسفر	آهن
تنش شوری	۳	۰/۲۱۹**	۰/۱۳۴**	۰/۳۵۰**	۰/۱۱۳^{ns}	۳۸۴۵/۳۲^{ns}	۰/۴۴**	۰/۸۴*	۳۱/۴۴**	۱۳۱/۱۵۴^{ns}
اتیل‌متان‌سولفونات	۳	۰/۷۷۴**	۰/۴۵۶**	۰/۴۴۵**	۰/۴۸۲^{ns}	۱۳۳/۶۰^{ns}	۰/۰۸**	۰/۰۶^{ns}	۱۵/۵۱**	۱۰۷۹/۸۶**
اتیل‌متان‌سولفونات × تنش شوری	۹	۰/۰۲۴۵^{ns}	۰/۲۲۷*	۰/۷۴۴**	۰/۶۴۹^{ns}	۴۰۱/۴۲^{ns}	۰/۰۰۳^{ns}	۰/۰۴^{ns}	۱/۹۴^{ns}	۱۳۷/۹۳^{ns}
خطا	۳۲	۰/۰۲۴	۰/۰۸۸	۰/۰۵۹	۰/۳۴	۲۲۶۵/۴۱	۰/۰۰۴	۰/۳۱	۱/۳۶	۷۹/۴۶
ضریب تغییرات (٪)	–	۷/۱۴	۱۰/۱۲۱	۷/۸۴	۲/۵	۶/۶۲	۵/۵۴	۹/۰۸	۱۳/۳۹	۸/۶۹

*، ** و ^{ns} به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد و عدم معنی‌داری است.

نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی تنش شوری بر طول و عرض برگ نشان داد که بیشترین مقدار این صفات به‌ترتیب با میانگین‌های ۹/۶۳ و پنج سانتی‌متر در تیمار شاهد و کمترین مقدار به‌ترتیب با میانگین‌های ۴/۶۰ و ۳/۲۳ سانتی‌متر در تیمار هشت دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد (جدول ۳). همچنین مقایسه میانگین اثر اصلی EMS نشان داد بیشترین طول و عرض برگ به‌ترتیب در تیمار ۰/۲۵ درصد EMS و کمترین مقادیر در تیمار یک درصد EMS به‌دست آمد. کاهش طول و عرض برگ با افزایش شوری را می‌توان ناشی از اختلال در فرایندهای فیزیولوژیکی، کاهش فتوسنتز و محدود شدن رشد سلولی دانست. درمقابل، برخی سطوح EMS به‌ویژه غلظت‌های پایین‌تر توانستند تا حدی موجب بهبود صفات رشدی شوند. نتایج مشابهی در پیاز نشان داده است که شوری باعث کاهش معنی‌دار تعداد برگ، وزن تر و خشک و قطر پیاز می‌شود (Singh & Wani, 2019). همچنین در عدس، کاهش رشد و رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش شوری گزارش شده است (Heydari *et al.*, 2023). در توت‌فرنگی نیز Yaghubi و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند کاربرد برخی ترکیبات تعدیل‌کننده تنش می‌تواند اثرات مخرب شوری بر صفات رشدی را کاهش دهد که با بهبود نسبی برخی صفات رشدی در تیمارهای EMS در پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد.

جدول ۳- نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش شوری و اتیل‌متان‌سولفونات صفات مورفولوژیکی و غلظت عناصر معدنی اسفناج

تیمارها	طول برگ (cm)	عرض برگ (cm)	طول دمبرگ (cm)	سدیم (ppm)	فسفر (ppm)	پتاسیم (ppm)
شوری (ds/m)						
۰	۹/۶۳^{a}	۵/۰^{a}	۱۵/۳۳^{a}	۰/۷۶^{d}	۱۰/۹۶^{a}	۲/۱۴^{a}
۰/۷۵	۶/۷۷^{b}	۴/۳۷^{b}	۱۱/۶۶^{b}	۱/۰۱^{d}	۱۰/۳۶^{b}	۲/۰۸^{b}
۴	۵/۲۳^{c}	۴/۱۰^{c}	۱۱/۶۳^{b}	۱/۱۷^{b}	۱۰/۱۶^{c}	۱/۸۰^{c}
۸	۴/۶۰^{d}	۳/۲۳^{d}	۱۰/۶۶^{c}	۱/۹۱^{a}	۷/۸۶^{d}	۱/۷۲^{d}
اتیل‌متان‌سولفونات						
عدم کاربرد ماده	۹/۵۵ ^{bc}	۵/۰۸^{b}	۱۵/۴۸^{cd}	۰/۸۸^{c}	۱۰/۵۲^{b}	۲/۱۲^{c}
۰/۲۵	۱۰/۷۳^{a}	۵/۱۳^{a}	۱۶/۹۰^{a}	۱/۲۱^{b}	۱۱/۸۰^{a}	۲/۲۷^{ba}
۰/۵	۸/۹۰^{c}	۴/۷۶^{bc}	۱۶/۱۰^{b}	۱/۳۱^{ab}	۱۰/۰۷^{c}	۲/۲۸^{ba}
۱	۸/۷۰^{c}	۴/۷۳^{bc}	۱۵/۹۰^{c}	۱/۳۱^{ab}	۸/۹۳^{d}	۲/۳۱^{a}

حروف مشابه در هر ستون نشان‌گر عدم تفاوت معنی‌دار است.

طول دمبرگ

نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی تنش شوری نشان داد که بیشترین میانگین طول دمبرگ (۱۵/۳۳ سانتی‌متر) مربوط به تیمار شاهد و کمترین میانگین (۱۰/۶۶ سانتی‌متر) مربوط به تیمار شوری هشت دسی‌زیمنس بر متر بود (جدول ۳). همچنین در بررسی اثر اصلیEMS، بیشترین میانگین طول دمبرگ در تیمار ۰/۲۵ درصد EMS و کمترین مقدار در تیمار شاهد مشاهده شد. کاهش طول دمبرگ در شرایط شوری را می‌توان ناشی از محدود شدن رشد سلولی و کاهش توان رشد رویشی گیاه دانست. درمقابل، برخی غلظت‌های EMS توانستند موجب بهبود نسبی این صفت شوند که با گزارش‌های پیشین درباره تأثیر مواد جهش‌زا بر تغییرات فنوتیپی گیاهان هم‌خوانی دارد (Rajabi *et al*., 2016).

تعداد برگ

نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی تنش شوری نشان داد که بیشترین تعداد برگ در تیمار شاهد و کمترین مقدار در تیمار شوری هشت دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد (جدول ۳). کاهش تعداد برگ در شرایط شوری می‌تواند ناشی از افزایش فشار اسمزی، سمیت یونی و محدود شدن جذب آب باشد که درنهایت رشد رویشی گیاه را کاهش می‌دهد. همچنین، مقایسه میانگین اثر اصلی EMS نشان داد برخی غلظت‌های پایین‌تر این ماده موجب بهبود نسبی تعداد برگ شدند.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تنش شوری و EMS بر وزن تر و خشک شاخساره معنی‌دار بود؛ بنابراین، از مقایسه مستقل اثرات اصلی برای این صفات صرف‌نظر شد. به‌طور کلی، افزایش شدت تنش شوری موجب کاهش رشد رویشی و تجمع ماده خشک در گیاه شد که می‌تواند ناشی از اختلال در جذب آب، کاهش فعالیت فتوسنتزی و محدود شدن تقسیم و توسعه سلولی باشد. گزارش شده است که تنش شوری از طریق افزایش فشار اسمزی و سمیت یونی، رشد اندام‌های هوایی گیاه را کاهش می‌دهد (Munns, 2002). همچنین در مرزه نیز کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه تحت شرایط شوری گزارش شده است (Mehdizadeh *et al*., 2019). با وجود کاهش رشد در سطوح بالاتر شوری، تفاوت پاسخ گیاهان در تیمارهای مختلف EMS نشان‌دهنده تأثیر این ماده در ایجاد تنوع فنوتیپی و تغییر در واکنش گیاه به تنش شوری است. مطالعات متعددی نقش EMS را در ایجاد تغییرات مورفولوژیکی و بهبود برخی صفات مرتبط با تحمل به تنش نشان داده‌اند (Fu *et al*., 2008; Okamura *et al*., 2012). همچنین در برنج، کاربرد EMS موجب بهبود پاسخ گیاه به شرایط شوری شده است (Theerawitaya *et al*., 2011).

جدول ۴- نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش شوری و اتیل‌متان‌سولفونات بر صفات فیزیولوژی گیاه اسفناج

تیمارها	کلروفیل a (mg/gr)	کلروفیل (mg/gr)	پرولین ($\frac{\mu mol}{gr}$)	پروتئین protein	سدیم (ppm)	فسفر (ppm)	پتاسیم (ppm)	آهن (mg/gr)
شوری (ds/m)								
۰	۲/۳۲۵^{a}	۰/۹۰۷^{b}	۳/۱۸۹^{ba}	۱۴۸/۹۷^{a}	۰/۷۶^{d}	۱۰/۹۶^{a}	۲/۱۴^{a}	۱۷/۹۷^{c}
۰/۷۵	۲/۱۷۳^{b}	۰/۷۵۰^{c}	۲/۹۲۳^{c}	۱۳۲/۵۳^{b}	۱/۰۱^{d}	۱۰/۳۶^{b}	۲/۰۸^{b}	۲۱/۷۸^{a}
۴	۲/۳۱۰^{a}	۱/۰۰^{a}	۳/۳۱۰^{a}	۱۱۹/۲۶^{c}	۱/۱۷^{b}	۱۰/۱۶^{c}	۱/۸۰^{c}	۱۸/۹۵^{b}
۸	۲/۰۳۶^{c}	۰/۹۳۱^{ba}	۳/۰۳۱^{bc}	۱۰۷/۲۹ ^{d}	۱/۹۱^{a}	۷/۸۶^{d}	۱/۷۲^{d}	۱۷/۹۸^{c}
اتیل‌متان‌سولفونات EMS(٪)								
عدم کاربرد ماده	۱/۹۵ ^{d}	۱/۱۳۲ ^{a}	۳/۰۷۷^{b}	۱۲۶/۴۷^{ba}	۰/۸۸ ^{c}	۱۰/۵۲ ^{b}	۲/۱۲ ^{c}	۸/۲۹^{d}
۰/۲۵	۲/۵۳۶^{a}	۰/۸۴۵^{c}	۳/۳۸۵^{a}	۱۲۹/۷۰۲^{a}	۱/۲۱^{b}	۱۱/۸۰^{a}	۲/۲۷^{ba}	۲۹/۴۵^{a}
۰/۵	۲/۰۸۹^{c}	۰/۹۴۶^{b}	۳/۰۶۲^{b}	۱۲۹/۳۸^{ba}	۱/۳۱^{ab}	۱۰/۰۷^{c}	۲/۲۸^{ba}	۲۲/۰۶^{b}
۱	۲/۲۶۵^{b}	۰/۶۶۵^{d}	۲/۹۳۰b	۱۲۲/۵۱۰^{d}	۱/۳۱^{ab}	۸/۹۳^{d}	۲/۳۱^{a}	۱۲/۷۱^{c}

حروف مشابه در هر ستون نشان‌گر عدم تفاوت معنی‌دار است.

کلروفیل a و b

بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش شوری و EMS، بیشترین میزان کلروفیل *a* در تیمار چهار دسی‌زیمنس بر متر شوری به‌همراه ۰/۲۵ درصد EMS و کمترین در تیمار هشت دسی‌زیمنس بر متر و یک درصد EMS مشاهده شد. مقایسه میانگین اثر اصلی شوری نشان داد بیشترین مقدار کلروفیل *b* (۱/۰۰۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شوری چهار دسی‌زیمنس بر متر و کمترین (۰/۷۵۰) در شوری ۰/۷۵ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد. همچنین بیشترین مقدار کلروفیل *b* در اثر اصلی EMS مربوط به تیمار شاهد با مقدار ۱/۱۳۲ و کمترین در تیمار ۱ درصد EMS با میانگین ۰/۶۶۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود (جدول ۴).

کاهش کلروفیل تحت تنش شوری می‌تواند ناشی از تخریب کمپلکس پروتئین-رنگیزه، مهار جذب منیزیم به‌عنوان جزء اصلی مولکول کلروفیل و افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز باشد (Qasim *et al*., 2003; Rodriguez-Dominguez *et al*., 2016). همچنین در شرایط تنش، گیاه تولید پرولین را به سنتز کلروفیل ترجیح می‌دهد که می‌تواند به کاهش محتوای کلروفیل منجر شود. کاربرد EMS در غلظت‌های پایین به‌نظر می‌رسد آسیب به دستگاه فتوسنتزی و غشاهای سلولی را کاهش می‌دهد (Bhat *et al*., 2022). شوری باعث کاهش رشد گیاه از طریق کاهش تعرق و افت کارایی فتوسنتزی از طریق تغییر در میزان آب نسبی برگ، ماده خشک گیاه، ریزش برگ و هدایت روزنه‌ای می‌گردد (Munns, 2002). همچنین شوری منجر به تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شود که موجب آسیب اکسیداتیو به لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌گردد (Amirjani, 2010). نتایج این پژوهش نشان داد که عوامل تحمل به نمک و پارامترهای رشد، پاسخ‌های متمایزی به تنش شوری در حضور EMS نشان می‌دهند، به‌گونه‌ای که در غلظت‌های کم EMS اثرات مثبتی بر رشد گیاه مشاهده می‌شود؛ این یافته با نتایج تنش شوری بر *Sesuvium portulacastrum* در حضور سلنیوم همسو است .کاهش محتوای کلروفیل تحت شوری می‌تواند ناشی از عوامل روزنه‌ای باشد؛ Salimpour و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند در سطوح بالای نمک (هشت و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر) در انجیر، غلظت دی‌اکسیدکربن بین‌سلولی و سرعت فتوسنتز کاهش می‌یابد که نشان‌دهنده محدودیت روزنه‌ای ناشی از شوری است. در توت‌فرنگی کاربرد ترکیباتی مانند نانوذرات سیلیکون، متیل‌جاسمونات و سیلیکات پتاسیم می‌تواند با کاهش آسیب اکسیداتیو، محتوای کلروفیل و کیفیت میوه را تحت شوری بهبود بخشد (Yaghubi *et al*., 2019; Moradi *et al*., 2022). تحقیقات متعددی نشان داده‌اند که تحمل به شوری یک صفت چندژنی و پیچیده است که سازوکارهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی متعددی را در بر می‌گیرد (Flowers & Colmer, 2008). درک این سازوکارها و شناسایی ژن‌های دخیل در تحمل به شوری، برای توسعه ارقام متحمل ضروری است (Hanin *et al*., 2016).

پرولین

به‌طور کلی، با افزایش شدت تنش شوری میزان پرولین در گیاهان افزایش یافت و بیشترین مقدار آن در سطوح بالاتر شوری مشاهده شد. افزایش پرولین در شرایط شوری به‌عنوان یک پاسخ سازشی شناخته‌شده است؛ این اسیدآمینه به‌عنوان تنظیم‌کننده اسمزی، چاپرون مولکولی و پاک‌کننده گونه‌های فعال اکسیژن عمل می‌کند (Verbruggen & Hermans, 2008; Selem, 2019). تجمع پرولین می‌تواند به تنظیم وضعیت آبی سلول و کاهش آسیب ناشی از تنش کمک کند (Huang *et al*., 2013). افزایش محتوای پرولین تحت تنش شوری در گیاهان مختلف از جمله ذرت (Fathi *et al*., 2015) و کرچک (Li *et al*., 2009) نیز گزارش شده است. همچنین پرولین به‌عنوان یک مولکول تنظیمی و علامت‌دهنده می‌تواند در افزایش تحمل گیاه به تنش شوری نقش داشته باشد (Bates *et al*., 1973; Li *et al*., 2009).

پروتئین

نتایج تجزیه واریانس نشان داد پاسخ میزان پروتئین به تنش شوری و EMS روند یکنواختی نداشت و اختلاف مشاهده‌شده بین برخی تیمارها از نظر آماری معنی‌دار نبود. به‌طور کلی، کاهش محتوای پروتئین در سطوح بالاتر شوری را می‌توان ناشی از اختلال در سنتز پروتئین‌ها و افزایش تجزیه آن‌ها تحت شرایط تنش اسمزی و یونی دانست (Munns & Tester, 2008). تنش شوری با برهم زدن تعادل یونی و ایجاد تنش اکسیداتیو می‌تواند فعالیت آنزیم‌ها و فرایندهای متابولیکی مرتبط با سنتز پروتئین را تحت تأثیر قرار دهد.

سدیم (Na)، فسفر (P) و پتاسیم (K)

مقایسه میانگین اثر اصلی تنش شوری نشان داد که بیشترین مقدار سدیم در تیمار هشت دسی‌زیمنس تنش شوری با میانگین ۱/۹۱ پی‌پی‌ام) و کمترین مقدار در تیمار عدم کاربرد تنش شوری با میانگین (۰/۷۶ پی‌پی‌ام) مشاهده شد. ولی در میزان فسفر و پتاسیم تحت این فاکتور بیشترین میزان در تیمار شاهد (عدم تنش شوری) به‌ترتیب با میانگین‌های ۱۰/۹۶ و ۲/۱۴ پی‌پی‌ام و کمترین در تیمار هشت دسی‌زیمنس تنش شوری به‌ترتیب با میانگین ۷/۸۶ و ۱/۷۲ پی‌پی‌ام مشاهده شد (جدول ۳). همچنین مقایسه میانگین اثر اصلی ماده جهش‌زا نشان داد که بیشترین مقدار سدیم در تیمار یک درصد EMS با میانگین ۱/۳۱ پی‌پی‌ام و کمترین در عدم کاربرد ماده جهش‌زا با میانگین ۰/۸۸ پی‌پی‌ام حاصل شد (جدول ۴). بیشترین میزان فسفر در تیمار ۰/۲۵ درصد ماده جهش‌زا با میانگین ۱۱/۸۰ پی‌پی‌ام و کمترین در تیمار یک درصد این ماده با میانگین ۸/۹۳ پی‌پی‌ام مشاهده شد. بیشترین میزان پتاسیم در تیمار یک درصد EMS (۲/۳۱ ppm) بود که با تیمارهای ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد (۲/۲۸ ppm و ۲/۲۸) تفاوت معنی‌دار نداشت و کمترین در عدم کاربرد این ماده (۱۲/۲ ppm) مشاهده شد. (جدول ۳). تنش شوری با افزایش مقدار Cl^- و Na^+ جذب K را کاهش داده و نسبت Na/K را افزایش می‌دهد و در نتیجه می‌تواند در گیاه سمیت ایجاد کند و سبب عدم تعادل یونی شود که این امر درنهایت تبادل گازی را در گیاهان محدود می‌کند و موجب کاهش عملکرد و کارایی گیاه می‌شود (Munns & Tester, 2008). نتایج پژوهش‌های صورت‌گرفته روی اسفناج نیز افزایش معنی‌دار غلظت سدیم در گیاه را در حضور شوری نشان داد که با پژوهش حاضر هم‌خوانی داشت (Mazloomi & Ronaghi, 2012). پژوهشگران دیگری نیز گزارش کرده‌اند که در ارقام نیوزیلندی و آبی اسفناج با اعمال شوری، افزایش معنی‌دار غلظت و جذب سدیم به‌دست آمد (Yousif *et al*., 2010). تنش شوری در اسفناج بر اثر سمیت یون‌های سدیم و کلر توسط برخی پژوهشگران مورد بررسی قرار گرفته است (Yousif *et al*., 2010). شوری می‌تواند کاهش جریان فسفر در آوند چوبی را به‌دنبال داشته باشد و از طرف دیگر، سطوح بالای نمک، فسفر ذخیره‌شده در واکوئل را کاهش می‌دهد و از این طریق سبب کاهش فسفر در گیاه می‌شود (Navarro *et al*., 2001). پژوهشگران در مطالعه‌ای بیان کردند که تحت شرایط تنش شوری، غلظت فسفر در اسفناج و کاهو کاهش یافت (Kaya *et al*., 2002).

آهن

الگوی تغییرات غلظت آهن نشان‌دهنده پاسخ متفاوت گیاه به تنش شوری بود؛ به‌طوری‌که در سطوح پایین‌تر شوری افزایش نسبی و در سطوح بالاتر کاهش غلظت آهن مشاهده شد. این تغییرات می‌تواند ناشی از رقابت یون‌های سدیم و کلر با آهن برای جذب توسط ریشه و همچنین تغییر در وضعیت جذب و انتقال این عنصر در گیاه باشد (Munns & Tester, 2008). تنش شوری با برهم زدن تعادل یونی و اختلال در فعالیت ریشه، جذب عناصر کم‌مصرف از جمله آهن را تحت تأثیر قرار می‌دهد و در سطوح شدیدتر شوری

می‌تواند موجب کاهش فراهمی و انتقال این عنصر در گیاه شود.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، تنش شوری تأثیر منفی قابل‌توجهی بر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی اسفناج رقم ویروفلای داشت و باعث کاهش طول و عرض برگ، طول دمبرگ، تعداد برگ، وزن تر و خشک شاخساره، کلروفیل a و b فسفر و پتاسیم و افزایش غلظت سدیم و پرولین شد. با این حال، استفاده از اتیل متان سولفونات به‌عنوان عامل جهش‌زا، به‌ویژه در غلظت ۰/۲۵ درصد، توانست بخشی از اثرات منفی شوری را تعدیل کرده و موجب بهبود رشد و برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی شود. این تیمار در شرایط بدون تنش شوری و حتی در سطوح بالاتر شوری، عملکرد بهتری از نظر تعداد برگ، وزن تر و خشک شاخساره، کلروفیل a و b و میزان پرولین نشان داد. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد کنترل‌شده EMS می‌تواند به‌عنوان ابزاری مؤثر برای ایجاد تنوع ژنتیکی و بهبود تحمل اسفناج به تنش شوری مورد استفاده قرار گیرد.

تعارض منافع

بنا بر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

سپاسگزاری

از گروه علوم و مهندسی باغبانی دانشگاه کردستان به خاطر فراهم آوردن امکانات آزمایشگاهی قدردانی می‌گردد.

منابع

Abolghasemi, R., Haghighi, M., Etemadi, N., Soorni, A., & Jafari, P. (2019). Screening of some native and foreign accessions of spinach for spring culture in Isfahan. *Iran Agricultural Research*, *38*(1), 87–99. (In Persian). https://doi.org/10.22099/iar.2019.5317

Abbasi, A., Salimi, A., Chavoushi, M., Rastindel, N., & Zeidi, H. (2024). The effect of salinity stress and some improvers on the antioxidant content of Camelina plant (*Camelina sativa* (L.) Crantz). *Plant Process and Function*, *31*(63), 285–306. (In Persian). https://doi.org/10.22034/13.63.285

Agrawal, R. L. (2000). Fundamentals of Plant Breeding and Hybrid Seed Production. Oxford & IBH Publishing Co. PVT. Ltd., 312p.

Ahn, C. H., Ramya, M., An, H. R., Park, P. M., Kim, Y. J., Lee, S. Y., & Jang, S. (2020). Progress and challenges in the improvement of ornamental plants by genome editing. *Plants*, *9*(6), 687. https://doi.org/10.3390/plants9060687

Aisha, H. A., Hafez, M. M., Asmaa, R. M., & Shafeek, M. R. (2013). Effect of bio and chemical fertilizers on growth, yield and chemical properties of spinach plant (*Spinacia oleracea* L.). *Middle East Journal of Agriculture Research*, *2*(1), 16–20.

Alkharabsheh, H. M., Seleiman, M. F., Hewedy, O. A., Battaglia, M. L., Jalal, R. S., Alhammad, B. A., Schillaci, C., Ali, N., & Al-Doss, A. (2021). Field crop responses and management strategies to mitigate soil salinity in modern agriculture: A review. *Agronomy*, *11*(11), 2299. https://doi.org/10.3390/agronomy11112299

Amirjani, M. R. (2010). Effect of NaCl on some physiological parameters of rice. *European Journal of Biological Sciences*, *3*(1), 6–16.

Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, *39*(1), 205–207.

Bhat, M. Y., Gul, M. Z., & Dar, J. S. (2022). Gene expression and role of antioxidant enzymes in crop plants under stress. In Antioxidant Defense in Plants: Molecular Basis of Regulation (pp. 31–56). *Springer Nature Singapore.*

Bodnar, A. L., & Scott, M. P. (2010). Using mutations in corn breeding programs. In K. Meksem & G. Kahl (Eds.), The Handbook of Plant Mutation Screening (pp. 187–197). Wiley-VCH.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, *72*(1–2), 248–254.

Chapman, H. D., & Pratt, F. P. (1982). Methods of analysis for soils, plants and water (2nd ed., pp. 169–170). University of California, Division of Agricultural Sciences.

Fang, J. Y. (2011). In vitro mutation induction of *Saintpaulia* using ethyl methanesulfonate. *HortScience*, *46*(7), 981–984. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.46.7.981

Fathi, A. R., Zahedi, M., & Torabian, S. (2015). Effects of foliar application of ordinary and nano particles of zinc oxide on the antioxidant enzyme activity and proline content of two *Zea mays* L. cultivars under salt stress. *Iranian Journal of Field Crop Science*, *46*(2), 257–266. (In Persian). https://doi.org/10.22059/ijfcs.2015.54877

Flowers, T. J., & Colmer, T. D. (2008). Salinity tolerance in halophytes. *New Phytologist*, *179*(4), 945–963. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02531.x

Fu, H. W., Li, Y. F., & Shu, Q. Y. (2008). A revisit of mutation induction by gamma rays in rice (*Oryza sativa* L.): Implications of microsatellite markers for quality control. *Molecular Breeding*, *22*(2), 281–288. https://doi.org/10.1007/s11032-008-9173-7

Hanin, M., Ebel, C., Ngom, M., Laplaze, L., & Masmoudi, K. (2016). New insights on plant salt tolerance mechanisms and their potential use for breeding. *Frontiers in Plant Science*, *7*, 1787. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01787

Heydari, V., Ahmadi-Lahijani, M. J., Nabati, J., & Nezami, A. (2023). Study of the physiological and biochemical characteristics of lentils (*Lens culinaris* Medik.) under salinity stress conditions. *Journal of Plant Process and Function*, *12*(56), 89–108. (In Persian). https://dorl.net/dor/20.1001.1.23222727.1402.12.56.7.1

Hohmann, U., Jacobs, G., & Jung, C. (2005). An EMS mutagenesis protocol for sugar beet and isolation of non-bolting mutants. *Plant Breeding*, *124*(4), 317–321. https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2005.01126.x

Huang, Z., Zhao, L., Chen, D., Liang, M., Liu, Z., Shao, H., & Long, X. (2013). Salt stress encour ages proline accumulation by regulating proline biosynthesis and degradation in Jerusalem artichoke plantlets (*Helianthus tuberosus* L.). *PLoS ONE*, *8*(4), e62085. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062085

Isayenkov, S. V., & Maathuis, F. J. M. (2019). Plant salinity stress: Many unanswered questions remain. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 80. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00080

Jankowicz-Cieslak, J., & Till, B. J. (2016). Chemical mutagenesis of seed and vegetatively propagated plants using EMS. *Current Protocols in Plant Biology*, *1*(4), 617–635. https://doi.org/10.1002/cppb.20040

Kaya, C., Higgs, D., & Sakar, E. (2002). Response of two leafy vegetables grown at high salinity to supplementary potassium and phosphorus during different growth stages. *Journal of Plant Nutrition*, *25*(12), 2663–2676. https://doi.org/10.1081/PLN-120015530

Lee, S. Y., Cheong, J. I., & Kim, T. S. (2003). Production of doubled haploids through another culture of M1 rice plants derived from mutagenized fertilized egg cells. *Plant Cell Reports*, *22*(3), 218–223. https://doi.org/10.1007/s00299-003-0663-0

Lemos Neto, H. de S., de Almeida Guimarães, M., Mesquita, R. O., Sousa Freitas, W. E., de Oliveira, A. B., da Silva Dias, N., & Gomes-Filho, E. (2020). Silicon supplementation induces physiological and biochemical changes that assist lettuce salinity tolerance. *Silicon*, *13*, 4075–4089. https://doi.org/10.1007/s12633-020-00715-8.

Li, G., Wan, S., Zhou, J., Yang, Z., & Qin, P. (2009). Leaf chlorophyll fluorescence, hyperspectral reflectance, pigments content, malondialdehyde and proline accumulation responses of castor bean (*Ricinus communis* L.) seedlings to salt stress levels. *Industrial Crops and Products*, *31*(1), 13–19. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.07.015

Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, *148*, 350–382.

Majidi, M. M., & Arzani, A. (2005). Investigation of mutation induction by ethyl methanesulfonate (EMS) in sainfoin (*Onobrychis viciifolia*). *Journal of Agricultural Sciences and Industries*, *19*, 167–179. (In Persian).

Manzoor, A., Ahmad, T., Bashir, M. A., Hafiz, I. A., & Silvestri, C. (2019). Studies on colchicine induced chromosome doubling for enhancement of quality traits in ornamental plants. *Plants*, *8*(7), 194. https://doi.org/10.3390/plants8070194

Mazloomi, F., & Ronaghi, A. (2012). Effect of salinity and phosphorus on growth and chemical composition of two varieties of spinach. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, *3*(1), 85–96. (In Persian). https://dorl.net/dor/20.1001.1.20089082.1391.3.1.7.5

Mehdizadeh, L., Moghaddam, M., & Lakzian, A. (2019). Effect of biochar on growth characteristics and sodium to potassium ratio of summer savory (*Satureja hortensis* L.) under NaCl stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, *12*(2), 595–606. (In Persian). https://doi.org/10.22077/escs.2019.1419.1308

Moradi, P., Vafaee, Y., Mozafari, A. A., & Tahir, N. A. R. (2022). Silicon nanoparticles and methyl jasmonate improve physiological response and increase expression of stress-related genes in strawberry cv. *Paros under salinity stress. Silicon*, *14*(16), 10559–10569. https://doi.org/10.1007/s12633-022-01791-8

Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell & Environment*, *25*(2), 239–250.

Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, *59*, 651–681. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911

Naderi Shahab, M. A., Mehrpour, S., Jebeli, M., & Jafari, A. A. (2007). Mutagenesis effects of EMS and UV-C irradiation doses on *Medicago sativa* L. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, *15*(3), 183–195. (In Persian). https://doi.org/10.22092/IJRFPBGR.2007.114946

Nasri, F., Zakizadeh, H., Vafaee, Y., & Mozafari, A. (2018). In vitro propagation of chrysanthemum: An overview on its utility in mutagenesis and genetic transformation techniques. *Agricultural Research & Technology*, *15*(1), 1–4. https://doi.org/10.19080/ARTOAJ.2018.15.555962

Nasri, F., Zakizadeh, H., Vafaee, Y., & Mozafari, A. A. (2022). In vitro mutagenesis of *Chrysanthemum morifolium* cultivars using ethylmethanesulphonate (EMS) and mutation assessment by ISSR and IRAP markers. Plant Cell, *Tissue and Organ Culture*, *149*(3), 657–673. https://doi.org/10.1007/s11240-021-02163-7

Navarro, J. M., Botella, M. A., Cerda, A., & Martinez, V. (2001). Phosphorus uptake and translocation in salt-stressed melon plants. *Journal of Plant Physiology*, *158*(3), 375–381.

Okamura, M., Umemoto, N., & Onishi, N. (2012). Breeding glittering carnations by an efficient mutagenesis system. *Plant Biotechnology*, *29*(3), 209–214. https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.12.0104a

Qasim, M., Ashraf, M., Jamil, M., Ashraf, M., Rahman, S., & Rha, E. S. (2003). Water relations and leaf gas exchange properties in some elite canola (*Brassica napus*) lines under salt stress. *Annals of Applied Biology*, *142*(3), 307–316. https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2003.tb00255.x

Rajabi, A., Gharib Block, S., Kazemi Tabar, S., & Sinki, J. (2016). Evaluation of traits of peppermint mutant plant using EMS mutagenesis method. *Journal of Cellular-Molecular Biotechnology*, *6*(24), 87–96. (In Persian)

Rasheed, F., Anjum, N. A., Masood, A., Sofo, A., & Khan, N. A. (2022). The key roles of salicylic acid and sulfur in plant salinity stress tolerance. *Journal of Plant Growth Regulation*, *41*(5), 1891–1904. https://doi.org/10.1007/s00344-020-10257-3

Rodriguez-Dominguez, C. M., Buckley, T. N., Egea, G., de Cires, A., Hernandez-Santana, V., Martorell, S., & Diaz-Espejo, A. (2016). Most stomatal closure in woody species under moderate drought can be explained by stomatal responses to leaf turgor. *Plant, Cell & Environment*, *39*(9), 2014–2026. https://doi.org/10.1111/pce.12774

Salehi Sheikhi, M., Nakhzari Moghaddam, A., Rahemi Karizaki, A., & Mohammad Esmaili, M. (2020). Effect of pea cultivar and replacement and additive intercropping ratios of pea and spinach on yield and competition indices. *Journal of Crop Improvement*, *23*(4), 939–952. (In Persian). https://doi.org/10.22059/jci.2020.302557.2395

Salimpour, A., Shamili, M., Dadkhodaie, A., Zare, H., & Hadadinejad, H. (2019). Impact of NaCl on leaf abscission, ion content and photosynthetic indices of seven commercial fig (*Ficus carica* L.) cultivars. *Journal of Plant Process and Function*, *8*(31), 9–22. (In Persian)

Sangram, R. B. (2015). Mutation Breeding in Rose (*Rosa indica* L.) (Master's thesis). Mahatma Phule Krishi Vidyapeeth, Rahuri, India, 83p.

Selem, E. (2019). Physiological effects of Spirulina platensis in salt stressed *Vicia faba* L. plants. *Egyptian Journal of Botany*, *59*(1), 185–194.

Singh, A., & Wani, M. (2019). In-vitro studies of salinity stress response in *Allium sativum*. *International Journal of Current Advanced Research*, *8*(6), 19327–19331. https://doi.org/10.24327/ijcar.2019.19331.3723

Singh, R., & Kole, C. R. (2005). Effect of mutagenic treatment with EMS on germination and some seedling parameters in mung bean. *Crop Research*, *30*, 236–240.

Taghizadeh, M., Ganji, M., Khadivi, A., & Ghorbanpour, M. (2019). The potential of EMS mutagen on increasing tolerability and remediation of Cd in *Spartium junceum* callus as an ornamental shrub. *Journal of Plant Process and Function*, *8*(32), 419–432. (In Persian). https://dorl.net/dor/20.1001.1.23222727.1398.8.32.26.4

Theerawitaya, C., Triwitayakorn, K., Kirdmanee, C., Smith, D. R., & Supaibulwatana, K. (2011). Genetic variations associated with salt tolerance detected in mutants of KDML105 (*Oryza sativa* L. ssp. indica) rice. *Australian Journal of Crop Science*, *5*(11), 1475–1480.

Verbruggen, N., & Hermans, C. (2008). Proline accumulation in plants: A review. *Amino Acids*, *35*(4), 753–759. https://doi.org/10.1007/s00726-008-0061-6

Wani, S. H., Kumar, V., Khare, T., Guddimalli, R., Parveda, M., Solymosi, K., Suprasanna, P., & Kavi Kishor, P. B. (2020). Engineering salinity tolerance in plants: Progress and prospects. *Planta*, *251*(4), 1–29. https://doi.org/10.1007/s00425-020-03366-6

Wattoo, J. I., Aslam, K., Shah, S. M., & Shabir, G. (2012). Ethyl methane sulphonate (EMS) induced mutagenic attempts to create genetic variability in basmati rice. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, *4*(7), 101–105.

Yaghubi, K., Ghaderi, N., Vafaee, Y., & Javadi, T. (2016). Potassium silicate alleviates deleterious effects of salinity on two strawberry cultivars grown under soilless pot culture. *Scientia Horticulturae*, *213*, 87–95. https://doi.org/ 10.1016/j.scienta.2016.10.012

Yaghubi, K., Vafaee, Y., Ghaderi, N., & Javadi, T. (2019). Potassium silicate improves salinity resistant and affects fruit quality in two strawberry cultivars grown under salt stress. *Communications in Soil Science and Plant Analy*sis, *50*(12), 1439–1451. https://doi.org/10.1080/00103624.2019.1621333

Yousif, B. S., Nguyen, N. T., Fukuda, Y., Hakata, H., Okamoto, Y., Masaoka, Y., & Saneoka, H. (2010). Effect of salinity on growth, mineral composition, photosynthesis and water relations of two vegetable crops: New Zealand spinach (*Tetragonia tetragonioides*) and water spinach (*Ipomoea aquatica*). *International Journal of Agriculture and Biology*, *12*(2), 211–216.

Yusuf, K. K., & Nair, P. M. (1974). Effect of gamma irradiation on the indole acetic acid synthesizing system and its significance in sprout inhibition of potatoes. *Radiation Botany*, *14*(4), 251–256.

Zhu, B., Gu, A., Deng, X., Geng, Y., & Lu, Z. (1995). Effects of caffeine or EDTA post-treatment on EMS mutagenesis in soybean. *Mutation Research*, *334*(2), 157–159.