



ارزیابی واکنش برخی ژنوتیپ‌های برنج (*Oryza sativa* L.) به تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای

احمد مجیدی مهر^{۱*}، رضا امیری فهلیانی^۲

۱. دانشجوی دکتری، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده تولیدات گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان
۲. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۲/۲۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۵/۰۸

چکیده

برنج از مهم‌ترین محصولات کشاورزی ایران و جهان است و شوری یک عامل محدودکننده مهم در تولید این محصول است. در این آزمایش ۱۱ ژنوتیپ برنج به صورت کرت‌های خرده شده در قالب طرح پایه بلوک کامل تصادفی با ۳ تکرار در تابستان ۱۳۹۱ در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج، انجام گرفت. کرت اصلی تنش شوری در ۴ سطح (۰، ۴۴، ۸۸ و ۱۳۲ میلی‌مولار) و کرت فرعی شامل ۱۱ ژنوتیپ برنج (غریب، محلی یاسوج، چمپا و شهری لوداب، ۳۰۴، لنجان عسکری، کامفیروز، دم‌سیاه ممسنی، موسی طارم، حسن‌سرای و دولار) بود. صفات مورد ارزیابی شامل شاخص‌های فلورسانس کلروفیل (به ترتیب F_0 ، F_m ، F_v و F_v/F_m)، سبزی‌نگی، فندهای محلول، پرولین و پروتئین برگ و عملکرد دانه بودند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که صفات شاخص‌های فلورسانس کلروفیل (به ترتیب F_0 ، F_m ، F_v و F_v/F_m)، سبزی‌نگی، فندهای محلول، پرولین و پروتئین برگ تحت تأثیر اثر متقابل شوری و ژنوتیپ قرار گرفتند. با افزایش شدت تنش، تجمع پرولین، پروتئین و فندهای محلول برگ در گیاهان تحت سطوح شوری افزایش یافت، ولی ژنوتیپ‌ها از این نظر با هم اختلاف داشتند. افزایش سطح تنش شوری سبب کاهش محتوای نسبی کلروفیل و عملکرد دانه گردید. مقایسه میانگین-های ژنوتیپ‌های برنج نشان داد که بیشترین عملکرد دانه مربوط به ژنوتیپ لنجان عسکری و کمترین آن به ژنوتیپ دولار تعلق داشت. در تجزیه خوشه‌ای با روش حداقل واریانس وارد در شرایط تنش شوری، ژنوتیپ‌ها در ۴ گروه قرار گرفتند و بالاترین فاصله ژنتیکی بین خوشه اول و چهارم مشاهده شد که می‌توان از ژنوتیپ‌های این دو خوشه برای برنامه اصلاحی مثل هتروزیس و تفکیک متجاوز استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: تجزیه خوشه‌ای، پرولین برگ، سبزی‌نگی، همبستگی

مقدمه

درصد، خوزستان (۷/۵۳ درصد) و فارس (۴/۲۵ درصد) است (Agricultural Statistics, 2017). شوری یکی از عوامل تنش‌زای محیطی است که نه‌تنها رشد و نمو گیاهان را تهدید می‌کند بلکه محدوده توزیع و پراکنش گیاهان را در اکوسیستم‌های مختلف تعیین می‌کند (Ismail and Horie, 2017). هم‌اکنون نیمی از اراضی قابل کشت ایران (۹/۵۰ میلیون هکتار) متأثر از شوری است که اثر عمده‌ای در کاهش سطح زیر کشت و عملکرد محصولات زراعی دارند

برنج (*Oryza sativa* L.) غذای اصلی بیش از نیمی از مردم جهان بوده و مصرف جهانی آن در سال ۲۰۱۷ به حدود ۵۰۵/۸۰ میلیون تن در دنیا رسیده است (IRRI, 2018). کشت برنج در ایران جایگاه ویژه‌ای دارد و سطح زیر کشت آن در حدود ۵۸۰۱۵۲ هکتار تخمین زده شده است (Agricultural Statistics, 2017). اراضی زیر کشت شلتوک برنج در ایران به‌طور عمده متعلق به پنج استان گیلان (۳۷/۲۳ درصد)، مازندران (۳۵/۳۷ درصد)، گلستان (۱۰/۰۶

برخی از صفات فیزیولوژیکی و عملکرد دانه برخی از ژنوتیپ‌های برنج تحت تنش شوری انجام گردید.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۱ در شرایط کنترل شده و به شکل آبکشت، در دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج به صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. فاکتور اصلی شامل تنش شوری با ۴ سطح (صفر، ۴۴، ۸۸ و ۱۳۲ میلی‌مولار (به نسبت ۲۰:۱ کلرید سدیم و کلرید کلسیم)) و فاکتور فرعی شامل ۱۱ ژنوتیپ برنج (جدول ۱) بود. بذرها قبل از کشت با محلول وایتکس (هیپوکلرید سدیم ۰/۵ درصد) به مدت یک دقیقه ضدعفونی شدند. به منظور جوانه‌زنی، ظروف حاوی پنج بذر ژنوتیپ‌ها به اتاقک رشد انتقال داده و دمای پایه اتاقک رشد 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد. برای خزانه‌گیری (شکل ۱)، بذرها پس از جوانه‌زنی درون ظروف مناسب که با خاک نرم با فرمول ۵۰ درصد خاک معمولی و ۵۰ درصد ماسه پر شده بودند، انتقال داده شدند تا به رشد کافی (مرحله ۲-۳ برگی (زادوکس)) برای کشت برسند (شکل ۲).

برای حفظ ثبات در محیط ریشه و کنترل میزان نمک و املاح موجود در آن، از محیط کشت ماسه استفاده شد. سپس از هر ژنوتیپ ۳ نشاء داخل گلدان‌هایی که تا ارتفاع معینی از ماسه نرم پر شده بودند، با رعایت فاصله ۵ سانتی‌متر از هم کشت شدند. گلدان‌ها در درون کرت‌هایی با ابعاد 97×79 سانتی‌متر که با پلاستیک عایق‌بندی شده بودند، قرار داده شدند (شکل ۳). پس از نشاکاری گلدان‌ها با محلول حاوی نصف غلظت عناصر غذایی محلول هوگلند $pH=6/5$ ، آبیاری شدند. ماده غذایی در ابتدا یک‌چهارم هوگلند استفاده شد و با بزرگ شدن بوته‌ها بسته به نیاز گیاه درصد مواد میکرو و ماکرو موردنیاز بالا رفت تا در نهایت با محلول نصف غلظت عناصر غذایی محلول هوگلند (Hoagland and Arnon, 1950) آبیاری شدند.

دو هفته بعد از استقرار، بوته‌ها در مرحله ۴ برگی، با افزودن تدریجی کلرید سدیم به کلرید کلسیم، اعمال شوری آغاز گردید، به نحوی که کلیه گلدان‌ها به جز سطح شاهد با اضافه کردن تدریجی شوری به میزان ۲۵ میلی‌مولار شوری در محلول هوگلند، در هر سطح (جهت سازگار شدن گیاهان) آبیاری شدند.

(Nabiollahi et al., 2017). شوری از جمله عواملی است که می‌تواند کشت بسیاری از گیاهان، از جمله برنج را محدود کند. این گیاه حساس به شوری بوده و بیش‌ترین حساسیت آن در مرحله گیاهچه‌ای و گل‌دهی گزارش شده است (Hosseini et al., 2012). تبخیر و تعرق زیاد نیز در فصل کشت برنج سبب افزایش خسارت شوری می‌شود (Zhang et al., 2010). یکی از واکنش‌های بسیار معمول گیاهان به تنش شوری کاهش میزان فتوسنتز آن‌هاست (Kao et al., 2006). کاهش در میزان فتوسنتز ممکن است ناشی از بسته شدن روزنه‌ها باشد. همچنین این عمل می‌تواند در پی بروز آسیب به دستگاه فتوسنتزی (کاهش بیوسنتز کلروفیل و یا افزایش تجزیه کلروفیل، کاهش کارایی انتقال الکترون در زنجیره و آسیب به کمپلکس‌های برداشت کننده نور) رخ دهد (Santos, 2004). سطوح بالای شوری با تحت تأثیر قرار دادن و کاهش انتقال انرژی از رنگیزه‌ها به مراکز واکنشی فتوسیستم II منجر به افزایش میزان فلورسانس کلروفیل می‌گردد. امروزه این شاخص‌ها برای ارزیابی اثر تنش‌ها روی فتوسیستم II استفاده می‌گردد (Azizpour et al., 2010). نسبت حداکثر عملکرد کوانتومی واکنش فتوشیمیایی فتوسیستم II را نشان داده و یک پارامتر مهم در تعیین وضعیت دستگاه فتوسنتزی است. تنش‌های محیطی که کارایی فتوسیستم نوری II را تحت تأثیر قرار می‌دهند، باعث کاهش نسبت Fm/Fv می‌شوند (Majidi et al., 2008). تنش شوری موجب افزایش فلورسانس متغیر، فلورسانس حداکثر، فلورسانس اولیه و کاهش عملکرد کوانتوم می‌شود (Zhao et al., 2007). کان ای پی و همکاران (Kanawapee et al., 2012) با مطالعه تأثیر تنش شوری روی پارامترهای فیزیولوژیکی در ۱۰۶ ژنوتیپ برنج گزارش دادند که پرولین می‌تواند به‌عنوان یک شاخص مناسب جهت شناسایی ارقام حساس از متحمل به شوری به کار گرفته شود. افزایش سنتز پروتئین در اثر شوری در برنج (Saeidipour, 2015) و افزایش میزان پرولین در ارقام متحمل برنج (Musavizadeh et al., 2018) دیده شده است. شوری آب یا خاک باعث توقف رشد نشاء برنج، کاهش در عملکرد (Rahman et al., 2016)، افزایش پرولین برگ برنج در ژنوتیپ سرخه (Mardani-Nezhad and Vazirpour, 2007)، کاهش مقدار کلروفیل‌متر در گیاه برنج می‌شود (Fallah et al., 2015). این آزمایش با هدف ارزیابی واکنش

صفر (شکل ۳)، ۴۴ میلی‌مولار (شکل ۴)، ۸۸ میلی‌مولار (شکل ۵) و ۱۳۲ میلی‌مولار محلول کلرید سدیم و کلرید کلسیم (شکل ۶) رسید.

در نوبت‌های بعدی این مقدار افزایش یافت و بعد از یک هفته کل تیمار شوری مربوط به هر سطح اعمال گردید و در نهایت به سطوح شوری موردنظر {چهار سطح تنش شوری



شکل ۲. نشاکاری ژنوتیپ‌های برنج

Fig. 1. Treasury of rice genotypes



شکل ۱. خزانه‌گیری ژنوتیپ‌های برنج

Fig. 2. Transplanting of rice genotypes



شکل ۵. سطح شوری ۸۸ میلی‌مولار

Fig. 5. Salinity level 88 mM



شکل ۴. سطح شوری ۴۴ میلی‌مولار

Fig. 4. Salinity level 44 mM



شکل ۳. سطح شوری شاهد

Fig. 3. Salinity level of control



شکل ۸. آبیاری معمولی

Fig. 8. Normal irrigation



شکل ۷. غرقاب شدن گلدان‌ها

Fig. 7. Waterlogging pots



شکل ۶. سطح شوری ۱۳۲ میلی‌مولار

Fig. 6. Salinity level 132 mM

کلروفیل (F_v/F_m , F_v , F_m , F_0) نیز با استفاده از دستگاه فلوری‌متر مدل (OS1-FL) قرائت شدند. بدین منظور در هر گلدان از یک بوته، جوان‌ترین برگ را انتخاب و بعد از حدود بیست دقیقه که با استفاده از گیرنده‌های مخصوص دستگاه سازگاری به تاریکی روی برگ‌ها انجام شد، فلش نور مادون قرمز به محل دریچه گیره متصل و بلافاصله پس از باز کردن دریچه، داده‌های مربوط به حداقل فلورسانس (فلورسانس حداقل در شرایط سازگار شده با تاریکی)، حداکثر فلورسانس (فلورسانس حداکثر در شرایط سازگار شده با تاریکی) و کارایی فتوسیستم II (حداکثر عملکرد کوانتومی

به‌منظور غرقاب شدن گلدان‌ها، مواد لازم برای تهیه محلول هوگلند در حجم ۵۰ لیتر محلول با شوری‌های مربوط وارد کرت‌های اصلی شد (شکل ۷). هر ۸ روز یک‌بار محلول را عوض شد و برای جلوگیری از تجمع نمک درون کرت‌ها (Javadipour, 2012)، با آب معمولی آبیاری صورت گرفت (شکل ۸). بوته‌ها تا پایان دوره رشد گیاه، تحت تنش شوری قرار گرفتند. اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک (F_v , F_m , F_0 ، F_v/F_m ، سبزینه‌گی، کربوهیدرات محلول برگ، پرولین و پروتئین برگ) یک ماه پس از اعمال تنش شوری صورت گرفت (Javadipour, 2012). پارامترهای میزان فلورسانس

میلی‌مولار به‌عنوان سطح استاندارد تنش در نظر گرفته شد. جهت تجزیه واریانس داده‌ها از نرم‌افزار SAS ver. 9.1 (2002) و میانگین داده‌ها به‌وسیله آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. تجزیه خوشه‌ای به روش حداقل واریانس «وارد» بر مبنای مشاهدات، صورت گرفته و تعداد خوشه‌ها به کمک T^2 هتلینگ انجام و مورد تأیید آزمون F بیل قرار گرفته و نمودار درختی یا دندروگرام آن رسم گردید (Majidi-Mehr et al., 2014). تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار StatGraphics (ver. 18.1.01) صورت گرفت.

در شرایط سازگار شده با تاریکی) آن ثبت گردید. برای اندازه‌گیری کربوهیدرات محلول برگ از روش ایریگوئن و همکاران (Irigoyen et al., 1992)، اندازه‌گیری پرولین برگ از روش پاکوئین و لچارژ (Paquine and Lechasseur, 1979) به نقل از جووان و همکاران (Juan et al., 2002) و برای اندازه‌گیری پروتئین برگ از روش لیو و ژانگ (Liu and Zhang, 2000) استفاده شد. در مرحله رسیدگی از هر گل‌دان ۲ بوته انتخاب و سپس تعداد دانه پر در خوشه به‌عنوان عملکرد دانه محاسبه شد. کلیه پارامترهای مورد بررسی در هر دو شرایط تنش و بدون تنش صورت گرفت و با توجه به توضیحات مؤسسه بین‌المللی تحقیقات برنج (IRRI, 2017)، سطح ۸۸

Table 1. Evaluated Rice genotypes

جدول ۱. ژنوتیپ‌های برنج مورد ارزیابی

ژنوتیپ	منشأ	روز تا رسیدگی	واکنش به شوری در مرحله گیاهچه
Genotype	Origin	Days to maturity	Reaction to Salinity
Gharib	مؤسسه تحقیقات برنج کشور-گیلان Iran Rice Research Institute -Guilan	130-145	Tolerance
Yasouj local	کهنگیلویه و بویراحمد - یاسوج Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad -Yasouj	150-160	Unknown
Loudab- champa	کهنگیلویه و بویراحمد -لوداب Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad - Loudab	150-160	Unknown
Loudab- shahri	کهنگیلویه و بویراحمد -لوداب Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad - Loudab	150-160	Unknown
304	مؤسسه تحقیقات برنج کشور-گیلان Iran Rice Research Institute -Guilan	130-145	Unknown
Lenjan- Askari	اصفهان -فلارد Esfahan-Felard	150-160	Unknown
Kamfirouz	فارس -کامفیروز Fars-Kamfirouz	150-160	Unknown
Mammasani-Domsiah	فارس -ممسنی Fars-Mammasani	170-180	Unknown
Mousa-Tarom	مؤسسه تحقیقات برنج کشور-گیلان Iran Rice Research Institute -Guilan	170-180	Relatively Tolerance
Hasan-Seraie	مؤسسه تحقیقات برنج کشور-گیلان Iran Rice Research Institute -Guilan	170-180	Relatively Tolerance
Dullar	آمریکا American	170-180	Unknown

صفات F_0 ، F_v ، F_m ، F_v/F_m ، پرولین و پروتئین برگ معنی‌دار و برای بقیه صفات مورد مطالعه معنی‌دار نبود (جدول ۲). اثر برهمکنش شوری×ژنوتیپ بر سبزیگی معنی‌دار نبود که بیانگر این است که تغییر در میزان سبزیگی برگ در سطوح متفاوت شوری به نوع ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بستگی

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر شوری برای تمام صفات به غیر از فلورسانس کلروفیل (به ترتیب F_0 ، F_m ، F_v و F_v/F_m)، معنی‌دار بود. اثر ژنوتیپ برای تمام صفات به جز F_m و F_v معنی‌دار بود. برهمکنش ژنوتیپ×شوری برای

نداشته است. ژنوتیپ‌ها برای تمامی صفات به جز F_m و F_v دارای اختلاف معنی‌دار بودند که این نشان‌دهنده تنوع بین ارقام بود و عمل‌گزینش را می‌توان برای صفات مرتبط با تنش شوری و میزان عملکرد حداکثر ژنوتیپ‌ها را در شرایط تنش شوری فراهم نمود.

جدول ۲. تجزیه واریانس برای عملکرد دانه و صفات فیزیولوژیک تحت تنش شوری

Table 2. Analysis of variance for grain yield and physiological characteristics under salt stress

صفات مورد بررسی Studied Traits	بلوک Block	شوری Salinity	خطای a Error a	ژنوتیپ Genotype	شوری × ژنوتیپ Genotype × Salinity	خطای b Error b	ضریب تغییرات CV (%)
درجه آزادی Df	2	3	6	10	30	80	-
فلورسانس حداقل (F_0)	724.1 ^{ns}	1016.87 ^{ns}	528.72	714.08 ^{**}	413.72 [*]	255.38	17.86
فلورسانس حداکثر (F_m)	27699 ^{ns}	29591 ^{ns}	10357	9454 ^{ns}	8852 ^{ns}	5643	16.53
فلورسانس متغیر (F_v)	19467 ^{ns}	22015.80 ^{ns}	7684.90	6916.45 ^{ns}	8399.35 [*]	4696.81	18.79
کارایی فتوسیستم II (F_v/F_m)	0.0003 ^{ns}	0.009 ^{ns}	0.002	0.003 [*]	0.004 ^{**}	0.001	4.83
سبزی‌نگی Chlorophyll	4.62 ^{ns}	369.57 ^{**}	12.002	79.96 ^{**}	9.83 ^{ns}	10.55	9.63
قندهای محلول Soluble Sugar	9717.0 ^{**}	10612.33 ^{**}	72.83	12436.07 ^{**}	132.73 ^{ns}	301.31	21.52
پروترین برگ Proline leaf	0.007 ^{**}	0.0710 ^{**}	0.0002	0.0112 ^{**}	0.0012 ^{**}	0.0005	24.54
پروتئین برگ Protein leaf	0.088 [*]	1.06 ^{**}	0.010	2.05 ^{**}	0.62 ^{**}	0.016	8.24
عملکرد دانه Yield	227.48 ^{**}	10194.79 ^{**}	10.09	197.46 ^{**}	28.28 ^{ns}	24.03	23.08

^{**}، ^{*} و ^{ns} به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال یک و پنج درصد و غیر معنی‌دار را نشان می‌دهند.

^{**}، ^{*} and ^{ns}, Significant and non-significant at 5% and 1% probability levels, respectively

موسی طارم و کمترین به ژنوتیپ دولار نیز تعلق داشت. در سطح بدون تنش (شاهد) و ۴۴ میلی‌مولار بیشترین میزان کارایی فتوسیستم II (F_m/F_v) مربوط به ژنوتیپ‌های موسی-طارم و محلی یاسوج و شهری لوداب است، در صورتی که کمترین میزان آن مربوط در این سطوح شوری مربوط به ژنوتیپ‌های حسن‌سرایبی و غریب بوده است. در شرایط تنش شدید (۱۳۲ میلی‌مولار) ژنوتیپ دولار کمترین و ژنوتیپ‌های ۳۰۴، محلی یاسوج و کامفیروز بالاترین میزان کارایی فتو-شیمیایی فتوسیستم II (F_m/F_v) را به خود اختصاص داده‌اند. گزارش شده است که در گیاه یولاف با افزایش شوری از ۵۰ به ۲۵۰ میلی‌مولار، حداکثر عملکرد کوانتوم (F_m/F_v) کاهش می‌یابد (Zhao et al., 2007). با افزایش سطوح تنش مقدار پروترین افزایش یافت؛ به طوری که ژنوتیپ‌های لنجان‌عسگری

نتایج حاصل از مقایسه میانگین برهمکنش شوری و ژنوتیپ برای صفت (F_0) (جدول ۳) نشان داد که در سطح بدون تنش و ۴۴ میلی‌مولار ژنوتیپ غریب با میانگین ۱۱۵/۳ بالاترین میزان فلورسانس حداقل (F_0) و ژنوتیپ موسی‌طارم با میانگین ۷۷/۰ کمترین میزان فلورسانس حداقل (F_0) را به خود تعلق داد. در سطوح شوری ۸۸ و ۱۳۲ میلی‌مولار ژنوتیپ محلی یاسوج کمترین رتبه F_0 را داشت. در مورد صفت فلورسانس متغیر (F_v) بالاترین رتبه و در سطح بدون تنش مربوط به ژنوتیپ غریب با میانگین ۵۰۲/۳۳ بوده است که این نشان‌دهنده اختلاف بالا در بین دو صفت F_m و F_0 بوده است و کمترین آن به ژنوتیپ حسن‌سرایبی تعلق داشت که این نشان‌دهنده اختلاف پایین دو صفت F_m و F_0 است. با بالا رفتن شدت تنش میزان F_v نیز تغییر داشت، به طوری که در تنش شدید (۱۳۲ میلی‌مولار) بالاترین میزان F_v به ژنوتیپ

جدول ۳. مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیک اندازه‌گیری شده در ژنوتیپ‌های برنج در سطوح مختلف شوری

Table 3. Mean comparison of the measured physiological traits in genotypes rice in different levels of salinity

ژنوتیپ‌ها Genotypes	سطوح شوری Salinity levels	شاخص‌های فلورسانس کلروفیل (Fluorescence Chlorophyll indices)			پروترین برگ Proline leaf	پروتئین برگ Protein leaf
	میلی مولار mM	فلورسانس حداقل F ₀	فلورسانس متغیر F _v	کارایی فتوسیستم (F _v /F _m) II	---- μg.gr ⁻¹ fw ----	
Gharib	0	115.3 ^{ab}	502.33 ^a	0.813 ^{a-f}	0.40 r-t	2.63 ^b
	44	107.3 ^{a-f}	375.00 ^{b-h}	0.783 ^{d-i}	1.09 f-j	2.72 ^b
	88	96.70 ^{b-j}	342.33 ^{b-i}	0.773 ^{f-i}	1.51 ^{b-e}	1.86 ^{d-g}
	132	82.30 ^{d-l}	340.00 ^{b-i}	0.800 ^{a-g}	1.61 ^{b-d}	1.71 ^{fg}
yasouj	0	85.0 ^{c-l}	324.67 ^{b-j}	0.793 ^{b-g}	0.41 ^{f-j}	1.04 ^{o-r}
	44	71.0 ^{j-l}	361.67 ^{b-i}	0.833 ^{a-d}	0.76 ^{k-q}	0.92 ^{rs}
	88	74.30 ^{i-l}	322.33 ^{c-j}	0.813 ^{a-f}	0.81 ^{k-p}	1.86 ^{d-g}
	132	69.30 ^{k-l}	304.00 ^{f-j}	0.816 ^{a-f}	1.02 ^{g-l}	1.22 ^p
Loudab-champa	0	108.30 ^{a-c}	362.00 ^{b-h}	0.760 ^{g-j}	0.49 ^{q-t}	0.97 ^{qr}
	44	83.0 ^{c-l}	350.67 ^{b-i}	0.806 ^{a-g}	0.70 ^{l-q}	1.46 ^{ij}
	88	0.78 ^{h-l}	419.33 ^{a-e}	0.843 ^{ab}	0.70 ^{l-r}	1.25 ^{i-o}
	132	81.30 ^{g-l}	322.00 ^{c-j}	0.800 ^{a-g}	1.08 ^{ab}	1.32 ⁱ⁻ⁿ
Loudab-shahri	0	86.0 ^{c-l}	409.33 ^{a-f}	0.827 ^{a-e}	0.50 ^{q-t}	1.90 ^{d-f}
	44	86.0 ^{c-l}	359.33 ^{b-i}	0.803 ^{a-g}	1.19 ^{e-i}	1.783 ^{e-g}
	88	100.00 ^{b-i}	405.33 ^{a-g}	0.803 ^{a-g}	1.40 ^{c-f}	0.88 ^{rs}
	132	86.00 ^{c-l}	367.00 ^{b-h}	0.810 ^{a-g}	1.69 ^{a-c}	1.68 ^{gh}
304	0	108.70 ^{a-c}	390.33 ^{b-g}	0.783 ^{d-i}	0.52 ^{q-t}	1.95 ^{c-e}
	44	90.30 ^{b-l}	412.67 ^{a-f}	0.817 ^{a-f}	1.25 ^{d-j}	1.75 ^{e-g}
	88	105.0 ^{a-g}	295.33 ^{c-j}	0.733 ^{ij}	1.39 ^{c-f}	1.74 ^{e-g}
	132	82.00 ^{c-l}	371.67 ^{b-h}	0.820 ^{a-f}	2.06 ^a	1.14 ^{n-q}
Lenjan-askari	0	108.0 ^{a-d}	389.00 ^{b-g}	0.783 ^{d-i}	1.00 ^{e-i}	1.04 ^{p-r}
	44	94.70 ^{b-k}	432.67 ^{a-c}	0.817 ^{a-f}	1.19 ^{e-i}	1.16 ^{m-q}
	88	130.00 ^a	275.00 ^{b-j}	0.667 ^k	1.30 ^{d-g}	1.75 ^{e-g}
	132	72.70 ^{i-l}	295.00 ^{g-j}	0.803 ^{a-g}	1.99 ^a	0.72 ^s
kamfirooz	0	82.0 ^{c-l}	355.00 ^{b-i}	0.813 ^{a-f}	0.61 ^{m-s}	0.98 ^{qr}
	44	90.30 ^{b-l}	432.33 ^{a-c}	0.833 ^{a-d}	0.730 ^{k-q}	0.92 ^{rs}
	88	77.00 ^{h-l}	385.00 ^{b-h}	0.837 ^{a-c}	0.90 ^{h-m}	1.21 ^{l-p}
	132	86.00 ^{c-l}	317.67 ^{d-j}	0.787 ^{c-h}	1.80 ^{ab}	2.236 ^{k-p}
Mammasani-Domsiah	0	107.7 ^{a-e}	400.33 ^{a-g}	0.780 ^{e-i}	0.10 ^u	1.44 ^{l-k}
	44	66.30 ^l	310.33 ^{c-j}	0.823 ^{a-f}	0.26 ^{s-u}	1.40 ^{i-k}
	88	87.00 ^{c-l}	428.67 ^{a-d}	0.833 ^{a-d}	0.70 ^{l-q}	1.40 ^{i-l}
	132	79.0 ^{h-l}	328.00 ^{b-j}	0.803 ^{a-g}	0.87 ^{k-o}	2.15 ^{n-q}
Mousa-Tarom	0	77.0 ^{h-l}	432.33 ^{a-c}	0.850 ^a	0.09 ^u	1.48 ^{hi}
	44	96.00 ^{b-j}	431.00 ^{a-c}	0.816 ^{a-f}	0.47 ^{q-t}	1.69 ^{gh}
	88	92.00 ^{b-l}	351.33 ^{b-i}	0.786 ^{c-h}	0.8 ^{l-p}	1.76 ^{e-g}
	132	100.30 ^{b-h}	393.00 ^{a-g}	0.797 ^{b-g}	1.07 ^{l-k}	2.68 ^b
Hasan-Seraie	0	86.3 ^{c-l}	250.33 ^{ij}	0.740 ^{h-j}	0.47 ^{q-t}	1.15 ^{m-q}
	44	93.30 ^{b-k}	435.00 ^{ab}	0.820 ^{a-f}	0.58 ^{o-s}	1.36 ^{i-m}
	88	81.7 ^{f-l}	417.67 ^{a-e}	0.830 ^{a-e}	1.40 ^{c-f}	3.00 ^a
	132	86.00 ^{c-l}	355.67 ^{b-i}	0.800 ^{a-g}	2.05 ^a	2.98 ^a
Dullar	0	92.70 ^{b-k}	368.33 ^{b-h}	0.790 ^{b-g}	0.16 ^{p-q}	1.06 ^{o-r}
	44	87.70 ^{c-l}	354.33 ^{b-i}	0.800 ^{a-g}	0.49 ^{p-s}	2.05 ^{cd}
	88	79.70 ^{g-l}	347.33 ^{b-i}	0.810 ^{a-g}	0.61 ^{m-s}	2.05 ^{cd}
	132	86.70 ^{c-l}	277.00 ^j	0.720 ⁱ	0.970 ^{g-l}	2.12 ^c

* در هر ستون میانگین‌های دارای حروف متفاوت بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف آماری معنی‌داری دارند.

*In each column, means of different letteres based on lsd test have a significant of 5%.

بیشترین میزان پرولین با میانگین $1/00$ میکرومول بر گرم وزن تر برگ و ژنوتیپ موسی‌طارم دارای کمترین میزان پرولین با میانگین $0/09$ میکرومول بر گرم وزن تر برگ در سطح بدون تنش (شاهد) بود. در سطح شوری 44 میلی‌مولار ژنوتیپ‌های، 304 ، شهری لوداب و سطح شوری 88 میلی‌مولار و ژنوتیپ‌های دم‌سیاه ممسنی و دولار به ترتیب بیشترین و کمترین میزان پرولین را داشتند. در تنش شدید (132 میلی‌مولار) بالاترین و کمترین میزان پرولین به ترتیب با میانگین‌های $2/06$ و $0/87$ میکرومول بر گرم وزن تر برگ به ژنوتیپ‌های 304 و دم‌سیاه تعلق داشت. افزایش پرولین ناشی از افزایش مقدار کلرید سدیم را می‌توان چنین توجیه کرد که آنزیم‌های مسیر گلوتامات تحت تنش کلرید سدیم، فعال شده و سنتز پرولین افزایش می‌یابد، زیرا کلرید سدیم موجب تحریک ژن‌های سنتزکننده این آنزیم‌ها می‌شود. مطالعات انجام‌شده روی گیاهان مختلف توسط مردانی‌نژاد و وزیرپور (Mardani-Nezhad and Vazirpour, 2007) در برنج، سایرام و تیاگی (Sairam and Tyagi, 2004) در کلزا و وندرسکول و همکاران (Vendruscolo et al., 2007) در گندم تراریخته نشان دادند که مقدار پرولین در اثر تنش شوری به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است که نتایج تحقیق حاضر با این گزارش‌ها مطابقت داشت.

برهمکنش تنش شوری و ژنوتیپ بر پروتئین محلول برگ معنی‌دار شد (جدول ۲). در سطح بدون تنش ژنوتیپ غریب بیشترین میزان پروتئین محلول در بافت برگ ($2/63$ میکروگرم بر میلی‌گرم) و ژنوتیپ چمپای محلی لوداب کمترین میزان پروتئین محلول در بافت برگ ($0/957$ میکروگرم بر میلی‌گرم) را دارا بودند (جدول ۳). ژنوتیپ محلی یاسوج و دولار در این سطح، در یک گروه آماری قرار گرفتند و فاقد تفاوت معنی‌دار بودند. در سطح شوری 44 میلی‌مولار ژنوتیپ غریب با میانگین $2/720$ میکروگرم بر میلی‌گرم دارای بالاترین رتبه و ژنوتیپ‌های محلی یاسوج و کامفیروز دارای کمترین مقدار پروتئین در بافت برگ با میانگین $0/92$ میکروگرم بر میلی‌گرم وزن تر برگ بودند. در سطح شوری 132 میلی‌مولار ژنوتیپ حسن‌سرایبی دارای بیشترین میزان پروتئین محلول در بافت برگ با میانگین $2/980$ میکروگرم بر میلی‌گرم و ژنوتیپ لنجان‌عسکری دارای کمترین میزان پروتئین محلول در بافت برگ با میانگین $0/720$ میکروگرم بر میلی‌گرم بود. تفاوت بین بیشترین و کمترین میزان پروتئین محلول در بافت برگ گیاه در این سطح شوری $2/26$

میکروگرم بر میلی‌گرم بود (جدول ۳). با توجه به اینکه در اکثر پژوهش‌ها با افزایش تنش میزان پروتئین افزایش نشان داده است (Mighani and Dubey and Rani, 1989؛ Ebrahimzadeh, 2003) این تفاوت بیانگر آن است که ژنوتیپی که میزان بالایی از آن را دارد، تحمل بیشتری نسبت به تنش شوری از خود نشان داده است. میقانی و ابراهیم‌زاده (Mighani and Ebrahimzadeh, 2003) گزارش کردند سنتز پروتئین‌ها در پاسخ به تنش‌های محیطی نظیر شوک گرمایی، تنش سرما، تنش خشکی و شوری تغییر می‌نماید. چنین تنش‌هایی سبب افزایش سنتز برخی از پروتئین‌ها و کاهش سنتز عده‌ای دیگر از آن‌ها می‌شود. این پژوهشگران معتقدند اثر اصلی شوری، کاهش سنتز پروتئین است. این اثرات منفی شامل تخریب سازوکار رونویسی و ترجمه است. با افزایش میزان تنش شوری، محتوای شاخص کلروفیل برگ کاهش بسیار معنی‌داری را نشان داد (جدول ۴). به‌طوری‌که بیشترین محتوای شاخص کلروفیل برگ متعلق به سطح شوری شاهد ($37/58$) و کمترین آن مربوط به سطح شوری 132 میلی‌مولار ($29/74$) بوده است. در مجموع بررسی میزان محتوای نسبی کلروفیل ژنوتیپ‌های مختلف برنج در تیمارهای مختلف شوری نشان داد که با افزایش سطح شوری، میزان قرائت SPAD عدد کوچک‌تری را نشان داده که حاکی از کاهش مقدار کلروفیل است؛ همان‌طوری‌که در جدول (۴) نمایان است، واکنش ژنوتیپ‌های مختلف برنج مورد مطالعه برای میزان محتوای نسبی کلروفیل برگ برای 4 سطح تنش متفاوت بود. ژنوتیپ غریب دارای بیشترین میزان و ژنوتیپ دولار دارای کمترین میزان شاخص کلروفیل برگ بود که از لحاظ این صفت دارای اختلاف معنی‌دار بودند و ژنوتیپ غریب را می‌توان در یک گروه آماری قرار داد. نتایج این مطالعه حاکی از آن است، با توجه به این‌که میزان محتوای نسبی کلروفیل برگ که بیانگر کلروفیل برگ است، رنگیزه مهمی برای انجام فتوسنتز و عمل‌غذاسازی در گیاهان و نیز ارتباط مستقیم با عملکرد دارد، لذا اگر هدف محقق اصلاحی افزایش میزان کلروفیل در ژنوتیپ دولار باشد می‌تواند از دورگ‌گیری ژنوتیپ‌های غریب و دولار استفاده کند. کاهش محتوای کلروفیل ارقام برنج ناشی از تنش شوری توسط راجوسکی و همکاران (Rachoski et al., 2015) و سینگ و سارکار (Singh and Sarkar, 2014) 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 (Hosseini et al., 2012). نتایج حاصل از جدول مقایسه میانگین مقدار قندهای محلول نشان داد که با افزایش سطح شوری، افزایش معنی‌داری در مقدار قندهای محلول هر ژنوتیپ مشاهده می‌شود (جدول ۴).

جدول ۴. مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیکی و عملکرد دانه اندازه‌گیری شده در ژنوتیپ‌های برنج در سطوح مختلف شوری

Table 4. Mean comparison of the measured physiological traits and grain yield in genotypes rice in different levels of salinity

Salinity levels	سطوح شوری	فلورسانس حداکثر (Fm)	سبزیگی SPAD	قندهای محلول Soluble Sugar	عملکرد دانه Grain Yield
	(میلی مولار) Milimollar			Mg.gr ⁻¹ Fw	g per pot
0		476.45 ^a	37.58 ^{a*}	60.42 ^d	44.82 ^a
44		474.67 ^a	34.96 ^b	72.81 ^c	24.30 ^b
88		453.73 ^{ab}	32.55 ^c	87.63 ^b	11.48 ^c
132		412.06 ^b	29.74 ^d	101.75 ^a	4.42 ^d
Genotypes	ژنوتیپ‌ها				
Gharib	غریب	490.33 ^{ab}	40.57 ^a	36.08 ^e	22.20 ^{bcd}
Yasouj	یاسوج	403.08 ^c	31.38 ^{de}	50.58 ^d	26.40 ^b
Loudab-champa	چمپای لوداب	451.17 ^{abc}	32.52 ^{c-e}	92.25 ^c	19.90 ^{cd}
Loudab-shahri	شهری لوداب	385.25 ^{ab}	35.19 ^b	49.33 ^{de}	24.1 ^{bc}
304	۳۰۴	367.50 ^{ab}	31.71 ^{b-e}	54.91 ^d	18.30 ^d
Lenjan-askari	لنجان‌عسکری	347.92 ^{ab}	34.09 ^{bc}	115.16 ^{ab}	29.8 ^a
Kamfirooz	کامفیروز	372.50 ^{ab}	33.95 ^{b-d}	110.16 ^b	26.8 ^b
Mammasani-Domsiah	دم‌سیاه ممسنی	366.83 ^{ab}	33.11 ^{b-e}	83.33 ^c	20.80 ^{cd}
Mousa-Tarom	موسی طارم	401.92 ^a	31.70 ^{c-e}	111.58 ^b	18.30 ^d
Hasan-Seraie	حسن سرایی	364.67 ^{ab}	33.30 ^{b-e}	126.66 ^a	17.50 ^d
Dullar	دولار	324.33 ^b	31.30 ^e	57.16 ^d	17.0 ^d

* در هر ستون میانگین‌های دارای حروف متفاوت بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف آماری معنی‌داری دارند.

In each column, means of different letteres based on lsd test have a significant of 5%.

قندهای محلول ممکن است حاصل افزایش فعالیت آنزیم ساکارز فسفاتاز در گیاه باشد. همراه با افزایش غلظت کلرید سدیم و تجمع یونی در اندام‌های گیاه برای حفظ تعادل آبی و شرایط اسمزی افزایش قندهای محلول گیاه ضروری است (Javadipour, 2012). افزایش بیشتر غلظت کربوهیدرات‌های محلول در برگ‌های جوان و به‌ویژه غلظت بالاتر آن در ژنوتیپ متحمل، نشان می‌دهد که بررسی این موضوع از اهمیت بالایی برخوردار است (Nemati et al., 2009). به‌رحال اختلاف معنی‌داری بین سطوح شوری برای صفت عملکرد دانه مشاهده گردید (جدول ۴). میزان کاهش عملکرد دانه در تنش شدید شوری بیشتر از ۹۰ درصد کاهش را نشان داد. ژنوتیپ‌های مختلف برنج از نظر صفت عملکرد

افزایش شوری از سطح شاهد به سطح شوری ۱۳۲ میلی-مولار موجب افزایش ۴۱ درصدی کل قندهای محلول گردید، به‌نحوی که بیشترین میزان کل قندهای محلول (۱۰۱/۷۵ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) در سطح ۱۳۲ میلی-مولار و کمترین میزان آن (۶۰/۴۲ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) در سطح شوری شاهد بود. ژنوتیپ‌های مختلف برنج مورد آزمایش نیز از نظر میزان کل قندهای محلول متفاوت بودند. ژنوتیپ حسن‌سرایبی با میانگین ۱۲۶/۶۶ میکرومول بر گرم وزن تر برگ، بالاترین و ژنوتیپ غریب با میانگین ۳۶/۰۸ میکرومول بر گرم وزن تر برگ کمترین رتبه را به خود اختصاص داد. این نتایج با یافته‌های نعمتی و همکاران (Nemati et al., 2009) در برنج مطابقت داشت. افزایش

بین صفات F_m با F_v ($r=0.98^{**}$) بود. در شرایط عدم تنش سبزی‌نگی برگ با صفات F_m و F_v دارای همبستگی فنوتیپی مثبت و معنی‌دار ($p \leq 0.05$ و $p \leq 0.01$) بود که بیانگر این مطلب است که با افزایش میزان سبزی‌نگی برگ در شرایط عدم تنش میزان صفات F_m و F_v افزایش می‌یابند. همچنین همبستگی بین پروتئین برگ با صفات شاخص‌های فلورسانس (F_0 , F_m , F_v و F_v/F_m) و سبزی‌نگی مثبت و معنی‌دار ($p \leq 0.05$ و $p \leq 0.01$) ولی با صفت کربوهیدرات برگ منفی و معنی‌دار ($p \leq 0.01$) بود. در نهایت در شرایط بدون تنش، عملکرد دانه با میزان سبزی‌نگی برگ دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار ($p \leq 0.01$) و با صفت F_v/F_m دارای همبستگی منفی و معنی‌دار ($p \leq 0.05$) بود؛ که این رابطه بیانگر آن است که با افزایش سبزی‌نگی، عملکرد دانه افزایش می‌یابد. در شرایط تنش بالاترین همبستگی مثبت و معنی‌دار بین شاخص‌های فلورسانس F_m با F_v ($r=0.97^{**}$) بود. صفت F_0 با صفات F_v/F_m و پرولین آزاد برگ در شرایط تنش دارای

دانه متفاوت بودند. ژنوتیپ‌های لنجان عسکری و دولار به ترتیب بیشترین و کمترین میزان عملکرد دانه را به خود اختصاص دادند. کریش نامورتی و همکاران (Krishnamurthy et al., 2016) گزارش نمودند که یکی از نشانه‌های ناشی از آسیب وارده به‌وسیله نمک، کاهش عملکرد دانه است. سینگ و ساکار (Singh and Sakar, 2014) اظهار داشتند که یکی از عوامل کاهش عملکرد، جذب سدیم توسط ریشه و انتقال و توزیع آن در قسمت‌های هوایی گیاه مخصوصاً در برگ‌های پیر قبل از دوره گل‌دهی بوده که منجر به مرگ برگ و کاهش رشد و در نهایت کاهش انتقال مواد پرورده به نقاط ذخیره‌ای از جمله دانه است.

همبستگی فنوتیپی بین صفات

همبستگی فنوتیپی برای صفات اندازه‌گیری شده برای دو حالت عدم تنش (اعداد بالایی قطر) و تنش شوری (اعداد پایین قطر) در جدول ۵ آورده شده است. بیشترین میزان همبستگی فنوتیپی مثبت و معنی‌دار در شرایط بدون تنش

جدول ۵. ضرایب همبستگی فنوتیپی در شرایط بدون تنش (بالای قطر) و تنش (پایین قطر) بین صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های برنج
Table 5. Correlation coefficient phenotypic in non-stress (above- diagonal) and stress (below- diagonal) conditions among the traits studied in rice genotypes

صفات		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Traits										
1	فلورسانس حداقل F_0	1	0.54**	0.38*	0.03 ^{ns}	-0.19 ^{ns}	0.21 ^{ns}	0.24 ^{ns}	0.38*	-0.009 ^{ns}
2	فلورسانس حداکثر F_m	-0.07 ^{ns}	1	0.98**	0.40*	0.34*	-0.19 ^{ns}	0.05 ^{ns}	0.52**	-0.09 ^{ns}
3	فلورسانس متغیر F_v	-0.31 ^{ns}	0.97**	1	0.38*	0.50**	-0.21 ^{ns}	-0.11 ^{ns}	0.48**	0.11 ^{ns}
4	کارایی فتوسیستم II F_v/F_m	-0.80**	0.62**	0.79	1	0.11 ^{ns}	0.08 ^{ns}	-0.38*	0.31 ^{ns}	-0.36*
5	سبزی‌نگی SPAD	0.03 ^{ns}	0.13 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.02 ^{ns}	1	-0.21 ^{ns}	0.13 ^{ns}	0.56**	0.47**
6	قندهای محلول برگ Soluble Sugar	-0.02 ^{ns}	0.17 ^{ns}	0.17 ^{ns}	0.07 ^{ns}	-0.20 ^{ns}	1	0.25 ^{ns}	-0.44**	0.09 ^{ns}
7	پرولین برگ leaf Proline	0.45**	0.11 ^{ns}	0.00 ^{ns}	-0.29 ^{ns}	0.25 ^{ns}	0.02 ^{ns}	1	-0.18 ^{ns}	-0.31 ^{ns}
8	پروتئین برگ leaf Protein	0.19 ^{ns}	0.03 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.12 ^{ns}	-0.01 ^{ns}	-0.07 ^{ns}	0.22 ^{ns}	1	-0.33 ^{ns}
9	عملکرد دانه Grain Yield	0.23 ^{ns}	-0.45**	0.50**	0.45**	0.41*	-0.09 ^{ns}	-0.05 ^{ns}	0.26 ^{ns}	1

ns, *, ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

ns, * and ** Non-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively

همبستگی معنی‌دار بودند. در نهایت صفت عملکرد دانه در شرایط تنش شوری با صفات F_v ، سبزی‌نگی و F_v/F_m دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار بود که نشان‌دهنده این است که با افزایش سبزی‌نگی برگ و میزان F_v/F_m برگ، فتوسنتز بیشتری انجام و در نهایت عملکرد دانه افزایش می‌یابد. در این پژوهش رابطه بسیار قوی میان صفات F_m ، F_v و F_v/F_m با عملکرد دانه در شرایط تنش شوری دیده شد که دلیل بر افزایش میزان عملکرد دانه و سهم بودن صفات F_m ، F_v و F_v/F_m در عملکرد دانه، این رابطه قوی را می‌توان توجیه نمود. حسینیان خوشرو و همکاران (Hosseineyan-Khoshrou et al., 2011) در بررسی و مقایسه خصوصیات بیوشیمیایی در ژنوتیپ‌های مختلف آجیلوپس تانچی (*Aegilops tauschii* L. ایران گزارش دادند که کلروفیل a، b و کل با پروتئین برگ فاقد همبستگی معنی‌دار بودند که نتایج تحقیق حاضر با نتایج گزارش شده مطابقت داشت.

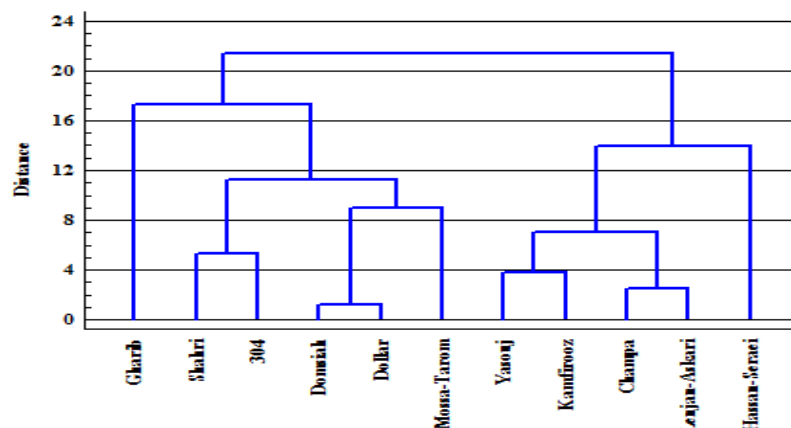
گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس تجزیه خوشه‌ای

از آنجایی که ژنوتیپ‌های گوناگون دارای تنوع زیادی از نظر صفات مختلف می‌باشند، قضاوت بر اساس یک یا چند صفت فیزیولوژیکی صحیح به نظر نمی‌رسد، لذا جهت انتخاب بهترین ژنوتیپ‌ها علاوه بر استفاده از روش محاسبه همبستگی فنوتیپی، از روش‌های مختلف آماری بهره برده می‌شود که یکی از این روش‌ها تجزیه خوشه‌ای است. تجزیه خوشه‌ای به روش حداقل واریانس وارد و فاصله اقلیدسی به‌عنوان معیار تشابه انجام گرفت. بر اساس نتایج حاصل تجزیه خوشه‌ای با استفاده از روش حداقل واریانس وارد بر مبنای فاصله اقلیدسی ۱۲، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در هر دو شرایط عدم تنش و تنش در ۴ گروه مجزا قرار گرفتند. بر اساس دندوگرام شرایط بدون تنش (شکل ۹)، گروه اول یک ژنوتیپ معادل ۹/۱ درصد کل (ژنوتیپ‌ها) قرار گرفتند. گروه دوم که بیشترین درصد ژنوتیپ‌ها (۴۵/۴۵ درصد) را در داشت، به دو زیرگروه تقسیم شد که زیرگروه اول شامل ژنوتیپ‌های شهری لوداب و ۳۰۴ از ارقام زودرس و پاکوتاه است. از نظر صفات شاخص‌های فلورسانس، پرولین برگ و عملکرد دانه این ژنوتیپ‌ها هم در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۳). زیرگروه دوم شامل ژنوتیپ‌های دم‌سیاه ممسنی، دولار و موسی‌طارم بود. بر اساس نتایج جدول مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های ذکر شده از لحاظ ویژگی‌های شاخص‌های فلورسانس، سبزی‌نگی و پرولین برگ در یک گروه آماری قرار

گرفتند یا به عبارتی اختلاف آماری معنی‌داری نسبت به هم نداشتند. گروه سوم شامل ۴ ژنوتیپ (۳۶/۳۶ درصد از کل ژنوتیپ‌ها) نیز شامل دو زیرگروه بود که ژنوتیپ‌های محلی یاسوج و چمپای کامفیروز در یک زیرگروه قرار گرفتند. این ژنوتیپ‌ها بر اساس نتایج مقایسه میانگین از نظر اکثر صفات مورد بررسی در یک گروه آماری قرار گرفتند. ژنوتیپ‌های چمپای محلی لوداب و لنجان عسکری در زیرگروه دوم که شامل ژنوتیپ‌های دیررس و پابلند بودند، قرار گرفتند. آخرین گروه ۹/۱ درصد از ژنوتیپ‌های را به خود اختصاص داد و شامل ژنوتیپ حسن‌سرایبی بود. در شرایط تنش شوری (شکل ۱۰)، گروه اول شامل ژنوتیپ‌های غریب و ۳۰۴ که ۱۸/۱۸ درصد از کل ژنوتیپ‌های مورد بررسی را در خود جای داد. شامل ژنوتیپ‌های غریب و ۳۰۴ بوده که این دسته از ژنوتیپ‌ها ژنوتیپ‌های زودرس و پاکوتاه است. این دسته از ژنوتیپ‌ها از لحاظ ویژگی‌های شاخص فلورسانس در یک گروه آماری قرار گرفتند. ژنوتیپ لنجان عسکری به‌تنهایی در گروه دوم قرار گرفت. گروه سوم شامل ۳ ژنوتیپ (محلی یاسوج، موسی-طارم و دولار) بود که در مجموع ۲۷/۲۷ درصد از کل ژنوتیپ‌ها را به خود اختصاص داد. آخرین گروه که بیشترین درصد ژنوتیپ‌ها را در شرایط تنش شوری به خود اختصاص داد شامل ژنوتیپ‌های چمپای لوداب، دم‌سیاه ممسنی، کامفیروز، شهری لوداب و حسن‌سرایبی بود. در شرایط تنش شوری می‌توان از تلاقی ژنوتیپ‌های گروه اول و چهارم که بیشترین فاصله ژنتیکی را از نظر صفات مورد مطالعه با هم دارند (داده‌ها ذکر نشده‌اند)، برای برنامه‌های هتروزیس، تفکیک متجاوز استفاده کرد. لذا زمانی که والدین دارای قرابت ژنتیکی دوری از هم باشند، هیبریدهای حاصل از دورگ‌گیری در برنج تنوع مطلوبی جهت انتخاب بوته‌های مناسب برای به‌نژادگر را فراهم می‌آورند.

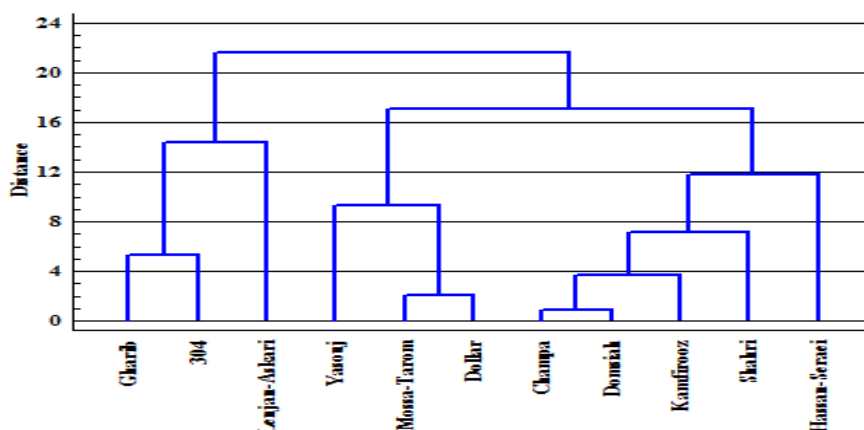
مجیدی‌مهر و خوش‌چهره (Majidi-Mehr and Khoshchereh, 2016) در مطالعه‌ای تنوع ژنتیکی بین ۱۰ ژنوتیپ‌های بومی برنج از کشور ایران را مورد مطالعه قرار داده و بر اساس ۱۱ صفت آگرومورفولوژیک، ژنوتیپ‌ها را در سه گروه قرار دادند که گروه سوم بیشترین درصد ژنوتیپ‌ها (۵۰ درصد) را در خود جای دادند. با توجه به وجود تنوع ژنتیکی کافی در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی، گزینش جهت بهبود صفات زراعی مورد نظر می‌تواند مفید باشد. از آنجایی که عملکرد دانه صفتی کمی بوده و به‌شدت تحت کنترل عوامل محیطی قرار می‌گیرد، دست‌ورزی و گزینش مستقیم برای

عملکرد دانه مؤثر نیست، اما از طریق بهبود صفاتی از قبیل سبزی‌نگی و F_v/F_m که با عملکرد دانه در شرایط تنش دارای همبستگی مثبت و معنی‌داری و وراثت‌پذیری بالایی می‌باشند می‌توان به دسترسی به هدف مذکور امیدوار بود.



شکل ۹. دندروگرام تجزیه خوشه‌ای صفات فیزیولوژیکی در برخی از ژنوتیپ‌های برنج در شرایط عدم تنش بر مبنای فاصله اقلیدسی با استفاده از روش حداقل واریانس وارد

Fig. 9. Dendrogram of cluster analysis of physiological traits in some rice genotypes in salinity non-stress conditions based on euclidean distance using the minimum variance method.



شکل ۱۰. دندروگرام تجزیه خوشه‌ای صفات فیزیولوژیکی در برخی از ژنوتیپ‌های برنج در شرایط تنش بر مبنای فاصله اقلیدسی با استفاده از روش حداقل واریانس وارد

Fig. 10. Dendrogram of cluster analysis of physiological traits in some rice genotypes in stress conditions based on euclidean distance using the minimum variance method.

مقادیر کلروفیل بر اثر تخریب آن به واسطه نمک زیاد باشد. در ضمن ژنوتیپ‌هایی با نسبت بالای F_v/F_m و بیشترین توازن در تولید پرولین در شرایط تنش، قادر بودند از کاهش عملکرد دانه کمتری برخوردار باشند. به نظر می‌رسد برتری عملکرد ژنوتیپ‌های لنجان عسکری، محلی یاسوج و کامفیروز در شرایط تنش شدید نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها، به دلیل داشتن چنین ویژگی‌هایی باشد. همچنین نتایج حاصل از تجزیه

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش، افزایش شدت تنش شوری اثر معنی‌داری بر شاخص‌های فلورسانس کلروفیل (به ترتیب F_0 ، F_m ، F_v و F_v/F_m)، سبزی‌نگی، قندهای محلول، پرولین برگ، پروتئین برگ و عملکرد دانه ژنوتیپ‌های مورد بررسی برنج داشت. مشخص گردید در شرایط تنش، کاهش قرائت SPAD می‌تواند ناشی از کاهش فتوسنتز خالص یا

سیاسگزاری

هزینه‌های این پژوهش از محل اعتبارات پژوهشی دانشگاه یاسوج تأمین شده است که نگارندگان بدین‌وسیله مراتب تشکر و سپاسگزاری خود را ابراز می‌دارند.

خوشه‌ای در شرایط تنش برای ایجاد ژنوتیپ‌های پاکوتاه، زودرس و با عملکرد بالا می‌توان از ژنوتیپ‌های کلاستر اول و چهارم که بیشترین فاصله ژنتیکی را دارند به‌عنوان والدین مناسب در تلاقی‌های لازم و هدفمند برای انجام برنامه‌های اصلاحی مثل هتروزیس و تفکیک متجاوز استفاده کرد.

منابع

- Agricultural Statistics, 2017. Annual Report. Ministry of Agriculture Press. <https://www.maj.ir/Index.aspx>. [In Persian]
- Azizpour, K., Shakiba, M. R., Khosh Kholgh Sima, N. A., Alyari, H., Moghaddam, M., Esfandiari, E., Pessarakli, M., 2010. Physiological response of spring durum wheat genotypes to salinity. *Journal of plant nutrition*. 33, 859-873.
- Dubey, R. D., Rani, M., 1989. Influence of NaCl salinity on growth and metabolic status of protein and amino acids in rice seedling. *Agronomy Journal*. 162, 67-72.
- Fallah, A., Farahmanfar, E., Moradi, F., 2015. Effect of salt stress on some morphological characters of two rice cultivars during different growth stages at greenhouse. *Applied Field Crops Research*. 28, 175-182.
- Hoagland, D.R., Arnon, D.I., 1950. The water-culture for growing plants without soil. *California Agriculture Experimental Statistics Circular*, 3-32.
- Hosseineyan-Khoshrou, H., Bihamta, M.R., Soltani, A., Aghaei, M.J. 2011. Study and comparison of some biochemical characteristics of different genotypes of *Aegilops tauschii* Iran. *Iranian Journal of Field Crop Science*. 42, 661-649. [In Persian with English Summary].
- Hosseini, S.J., Tahmasebi, Z., Pirdashti, H., 2012. Screening of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes for NaCl tolerance at early seedling stage. *International Journal of Agronomy and Plant Production*. 8, 274-283.
- Irigoyen, J.J., Emerich, D.W., Sanchez-Diaz, M., 1992. Water stress induced changes in concentration of proline and total soluble sugars in modulated alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants. *Physiology of Plants*. 84, 55-60.
- IRRI. 2017. Stress and disease tolerance: Breeding for salt tolerance in rice. http://www.knowledgebank.irri.org/ricebreedingcourse/Breeding_for_salt_tolerance.htm.
- IRRI. 2018. World rice statistics online query facilities. <http://ricestat.irri.org:8080/wrsv3/entrypoint.htm>.
- Ismail, A.M., Horie, T., 2017. Genomics, Physiology, and Molecular Breeding Approaches for Improving Salt Tolerance. *Annual Review of Plant Biology*. 68, 405-434.
- Javadipour, Z., 2012. Effect of salinity on germination and physiological characteristics of spring safflower (*Charthamus tinctorius* L.) MSc dissertation, Faculty of Agriculture, University Yasouj, 132p. [In Persian with English Summary]
- Juan, M.R., Esteban, S., Pablo C.G., Luis, R. L., Rosa, M.R., Luis, R., 2002. Proline metabolism and NAD kinase activity in green bean plants subjected to cold-shock. *Phytochemistry*. 59, 473-478.
- 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.
- Kao, W.Y., Tsai, T., Tsai, H., Shih, C.N., 2006. Response of three glycine species to salt stress. *Environmental and Experimental Botany*. 56, 120-125.
- 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.
- Liu, C., Zhang, J., 2000. Heat stress injury in relation to membrane lipid per oxidation in creeping. *Crop Science*. 151, 135-143.

- Majidi, M., Karimzadeh, G., Mahfoozi, S., 2008. Effects of low temperature and exogenous calcium on the quantum efficiency of photosystem II (Fv/Fm) and relative content of chlorophyll in cold susceptible and tolerant wheat cultivars. *Pajouhesh & Sazandegi*. 77, 175-181. [In Persian with English Summary].
- Majidi-Mehr, A., Amiri-Fahlani, R., and Masoumi-Asl, A., 2014. Study of biochemical and chemical traits of different rice genotypes under salinity stress. *Cereal Research*. 4(1), 45-58. [In Persian with English Summary]
- Majidi-Mehr, A., Khoshchereh, H., 2016. Study of different genotypes of rice using multivariate analysis. *Journal of Plant Eco physiology*. 30, 118-128. [In Persian with English Summary].
- Mardani-Nezhad, S.H., Vazirpour, M., 2007. The study of seed viability, amount of proline and chlorophyll of local genotypes of rice under salt stress. *Agroecology Journal*. 3, 69-80. [In Persian with English Summary].
- Mighani, F., Ebrahimzadeh, H., 2003. Effect salinity stress on carbohydrates wheat. *Journal of Sciences University of Tehran*. 2, 257-265. [In Persian].
- Musavizadeh, Z.S., Najafi-Zarini, H., Hashemi-Petroudi, S. H.R., Kazemitabar, S.K., 2018. Assessment of proline, chlorophyll and malondialdehyde in sensitive and tolerant rice (*Oryza sativa* L.) cultivars under salt stress conditions. *Journal of Crop Breeding*, 10, 28-35.
- Nabiollahi, K., Taghizadeh-Mehrjardi, R., Kerry, R., Moradian, S., 2017. Assessment of soil quality indices for salt-affected agricultural land in Kurdistan Province, Iran. *Ecological Indicators*. 83, 482-494.
- Nemati, I., Moradi, F., Esmacili, M.A., Gholizadeh, S., 2009. Ions and total soluble carbohydrates compartmentation in different leaves of rice genotypes in response to salt stress. *Journal of Plant Production*. 16, 143-158. [In Persian with English Summary].
- Paquine, F., Lechasseur, P., 1979. Observations sure one method dosage 1a Libra-dens les de plants. *Canadian Journal of Botany*. 57, 1851-1854.
- 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.
- Rahman, M.A., Thomson, M.J., Shah-E-Alam, M., Ocampo, M., Egdane, J., Ismail, A.M., 2016. Exploring novel genetic sources of salinity tolerance in rice through molecular and pH ysiological characterization. *Annals of Botany*. 117, 1083-1097. [In Persian].
- Saeidipour, S. 2015. Salinity effects on osmotic potential, soluble proteins and carbohydrates concentration in rice (*Oryza sativa*) genotypes at seedling stage. *Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*. 108, 1-8. [In Persian with English Summary].
- Sairam, R. K., Tyagi, A., 2004. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science*. 86, 407-421.
- Santos, C.V., 2004. Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. *Scientia Horticulture*. 103, 93-99.
- SAS Institute. 2002. SAS user's guide: Statistics. Ver 9.1. SAS Institute Cary, NC.
- 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.
- StatGraphics. 2019. Statistical analysis and data visualization system (revised version). Stat Point Technologies, Incorporation.
- Vendruscolo, E.C.G., Schuster, I., Pilegg, M., Scapim, C.A., Molinari, H.B.C., Marur, C.J., Vieira, L.G.E., 2007. Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. *Journal of Plant Physiology*. 164(10), 1367-1376.
- Zhang, Z.H., Liu, Q., Song, H.X., Rong, X.M., Abdelbagi, M.I., 2010. Responses of different rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to salt stress and relation to carbohydrate metabolism and chlorophyll content. *African Journal of Agricultural Research*. 7, 19-27.
- Zhao, G.Q., Ma, B.L., Ren, C.Z., 2007. Growth, gas exchange, chlorophyll fluorescence, and ion content of naked oat in response to salinity. *Crop Science*. 41, 123-13.



Original article

Evaluation of reaction of some rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to salinity stress at seedling stage

A. Majidi-Mehr^{1*}, R. Amiri-Fahlani²

1. Ph. D. Student, Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Crop Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

2. Assistant Professor, Department of Agronomy & Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran

Received 11 May 2019; Accepted 30 July 2019

Abstract

Rice is one of the most important crops in Iran and all over the world, and Salinity stress is a significant limiting factor in producing this crop. In this experiment 11 rice genotypes as split-plot based on randomized complete block design with three replications in summer 2012, at the college of Agriculture, at Yasouj University. The main plot of salinity at 4 levels (0, 44, 88 and 132 mM) and subplot were 11 rice genotypes, include: Gharib, Local Yasouj, Champa and Shahri Loudab, 304, Lenjan-Askari, Kamfirooze, Domsiah Mamasani, Mossa-Tarom, Hassan-Seraei, and Dollar. Traits evaluated consist of fluorescence chlorophyll indices (F0, Fm, Fv and Fv/Fm, respectively), chlorophyll soluble sugars, proline and protein leaf and grain yield. The results analysis of variance showed that the traits of chlorophyll fluorescence indices (F0, Fm, Fv and Fv/Fm, respectively), chlorophyll, soluble sugars, and proline and leaf protein were affected by interaction of salinity and genotype. With increasing tension stress, proline accumulation, protein and leaf soluble sugars increased in plants under salinity levels, but genotypes differed in this regard. Increasing salt stress levels reduced the relative chlorophyll content and grain yield. Mean of comparison rice genotypes showed that the highest grain yield belonged to Lanjan askari genotype and the lowest was genotype Dollar. Cluster analysis with minimum variance Ward's method in salinity stress conditions classified all genotypes in four groups and the highest genetic distance was observed between cluster 1 and cluster 4, that can from genotypes this two cluster for breeding program like heterosis and transgressive segregation used.

Keyword: Cluster Analysis, Correlation, Leaf Proline, SPAD

*Correspondent author: Ahmad Majidi-Mehr; E-Mail: Ahmadmajidi1364@yahoo.com.