

## تجزیه و تحلیل اثر شوری بر میزان کلروفیل، شاخص‌های فلورسانس کلروفیل و عملکرد دانه برخی ارقام برنج

احمد مجیدی مهر<sup>۱</sup> و رضا امیری فهلیانی<sup>۲</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه یاسوج  
۲- استادیار، دانشگاه یاسوج، (نویسنده مسوول: amiri720@yahoo.com)  
تاریخ دریافت: ۹۳/۵/۴ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۱۱

### چکیده

برنج (*Oryza sativa* L.) تأمین‌کننده غذای نیمی از مردم جهان است و شوری در برخی مناطق، موجب کاهش عملکرد این گیاه می‌گردد. به منظور توسعه کشت برنج در مناطقی با آب یا زمین‌های شور، میزان کلروفیل، شاخص‌های فلورسانس کلروفیل و عملکرد دانه برخی از ارقام برنج تحت تاثیر تنش شوری، در تابستان ۹۲-۱۳۹۱ در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج، مورد ارزیابی قرار گرفتند. آزمایش به صورت کرت‌های یکبار خردشده و در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. عامل اصلی، شامل ۴ سطح شوری و عامل فرعی شامل ۱۱ رقم برنج بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر شوری بر شاخص‌های فلورسانس غیرمعنی‌دار ولی بر میزان کلروفیل و عملکرد دانه بسیار معنی‌دار ( $p < 0.01$ ) بود. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در هر دو شرایط تنش و بدون تنش، ۶ متغیر اولیه  $F_v/F_m$ ،  $F_v$ ،  $F_m$ ،  $F_v/F_m$ ،  $F_v$  و  $F_m$  میزان کلروفیل و عملکرد دانه را در قالب ۲ مؤلفه گروه‌بندی نمود به نحوی که در شرایط بدون تنش، مؤلفه اول شامل شاخص‌های فلورسانس  $F_v$  و  $F_m$  در جهت مثبت و مؤلفه دوم، شامل حداکثر کارایی فتوسنتز II در جهت مثبت و عملکرد دانه در جهت منفی بود. در شرایط تنش، بیشترین تأثیر در مؤلفه اول متعلق به  $F_v$  و  $F_m$  در جهت منفی و  $F_v/F_m$  در جهت مثبت و بیشترین اثر در مؤلفه دوم مربوط به کلروفیل و در جهت منفی بود. تجزیه خوشه‌ای، ارقام برنج را بر اساس میزان فلورسانس کلروفیل و عملکرد دانه در شرایط تنش و بدون تنش، به سه خوشه گروه‌بندی نمود. در شرایط تنش، رقم‌های غریب و لنجان‌عسکری در گروه متحمل قرار گرفتند. در برنامه‌های به‌نژادی از تلاقی رقم غریب، دارای میزان کلروفیل و نسبت بالای  $F_v/F_m$ ، زودرس و متحمل، رقم حسن‌سزایی از برنج‌های مرغوب و با کیفیت بالای پخت، طول دانه بلند و دیررس و حساس به شوری، می‌توان برای ایجاد ارقام مناسب برای زمین‌های شور، استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: برنج، کلروفیل، حداقل واریانس وارد، تجزیه مؤلفه‌های اصلی، تجزیه خوشه‌ای

### مقدمه

عملکرد به زمان، مدت و شدت تنش شوری بستگی دارد (۲۲).

کلروفیل برگ یکی از مهم‌ترین شاخص‌های نشان‌دهنده فشارهای محیطی وارده بر گیاه است. مقدار کلروفیل در گیاهان تحت تنش کاهش یافته و باعث تغییر در نسبت جذب نور و در نتیجه کاهش کل نور جذب‌شده از طریق گیاه می‌شود (۲۶). کومار و همکاران (۱۳) با مطالعه واکنش ارقام برنج ایندیکا به تنش شوری، نشان دادند که درصد جوانه‌زنی، رشد گیاه و مقدار رنگیزه کلروفیل کاهش پیدا می‌کند. شوری باعث افزایش ضخامت برگ و در نتیجه کاهش مقدار کلروفیل در واحد سطح می‌شود. با افزایش غلظت نمک تا حد ۳۰۰ مول در متر مکعب، میزان کلروفیل کاهش می‌یابد که این امر مبین تخریب کلروپلاست در سطوح بالای شوری است (۹). کافی و همکاران (۱۲) بیان کردند که در گیاه تحت شرایط تنش‌های محیطی، از جمله تنش شوری، روند تغییرات مقدار کلروفیل برگ به دلیل سنتز آنتوسیانین‌های تولید شده در شرایط تنش تغییر کرده و در نتیجه عدد کلروفیل متر قرائت شده، بسیار متفاوت از شرایط بدون تنش خواهد بود.

فلورسانس کلروفیل<sup>۱</sup> یک معیار سنجش تأثیر تنش‌های محیطی از قبیل تنش شوری بر گونه‌های زراعی و تعیین میزان مقاومت آنها به شوری پیشنهاد شده است (۱۷). در حقیقت مقدار فلورسانس کلروفیل، سالم بودن غشای

برنج (*Oryza sativa* L.) محصول عمده بیشتر کشورهای آسیایی است که زراعت آن بیش از نیمی از زمین‌های تحت کشت را در این قاره به خود اختصاص داده است (۲۵). مردم این منطقه روزانه ۳۰ تا ۸۰ درصد کالری مورد نیاز خود را از این محصول دریافت می‌کنند (۱۴). با رشد جمعیت و کاهش زمین‌های قابل کشت و منابع آبی قابل استفاده، تنش‌های محیطی نیز افزایش می‌یابد و به دلیل رشد سریع جمعیت و تبدیل زمین‌های حاصل‌خیز به اماکن صنعتی و مسکونی، کشاورزان برنج‌کار به زمین‌های کم‌بازده و اراضی شور روی آورده‌اند (۷). تنش شوری خصوصاً در مناطق خشک و نیمه خشک - که اولین تنش شیمیایی به شمار می‌آید - از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که موجودات زنده در طول تکامل خود با آن مواجه می‌شوند (۱۱). در حدود ۹۳۳ میلیون هکتار از زمین‌های سراسر جهان متأثر از شوری و اسیدیته خاک می‌باشد (۲۴)، که در این میان آسیا بیشترین مساحت اراضی شور را به خود اختصاص داده است (۱).

برنج گیاهی حساس به شوری است که البته در مراحل مختلف رشد، تحمل آن به شوری متفاوت است (۱۰). گزارش شده است که برنج در مرحله جوانه‌زنی به شوری متحمل بوده، ولی در ابتدای مرحله گیاهچه‌ای و زایشی خیلی حساس بوده و در مرحله پنجه‌زنی و پرشدن دانه حساسیت کمتری نشان می‌دهد (۱۴). با وجود این، میزان کاهش

1- Chlorophyll fluorescence

عامل اصلی با ۴ سطح (۰، ۴۴، ۸۸ و ۱۳۲ میلی‌مولار مخلوطی از ۲۰ قسمت کلرید سدیم و یک قسمت کلرید کلسیم (نسبت ۱:۲۰)) و عامل فرعی ۱۱ رقم برنج شامل غریب، محلی‌یاسوج، چمپا و شهری لوداب، ۳۰۴، لنجان عسکری، کامفیروز، دم‌سیاه نورآبادمسنی، موسی‌طارم، حسن‌سرای و دلار بودند. در این آزمایش، بذرها با محلول هیپوکلرید سدیم ۰/۵ درصد ضدعفونی شده و در ظروف پتری - که در ته آن‌ها کاغذ صافی قرار داده شده بود - گذاشته شدند. به منظور جوانه‌زنی بذور، ظروف به دستگاه ژرمیناتور انتقال داده شدند. دمای پایه ژرمیناتور  $25 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد. برای خزانگی، 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 ۳-۴ برگ) برای کشت برسند. کشت برنج به صورت نشاکاری و درون گلدان‌هایی با ارتفاع ۱۸ سانتی‌متر و قطر دهانه ۲۱ سانتی‌متر - که تا ارتفاع معینی از ماسه نرم شسته شده پر شده بودند - صورت گرفت. از هر رقم، درون هر گلدان ۳ نشاء با فاصله مساوی کشت شدند. گلدان‌ها در درون کرت‌هایی با ابعاد  $97 \times 79$  سانتی‌متر که با پلاستیک عایق‌بندی شده بودند، قرار داده شدند. بوته‌های برنج تا استقرار کامل و طی شدن مرحله گیاهچه‌ای با محلول هوگلند ( $pH = 6/5$ ) آبیاری شدند. پس از دو هفته و با رسیدن گیاهان به مرحله ۴ برگ و استقرار کامل، تنش‌های شوری اعمال شدند. با اضافه کردن کلرید سدیم و کلرید کلسیم به محلول هوگلند به‌میزان لازم، شوری کرت‌های اصلی به سطوح مورد نظر ۰، ۴۴، ۸۸ و ۱۳۲ میلی‌مولار رسانیده شدند. به منظور غرقاب شدن گلدان‌ها، میزان ۵۰ لیتر محلول با شوری‌های مربوطه وارد کرت‌های اصلی شد. هر ۸ روز یک‌بار محلول را عوض کرده، و برای جلوگیری از تجمع نمک درون کرت‌ها، به مدت ۲ روز با آب معمولی آبیاری انجام شد. بوته‌ها تا پایان دوره رشد گیاه، تحت تاثیر تنش قرار گرفتند.

یک ماه پس از اعمال تنش شوری، میزان کلروفیل و پارامترهای فلورسانس کلروفیل ( $F_0$ ،  $F_m$ ،  $F_v$ ،  $F_m/F_v$ )، با استفاده از دستگاه فلوری‌متر<sup>۱</sup> (مدل OS1-FL) اندازه‌گیری شدند. برای اندازه‌گیری میزان پارامترهای فلورسانس کلروفیل برگ، ابتدا جوان‌ترین برگ کامل از یک بوته هر گلدان، انتخاب و بعد از حدود ۲۰ دقیقه و سازگار شدن به تاریکی، با استفاده از گیرنده‌های مخصوص دستگاه، ارزیابی انجام گرفت. به این منظور، فلش نور مادون قرمز به محل دریچه گیره متصل و پس از باز کردن دریچه بلافاصله داده‌های مربوط به حداقل فلورسانس ( $F_0$ )، حداکثر فلورسانس ( $F_m$ ) و نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس حداکثر ( $F_v/F_m$ ) قرائت شده و فلورسانس آن ثبت گردید.

میزان کلروفیل برگ‌های ارقام مختلف برنج نیز با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر<sup>۲</sup> اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری فلورسانس و کلروفیل در اوایل صبح و نزدیک غروب که شدت تشعشع کمتر است، انجام شد.

تیلاکوئیدی و کارایی نسبی انتقال الکترون را از فتوسیستم II به فتوسیستم I نشان می‌دهد. وقتی مولکول‌های کینون (کینون اولین گیرنده الکترون فتوسیستم II است)<sup>۱</sup> در وضعیت کاملاً اکسیده‌شده (وضعیت باز مرکز واکنش فتوسیستم II) هستند، سیستم دارای کمترین فلورسانس ( $F_0$ ) می‌باشد که به تدریج با افزایش احیای این مولکول‌ها، فلورسانس افزایش می‌یابد. این روند تا احیای کامل مولکول‌های آن ادامه پیدا می‌کند. در چنین حالتی مرکز فتوسیستم، در حالت احیای کامل بوده و دارای بیشینه فلورسانس ( $F_m$ ) است. در واقع، تنش خشکی و شوری با تأثیر بدی که بر همانندسازی کربن می‌گذارند، ظرفیت پذیرش و انتقال الکترون را کاهش داده و در نتیجه سیستم به سرعت به  $F_m$  می‌رسد به طوری که نتیجه آن کاهش فلورسانس قابل دسترس یا فلورسانس متغیر ( $F_v$ ) خواهد بود. از طرفی با افزایش شدت نور، سیستم فتوستزی با یک روش تنظیمی برای کاهش انرژی القا شده تحریکی، انرژی مازاد را به طریق افزایش خاموشی پرفتوشیمیایی به صورت فرآیند غیرتشعشی از دست می‌دهد. با این سازوکار تنظیمی، ضمن حفاظت از مرکز واکنش، موجب می‌گردد که حداقل صدمه به این مرکز وارد شود (۴). از این رو، کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II به صورت نسبت  $F_v/F_m$  بیان می‌شود. بنابراین تنش‌های محیطی با تأثیر پرفتوسیستم II، باعث کاهش این نسبت می‌شوند (۱۶). گزارش شده است که  $F_v$  هم‌بستگی مثبتی با عملکرد در دمای بالا دارد، اما در شرایط کنترل شده، با عملکرد دانه هم‌بستگی منفی نشان می‌دهد (۱۷). در برنامه‌های اصلاحی از هم‌بستگی بین صفات برای گزینش ژنوتیپ‌های برتر استفاده می‌شود (۶).

از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی برای کاهش تعداد متغیرهای اولیه، توصیف و تشریح تنوع کل موجود در یک جامعه و تبیین سهم صفات در تنوع کل استفاده می‌شود (۲۱). هدف از تجزیه خوشه‌ای، گروه‌بندی افراد مورد مطالعه براساس تشابه یا تفاوت‌هایشان می‌باشد. افرادی که در یک گروه قرار می‌گیرند، از نظر ژنتیکی مشابه بوده و افرادی که در دو طرف دندروگرام گروه‌بندی قرار می‌گیرند، دارای اختلاف و تفاوت بیشتری از نظر ژنتیکی خواهند بود و از طرف دیگر امکان دورگ‌گیری بین ارقام با بیشترین تفاوت ژنتیکی، امکان ایجاد هتروزیس بیشتر و یا انتقال صفات نادر را خواهد داشت (۳). هدف از این تحقیق، بررسی اثرات شوری بر مقدار کلروفیل و شاخص‌های فلورسانس کلروفیل و عملکرد دانه برخی از ارقام برنج و تعیین موثرترین شاخص‌ها برای انتخاب رقم متحمل با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و گروه‌بندی رقم‌ها با استفاده از تجزیه خوشه‌ای برای شناسایی رقم‌هایی با عملکرد بالا در هر دو شرایط تنش و بدون تنش بود.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در تابستان سال ۹۲-۱۳۹۱ در دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج اجراء شد. آزمایش به صورت کرت‌های یکبار خردشده و در قالب طرح پایه بلوک کامل تصادفی در ۳ تکرار در شرایط آزاد انجام شد. تنش شوری

نرم‌افزارهای SAS 9.1 و Statgraphics plus 3.0 و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

### نتایج و بحث

تجزیه واریانس اثرات شوری، رقم و اثر متقابل شوری در رقم برای صفات مورد ارزیابی در جدول ۱ ارائه شده است. سطوح متفاوت شوری و به همین ترتیب ارقام مورد بررسی، از نظر میزان کلروفیل اختلاف بسیار معنی‌داری ( $P < 0.01$ ) را نشان دادند که بیان گر وجود تفاوت در اثر سطوح مختلف شوری بر میزان کلروفیل و به همین نحو واکنش متفاوت ارقام به شوری بود. برهم کنش اثر شوری و رقم برای کلروفیل غیرمعنی‌دار بود، که بیانگر این است که کاهش کلروفیل برگ در شرایط شور برای تمام ارقام اتفاق می‌افتد. این نتایج با یافته‌های جلیل دژمپور و همکاران (۱۳) در مورد ارزیابی تحمل به شوری دورگه‌ی بین گونه‌ای جنس پرونوس (*Prunus sp.*) مطابقت دارد. برهم کنش شوری و رقم برای صفات  $F_0$ ،  $F_v$  و  $F_v/F_m$  از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول ۱)، به طوری که بیان‌کننده این است که ارقام مختلف مورد بررسی بسته به شدت تنش شوری، میزان متفاوتی از این شاخص‌ها را داشته‌اند. اثرات اصلی شوری و رقم برای عملکرد دانه معنی‌دار بوده ولی برهم کنش رقم در شوری برای عملکرد غیر معنی‌دار بود که بیانگر این است که تفاوت در عملکرد ارقام اگرچه تحت تاثیر شوری کاهش یافته است ولی ترتیب ارقام مورد بررسی به هم نخورده است.

برای محاسبه حداکثر کارایی فتوشیمیایی از نسبت  $F_v$  به  $F_m$  و برای محاسبه وراثت‌پذیری عمومی از امید ریاضی طرح بلوک کامل تصادفی، به صورت روابط ۱ تا ۴ به ترتیب زیر استفاده شد:

$$\begin{aligned} V_g &= (MSG - MSE) / r & (1) \\ V_e &= MSE & (2) \\ V_p &= V_g + V_e & (3) \\ H_b &= V_g / V_p & (4) \end{aligned}$$

که در روابط فوق MSG، واریانس رقم و MSE واریانس خطا در جدول تجزیه واریانس و  $V_g$ ،  $V_e$ ،  $V_p$  و  $H_b$  به ترتیب واریانس ژنوتیپی، واریانس محیطی، واریانس فنوتیپی و وراثت‌پذی عمومی بودند.

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی براساس ۶ ویژگی  $F_0$ ،  $F_m$ ،  $F_v$ ،  $F_v/F_m$ ، میزان کلروفیل و عملکرد دانه ارقام برنج تحت تأثیر سطوح مختلف شوری انجام شد. برای تعیین میزان قرابت ارقام مورد بررسی و گروه‌بندی آنها براساس میزان کلروفیل و شاخص‌های فلورسانس کلروفیل، تجزیه خوشه‌ای به روش حداقل واریانس "وارد" بر مبنای مشاهدات، صورت گرفته و تعداد خوشه‌ها به کمک آزمون  $T^2$  هتلینگ<sup>۱</sup> انجام و مورد تأیید آزمون F بیل<sup>۲</sup> قرار گرفته و نمودار درختی یا دندروگرام آن رسم گردید. برای تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و انجام تجزیه خوشه‌ای از میانگین داده‌های استاندارد شده در هر دو شرایط تنش (سطح ۸۸ یعنی سطح استاندارد) و سطح بدون تنش استفاده شد. تجزیه داده‌ها با استفاده از

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در شرایط تنش و بدون تنش شوری

Table 1. The results of analysis of variance of evaluated traits under salinity stress and nonstress conditions

میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجه آزادی	فلورسانس اولیه	فلورسانس حداکثر	فلورسانس متغیر	حداکثر کارایی فتوشیمیایی	کلروفیل
بلوک	۲	۷۲۴/۱۶ <sup>ns</sup>	۲۷۶۹۹/۹۸ <sup>ns</sup>	۱۹۴۶۷/۹۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۳ <sup>ns</sup>	۴/۶۲ <sup>ns</sup>
شوری	۳	۱۰۱۶/۸۷ <sup>ns</sup>	۲۹۵۹۱/۰۸ <sup>ns</sup>	۲۲۰۱۵/۸۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۹ <sup>ns</sup>	۳۶۹/۵۷ <sup>**</sup>
خطای a	۶	۵۲۸/۷۲	۱۰۳۵۷/۶۰	۶۶۸۴/۹۰	۰/۰۰۲	۱۲/۰۰۲
رقم	۱۰	۷۱۴/۰۸ <sup>**</sup>	۹۴۵۴/۹۸ <sup>ns</sup>	۶۹۱۶/۴۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۳ <sup>**</sup>	۷۹/۶۹ <sup>**</sup>
شوری × رقم	۳۰	۴۱۳/۷۲ <sup>**</sup>	۸۸۵۲/۳۱ <sup>ns</sup>	۸۳۹۹/۳۵ <sup>**</sup>	۰/۰۰۴ <sup>**</sup>	۹/۸۳ <sup>ns</sup>
خطای b	۸۰	۲۵۵/۳۸	۵۶۴۳/۰۳	۴۶۹۶/۸۱	۰/۰۰۱	۱۰/۵۵
ضریب تغییرات (درصد)		۱۷/۸۶	۱۶/۵۳	۱۸/۷۹	۴/۸۳	۹/۶۳
						۲۳/۰۸

ns، \* و \*\* به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

مقدار ۰/۹۷۲ دیده شد (جدول ۲). کمترین هم‌بستگی معنی‌دار  $F_v$  (۰/۴۵۴)، بین کلروفیل و عملکرد دانه بود. صفات  $F_v$  با  $F_m$ ،  $F_v/F_m$  با  $F_m$  و عملکرد دانه با  $F_m$  هم‌بستگی معنی‌داری را در سطح ۱ درصد نشان دادند. بین  $F_v/F_m$  و فلورسانس اولیه هم‌بستگی منفی (۰/۸۰۸-) و بسیار معنی‌داری ( $P < 0.01$ ) در شرایط تنش شوری دیده شد. از سوی دیگر در شرایط تنش، عملکرد دانه با  $F_v/F_m$  و میزان کلروفیل، هم‌بستگی معنی‌دار و مثبتی داشت که بیانگر این است که گیاه برای افزایش عملکرد در شرایط تنش، ترجیحاً از ویژگی‌های  $F_v/F_m$  و کلروفیل استفاده کرده است. هم‌بستگی معنی‌دار  $F_v/F_m$  با عملکرد دانه مشخص می‌کند که نسبت  $F_m$  باعث افزایش فتوسنتز در ارقام مختلف برنج شده و در نهایت باعث افزایش عملکرد دانه در شرایط تنش شده است.

بنابراین رقم برتر از نظر عملکرد از پایداری مناسبی در شرایط متفاوت شوری برخوردار بوده است (جدول ۱). این نتایج با یافته‌های ممنوعی و سید شریفی (۱۹) مطابقت دارد. نتایج هم‌بستگی صفات در دو سطح بدون تنش (بالای قطر جدول) و تنش (پایین قطر جدول) در جدول ۲ آورده شده است. ارزیابی هم‌بستگی صفات در شرایط بدون تنش نشان داد که بین  $F_0$  با  $F_m$  و  $F_v$  هم‌بستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت. بیشترین هم‌بستگی مثبت و معنی‌دار (۰/۹۸۴) بین  $F_v$  و  $F_m$  در شرایط بدون تنش دیده شد. در حالت بدون تنش، هم‌بستگی بین  $F_m$  با  $F_v/F_m$  و کلروفیل،  $F_0$  با  $F_v$  و هم‌چنین  $F_v/F_m$  با عملکرد دانه در سطح ۵ درصد معنی‌دار شدند. در حالت بدون تنش فقط  $F_v/F_m$  هم‌بستگی منفی و معنی‌داری با عملکرد دانه داشت. در حالت تنش ۸۸ میلی‌مولار، بالاترین هم‌بستگی معنی‌دار، بین  $F_m$  و  $F_v$  با

بر اساس نتایج حاصل از آمار توصیفی (جدول ۳)، بیشترین میانگین مربوط به فلورسانس حداکثر ( $F_m$ )، در شرایط بدون تنش (۴۷۶/۴۵) و تنش (۴۵۳/۷۳) بوده است که در اثر تنش حدود ۵ درصد کاهش داشت. کمترین مقدار

جدول ۲- ضرایب همبستگی شاخص‌های فلورسانس کلروفیل با عملکرد دانه در ارقام مختلف برنج در شرایط بدون تنش (بالای قطر جدول) و تنش (زیر قطر جدول)

Table 2. Correlation coefficient of chlorophyll fluorescence indices with grain yield in different rice cultivars under nonstress (top the diagonal) and salinity stress (bottom the diagonal) conditions

صفات مورد بررسی	فلورسانس اولیه	فلورسانس حداکثر	فلورسانس متغیر	حداکثر کارایی فتوشیمیایی	کلروفیل	عملکرد دانه
فلورسانس اولیه ( $F_0$ )	۱	۰/۵۳۹**	۰/۳۸۳*	-۰/۳۴۵ <sup>ns</sup>	۰/۳۲۳ <sup>ns</sup>	-۰/۰۰۹ <sup>ns</sup>
فلورسانس حداکثر ( $F_m$ )	-۰/۰۷۹ <sup>ns</sup>	۱	-۰/۹۸۴**	۰/۴۰۰*	-۰/۳۴۹*	-۰/۰۹۹ <sup>ns</sup>
فلورسانس متغیر ( $F_v$ )	-۰/۳۱۲ <sup>ns</sup>	۰/۹۷۲**	۱	۰/۴۹۰**	۰/۳۳۶ <sup>ns</sup>	-۰/۱۰۶ <sup>ns</sup>
حداکثر کارایی فتوشیمیایی ( $F_v/F_m$ )	-۰/۸۰۸**	۰/۶۲۵**	-۰/۷۸۷**	۱	۰/۱۱۰ <sup>ns</sup>	-۰/۳۶۳*
کلروفیل	-۰/۰۳۴ <sup>ns</sup>	۰/۱۲۷ <sup>ns</sup>	-۰/۱۱۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۲۴ <sup>ns</sup>	۱	-۰/۳۳۸ <sup>ns</sup>
عملکرد دانه	-۰/۲۳ <sup>ns</sup>	-۰/۴۵۸**	-۰/۴۹۱**	۰/۴۹۵**	۰/۴۵۲**	۱

ns، \* و \*\* به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

قابلیت انتقال امیدبخشی به نسل بعد دارند. به طور کلی مقدار وراثت‌پذیری صفات در شرایط بدون تنش بیشتر از شرایط تنش شوری بود. وراثت‌پذیری شاخص کلروفیل در شرایط بدون تنش بیش از ۹۵ درصد بود، که بیانگر اثر زیاد ژنوتیپ روی تظاهر فنوتیپ در صفت یاد شده بوده و سهم محیط در تنوع میزان کلروفیل، بسیار کم است. لذا گزینش این صفت در شرایط بدون تنش از تاثیر بیشتری برخوردار است. در شرایط تنش، وراثت‌پذیری کلروفیل نسبت به حالت بدون تنش، بیش از ۵۱ درصد کاهش داشت. در بین شاخص‌های فلورسانس، شاخص حداکثر کارایی فتوشیمیایی II از اهمیت بیشتری در تحمل به تنش شوری برخوردار بود و بنابراین بررسی قابلیت توارث آن در شرایط تنش اهمیت ویژه‌ای دارد. وراثت‌پذیری نسبت  $F_v/F_m$  در شرایط بدون تنش بالا بود (جدول ۳)، ولی در شرایط تنش، کاهش حدود ۵ درصدی را نشان داد که نشان‌دهنده تأثیر بسیار کم محیط بر  $F_v/F_m$  بود. بنابراین می‌توان گفت گزینش آن در هر دو شرایط تنش و بدون تنش، امیدبخش بوده و از کارایی قابل قبولی برخوردار است.

دامنه تغییرات به جز در مورد نسبت  $F_v/F_m$ ، در مورد دیگر صفات، در هر دو شرایط تنش و بدون تنش زیاد بود. گستردگی دامنه تغییرات، بیانگر تنوع ژنتیکی بالای ارقام از لحاظ این ویژگی‌ها می‌باشد. بیشترین دامنه تغییرات در شرایط بدون تنش به  $F_m$  و در شرایط تنش به  $F_v$  تعلق داشت. بیشترین مقدار وراثت‌پذیری عمومی در شرایط بدون تنش مربوط به کلروفیل (۹۵/۷۳٪) و کمترین مقدار آن مربوط به  $F_v/F_m$  (۶۸/۷۵٪) بود. در شرایط تنش، بیشینه و کمینه وراثت‌پذیری عمومی به ترتیب مربوط به فلورسانس اولیه (۷۵/۰۶٪) و فلورسانس حداکثر (۱۶/۰۳٪) بود. صفات  $F_0$  و  $F_v/F_m$  در شرایط تنش، دارای وراثت‌پذیری نسبتاً بالایی بودند. انتخاب، یکی از مهم‌ترین کارها در اصلاح نباتات می‌باشد. تأثیر انتخاب در یک جامعه بستگی به مقدار تنوع ژنتیکی و توارث‌پذیری صفت مورد نظر دارد. اصولاً انتخاب برای صفاتی که توارث‌پذیری بالایی دارند، سودمند خواهد بود (۱۹). در این آزمایش وراثت‌پذیری همه صفات به جز نسبت  $F_v/F_m$  در شرایط بدون تنش بالا بود که بیانگر تأثیر ژن (هایی) با اثر افزایشی بر صفات مورد نظر بوده و بنابراین می‌توان گفت که برای طرح‌های به‌نژادی، این ویژگی‌ها

جدول ۳- آمار توصیفی صفات اندازه‌گیری شده در ارقام مورد مطالعه برنج در شرایط بدون تنش و شوری ۸۸ میلی‌مولار  
Table 3. Descriptive statistics of measured traits in studied rice cultivars under non stress and 88mM salinity stress conditions

صفات	میانگین		دامنه تغییرات (تفاوت کمینه از بیشینه)		وراثت‌پذیری عمومی (%)	
	بدون تنش	تنش	بدون تنش	تنش	بدون تنش	تنش
فلورسانس اولیه ( $F_0$ )	۹۶/۰۹	۹۱/۰۳	۷۸/۰۰	۹۷/۰۰	۸۷/۶۲	۷۵/۰۶
فلورسانس حداکثر ( $F_m$ )	۴۷۶/۴۵	۴۵۳/۷۳	۳۳۶/۰۰	۲۹۱/۰۰	۸۵/۴۳	۱۶/۰۳
فلورسانس متغیر ( $F_v$ )	۳۸۰/۳۶	۳۶۲/۷۰	۳۲۴/۰۰	۳۰۸/۰۰	۸۴/۰۰	۴۰/۲۵
حداکثر کارایی فتوشیمیایی ( $F_v/F_m$ )	-۰/۸۰	-۰/۷۹	-۰/۲۰	-۰/۲۹	۶۸/۷۵	۶۴/۷۰
کلروفیل	۳۷/۵۸	۳۲/۵۶	۱۷/۸۸	۲۳/۶۰	۹۵/۷۳	۴۶/۲۴
عملکرد دانه	۴۴/۸۲	۱۱/۴۸	۳۴/۰۰	۱۹/۰۰	۸۵/۵۹	۷/۵۷

در حالت تنش (شکل ۱)، از برش دندروگرام در مقیاس تغییر یافته تقریبی ۱۲، ۳ گروه ژنوتیپی به دست آمد. خوشه اول شامل ارقام غریب، لنجان عسکری و ۳۰۴ بود که نشان دهنده این است که در شرایط تنش، این ارقام قرابت ژنتیکی بیشتری از نظر صفات مؤثر داشتند. خوشه دوم، شامل ارقام محلی یاسوج، موسی طارم و دولار، و خوشه سوم شامل چمپای محلی و شهری لوداب، دمسیاه ممسنی، کامفیروز و حسن سرایی بودند. برای برنامه‌های اصلاحی در جهت گزینش برای افزایش تحمل به تنش شوری از طریق بهره‌برداری از هتروزیس و تفکیک متجاوز، از تلاقی بین ارقام خوشه اول، ارقام متحمل، با ارقام خوشه سوم، ارقام حساس، استفاده کرد. اگرچه رقم لنجان عسکری از نظر حداکثر کارایی فتوسینتیم II رقمی حساس به شوری شناخته شد، ولی در مقایسه با نتایج تجزیه خوشه‌ای در شرایط تنش، رقمی متحمل به شوری بود. این مطلب بیانگر آن است که برای شناسایی یک رقم متحمل به تنش‌های محیطی، نباید به یک صفت اکتفا کرد و صفات فیزیولوژی بیشتری را در نظر گرفت. در مجموع، این تحقیق نشان داد که تنوع قابل ملاحظه‌ای بین ارقام برنج مورد مطالعه از نظر صفات مورد بررسی وجود داشت. با توجه به این که تحمل به تنش‌ها به صورت چندژنی کنترل می‌شود، دست‌ورزی و انتقال این ژن‌ها بسیار مشکل به نظر می‌رسد و تنها قسمتی از پاسخ‌های چندژنی در شرایط تنش قابل شناسایی است و باید از بررسی هم‌زمان پارامترهای زراعی و فیزیولوژی در مراحل مختلف رشد استفاده کرد.

از نتایج تجزیه مؤلفه‌های اصلی (جدول ۴) برای صفات بررسی شده در شرایط بدون تنش، تعداد ۲ مؤلفه اصلی معرفی شدند که در مجموع ۷۲/۱۳ درصد از تغییرات کل را توجیه می‌کرد. مؤلفه اول شامل شاخص‌های فلورسانس  $F_m$  و  $F_v$ ، بنام مؤلفه شاخص فلورسانس، بود که به تنهایی ۴۵/۳۵ درصد از کل تنوع را تبیین نمود. مؤلفه دوم، مؤلفه حداکثر کارایی فتوسینتیم II و عملکرد دانه بود که شامل  $F_v/F_m$  در جهت مثبت و عملکرد دانه در جهت منفی بود. در شرایط تنش نیز تعداد ۲ مؤلفه معرفی شدند که در مجموع ۷۰/۶۵ درصد از تغییرات کل تنوع را توجیه نمودند (جدول ۴). مؤلفه اول، مؤلفه شاخص‌های فلورسانس نام‌گذاری شد، که ۵۱/۴۱ درصد از کل تنوع را توجیه کرد. در شرایط تنش بیشترین تأثیر در مؤلفه اول متعلق به فلورسانس اولیه در جهت منفی و حداکثر فلورسانس قابل دسترس و حداکثر کارایی فتوسینتیم II در جهت مثبت بود. مؤلفه دوم در شرایط تنش، مؤلفه رنگیزه نام‌گذاری شد که به تنهایی ۱۹/۲۴ درصد از تغییرات را توجیه کرد. بیشترین اثر در مؤلفه دوم، مربوط به کلروفیل و در جهت منفی بود. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای در شرایط بدون تنش (شکل ۱) با فاصله مقیاس تغییر یافته تقریبی ۱۲، برش داده شده و سه گروه ژنوتیپی حاصل شد. خوشه اول شامل ارقام غریب و شهری لوداب و خوشه دوم شامل ارقام ۳۰۴، دولار، موسی طارم و حسن سرایی بودند. در خوشه سوم ارقام محلی یاسوج، کامفیروز، چمپای لوداب، لنجان عسکری و دمسیاه ممسنی قرار گرفتند.

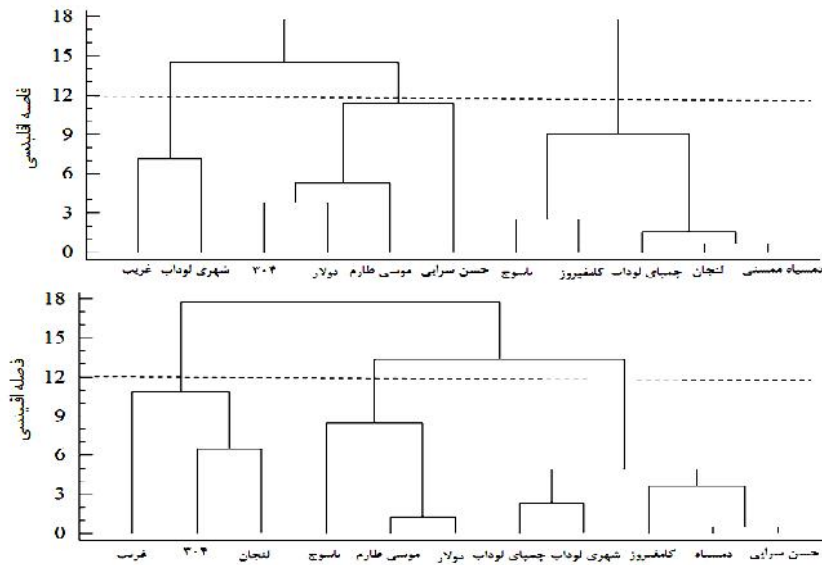
جدول ۴- ماتریس مؤلفه، واریانس نسبی و تجمعی صفات با مؤلفه اصلی در ارقام برنج در شرایط بدون تنش و تنش شوری  
Table 4. Component matrix, partial and cumulative variance of traits with principal component in rice cultivars under nonstress and salinity stress conditions

شرایط بدون تنش			شرایط تنش (۸۸ میلی‌مولار)		
مؤلفه		صفات	مؤلفه		صفات
اول	دوم		اول	دوم	
-۰/۳۳۵	-۰/۳۱۲	فلورسانس اولیه ( $F_0$ )	-۰/۳۳۵	-۰/۳۱۲	فلورسانس اولیه ( $F_0$ )
-۰/۵۴۳	۰/۰۰۶	فلورسانس حداکثر ( $F_m$ )	-۰/۵۴۳	۰/۰۰۶	فلورسانس حداکثر ( $F_m$ )
-۰/۵۲۸	۰/۰۷۳	فلورسانس متغیر ( $F_v$ )	-۰/۵۲۸	۰/۰۷۳	فلورسانس متغیر ( $F_v$ )
-۰/۲۴۱	۰/۵۸۴	حداکثر کارایی فتوسیمایی ( $(F_v)/F_m$ )	-۰/۲۴۱	۰/۵۸۴	حداکثر کارایی فتوسیمایی ( $(F_v)/F_m$ )
-۰/۳۹۶	۰/۰۰۷	کلروفیل	-۰/۳۹۶	۰/۰۰۷	کلروفیل
۰/۰۹۵	-۰/۵۸۴	عملکرد دانه	۰/۰۹۵	-۰/۵۸۴	عملکرد دانه
۲/۱۷	۱/۸۷	مقادیر ویژه	۲/۱۷	۱/۸۷	مقادیر ویژه
۴۵/۳۵	۲۶/۷۸	واریانس نسبی (%)	۴۵/۳۵	۲۶/۷۸	واریانس نسبی (%)
۴۵/۳۵	۷۲/۱۳	واریانس تجمعی (%)	۴۵/۳۵	۷۲/۱۳	واریانس تجمعی (%)

توجه به اهمیت تولید برنج و تأثیر تنش‌ها در کاهش عملکرد این محصول به نظر می‌رسد مطالعه اثر تنش‌ها، شناسایی سازوکارهای فیزیولوژی و شاخص‌های قابل انتخاب فعالیت ژن، با بهبود و توسعه روش‌های غربال برای شناسایی تغییرات ژنتیکی درگیر در افزایش تحمل به تنش، می‌تواند مورد استفاده قرار گیرند. با توجه به نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای در شرایط تنش، می‌توان از تلاقی رقم غریب، دارای شاخص کلروفیل و  $F_v/F_m$  بالا و زودرسی و متحمل در گروه‌بندی انجام شده در این تحقیق، با رقم حسن سرایی، از انواع برنج‌های مرغوب و دارای ارزش تجاری و پخت بالا و دارای

اگرچه نمی‌توان انتخاب، این صفات را جایگزین کاملی برای انتخاب بر اساس عملکرد تلقی کرد و نیاز به مطالعات بیشتری در این زمینه می‌باشد، ولی از آن جایی که محتوای کلروفیل و نسبت  $F_v/F_m$  دارای هم‌بستگی معنی‌داری با عملکرد دانه بودند، می‌توان از این صفات در انتخاب غیرمستقیم بهره جست. برخی از منابع همچنین به بالا بودن محتوای کلروفیل و نسبت  $F_v/F_m$  در ارقام متحمل به تنش اشاره کردند، که به نظر می‌رسد می‌توان به کمک روش‌های کلاسیک به‌زودی و تلاقی بین ارقام متحمل و حساس، این صفات را در ژنوتیپ‌های متحمل بهبود بخشید. همچنین با

طول دانه بلند و دیررس و حساس به شوری، در برنامه‌های اصلاحی و ایجاد ارقام مناسب و دارای کیفیت برای زمین‌های شور، استفاده نمود.



شکل ۱- دندروگرام حاصل از گروه‌بندی ارقام برنج براساس عملکرد دانه و شاخص‌های فلورسانس کلروفیل در شرایط عدم تنش (بالا) و در شرایط تنش (پایین) با استفاده از روش حداقل واریانس وارد

Figure 1. Dendrogram resulted from clustering rice cultivars based on grain yield and chlorophyll fluorescence indices under non stress (up) and salinity stress (down) conditions using ward's minimum variance meth

### تشکر و قدردانی

خانم‌ها، مهندس حکیمه کرمی و مهندس سمیه حاجی‌زاده صمیمانه سپاس‌گزاری می‌شود.

ضمن تشکر از دانشگاه یاسوج به پاس حمایت‌های مالی انجام شده برای اجرای این تحقیق، از کارشناسان محترم آزمایشگاه‌های ژنتیک و مرکزی دانشگاه یاسوج سرکار

### منابع

1. Akbar, M., I.E. Gunawarden and F.N. Ponnamperna. 1986. Breeding for soil stresses. Progress in rained lowland rice, IRRI, Philippines, 263-372.
2. Ashraf Jafari, A. and M. Zeyaie-Nasab. 2000. Genetic diversity of seed yield and morphological traits in populations of strawberry clover (*Trifolium fragiferum* L.) using principal component analysis and cluster analysis. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 12: 281-296.
3. Bagheri, N., N. Babaeyan-jalodar and A. Hassan-Netaj. 1999. Assessment of genetic diversity of rice in Iran reserves inheritance morphological traits. Iranian Journal of Agricultural Research, 6: 235-243 (In Persian).
4. Bhardway, R. and G. Singhal. 1981. Effect of water stress on photochemical activity of chloroplast during greening etiolated barley seeding. Plant Cell Physiology, 22:155-162.
5. Danesh-Gylvayi, M., Gh. Karimzadeh and M. Agha-Alikhani. 2011. Study of genetic diversity and principal components analysis for a number of morphological and phenological characteristics in some genotypes of Khellar (*Lathyrus sativus* L.). Iranian Journal of Field Crop Sciences, 42: 243-254 (In Persian).
6. Emam, Y. and M. Niknezhad. 1993. An introduction to the Physiology of Crop Yield. Shiraz University Publication, Shiraz, Iran, 571 pp (In Persian).
7. Farshadfar, E. 1998. Application of quantitative genetics in plant breeding. 1<sup>ST</sup> V. Razi University Press, TaghBostan, Kermanshah, Iran, 404 pp (In Persian).
8. Garg, A., K. Kim, J.K. Owens, T.G. Ranwala, A.P. Choi, Y.D. Kochian and R.J. Wu. 2002. Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses. Biological sciences, 99: 15898-15903.
9. Ghorbani, H.R., H.A. Samizadeh-Lahiji, B. Rabiei and M. Allahgholipour. 2010. Grouping of different rice genotypes using factor and cluster analysis. Journal of Agricultural and Sustainable Production, 21: 90-104 (In Persian).

10. Gramer, G.R. 2002. Response of abscisic acid mutant of Arabidopsis to salinity. *Functional Plant Biology*, 29: 561-567.
11. Guerta, C.Q. and G.J.D. Kirk. 2002. Tolerance of rice germplasm to salinity and other soil chemical stresses in tidal wetlands. *Science Direct*, 76: 111-121.
12. Heidari Sharifabad, H. 2001. *Plants and Salinity*. Research Institute of Forests and Rangelands Publications, Iran, 199 pp (In Persian).
13. Jalil dozhampoor, N.A., Asghar-zaheh, V. Gregorian, E. Majidi-Harvan. 2011. Evaluation of Salinity Tolerance in Some Interspecific Hybrids of Prunus. *Seed and Plant Journal*, 28: 339-351.
14. Kaffi, M., M. Lahooti, E. Zand, H.R. Sharifi and M. Goldani. 2006. *Plant Physiology*. 7<sup>th</sup> edn. Jahad-e-Daneshgahi Mashhad Publications, Mashhad, 190 pp (In Persian).
15. Kumar, V., V. Shiram, N. Jawali and M.G. Shitole. 2007. Differential response of indica rice genotypes to NaCl stress in relation to physiological and biochemical parameters. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 48: 339-344.
16. Lafitte H.R., A. Ismail and J. Bennett. 2004. Abiotic stress tolerance in rice for Asia: progress and the future. In 'New directions for a diverse planet: proceedings for the 4<sup>th</sup> International Crop Science Congress, 1-17 pp., Brisbane, Australia.
17. Lee, S.Y., J.H. Ahn, Y.S. Cha, D.W. Yun, M.C. Lee, J.C. Ko, K.S. Lee and M.Y. Fun. 2007. Mappings QTLs related to salinity tolerance of rice at the young seedling stage. *Plant Breeding*, 126: 43-46.
18. Ma, B.L., M.J. Morison and H.D. Videng. 1995. Leaf greenness and photosynthetic rates in soybean. *Crop Science*, 35: 1411-1414.
19. Mamnoie, A. and R. Sayyed Sharifi. 2010. Study of water deficit effect on chlorophyll fluorescence indices and prolin content in six barley genotypes and its relationship to canopy temperature and yield. *Journal of Plant Biology*, 2: 51-62.
20. Moffatt, J., M.R.G. Sears and G. Paulsen. 1990. Wheat height temperature tolerance during reproductive growth. I: Evaluation by chlorophyll fluorescence. *Crop Science*, 881-885.
21. Mokata, A.S. and S.S. Mehetre. 1998. Genetic divergence in rice, *Advances in Plant Sciences*, 11: 189-192.
22. Nematzadeh, Gh. and Gh. Keyani. 2004. *Plant breeding (Classical methods)*. Rice and Citrus Research Institute, Babolsar, 456 pp (In Persian).
23. Norozi, A. 2012. Study of Genetic Variation and effect of drought stress on yield and its component in tall fescue (*Festuca arundinacea* L.) Genotypes. M.Sc. Thesis in Plant Breeding. Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran, 126 pp (In Persian).
24. Pearson, K. 1901. On lines and planes of closest fit to system of pointes in space. *Philosophical Magazine*, 2: 559-572.
25. Ramzi, B. and F. Morales. 1994. Chlorophyll fluorescence screening in barley. *Plant Physiology*, 104: 667-673.
26. Rao, P.S., B. Mishra, S.R. Gupta and A. Rathore. 2008. Reproductive stage tolerance to salinity and alkalinity stresses in rice genotypes. *Plant Breeding*, 127: 256-261.
27. Tavassoli, F. 1996. A report of modern techniques for quantitative evaluation in Rice, IRRI. Edt. Institute of Iranian Research, 60 pp (In Persian).
28. Zarco-Tejada, P.J., J.R. Miller, G.H. Mohammad, T.L. Noland and P.H. Sampson. 2000. Chlorophyll fluorescence effects on vegetation apparent reflectance. *Remote Sensing of Environment*, 74: 596-608.

## Analysis of Salinity Effect on Chlorophyll Rate, Florescence Indices and Grain Yield of Some Rice Cultivars

**Ahmad Majidimehr<sup>1</sup> and Reza Amiri-Fahlani<sup>2</sup>**

1- M.Sc. Student and Associate Professor, Yasoj University

2- Assistant Professor, Yasoj University (Corresponding author: amiri720@yahoo.com)

Received: July 26, 2014

Accepted: January 31, 2015

### Abstract

Rice (*Oryza sativa* L.) is providing food of half of the world population, and in some regions salinity stress reduces yield of this plant. In order to develop planting of rice in regions with saline water or fields, chlorophyll rate, chlorophyll fluorescence indices and grain yield of some rice cultivars were evaluated in summer, 2012, at the farm of college of Agriculture, at Yasouj University. The experiment was performed in split plot in a randomized complete block design with three replications. Main plot included 4 levels of salinity, and the subplot included 11 rice cultivars. Results from the analysis of variance showed that the effect of salinity stress on chlorophyll fluorescence indices was non-significant but was highly significant ( $p < 0.01$ ) on chlorophyll rate and grain yield. Principal component analysis in stress and non-stress conditions, classified 6 primary variables of  $F_0$ ,  $F_m$ ,  $F_v$ ,  $F_v/F_m$ , chlorophyll rate and grain yield into 2 components in the way that in non-stress conditions, the first main component included  $F_m$  and  $F_v$  florescence indices in positive direction, and the second component included high efficiency photosystem II in positive and grain yield in negative direction. In stress condition, the maximum effect in the first component belonged to  $F_0$  in negative direction and  $F_m$  and  $F_v/F_m$  in positive direction, and the maximum effect in the second component related to chlorophyll in negative direction. Cluster analysis, classified rice cultivars into 3 groups based on the chlorophyll fluorescence rate and grain yield in stress and non-stress conditions. In stress conditions, Gharib and Lenjan-Askari cultivars were placed in tolerant cluster. Gharib cultivar with high chlorophyll and  $F_v/F_m$ , early maturity and salinity tolerance indices, could be used in cross to Mosa-Tarom, a sensitive, Sadri rice type, high cooking quality, long seeds and late maturity cultivar, in breeding programs to develop and provide the appropriate cultivars for saline soils.

**Keywords:** Cluster Analysis, Chlorophyll, Principal Components Analysis, Rice, Ward's Minimum Variance,