



## مقاله پژوهشی"

# اثر تنفس کادمیوم بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیک گیاهچه‌های برنج

## معصومه کنفی لسکوکالایه<sup>۱</sup>، نادعلی باقری<sup>۲</sup>، نادعلی باباییان جلودار<sup>۳</sup> و مهدی قاجار سپانلو<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی دکتری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری (nadalibagheri5@gmail.com)

۲- استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۴- دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۱۵

صفحه: ۱۱ تا ۲۱

### چکیده

کادمیوم یک آلاینده مهم از فلزات سنگین است که برای گیاهان و حیوانات بسیار سمی است. برنج یکی از انواع پر مصرف غلات در جهان است که به طور گسترده در رژیم غذایی مردم وجود دارد. به منظور بررسی میزان تحمل ژنتوتیپ‌های برنج به فلز کادمیوم، ۴۰ ژنتوتیپ برنج در شرایط هیدروپونیک در مرحله گیاهچه‌ای از نظر تحمل به میزان کادمیوم در سطوح مختلف تنی (شاهد، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار کادمیوم) و در یک آزمایش کرت‌های خرد شده در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل نشان داد که بین ژنتوتیپ‌ها و سطوح تنفس از نظر صفات ارزیابی شده تفاوت عنی‌داری وجود دارد. از لحاظ جذب کادمیوم ژنتوتیپ‌های میر طارم، سنگ طارم، F<sub>12</sub>L<sub>49.3</sub> KOSHIHIKARI دارای کمترین مقدار جذب کادمیوم بودند. در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر مبنای صفات ارزیابی شده به تنفس به ترتیب ۷۰/۶۴۱ و ۷۰/۳۵۱ و ۶۶/۳۰۵ درصد از تغییرات در سطوح شاهد، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار کادمیوم توسط مؤلفه‌های اول و دوم قابل توجیه بود. تجزیه خوش‌های نیز بر اساس صفات مورد مطالعه در سطوح شاهد، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار کادمیوم، ژنتوتیپ‌های مورد بررسی را به ترتیب در دو، پنج، سه و دو خوش‌گروه‌بندی نمود. در مجموع، بر طبق نمودار تحلیل بای‌پلات و تجزیه خوش‌های ژنتوتیپ‌های سنگ طارم، میر طارم، F<sub>12</sub>L<sub>49.3</sub> KOSHIHIKARI به عنوان ارقام متتحمل به کادمیوم و ژنتوتیپ‌های M<sub>30</sub> ARIAS HALUS Kinan Dang Patong تلاقی ارقام متتحمل و حساس می‌توان به منظور تولید جمعیت‌های در حال تفرق برای مطالعات ژنتیکی و مولکولی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: بای‌پلات، برنج، تجزیه کلاستر، کادمیوم، مؤلفه‌های اصلی

**آводگی محصولات کشاورزی به فلزات سنگین علاوه بر منشاء طبیعی به طور عمده در نتیجه فعالیت‌های انسانی از قبیل کشاورزی، استخراج معدن، ساخت و ساز، کودهای شیمیایی، آبیاری با فاضلاب، کاربرد لجن فاضلاب، کودهای دامی، کاربرد سموم، دفع آفات نباتی و فرآیندهای صنعتی است. آبیاری با فاضلاب خانگی و صنعتی و استفاده از کود فسفاته بهویژه سوپرفسفات تریپل از عوامل مهم تجمع کادمیوم در مزارع برنج می‌باشد (۴۲). در آسیا مصرف روزانه ۲۰ تا ۴۰ میکروگرم کادمیوم از برنج در مناطقی که برنج به عنوان غذای اصلی استفاده می‌شود، گزارش شده است. مصرف روزانه کادمیوم موجب پیامدهای بهداشتی جدی مانند کم خونی، فشار خون بالا، سرطان، نارسایی قلبی، انسداد عروق مغزی، آمفیزم، پروتئینوری، آسیب‌های جدی در ریه‌ها، اختلال عملکرد کلیه، تشکیل آب مروارید در چشم‌ها، و پوکی استخوان در انسان می‌گردد (۳۰). حد مجاز کادمیوم در محصولات کشاورزی به طور متوسط ۱۲ میلی‌گرم در کیلوگرم و در غلات دانه ریز ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اعلام شده است (۳۴). با توجه به مطالعات پیامون بررسی محتوای فلزات سنگین برنج در ایران (۱۳، ۲۳، ۳۰، ۳۱)، متوسط غلظت کادمیوم برنج خام در شمال ایران ۰/۳۴ میلی‌گرم در کیلوگرم از ۰/۲۵ تا ۰/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم گزارش شده است و این در حالی است که غلظت کادمیوم خاک به تدریج از ۳۳ به ۳۴ میلی‌گرم در کیلوگرم طی سال ۱۹۹۸ و ۱۹۹۹**

### مقدمه

برنج (*Oryza sativa* L.) از غلات اصلی مورد کشت در مناطق مختلف جهان، بهویژه در آسیا و ایران محسوب می‌شود. برنج در بیش از صد کشور با سطح زیر کشت حدود ۱۶۰ میلیون هکتار کشت می‌شود که مجموعاً تولید بیش از ۷۵۸/۹ میلیون تن (۵۰۳/۸ میلیون تن برنج سفید) را با ۰/۹ درصد افزایش نسبت به سال گذشته به خود اختصاص داده است (۹). مساحت زیر کشت برنج در کشور برابر ۵۹۶ هزار هکتار و تولید سالانه آن در حدود ۲/۹ میلیون تن می‌باشد (۱).

گیاهان زراعی همواره تحت تأثیر عوامل متنوع محیطی قرار دارند که موجب تغییر در میزان عناصر میکرو و ماکرو در آنها می‌گردد هرگونه تغییر در این عوامل آسیب رسان است و در نهایت منجر به تنفس در گیاه خواهد شد. تنفس‌ها ممکن است منشاء زیستی و یا غیر زیستی داشته باشند (۲۹). کادمیوم (Cd)، عنصری دارای سمتی بالا و مؤثر در سلامتی انسان است. کادمیوم به علت تحرک بالا و غلظت کم به راحتی از خاک وارد زنجیره غذایی می‌شود. بنابراین یکی از خط‌نماهای ترین فلزات سنگین در گیاهان محسوب می‌شود. این عنصر توسط ریشه گیاه جذب و در غلات، سیب‌زمینی، سبزیجات و میوه‌جات ذخیره می‌گردد. کادمیوم بر مسیرهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی متعددی در گیاه همچون فتوسترن، تنفس، سوخت و ساز نیتروژن، سوخت و ساز پروتئین و جذب مواد غذایی تأثیرگذار است (۴۰).

(۱۲). همچنین نعیمی و همکاران (۲۴) از بالاترین میزان رنگیزه‌های فتوستتری و محتوای پروولین گیاهی برای گزینش ژنوتیپ‌های متتحمل به خشکی در گندم دوروم استفاده نمودند. آزمایشی هیدروپونیک با استفاده از دو رقم برنج حساس و متتحمل به کادمیوم در سطوح تنشی ۵ و ۵۰ میکرومولار انجام شد. نتایج حاکی از کاهش وزن گیاه، میزان کلروفیل a، b و کاروتینوئید بود و ژنوتیپ حساس به کادمیوم بهشدت تحت تأثیر قرار گرفت (۷). ویجاوارنگان (۳۷) با بررسی بوته‌های برنج تحت تیمار با سطوح مختلف کادمیوم، پارامترهای مورفولوژیکی مانند طول ریشه و ساقه، سطح کل برگ و وزن خشک ریشه و ساقه گیاه برنج را در فاصله ۱۵ روز مورد اندازه‌گیری قرار دادند. تیمار کادمیوم در تمامی سطوح آزمایش، پارامترهای مختلف رشدی مانند عملکرد، طول ریشه و ساقه، سطح برگ و وزن خشک ریشه و ساقه و همچنین ترکیبات بیوشیمیایی (کلروفیل، کاروتینوئید، قندها، نشاء، اسید آمینه و محتوای پروتئین برگ) در گیاهان برنج را کاهش داد. اما محتوای پروولین در گیاهان برنج با افزایش سطح کادمیوم در خاک افزایش یافت (۳۷).

با توجه به آنچه در این مقدمه مورد اشاره قرار گرفت هدف از این مطالعه، بررسی واکنش ارقام مختلف برنج به تنش کادمیوم در شرایط هیدروپونیک و گزینش ژنوتیپ‌های متتحمل به کمک صفات مرتبط با تنش به کمک برخی پارامترهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی با استفاده از روش‌های چندمتغیره آماری می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

این بررسی در سال ۱۳۹۵-۹۶ در آزمایشگاه بیوتکنولوژی گروه اصلاح نباتات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام گرفت. در این آزمایش تعداد ۴۰ رقم برنج، شامل ارقام بومی، اصلاحی، لاین‌های اصلاحی، موتانت طارم محلی و لاین‌های خارجی معروفی شده از ایران به همراه دو رقم شاهد (KOSHIHKARI) و Matalleh قرار گرفت (۴۳). ابتدا بذر ارقام مورد آزمایش پس از ضدعفنونی سطحی با هیپوکلریت سدیم (۷/۷) ۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه، چندبار با آب مقطر شستشو شدند. بذرها در شرایط دمایی با شرایط دمایی ۲۴ درجه سانتی‌گراد برای روز و ۱۶ درجه سانتی‌گراد در شب و با ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی جوانه‌دار شده و پس از دو هفتگه گیاهچه‌ها به محیط کشت هیدروپونیک حاوی محلول یوشیدا منتقل شدند (۴۳). گیاهچه‌های برنج پس از دو هفتگه رشد در محیط هیدروپونیک، ۱۰ روز به ترتیب با صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار محلول  $\text{CdCl}_2$  تحت تیمار قرار گرفتند (۳۸،۴۱). آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده بر پایه طرح کاملاً تصادفی و با ۳ تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل سطوح تنش کادمیوم (صفرا، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار) به عنوان فاکتور اصلی و ژنوتیپ‌ها به عنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شدند. پس از به پایان رسیدن مدت تنش، نمونه‌گیری از ژنوتیپ‌های مختلف برنج به منظور بررسی‌های

افزایش یافته‌است (۱۸،۱۷). بر طبق مطالعات انجام شده غلظت فلز کادمیوم در آب آبیاری برنج طارم شهرستان قائم‌شهر، بیش از حد مجاز استاندار است (۳۲). رحیمی و چرخ‌آبی (۲۷) میانگین غلظت کادمیوم را در ریشه، ساقه و دانه برنج به ترتیب (۱/۱، ۱/۳ و ۱/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم) گزارش نمودند.

یکی از مهمترین راههای کاهش میزان کادمیوم در بافت‌های گیاهان زراعی، یافتن گونه‌هایی است که در صورت کشت در محیط‌های آلوده، مقدار کمتری کادمیوم را جذب و در اندام‌های خود ذخیره کنند. وجود تنوع ژنتیکی بین گونه‌ها و ارقام گیاهی از لحاظ تجمع کادمیوم امکان استفاده از روش‌های اصلاحی جهت انتخاب ژنوتیپ‌هایی با میزان پایین تجمع کادمیوم را میسر می‌سازد (۳۹). داشمندان با مطالعه مکانیسم‌های سمزدایی و ابانت کادمیوم در گیاه برنج دریافتند که ارقام مختلف برنج از لحاظ تجمع کادمیوم در بافت‌های مختلف گیاهی متفاوت هستند (۳۸،۴۱،۱۵،۷،۴).

کادمیوم همچنین با تعادل آب گیاه تعامل دارد. کادمیم به طور کلی تحمل تنش آبی گیاهان را کاهش می‌دهد و باعث کاهش فشار اسمزی در محتوای آب نسبی و پتانسیل آب برگ می‌شود. کادمیوم با کاهش رشد ریشه، تعادل آب گیاهان را کاهش می‌دهد و جذب آب را از طریق کاهش حجم آوندها کاهش می‌دهد (۸). تنش کادمیوم بر پارامترهای مختلف رشدی اعم از طول و وزن ریشه و ساقه گیاهان تحت شرایط تنشی اثرگذار است. گیاهان حساس به کادمیوم با محدودیت رشد، کلروز برگ و تغییر در فعالیت آنزیم‌های کلیدی مختلف مسیرهای متابولیک قابل شناسایی هستند. کاهش نرخ فتوستتر گیاهان در خاک آلوده به کادمیوم، منجر به کاهش رشد، کاهش میزان کلروفیل و آنزیم‌های درگیر در تثبیت  $\text{CO}_2$  می‌گردد (۳۸).

برای بررسی نحوه تغییرات رشدی گیاه برنج در شرایط تنش کادمیوم آزمایشی گلدنی در دو سطح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بر روی ارقام مختلف برنج طراحی شد. در این مطالعه ارقام از نظر صفات ارتفاع بوته، سطح برگ پرچم، وزن خشک ریشه و ساقه گیاهان تنفس کادمیوم نسبت به شاهد نشان دادند. همچنین افزایش سطوح کادمیوم خاک باعث کاهش ارتفاع بوته و وزن خشک ریشه گردید (۱۶). وانگ و همکاران (۳۸) نیز اثر تیمار کادمیوم را در شرایط هیدروپونیک بر کاهش طول ریشه و ساقه گیاهچه‌های برنج گزارش نمودند. در تحقیقی ژانگ و همکاران (۴۴) پاسخ گیاهچه‌های برنج به کادمیوم در شرایط تنشی ۱ و ۱۰۰ میکرومولار در محیط هیدروپونیک مورد بررسی قرار گرفت که بر اساس نتایج به دست آمده میزان تجمع کادمیوم در ریشه و ساقه گیاهچه‌های برنج تحت تیمار به طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود. ضمناً در هر دو تیمار کادمیوم محتوای کلروفیل گیاهچه‌ها کاهش یافت (۴۴).

کاهش ترکیبات بیوشیمی مانند کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتینوئید، پروتئین، کربوهیدرات و پروولین موجود در گیاهچه‌های جو تحت تأثیر تنش کادمیوم گزارش شده است

آزمون یکنواختی واریانس‌ها و تجزیه واریانس به کمک نرمافزار SAS 9.2 (۲۸) انجام شد. برای تجزیه کلاستر و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی از نرمافزار SPSS 21 (۳۵) استفاده شد و نمایش گرافیکی داده‌ها در پلات دوطرفه نیز توسط نرمافزار GGEbiplot ترسیم گردید.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین ژنتیک‌های برنج و سطوح مختلف تنش در این آزمایش از نظر صفات مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۱ وجود دارد. اثر متقابل ژنتیک در تنش نیز در کلیه صفات معنی‌دار بود که نشان‌دهنده تأثیر متقابل ژنتیک و اعمال کادمیوم روی کلیه صفات ارزیابی شده در این آزمایش می‌باشد (جدول ۲).

شكل ۱ روند کادمیوم جذبی را در شرایط مختلف تنشی در ژنتیک‌های برنج مورد بررسی نشان می‌دهد. لازم به ذکر است که میانگین ژنتیک‌ها از نظر صفت جذب کادمیوم در کلیه سطوح تنشی معنی‌دار بوده است. در ۱۰۰ میکرومولار تنش، ژنتیک‌های F<sub>12</sub>L<sub>49-3</sub>, KOSHIHIKARI, F<sub>12</sub>L<sub>49-3</sub> به ترتیب، با ۷۰/۹/۷۷، ۸۸۲/۸۹۵، ۸۸۱/۰۵۳ و ۲۲۹R میکرومولار، ژنتیک‌های ۷۳۵ Gasmal، سنگ طارم، میکرومولار، ژنتیک‌های ۱۴۰۷ KOSHIHIKARI و F<sub>12</sub>L<sub>49-3</sub> به ترتیب، با ۱۵۰/۰۴۲۵، ۱۵۰/۸/۳۲۵، ۱۵۰/۸/۴۲۵ و ۱۶۰/۵ میکرومولار جذب، کمترین مقدار جذب کادمیوم را به خود اختصاص دادند. در سطح تنشی ۲۰۰ میکرومولار ژنتیک‌های میرطارم، F<sub>12</sub>L<sub>49-3</sub>, بینام و سنگ طارم به ترتیب، با ۱۷۴۵/۰۵۳، ۱۷۴۹/۰۵۳، ۱۸۱۴/۳۱۶ و ۱۹۰/۷/۳۶۸ میکرومولار جذب کادمیوم را دارا بودند. در سطح ۳۰۰ جذب، حداقل جذب کادمیوم را دارا بودند. در گونه‌های مختلف گیاهی و نیز در واریته‌های مختلف در یک گونه بسیار تکله‌ای و دارای سیستم ریشه‌ای سطحی و افشا نهاده همچون گندم و جو قادر به جذب مقادیر بیشتری از این عنصر نسبت به گیاهان دارای سیستم ریشه‌ای راست ماند گلنگ می‌باشدند (۲۱).

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی براساس ۱۶ صفت مورد ارزیابی در هر چهار سطح آزمایشی انجام شد. بهنگام تجزیه به مؤلفه‌های اصلی اغلب این امید وجود دارد که واریانس‌های بسیاری از مؤلفه‌ها به اندازه‌ای کوچک باشند که بتوان از آن‌ها چشم‌پوشی کرد. در این حالت، تغییرات در مجموعه‌ی داده‌ها می‌تواند به حد کافی توسط تعداد کمی از متغیرهای برخوردار از واریانس‌های قابل توجه توضیح داده شوند (۲۲). نتایج حاکی از تشکیل ۴ مؤلفه اصلی در هر چهار سطح آزمایشی صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار می‌باشد که حجم بالایی از تغییرات توسط دو مؤلفه اول توجیه گردید (جدول ۳) و اکثر صفات دارای ضرایب مشتبی بودند. لازم به ذکر است گروه‌بندی ژنتیک‌ها بر اساس عکس تجمع کادمیوم در بافت گیاهی صورت گرفت.

مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی انجام شد. در طول دوره رشد صفاتی از قبیل وزن تر ساقه (SFW)<sup>۱</sup>، وزن خشک ساقه (SDW)<sup>۲</sup>، وزن تر ریشه (RW)<sup>۳</sup> و وزن خشک ریشه (RDW)<sup>۴</sup> با استفاده از ترازو با دقت یک دهزارم اندازه‌گیری شد. قبل از اندازه‌گیری وزن خشک، ریشه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد چهت خشک شدن قرار گرفتند.

تعداد ریشه (RN)<sup>۵</sup> شمارش و طول ساقه (SL)<sup>۶</sup> و طول ریشه (RL)<sup>۷</sup> با استفاده از خطکش میلی‌متری اندازه‌گیری شد. حجم ریشه (RV)<sup>۸</sup> با قرار دادن ریشه‌ها در یک استوانه مدرج با حجم مشخص و اختلاف حجم آب قبل و بعد از قرار دادن ریشه اندازه‌گیری شد. سطح ریشه (AR)<sup>۹</sup> نیز از فرمول زیر به دست آمد (۳).

$$\text{سطح ریشه} = \frac{\text{طول ریشه} \times \pi \times \text{طول ساقه}}{\text{ارتفاع اطلاعات وزن تر ریشه}} \quad (۱)$$

ریشه صفات قطر ریشه (RD)<sup>۱۰</sup>، چگالی سطح ریشه (RSD)<sup>۱۱</sup> (۱۱) اندازه‌گیری شدند.

$$\text{قطار ریشه} = \frac{\text{طول ریشه} \times \pi}{\text{ارتفاع اطلاعات وزن تر ریشه}} \quad (۲)$$

میزان جذب نوری (A) =  $\frac{\text{طول ریشه} \times \text{قطار ریشه} \times \pi}{\text{ارتفاع اطلاعات وزن تر ریشه}} \times ۱۰۰$

بر حسب میلی‌گرم در یک گرم وزن تر محاسبه گردید.

$$A = \frac{(\text{طول ریشه} \times \text{قطار ریشه} \times \pi) \times ۱۰۰}{\text{ارتفاع اطلاعات وزن تر ریشه}} \quad (۳)$$

میزان جذب نوری (A) =  $\frac{\text{طول ریشه} \times \text{قطار ریشه} \times \pi}{\text{ارتفاع اطلاعات وزن تر ریشه}} \times ۱۰۰$

W: وزن نمونه

تحتای پرولین (PR)<sup>۱۶</sup> نمونه‌ها نیز بهروش بتس و همکاران (۶) مورد اندازه‌گیری و سنجش قرار گرفت. برای اندازه‌گیری پرولین ابتدا ۰/۵ گرم ماده تر گیاهی را با ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳٪ اسید سولفوسالیلیک خرد کرده سپس ۲ مخلوط همگن را از کاغذ صافی عبور می‌دهیم. مقدار ۲ میلی‌لیتر از عصاره به دست آمده را با ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک خالص و ۲ میلی‌لیتر معرف نینهیدرین در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار می‌دهیم. در ادامه پس از قرار دادن نمونه‌ها در حمام بخ به هر نمونه مقدار ۴ میلی‌لیتر تولوئن افزوده و پس از هم زدن با شیکر و تشکیل دوفار، از فاز صورتی رنگ بالایی برای قرائت در طول موج ۵۲۰ نانومتر به کمک دستگاه اسپکتروفوتومتر استفاده گردید.

1- Shoot fresh weight	2- Shoot dark weight	3- Root fresh weight	4- Root dark weight	5- Root number
6- Shoot length	7- Root length	8- Root volume	9- Root area	10- Root diameter
11- Root surface area density	12- Atomic absorption spectrophotometer		13- Chlorophyll a	14- Chlorophyll b
15- Carotenoid				
16- Proline				

مؤلفه اول داشتند. همچنین در مؤلفه دوم طول ریشه بیشترین تأثیر را داشت و در نهایت در سطح تنشی ۳۰۰ میکرومولار صفات وزن تر ساقه و ریشه حداکثر تأثیر را در مؤلفه اول داشتند. گزارش شده که اعمال فلز کادمیوم موجب کاهش رنگیزهای گیاهی چون کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتینوئید و کاهش وزن گیاه می‌گردد(۷).

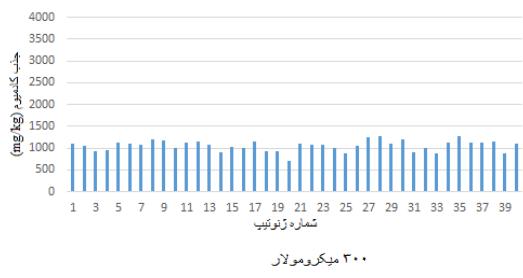
در سطح شاهد صفات چگالی سطح ریشه، کلروفیل a و وزن تر ساقه بزرگترین ضرایب مشت را در مؤلفه اول به خود اختصاص دادند و در مؤلفه دوم نیز صفت طول ریشه بزرگترین ضریب مشت را داشت. در سطح ۱۰۰ میکرومولار صفات وزن تر و خشک ساقه و سطح ریشه دارای اهمیت بیشتری بودند. در شرایط تنشی ۲۰۰ میکرومولار صفات وزن تر ساقه، کلروفیل a و کلروفیل b بیشترین ضرایب مشت را در جدول ۱- اسامی و منشا ژنتیپ‌های برنج مورد مطالعه در این آزمایش

Table 1. Names and source of rice genotypes studied in this experiment

منشاء	شماره	منشاء	شماره	منشاء	شماره	منشاء	شماره	منشاء	شماره
موتابات طارم محلی	M <sub>25</sub>	لاین اصلاحی	F <sub>12</sub> L <sub>117</sub>	سیگ جو	۱۱	طارم محلی	۱	بوسی	
موتابات طارم محلی	M <sub>31</sub>	لاین اصلاحی	F <sub>12</sub> L <sub>20</sub>	دانش	۱۲	طارم هاشمی	۲	بوسی	
IRRI معرفی از IRRI	229R	لاین اصلاحی	F <sub>12</sub> L <sub>1</sub>	اصلاحی	۱۳	دم زرد	۳	بوسی	
IRRI معرفی از IRRI	IR24	لاین اصلاحی	F <sub>12</sub> L <sub>111</sub>	شیرودی	۱۴	چماملو	۴	بوسی	
IRRI معرفی از IRRI	Gasmal 735	لاین اصلاحی	F <sub>12</sub> L <sub>96</sub>	اصلاحی	۱۵	سنگ طارم	۵	بوسی	
IRRI معرفی از IRRI	Kinan Dang Patong	لاین اصلاحی	F <sub>12</sub> L <sub>5</sub>	خر	۱۶	سردبستان	۶	بوسی	
IRRI معرفی از IRRI	IET1444	لاین اصلاحی	F <sub>12</sub> L <sub>39</sub>	اصلاحی	۱۷	زرک	۷	بوسی	
IRRI معرفی از IRRI	ARIAS HALUS	موتابات طارم محلی	M <sub>26</sub>	لاین اصلاحی	۱۸	بینام	۸	بوسی	
IRRI شاهد متحمل	KOSHIHKARI	موتابات طارم محلی	M <sub>33</sub>	لاین اصلاحی	۱۹	غريب ریحانی	۹	بوسی	
IRRI شاهد حساس	PEH-KUH-TSAO-TU	موتابات طارم محلی	M <sub>30</sub>	لاین اصلاحی	۲۰	میرطارم	۱۰	بوسی	

۱۰۰ میکرومولار

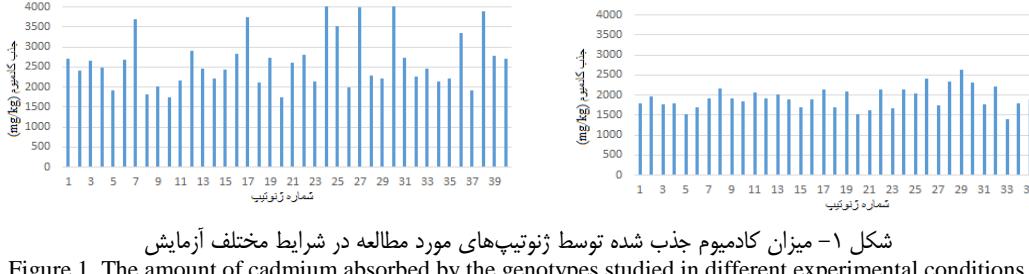
شاهد



۱۰۰ میکرومولار



۲۰۰ میکرومولار



شکل ۱- میزان کادمیوم جذب شده توسط ژنتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط مختلف آزمایش

Figure 1. The amount of cadmium absorbed by the genotypes studied in different experimental conditions

در شکل ۲ بای‌پلات ژنتیپ‌ها و صفات ارزیابی شده در آن‌ها نمایش داده شده است. بای‌پلات روش مفیدی جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات بوده و ارزیابی‌های ساختار یک ماتریس بزرگ دو طرفه را ممکن می‌سازد (۱۱). در این شکل ۲ بای‌پلات صفات از طریق بردار با مبدأ بای‌پلات در ارتباط هستند. این شکل بای‌پلات بهترین راه برای نمایش گرافیکی روابط متقابل میان صفات می‌باشد. در این شیوه‌ی عکس‌برداری، کسینوس زاویه بین دو صفت، برآورده از ضریب همبستگی بین صفات را نشان می‌دهد. بدین ترتیب که هر چه زاویه کمتر باشد، همبستگی مشت و بالاتری بین دو صفت وجود داشته و در زاویه حدود ۹۰ درجه عدم وجود رابطه بین دو صفت مشاهده می‌شود. همچنین زاویه‌ی بارزتر از ۹۰ درجه، همبستگی بالای منفی بین دو صفت را در بای‌پلات نشان خواهد داد (۱۰).

گزارش‌ها حاکی از کاهش طول ریشه و ساقه، وزن خشک و تر ریشه و ساقه در شرایط اعمال کادمیوم بر گیاه برنج می‌باشد. فلز کادمیوم با تأثیر بر فشار اسمزی مانع جذب صحیح مواد غذایی توسط گیاه شده موجب کند شدن رشد گیاه می‌گردد. نتایج یافته‌های ویچایرانگان (۳۷) با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. در مجموع با توجه به اینکه مؤلفه اول بیشترین میزان تغییرات بین داده‌ها را توجیه می‌نماید، از صفاتی که در این مؤلفه بزرگترین ضرایب را دارند می‌توان برای انتخاب رقم‌های متحمل به فلز کادمیوم استفاده کرد.

نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نشان داد که در سطح شاهد، از ۱۰۰ درصد کل واریانس، در مجموع ۷۰/۱۶ توسط دو مؤلفه اول توجیه می‌شوند. این عدد در سطوح تنشی ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار به ترتیب برابر با ۷۰/۳۵۱، ۷۲/۶۴۱ و ۶۶/۳۰۵ درصد می‌باشد.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه

Table 2. Analysis of variance of Measured traits in studied genotypes

کادمیوم	پرولین	کارونتوئید	کلروفیل b	کلروفیل a	میانگین مربوطات										منابع تغیر ازادی	درجه در	
					چگالی سطح ریشه	سطح ریشه	قطر ریشه	حجم ریشه	تعداد ریشه	طول ساقه‌چه	طول ریشه	وزن خشک ساقه	وزن تر ساقه	وزن خشک ریشه	وزن تر ریشه		
۱۵۶۸۲۸۸۶۳	./.....۰۳۹**	۱۸/۳۲۳**	۷/۸۹۹**	۲۰/۵۱**	۲۹/۹۴**	./۰۱۰**	۶۱۶/۱۷**	۶۱۶/۱۷**	۳۴۰/۷/۲۱**	۱۱۳۷۶/۲۸**	۲۶۸/۱۵**	./۷۰۳**	۱۴/۸۱۱**	./۰۱۴**	./۰۳۱**	۳	
۸/۸**	./.....۱۳**	./۰۳۱**	./۱۰**	./۰۲۹**	۴/۹۸**	./۰۰۰۵**	۸/۴۵**	۸/۴۵**	۱۱/۱۱**	۱۰۰/۲۱**	۱۶/۸۷**	./۰۰۵**	./۱۵۸**	./۰۰۰۳**	./۰۰۰۹ns	۸	
۵۷۴۱۳۳/۹**	./.....۱۹**	./۶۹۷**	./۳۶۴**	./۶۹۹**	۵/۴۵**	./۰۰۴۳**	۲۹۰**	۲۹۰**	۴۵۸/۷۵**	۴۲۵/۲۳**	۱۳/۷۵**	./۰۰۹**	۰/۱۶۰**	./۰۰۰۴**	./۰۱۸**	۳۹	
۴۰۶۰۷۷/۱**	./.....۱۱**	./۲۷۶**	./۱۸۳**	./۲۳۱**	۳/۲۷**	./۰۰۱۷**	۲/۰۹**	۲/۰۹**	۱۹۹/۳۸**	۱۵۸/۳۹**	۹/۸۵**	./۰۰۵**	۰/۱۲۶**	./۰۰۰۳**	./۰۰۰۹**	۱۱۷	
./.....۰۶۲	./.....۰۱	./۰۰۲۱	./۰۰۰۵	./۰۰۰۳	./۰۰۴۵	./۰۰۰۴	./۰۶۹	۸/۵۰	۳/۴۲	۱/۶۸	۰/۲۲	./۰۰۰۱	./۰۰۰۲	./۰۰۰۰۲	./۰۰۰۰۲	۳۱۲	
ضریب تغییرات (%)																	
./۰۰۵۶	./۵۲۲	۸/۸۱	۷/۹۴	۹/۶۷	۵/۴۳	۵/۰۳	۸/۵۰	./۰۶۹	۷/۰۶	۳/۹۹	۴/۹۸	۱۱/۴۹	۱۲/۹۹	۱۲/۷۶	۱۰/۷۵		

\*\*\*، \*\* و ns: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال یکدرصد، پنجدرصد و غیرمعنی دار

جدول ۳- بردارهای ویژه، مقادیر ویژه و واریانس تجمعی دو مؤلفه اصلی اول بر اساس صفات اندازه‌گیری شده در شرایط شاهد، ۱۰۰ میکرومولار، ۲۰۰ میکرومولار و ۳۰۰ میکرومولار

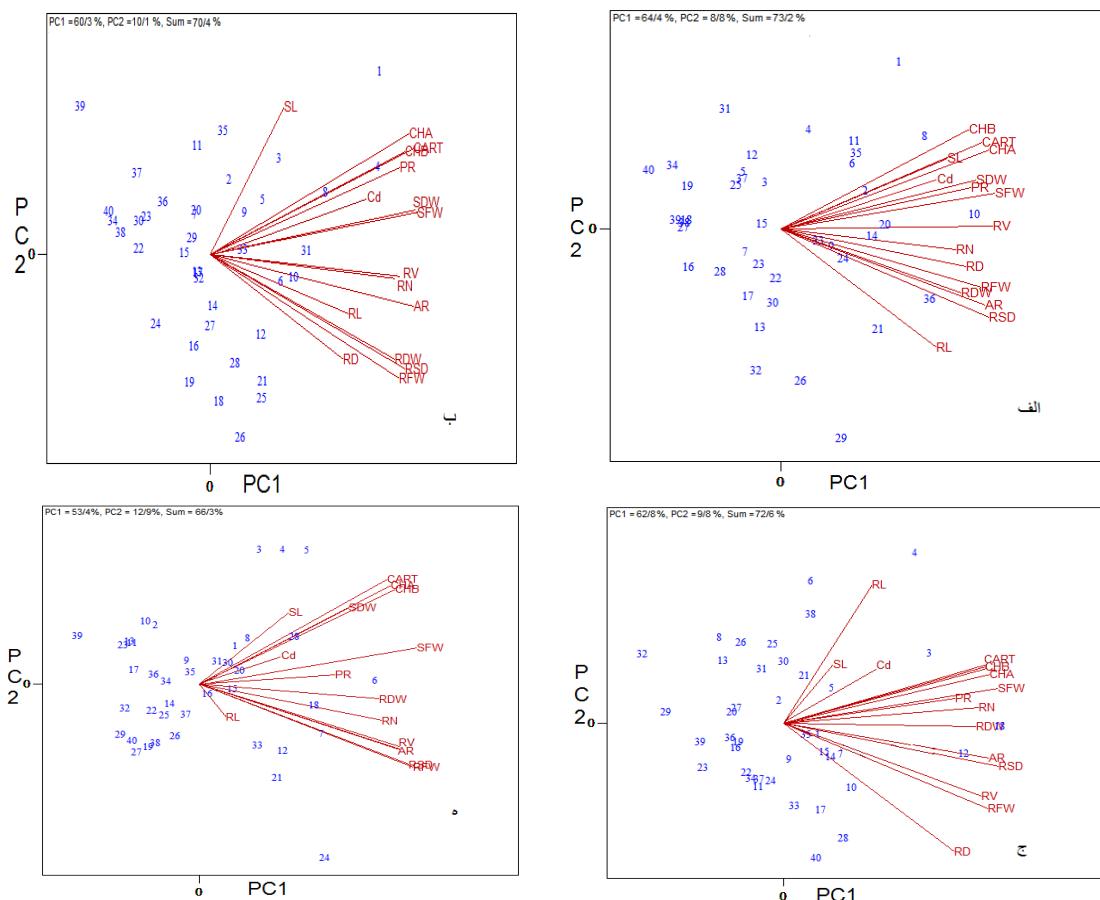
Table 3. Eigenvectors, eigenvalue and Cumulative Variance of two main components based on the measured traits in the control, 100  $\mu\text{m}$ , 200  $\mu\text{m}$  and 300  $\mu\text{m}$

بردارهای ویژه در سطح میکرومولار	بردارهای ویژه در سطح ۲۰۰ $\mu\text{m}$		بردارهای ویژه در سطح ۱۰۰ $\mu\text{m}$		بردارهای ویژه در سطح شاهد		
	میکرومولار	میکرومولار	میکرومولار	میکرومولار	میکرومولار	میکرومولار	
مُؤلفه دوم	مُؤلفه اول	مُؤلفه دوم	مُؤلفه اول	مُؤلفه دوم	مُؤلفه اول	مُؤلفه دوم	
-۰/۳۸۷	-۰/۸۹۶	-۰/۶۰۹	-۰/۸۸۷	-۰/۴۳۵	-۰/۸۲۵	-۰/۲۰۷	
۰/۰۰۷	-۰/۷۵۵	-۰/۰۱۸	-۰/۸۳۶	-۰/۲۶۲	-۰/۸۰۶	-۰/۳۹	
۰/۱۹۴	-۰/۹۱۳	-۰/۱۵۹	-۰/۹۳۴	-۰/۱۴۳	-۰/۹۱۲	-۰/۱۳۷	
۰/۴۱۹	-۰/۶۲۸	-۰/۲۶۵	-۰/۸۸۹	-۰/۱۴۵	-۰/۹۷	-۰/۱۷۲	
-۰/۱۴۶	-۰/۱۱۲	-۰/۶۰	-۰/۳۸۶	-۰/۲۰۶	-۰/۶۰۲	-۰/۵۸۵	
-۰/۲۹۵	-۰/۳۷۴	-۰/۲۶۴	-۰/۲۱۷	-۰/۵۲۴	-۰/۳۲۰	-۰/۴۹۵	
-۰/۱۲۷	-۰/۷۶۴	-۰/۰۶۹	-۰/۸۴۸	-۰/۰۷۴	-۰/۸۴۱	-۰/۰۷۱	
-۰/۳۵۲	-۰/۸۴۹	-۰/۳۴۹	-۰/۸۶۲	-۰/۱۰۰	-۰/۸۱۴	-۰/۰۰۳	
-۰/۳۰۲	-۰/۸۴۷	-۰/۶۱۹	-۰/۷۴۴	-۰/۳۷۱	-۰/۵۸۱	-۰/۰۸۹	
-۰/۳۴۶	-۰/۸۵۶	-۰/۱۶۵	-۰/۸۹۴	-۰/۱۸۵	-۰/۸۹۱	-۰/۳۸۰	
-۰/۳۶۷	-۰/۸۷۸	-۰/۲۱۱	-۰/۹۳۷	-۰/۴۰۱	-۰/۸۵۲	-۰/۳۸۰	
۰/۴۴۲	-۰/۸۰۳	-۰/۲۲۶	-۰/۸۹۸	-۰/۴۱۵	-۰/۸۷۱	-۰/۳۳۶	
-۰/۳۷۶	-۰/۸۲۱	-۰/۲۵۷	-۰/۸۹۷	-۰/۳۵۶	-۰/۸۵۲	-۰/۴۴۸	
-۰/۴۶۹	-۰/۷۹۰	-۰/۲۷۱	-۰/۸۸۵	-۰/۳۷۳	-۰/۸۸۹	-۰/۳۶۱	
-۰/۰۷۶	-۰/۵۶۹	-۰/۱۲۱	-۰/۷۴۶	-۰/۳۰۸	-۰/۸۲۶	-۰/۱۸۲	
-۰/۱۳۵	-۰/۰۰۱	-۰/۱۳۱	-۰/۲۵۳	-۰/۲۲۴	-۰/۱۷۰	-۰/۰۵	
۲/۰۶۰	۰/۵۴۹	۱/۵۷۱	۱۰/۰۵۲	۱/۶۰۹	۹/۶۴۷	۱/۴۰۴	
۶۶/۳۰۵	۵۳/۴۳۰	۷۲/۶۴۱	۶۲/۸۲۳	۷۰/۱۵۱	۶/۰۹۵	۷۰/۱۶۰	
مقدار ویژه		واریانس تجمعی (%)		۶۴/۳۸۷		(%)	

توسط ریشه و در نتیجه مهار در تشکیل کلروپلاست (۲۳) و یا مداخله فلزات سنگین با متabolیسم رنگدانه‌ها (۲۶) باشد. صفات وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه و چگالی سطح ریشه همبستگی بالایی را در سطح شاهد و تنش ۱۰۰ میکرومولار کادمیوم نشان دادند اما در دو سطح ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار کادمیوم وزن تر ساقه ارتباط کمتری با دو صفت مذکور نشان داد. همچنین دو صفت طول ریشه و قطر ریشه در سطح شاهد و ۱۰۰ میکرومولار دارای همبستگی مثبت و در دو سطح بعدی تنش یعنی ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار همبستگی منفی با یکدیگر نشان دادند. ریشه‌ها به دلیل حفظ و تجمع مستقیم کادمیوم در خود بیشتر تحت تأثیر تنش کادمیوم قرار می‌گیرد و این امر موجب کاهش وزن بیشتر ریشه نسبت به ساقه می‌گردد (۱۴). به خوبی تایید شده است که غلظت بالایی کادمیوم می‌تواند به ریوس ریشه آسیب برساند، جذب مواد مغذی را کاهش و سنتر کلروفیل را مهار کند و نیز فتوستنترا را متوقف و در نتیجه مانع رشد گیاه گردد. سیستم‌های ریشه به ویژه به تنش فلزات سنگین حساس هستند، به طوری که پارامترهای ریشه گیاه می‌توانند به عنوان شاخص‌های مهم مورد استفاده قرار گیرد. در پاسخ به سمیت کادمیوم ریشه‌ها همچنین می‌توانند از طریق تغییرات در سطح، حجم، قطر و سایر پارامترهای مورفولوژیکی پاسخ دهند (۲۰).

مطابق با شکل ۲ نمودار بای‌پلات ژنتیپ × صفت برای ۴۰ ژنتیپ و ۱۶ صفت ارزیابی شده در آن‌ها در حالت رشدی و بر اساس دوم مؤلفه اصلی حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی ترسیم گردید. نقش متوسط توجیه تنوع موجود بین ارقام مورد آزمون توسط این دو مؤلفه چه در حالت بدون تنش و چه در حالت‌های سه‌گانه تنش، نمایان گر پیچیدگی عوامل توجیه‌کننده‌ی تنوع داده‌ها می‌باشد.

حجم وسیعی از تنوع توسط دو مؤلفه اول توجیه گردید. سه‌هم هر مؤلفه در توجیه تنوع موجود بین ژنتیپ‌ها در شکل ۲ نمایش داده شده است. بر اساس نتایج نمایش بای‌پلات ژنتیپ × صفت مؤلفه‌های اول و دوم در سطح شاهد بین همگی صفات به غیر از کلروفیل b و طول ریشه همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده شده است. در شرایط سه‌گانه تنش کادمیوم نیز صفات همبستگی بالایی با یکدیگر نشان دادند. به طور کلی در کلیه شرایط همبستگی بالایی بین صفات رنگدانه‌ای مشاهده شد تغییرات مشابه در محتوای کادمیوم توسط تیمار با فلزات مختلف گزارش شده است (۳۷). کادمیوم برای گیاه بسیار سمی است. کادمیوم در کلروفیل‌ها جایگزین منیزیوم شده و منجر به تخریب کلروفیل می‌گردد. کاهش میزان کلروفیل و کاروتونوئید توسط کادمیوم احتمالاً نشان‌دهنده نقش مهارکننده فلزات سنگین در مرحله پروتوكلروفیل و یا آنزیم پروتوكلروفیل ردوکتاز بر کلروفیل (۳۸) است. این کاهش ممکن است به دلیل کاهش جذب یونی



شکل ۲- نمایش بای‌پلات ژنوتیپ × صفت بر اساس مؤلفه‌های اول و دوم به ترتیب در سطح شاهد (الف)، ۱۰۰ میکرومولار  $\text{CdCl}_2$  (ب)، ۲۰۰ میکرومولار  $\text{CdCl}_2$  (ج) و ۳۰۰ میکرومولار  $\text{CdCl}_2$  (د)

Figure 2. The genotyp  $\times$  trait biplot representation based on the first and second components, respectively, at the control level, 100  $\mu\text{m}$ , 200  $\mu\text{m}$  and 300  $\mu\text{m}$   $\text{CdCl}_2$

شده در گروه‌های مجزا طبقه‌بندی نمود. تعیین محل خط برش به کمک آماره ویلکس لامبدا انجام شد (شکل ۲). در حالات‌های مختلف برش دندروگرام گروه‌بندی انجام شد که بهترتیب در حالات مختلف آزمایش، در حالت برشی منجر به ایجاد ۲، ۳، ۵ و ۲ گروه (برای صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ بیشترین مقدار F ۵۰/۹۹۰، ۳۲/۵۳۵، ۷۲/۱۱۱ و ۱۱۳/۶۸۸) بهدست آمد.

به عبارت دیگر در این حالت اختلافات بین گروه‌ها به طور معنی‌داری بیشتر از اختلافات درون گروه‌ها بوده و گروه‌بندی صحیح‌تری انجام شده است.

با خوشبندی ارقام آن‌ها را به گروه‌های متجانس تقسیم کرده به طوری که مشاهدات هر گروه، بیشترین شباهت و مشاهدات گروه‌های مختلف، کمترین شباهت را با یکدیگر داشته باشند. نتیج گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها از طریق تجزیه خوشه‌ای با نتایج بهدست آمده در مراحل قبلی مطابقت داشت (شکل ۳). بهترین گروه‌بندی داده‌ها در سطح ۲۰۰ میکرومولار ترسیم گردید. گروه اول از نظر صفات گیاهچه‌ای و جذب کمتر کادمیوم در بهترین سطح و گروه دوم در سطح

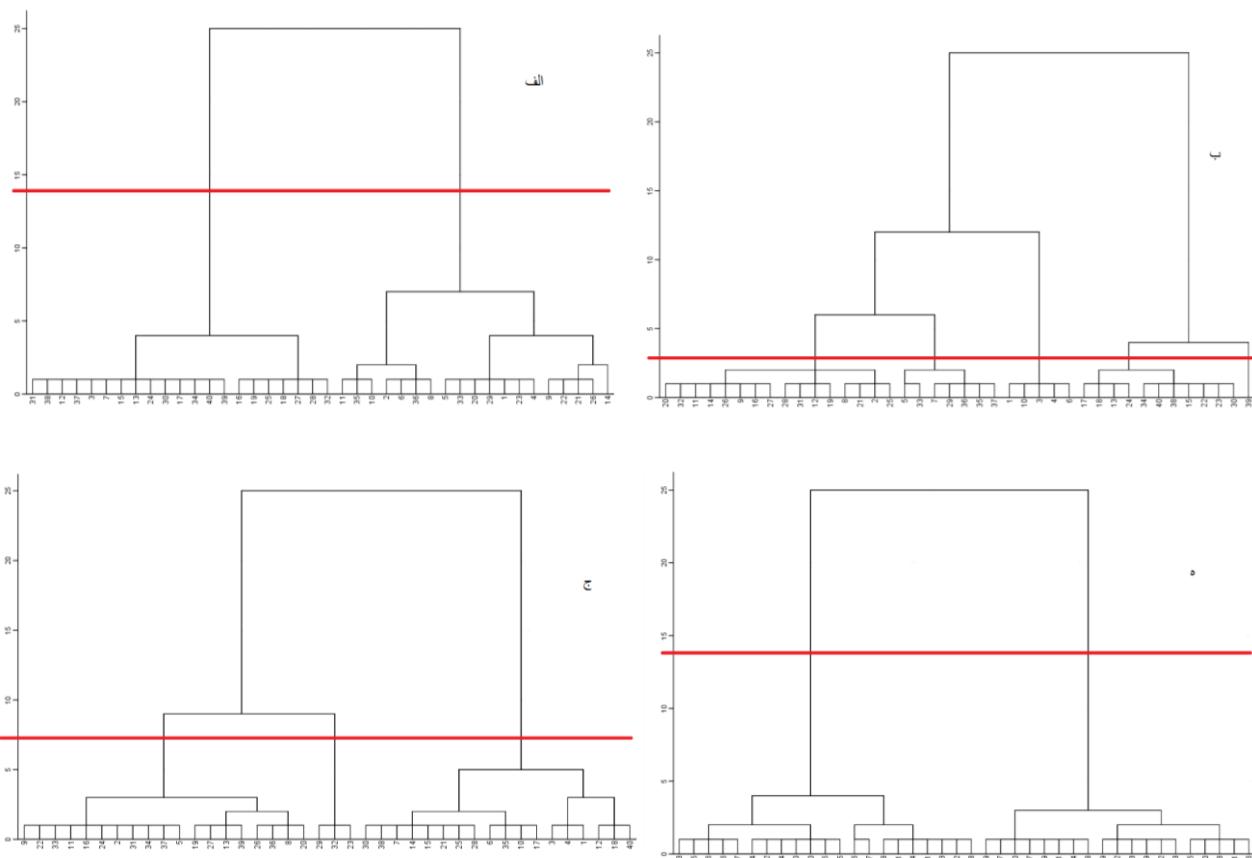
از آنجاکه مقدار کمتر جذب کادمیوم مدنظر است لذا ارتباط صفات دیگر با تجمع کمتر کادمیوم در گیاه در ترسیم بای‌پلات مورد استفاده قرار گرفت. بین جذب کمتر کادمیوم و اکثر صفات ارتباط مثبت مشاهده شد که نشان‌دهنده کارآیی صفات ارزیابی شده در گریش ژنوتیپ‌های متحمل به تنش کادمیوم می‌باشد. از آنجاکه ژنوتیپ‌های مجاور هر صفت بیان گر ارتباط آن ژنوتیپ و صفت مذکور می‌باشند، در سطح ۱۰۰ میکرومولار تنش ژنوتیپ‌های ۲۲۹R، ۲۲۹L<sub>117</sub>، ۷۳۵ و غریب ریحانی، چم‌املو و سنگ طارم و M<sub>25</sub> در نزدیکی صفت جذب کمتر کادمیوم قرار گرفتند.

همچنین نتایج مشابهی در سطح تنشی ۲۰۰ میکرومولار مشاهده گردید به طوری که ژنوتیپ‌های سنگ طارم، ۷۳۵ و F<sub>12</sub>L<sub>117</sub> در Gasmal ۷۳۵ در ۲۰۰ میکرومولار و ژنوتیپ F<sub>12</sub>L<sub>49-3</sub> در مجاورت صفت جذب کمتر کادمیوم نمایش داده شدند. با توجه به سطح بالای تنش ۳۰۰ میکرومولار، به نظر می‌رسد ژنوتیپ‌ها از نظر جذب کادمیوم به خوبی تفکیک نشده‌اند (شکل ۲).

تجزیه خوشه‌ای در شرایط شاهد، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار  $\text{CdCl}_2$ ، ژنوتیپ‌ها را براساس کلیه صفات ارزیابی

کیفی، آنها را به کمک تجزیه خوشبای مبتنی بر روش حداقل واریانس وارد در سه گروه اصلی قرار دادند. در مجموع با توجه به نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیه خوشبای، ژنتیپ‌های سنگ طارم، میر طارم، F<sub>12</sub>L<sub>49.3</sub> و KOSHIHKARI به عنوان ارقام متحمل به کادمیوم و ژنتیپ‌های M30، ARIAS HALUS، M30، Kinan Dang Patong به عنوان ارقام حساس و دارای جذب بالای کادمیوم شناسایی شدند. از آنجاکه اصلاح ژنتیکی گیاهان و یا استفاده از ارقامی که نسبت به جذب کادمیوم کارا نیستند، از اهداف مهم اصلاحی در جهت مبارزه با آلودگی به کادمیوم محسوب می‌گردد؛ لذا می‌توان از ارقام موجود به منظور جذب کادمیوم بررسی‌های مولکولی، ارزیابی مارکرهای مرتبط با حداقل جذب کادمیوم در بافت گیاهی و بیان ژن‌های بزرگ اثر مؤثر در تحمل گیاه به تنش کادمیوم، در جهت اهداف اصلاحی بعدی بهره جست.

متوسط قرار گرفت. گروه سوم نیز از نظر صفات گروه‌بندی در سطحی نامطلوب مشاهده گردید. با انجام تجزیه‌ای خوشبای می‌توان فاصله‌ی ژنتیکی بین ارقام را محاسبه و با انجام تلاقی بین ارقام موجود در گروه‌های دورتر و با فاصله‌ی ژنتیکی بیشتر والدین مناسبتری را به منظور شرکت در برنامه‌های اصلاحی انتخاب و در نتیجه در زمان و هزینه صرفه‌جویی نمود. با توجه به نتایج حاصله ژنتیپ‌هایی از نظر خصوصیات گیاهچه‌ای و جذب کادمیوم متحمل تر از سایر ژنتیپ‌ها ارزیابی می‌شوند. با توجه به شکل ۳، تجزیه خوشبای نیز بر اساس صفات مورد مطالعه در سطوح شاهد، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار کادمیوم، ژنتیپ‌های مورد بررسی را به ترتیب در دو، پنج، سه و دو خوش گروه‌بندی نمود. احمدی شاد و همکاران (۲) در تحقیقی با بررسی ارقام برنج از نظر صفات مختلف کمی و



شکل ۳- نمودار درختی حاصل از تجزیه‌ای خوشبای به روش Ward با مجدد فاصله‌ی اقلیدوسی برای ۴۰ ژنتیپ برنج بر اساس صفات ارزیابی شده در سطح شاهد (الف)، ۱۰۰ میکرومولا (ب)، ۲۰۰ میکرومولا (ج) و ۳۰۰ میکرومولا (د)

Figure 3. dandrogram derived from Ward cluster analysis with squared Euclidean distance for 40 rice genotypes based on the evaluated traits at the control level, 100  $\mu\text{m}$ , 200  $\mu\text{m}$  and 300  $\mu\text{m}$   $\text{CdCl}_2$

## منابع

1. Agricultural Statistics. 2016. Ministry of Agriculture. Jahad, Assistant Planning and Economic Center for Information and Communication Technology, 125 pp (In Persian).
2. Ahmadi Shad, M.A., A.A. Ebadi, M.M. Sohani, H. Samizadah Lahiji and M. Hosseini Chaleshtori. 2018. The Assessment of Genetic Variation of Rice (*Oryza Sativa L.*) Recombinant Lines Based On Some of Quantitative and Qualitative Traits. Journal of Crop Breeding, 10(26): 166-172 (In Persian).
3. Alizadeh, A. 2006. Soil, water-plant relationship. Astane of Ghodse of Razavi Publication, 472 pp (In Persian).
4. Arao, T. and N. Ae. 2003. Genotypic variations in cadmium levels of rice grain. Soil science and plant nutrition, 49(4): 473-479.
5. Arnon, D.I. 1949. Copper enzyme in isolated chlroplasts; polyphenol-oxidase in Beta vulgaris. Plant Physiology, 24: 1-15.
6. Bates, L., R. Waldren and I. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and soil, 39: 205-207.
7. Cai, Y., L. Lin, W. Cheng, G. Zhang and F. Wu. 2010. Genotypic dependent effect of exogenous glutathione on Cd-induced changes in cadmium and mineral uptake and accumulation in rice seedlings (*Oryza sativa*). Plant Soil Environ, 56(11): 524-533.
8. El-Beltagi, H.S. and H.I. Mohamed. 2013. Alleviation of cadmium toxicity in *Pisum sativum L.* seedlings by calcium chloride. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 41(1): 157-168.
9. FAO. 2017. FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA).
10. Fernandez, G.C.J. 1992. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance, Proceedings of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and other Food Crops to Temperature and Water Stress. AVRDC, Shanhua, Taiwan, 257-270.
11. Gabriel, K.R. 1971. The biplot graphic display of matrices with application to principal component analysis. Biometrika, 58(3): 453-467.
12. Gubrelay, U., R.K. Agnihotri, G. Singh, R. Kaur and R. Sharma. 2013. Effect of heavy metal Cd on some physiological and biochemical parameters of Barley (*Hordeum vulgare L.*). International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 5(22): 2743-2751.
13. Hajabbasi, M.A. 2001. Tillage effects on soil compactness and wheat root morphology. Journal of Agricultural Science and Technology, 3: 67-77 (In Persian).
14. Hassan, M.J., M. Shafi, G. Zhang, Z. Zhu and M. Qaisar. 2008. The growth and some physiological responses of rice to Cd toxicity as affected by nitrogen form. Plant growth regulation, 54(2): 125-132.
15. Hedayatifar, R., A. Falahi and M. Birjandi. 2011. Determination of cadmium and lead levels in high consumed rice (*Oryza Sativa L.*) cultivated in Lorestan province and its comparison with national standards. Journal of Lorestan University of medical sciences, 4:15-22 (In Persian).
16. Herath, H., D. Bandara, P. Weerasinghe, M. Iqbal and H. Wijayawardhana. 2015. Effect of cadmium on growth parameters and plant accumulation in different rice (*Oryza sativa L.*) varieties in Sri Lanka. Tropical Agricultural Research, 25(4): 532-542.
17. Khani, M. and M. Malekoti. 2000a. Survey of cadmium changes in soils and rice of rice fields in north of Iran. Journal of soil and water conservation, 12: 19-26.
18. Khani, M. and M. Malekoti. 2000b. Survey of relation between cadmium and phosphorus in rice field soils in the north of Iran. Journal of soil and water conservation, 12: 12-18.
19. Lesko, K. and L. Simon-Sarkadi. 2002. Effect of cadmium stress on amino acid and polyamine content of wheat seedlings. Periodica Polytechnica Chemical Engineering, 46(1-2): 65-71.
20. Li, S., F. Wang, M. Ru and W. Ni. 2014. Cadmium Tolerance and Accumulation of Elsholtzia argyi Originating from a Zinc/Lead Mining Site-A Hydroponics Experiment. International journal of phytoremediation, 16(12): 1257-1267.
21. Li, Y. R., L. Chaney and A. A. Schneiter. 1994. Effect of soil chloride level on cadmium concentration in sunflower kernels. Plant Soil, 167: 275-284.
22. Moghaddam, M and H. Amiri Noghan. 2010. Biometrical methods in quantitative genetic analysis. 3<sup>rd</sup> edn. Parivar, Tabriz, Iran, 415 pp (In Persian).
23. Naguib, M.L., A.A. Hamed and S.A. Al-Wakeel. 1986. Effect of cadmium on growth criteria of some crop plants. Egyptian Journal of Botany, 25: 1-12.
24. Naeemi, T., L. Fahmideh and B.A. Fakheri. 2018. The Impact of Drought Stress on Antioxidant Enzymes Activities, Containing of Proline and Carbohydrate in Some Genotypes of Durum Wheat (*Triticum turgidu L.*) at Seedling Stage. Journal of Crop Breeding, 10(26): 22-31 (In Persian).
25. Pirzadeh, M., M. Afyuni and A.H. Khoshgoftaranesh. 2012. Status of zinc and cadmium in paddy soils and rice in Isfahan, Fars and Khuzestan Provinces and their effect on food security. JWSS-Isfahan University of Technology, 16(60): 81-93 (In Persian).

26. Prasad, D.K. and A.R.K. Prasad. 1987. Effect of lead and mercury on chlorophyll synthesis in mung bean seedlings. *Phytochemistry*, 26: 881-883.
27. Rahimi, G. and A. Charkhabi. 2014. Assessment of Some Heavy Metals in Paddy Soils and their Accumulation in the Organs of Rice in the Lenjan Area of Isfahan Province. *Water and Soil Science*, 24(2): 107-120 (In Persian).
28. SAS Institute Inc. 2009. SAS/STAT® 9.2 User's Guide, Second Edition, Cary, NC: SAS Institute Inc.<http://support.sas.com/documentation/cdl/en/statug/63033/PDF/default/statug.pdf>.
29. Schenk, M.K. and S.A. Barber. 1979. Root Characteristics of Corn Genotypes as Related to P Uptake 1. *Agronomy Journal*, 71(6): 921-924.
30. Sebastian, A. and M.N.V. Prasad. 2014. Cadmium minimization in rice .A review. *Agronomy for sustainable development*, 34(1): 155-173.
31. Sharma, P., A. Kumar and R. Bhardwaj. 2016. Plant steroidal hormone epibrassinolide regulate-Heavy metal stress tolerance in *Oryza sativa* L. by modulating antioxidant defense expression. *Environmental and experimental botany*, 122: 1-9.
32. Shokrzadeh, M. and M.A. Rokni. 2013. Lead, cadmium, and chromium concentrations in irrigation supply of/and tarom rice in central cities of Mazandaran Province-Iran. *Journal of Mazandaran university of medical sciences*, 23(98): 234-242 (In Persian).
33. Shokrzadeh, M., M. Paran-Davaji and F. Shaki. 2014. Study of the amount of Pb, Cd and Cr in imported Indian Rice to Iran and Tarom rice produced in the province of Golestan. *Journal of Mazandaran University of medical sciences*, 23(109): 115-123 (In Persian).
34. Solhi, M., M.J. Malakouti and S. Samavat. 2005. Distribution and safe concentrations of heavy metals in the life cycle (soils, water, plant, animal and human). *Soil and Water Research Institute, Technical Bulletin Tehran: sana publication*, 470 pp (In Persian).
35. SPSS, I. 2012. IBM SPSS Statistics 21 Core System User's. Guide. [www.sussex.ac.uk/.../pdfs/SPSS\\_Core\\_System\\_Users\\_University of Sussex, USA](http://www.sussex.ac.uk/.../pdfs/SPSS_Core_System_Users_University of Sussex, USA).
36. Stobart, A.K., W.T. Griffiths, I. Ameen-Bukhari and R.P. Sherwood. 1985. The effect of Cd<sup>2+</sup> on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley. *Physiologia Plantarum*, 63: 293-298.
37. Vijayarengan, P. 2012. Changes in growth and biochemical constituents in rice (*Oryza sativa* L.) under cadmium stress. *International Journal of Research in Botany*, 2(4): 27-33.
38. Wang, F., M. Wang, Z. Liu, Y. Shi, T. Han, Y. Ye, N. Gong, J. Sun and C. Zhu. 2015. Different responses of low grain-Cd-accumulating and high grain-Cd-accumulating rice cultivars to Cd stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 96: 261-269.
39. Wong, S., X. Li, G. Zhang, S. Qi and Y. Min. 2002. Heavy metals in agricultural soils of the Pearl River Delta, South China. *Environmental Pollution*, 119(1): 33-44.
40. Wu, Q., N. Su, J. Cai, Z. Shen and J. Cui. 2015. Hydrogen-rich water enhances cadmium tolerance in Chinese cabbage by reducing cadmium uptake and increasing antioxidant capacities. *Journal of plant physiology*, 175: 174-182.
41. Xie, P.P., J.W. Deng, H.M. Zhang, Y.H. Ma, D.J. Cao, R.X. Ma, R.J. Liu, C. Liu and Y.G. Liang. 2015. Effects of cadmium on bioaccumulation and biochemical stress response in rice (*Oryza sativa* L.). *Ecotoxicology and environmental safety*, 122: 392-398.
42. Yap, D., J. Adezrian, J. Khairiah, B. Ismail and R. Ahmad-Mahir. 2009. The uptake of heavy metals by paddy plants (*Oryza sativa*) in Kota Marudu, Sabah, Malaysia. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 6(1): 16-19.
43. Yoshida, S. 1981. Fundamentals of rice crop science: International Rice Research Institute, Los Banos, Laguna, Philippines, 269 pp.
44. Zhong, M., S. Li, F. Huang, J. Qiu, J. Zhang, Z. Sheng, S. Tang, X. Wei and P. Hu. 2017. The Phosphoproteomic Response of Rice Seedlings to Cadmium Stress. *International journal of molecular sciences*, 18(10): 1-17.

## **Effect of Cadmium Stress on Morphophysiological Traits of Rice Seedlings**

**Masoumeh Kanafi Lesko Kelayeh<sup>1</sup>, Nadali Bagheri<sup>2</sup>, Nadali Babaian Jelodar<sup>3</sup> and Mehdi Ghajar Sepanlou<sup>4</sup>**

1- Ph.D. Student, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

2- Associate Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

(Corresponding author: nadalibagheri5@gmail.com)

3- Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

4- Associate Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

Received: May 28, 2018

Accepted: January 5, 2019

### **Abstract**

Cadmium is an important pollutant of heavy metals, which is very toxic to plants and animals. Rice is the most popular food among Iranians and the presence of heavy metals in trace level in rice has received special attention because they are directly related to health. In order to evaluate the tolerance of rice genotypes to cadmium, 40 rice genotypes under hydroponic conditions were used for seedling tolerance and absorption of cadmium in different levels of stress (control, 100, 200 and 300  $\mu\text{M}$  cadmium) and in a split plot experiment in a completely randomized design template was examined. The results showed a significant difference between genotypes. In terms of cadmium adsorption, genotypes of Mirtarom, Sangtarom,  $F_{12}L_{49.3}$  '229R and KOSHIHIKARI had the lowest cadmium adsorption. Principal components analysis based on the traits evaluated for cadmium show 70.160, 70.357, 72.641 and 66.305 percent of the changes by the first and second components, respectively, at the control levels of 100, 200 and 300 micromolar of cadmium. Cluster analysis based on the studied traits at control, 100, 200 and 300 micromolar of cadmium classified the genotypes in two, five, three and two clusters, respectively. In sum, genotypes of Sangtarom, Mirtarom,  $F_{12}L_{49.3}$ , 229R and KOSHIHIKARI as genotypes tolerant to cadmium and genotypes of  $M_{30}$ , ARIAS HALUS and Kinan Dang Patong as genotypes classified as Noncompliant were determined according to biplot analysis and cluster analysis. The generations obtained from crossing between tolerant and susceptible cultivars could be used as segregating population in genetic and molecular studies.

**Keywords:** Biplot, Cadmium, Cluster analysis, Principal components, Rice