



"مقاله پژوهشی"

اثر تنش کادمیوم بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیک گیاهچه‌های برنج

معصومه کنفی لسکوکلایه^۱، نادعلی باقری^۲، نادعلی باباییان جلودار^۳ و مهدی قاجار سپانلو^۴

۱- دانشجوی دکتری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۲- استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری (نویسنده مسوول: nadalibagheri5@gmail.com)

۳- استاد، 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 به‌طور گسترده در رژیم غذایی مردم وجود دارد. به‌منظور بررسی میزان تحمل ژنوتیپ‌های برنج به فلز کادمیوم، ۴۰ ژنوتیپ برنج در شرایط هیدروپونیک در مرحله گیاهچه‌ای از نظر تحمل به میزان کادمیوم در سطوح مختلف تنش (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 ژنوتیپ‌ها و سطوح تنش از نظر صفات ارزیابی شده تفاوت معنی‌داری وجود دارد. از لحاظ جذب کادمیوم ژنوتیپ‌های میر طارم، سنگ طارم، $F_{12L49-3}$ و 229R و KOSHIHAKARI دارای کمترین مقدار جذب کادمیوم بودند. در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر مبنای صفات ارزیابی شده به تنش به ترتیب ۷۰/۱۶۰، ۷۰/۳۵۱، ۷۲/۶۴۱ 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، ژنوتیپ‌های مورد بررسی را به‌ترتیب در دو، پنج، سه و دو خوشه گروه‌بندی نمود. در مجموع، بر طبق نمودار تحلیل بای‌پلات و تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های سنگ طارم، میر طارم، $F_{12L49-3}$ و 229R و KOSHIHAKARI به‌عنوان ارقام متحمل به کادمیوم و ژنوتیپ‌های M_{30} ، ARIAS HALUS و Kinan Dang Patong به‌عنوان ارقام حساس و دارای جذب بالای کادمیوم تعیین شدند. از نسل‌های حاصل از تلاقی ارقام متحمل و حساس می‌توان به‌منظور تولید جمعیت‌های در حال تفرق برای مطالعات ژنتیکی و مولکولی استفاده نمود.

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

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 به‌خود 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 تنش در گیاه خواهد شد. تنش‌ها ممکن است منشأ زیستی و یا غیر زیستی داشته باشند (۲۹). کادمیوم (Cd)، عنصری دارای سمیت بالا و مؤثر در سلامتی انسان است. کادمیوم به‌علت تحرک بالا و غلظت کم به‌راحتی از خاک وارد زنجیره غذایی می‌شود. بنابراین یکی از خطرناک‌ترین 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 فتوسنتز، تنفس، سوخت و ساز نیتروژن، سوخت و ساز پروتئین و جذب مواد غذایی تأثیرگذار است (۴۰).

آلودگی محصولات کشاورزی به فلزات سنگین علاوه بر منشأ طبیعی به‌طور 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 فرآورده‌های 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 به‌عنوان غذای اصلی استفاده می‌شود، گزارش شده است. مصرف روزانه کادمیوم موجب پیامدهای بهداشتی جدی مانند کم‌خونی، 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 به‌طور متوسط ۰/۱۲ میلی‌گرم در کیلوگرم و در غلات دانه ریز ۰/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم اعلام شده است (۳۴). با توجه به مطالعات پیرامون بررسی محتوای فلزات سنگین برنج در ایران (۱۳، ۲۳، ۳۰، ۳۱)، متوسط غلظت کادمیوم برنج خام در شمال ایران ۰/۳۴ میلی‌گرم در کیلوگرم (۲۵) تا ۰/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم گزارش شده است و این در حالی‌است که غلظت کادمیوم خاک به‌تدریج از ۳۳ به ۳۴ میلی‌گرم در کیلوگرم طی سال ۱۹۹۸ و ۱۹۹۹

افزایش یافته‌است (۱۸،۱۷). بر طبق مطالعات انجام شده غلظت فلز کادمیوم در آب آبیاری برنج طارم شهرستان قائم‌شهر، بیش از حد مجاز استاندارد است (۳۲). ریحیمی و چرخ‌آبی (۲۷) میانگین غلظت کادمیوم را در ریشه، ساقه و دانه برنج به ترتیب (۱/۶، ۱/۱ 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). دانشمندان با مطالعه مکانیسم‌های سم‌زدایی و انباشت کادمیوم در گیاه برنج دریافتند که ارقام مختلف برنج از لحاظ تجمع کادمیوم در بافت‌های مختلف گیاهی متفاوت هستند (۳۸،۱۵،۷،۴).

کادمیوم همچنین با تعادل آب گیاه تعامل دارد. کادمیم به‌طور 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 فتوسنتز گیاهان در خاک آلوده به کادمیوم، منجر به کاهش رشد، کاهش میزان کلروفیل و آنزیم‌های درگیر در تثبیت CO_2 می‌گردد (۳۸).

برای بررسی نحوه تغییرات رشدی گیاه برنج در شرایط تنش کادمیوم آزمایشی گلدانی 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 تجمع کادمیوم تفاوت معنی‌داری 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 ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار در محیط هیدروپونیک مورد بررسی قرار گرفت که بر اساس نتایج به‌دست آمده میزان تجمع کادمیوم در ریشه و ساقه گیاهچه‌های تحت تیمار به‌طور 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، کاروتنوئید، پروتئین، کربوهیدرات و پرولین موجود در گیاهچه‌های جو تحت تأثیر تنش کادمیوم گزارش شده‌است

(۱۲). همچنین نعیمی و همکاران (۲۴) از بالاترین میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و محتوای پرولین گیاهی برای گزینش ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی در گندم دوروم استفاده نمودند. آزمایشی هیدروپونیک با استفاده از دو رقم برنج حساس و متحمل به کادمیوم در سطوح تنشی ۵ و ۵۰ میکرومولار انجام شد. نتایج حاکی از کاهش وزن گیاه، میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئید بود و ژنوتیپ حساس به کادمیوم به‌شدت تحت تأثیر قرار گرفت (۷). ویجایارنگان (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، کاروتنوئید، قندها، نشاسته، اسید آمینه و محتوای پروتئین برگ) در گیاهان برنج را کاهش داد. اما محتوای پرولین 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 متحمل 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 ۹۶-۱۳۹۵ 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 معرفی شده از ایری به‌همراه دو رقم شاهد (KOSHIHIKARI و PEH-KUH-TSAO-TU) مورد مطالعه قرار گرفت (۴۳). ابتدا بذور ارقام مورد آزمایش پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم (۵٪) در 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 هفته گیاهچه‌ها به محیط کشت هیدروپونیک حاوی محلول یوشیدا منتقل شدند (۴۳). گیاهچه‌های برنج پس از دو هفته رشد در محیط هیدروپونیک، ۱۰ روز به‌ترتیب با صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار $CdCl_2$ تحت تیمار قرار گرفتند (۳۸،۴۱). آزمایش به‌صورت کرت‌های خرد شده بر پایه طرح کاملاً تصادفی و با ۳ تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل سطوح تنش کادمیوم (صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار) به‌عنوان فاکتور اصلی و ژنوتیپ‌ها به‌عنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شدند. پس از به پایان رسیدن مدت تنش، نمونه‌گیری از ژنوتیپ‌های مختلف برنج به‌منظور بررسی‌های

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

شکل ۱ روند کادمیوم جذبی را در شرایط مختلف تنشی در ژنوتیپ‌های برنج مورد بررسی نشان می‌دهد. لازم به ذکر است که میانگین ژنوتیپ‌ها از نظر صفت جذب کادمیوم در کلیه سطوح تنشی معنی‌دار بوده است. در ۱۰۰ میکرومولار تنش، ژنوتیپ‌های $F_{12}L_{49-3}$ ، KOSHIHIKARI، $F_{12}L_{96-3}$ ، 229R به ترتیب، با ۷۰۹/۷۳۷، ۸۸۱/۰۵۳، ۸۸۲/۸۹۵ و ۸۸۶/۳۱۶ میلی‌گرم در کیلوگرم جذب، کمترین مقدار جذب کادمیوم را به خود اختصاص دادند. در سطح تنشی ۲۰۰ میکرومولار، ژنوتیپ‌های Gasmal 735، سنگ طارم، $F_{12}L_{49-3}$ و KOSHIHIKARI به ترتیب، با ۱۴۰۷، ۱۵۰۸/۳۲۵، ۱۵۱۰/۴۲۵ و ۱۶۰۶/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جذب، حداقل جذب کادمیوم را دارا بودند. در سطح ۳۰۰ میکرومولار نیز ژنوتیپ‌های میرطارم، $F_{12}L_{49-3}$ ، بینام و سنگ طارم به ترتیب، با ۱۷۴۵/۲۶۳، ۱۷۴۹/۰۵۳، ۱۸۱۴/۳۱۶ و ۱۹۰۷/۳۶۸ میلی‌گرم در کیلوگرم جذب، دارای کمترین مقدار جذب کادمیوم بودند. جذب کادمیم می‌تواند در گونه‌های مختلف گیاهی و نیز در وارته‌های مختلف در یک گونه بسیار متفاوت و حتی گاهی متناقض باشد. به‌طورکلی گیاهان تک‌لپه‌ای و دارای سیستم ریشه‌ای سطحی و افشان همچون گندم و جو قادر به جذب مقادیر بیشتری از این عنصر نسبت به گیاهان دارای سیستم ریشه‌ای راست مانند گلرنگ می‌باشند (۲۱).

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی براساس ۱۶ صفت مورد ارزیابی در هر چهار سطح آزمایشی انجام شد. به‌هنگام 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 مثبتی بودند. لازم به ذکر است گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها 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)^۱، وزن خشک ساقه (SDW)^۲، وزن تر ریشه (RFW)^۳ و وزن خشک ریشه (RDW)^۴ با استفاده از ترازو با دقت یک ده‌هزارم اندازه‌گیری شد. قبل از اندازه‌گیری وزن خشک، ریشه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد جهت خشک شدن قرار گرفتند.

تعداد ریشه (RN)^۵، شمارش و طول ساقه (SL)^۶ و طول ریشه (RL)^۷ با استفاده از خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد. حجم ریشه (RV)^۸ 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)^۹ نیز از فرمول زیر به دست آمد (۳).

$$\text{حجم ریشه} \times \pi \times \text{طول ریشه} = \text{سطح ریشه}$$

با داشتن اطلاعات وزن تر ریشه، حجم ریشه و طول ریشه صفات قطر ریشه (RD)^{۱۰}، چگالی سطح ریشه (RSD)^{۱۱} (۱۱) اندازه‌گیری شدند.

$$\left\{ \frac{\text{طول ریشه} \times \pi}{\text{وزن تر ریشه} \times 4} \right\} = \text{قطر ریشه}$$

(طول ریشه $\times$ قطر ریشه $\times \pi$) = چگالی سطح ریشه
همچنین محتوای کادمیوم گیاه (Cd) با استفاده از دستگاه جذب اتمی (AAS)^{۱۲} مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. در ادامه میزان کلروفیل a (ChA)^{۱۳}، کلروفیل b (ChB)^{۱۴}، کاروتنوئید (Cart)^{۱۵} به روش آرنون (۵) اندازه‌گیری شد. مقدار ۰/۵ گرم از ماده تر گیاهی را با استون ۸۰٪ در هاون چینی کاملاً ساییده و پس از صاف کردن و سانتریفیوژ با استون ۸۰٪ به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسید. در نهایت جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a، ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئیدها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد و با استفاده از فرمول‌های زیر میزان کلروفیل برحسب میلی‌گرم در یک گرم وزن تر محاسبه گردید.

$$a = \frac{(12.7 A_{663} - 2.69 A_{645}) \times V}{1000 \times W}$$

$$b = \frac{(22.9 A_{645} - 4.68 A_{663}) \times V}{1000 \times W}$$

$$\frac{22.7}{100} (A_{470}) - 3.27 (\text{mg chl. a}) - 10.4 (\text{mg chl. b}) = \text{کلروتوئید}$$

A: میزان جذب نوری

V: حجم عصاره

W: وزن نمونه

محتوای پرولین (PR)^{۱۶} نمونه‌ها نیز به روش 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 سولفوسالسیلیک خرد کرده سپس 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 یخ به هر نمونه مقدار ۴ میلی‌لیتر تولوئن افزوده و پس از هم زدن با شیکر و تشکیل دو فاز، از فاز صورتی رنگ بالایی برای قرائت در طول موج ۵۲۰ نانومتر به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر 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				

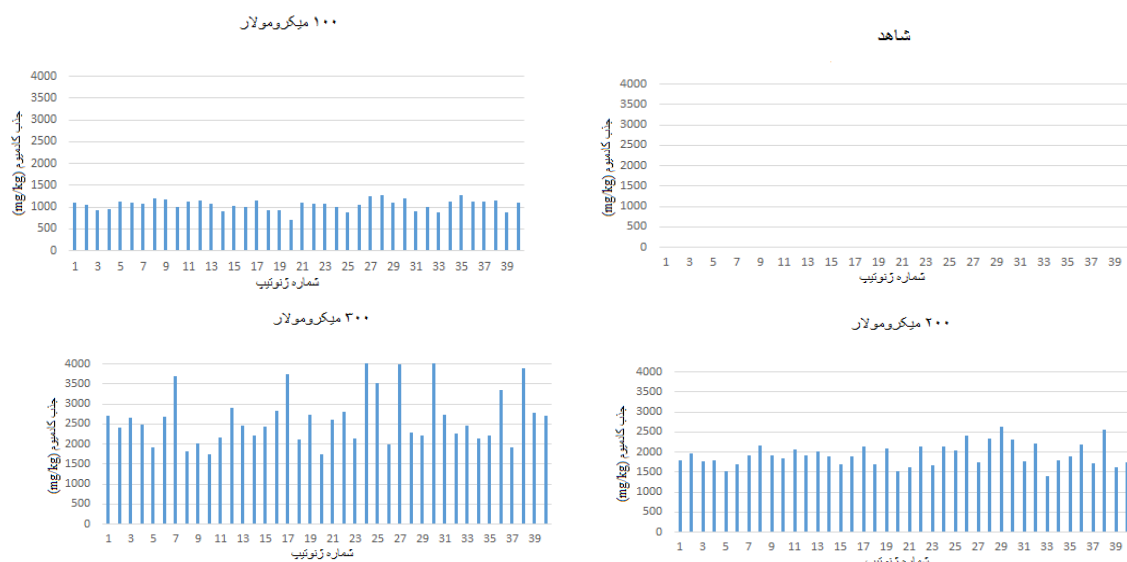
مؤلفه اول داشتند. همچنین در مؤلفه دوم طول ریشه بیشترین تأثیر را داشت و در نهایت در سطح تنشی ۳۰۰ میکرومولار صفات وزن تر ساقه و ریشه حداکثر تأثیر را در مؤلفه اول داشتند. گزارش شده که اعمال فلز کادمیوم موجب کاهش رنگیزه‌ای گیاهی چون کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید و کاهش وزن گیاه می‌گردد (۷).

در سطح شاهد صفات چگالی سطح ریشه، کلروفیل a و وزن تر ساقه بزرگترین ضرایب مثبت را در مؤلفه اول به خود اختصاص دادند و در مؤلفه دوم نیز صفت طول ریشه بزرگترین ضریب مثبت 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 مثبت را در

جدول ۱- اسامی و منشأ ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه در این آزمایش

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

شماره	ژنوتیپ	منشاء	شماره	ژنوتیپ	منشاء	شماره	ژنوتیپ	منشاء	شماره	ژنوتیپ	منشاء
۱	طارم محلی	بومی	۱۱	سنگ جو	بومی	۲۱	F ₁₂ L ₁₁₇	لاین اصلاحی	۳۱	M ₂₅	موتانت طارم محلی
۲	طارم هاشمی	بومی	۱۲	دانش	اصلاحی	۲۲	F ₁₂ L ₂₀	لاین اصلاحی	۳۲	M ₃₁	موتانت طارم محلی
۳	دم زرد	بومی	۱۳	شیرودی	اصلاحی	۲۳	F ₁₂ L ₁	لاین اصلاحی	۳۳	229R	ممرفی از IRRI
۴	چمپاملو	بومی	۱۴	ندا	اصلاحی	۲۴	F ₁₂ L ₁₁₁	لاین اصلاحی	۳۴	IR24	ممرفی از IRRI
۵	سنگ طارم	بومی	۱۵	آمل ۳	اصلاحی	۲۵	F ₁₂ L ₉₆₋₃	لاین اصلاحی	۳۵	Gasmal 735	ممرفی از IRRI
۶	سردینام	بومی	۱۶	خزر	اصلاحی	۲۶	F ₁₂ L ₅	لاین اصلاحی	۳۶	Kinan Dang Patong	ممرفی از IRRI
۷	زرک	بومی	۱۷	جلودار	اصلاحی	۲۷	F ₁₂ L ₃₉	لاین اصلاحی	۳۷	IET1444	ممرفی از IRRI
۸	بنام	بومی	۱۸	F ₁₂ L ₄₈	لاین اصلاحی	۲۸	M ₂₆	موتانت طارم محلی	۳۸	ARIAS HALUS	ممرفی از IRRI
۹	غریب ریحانی	بومی	۱۹	F ₁₂ L ₂₇	لاین اصلاحی	۲۹	M ₃₃	موتانت طارم محلی	۳۹	KOSHIHAKARI	IRRI شاهد متحمل
۱۰	میرطارم	بومی	۲۰	F ₁₂ L ₄₉₋₃	لاین اصلاحی	۳۰	M ₃₀	موتانت طارم محلی	۴۰	PEH-KUH-TSAO-TU	IRRI شاهد حساس



شکل ۱- میزان کادمیوم جذب شده توسط ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط مختلف آزمایش
Figure 1. The amount of cadmium absorbed by the genotypes studied in different experimental conditions

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

گزارش‌ها حاکی از کاهش طول ریشه و ساقه، و 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 ویجایارنگان (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 درصد توسط دو مؤلفه‌ی 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

میانگین مربعات																	
منابع تغییر	درجه آزادی	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	وزن تر ساقه	وزن خشک ساقه	طول ریشه	طول ساقه‌چه	تعداد ریشه	حجم ریشه	قطر ریشه	سطح ریشه	چگالی سطح ریشه	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئید	پروлін	کادمیوم
تنش	۳	۰/۰۳۱**	۰/۰۱۴**	۱۴/۸۱۱**	۰/۷۰۳**	۲۶۸/۱۵**	۱۱۳۷۶/۲۸**	۳۴۰۷/۲۱**	۶۱۶/۱۷**	۶۱۶/۱۷**	۰/۰۱۰۹**	۳۹/۹۴**	۲۰/۵۱**	۷/۸۹۹**	۱۸/۳۳۳**	۰/۰۰۰۰۰۳۳۹**	۱۵۶۸۲۸۸۶۳**
خطای اول	۸	۰/۰۰۹ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۳**	۰/۱۵۸**	۰/۰۰۰۵**	۱۶/۸۷**	۱۰۰/۲۱**	۱۱/۱۱**	۸/۴۵**	۸/۴۵**	۰/۰۰۰۵**	۴/۹۸**	۰/۰۳۹**	۰/۰۱۰**	۰/۰۳۱**	۰/۰۰۰۰۰۱۳**	۸/۸**
ژنوتیپ	۳۹	۰/۰۱۸**	۰/۰۰۰۰۴**	۰/۱۹۶**	۰/۰۰۰۹**	۱۳/۷۶**	۴۲۵/۳۲**	۴۵۸/۷۵**	۳/۹۰**	۳/۹۰**	۰/۰۰۰۴۳**	۵/۴۵**	۰/۷۶۹**	۰/۳۶۴**	۰/۶۹۷**	۰/۰۰۰۰۰۱۹**	۵۷۴۱۳۳/۹**
ژنوتیپ×تنش	۱۱۷	۰/۰۰۹**	۰/۰۰۰۰۲**	۰/۱۳۶**	۰/۰۰۰۵**	۹/۸۵**	۱۵۸/۳۹**	۱۹۹/۳۸**	۲/۰۹**	۲/۰۹**	۰/۰۰۰۱۷**	۳/۴۷**	۰/۳۱۱**	۰/۱۸۳**	۰/۲۷۶**	۰/۰۰۰۰۰۱۱**	۴۰۶۰۷۲/۱**
خطای دوم	۳۱۲	۰/۰۰۰۰۲	۰/۰۰۰۰۲	۱۲/۷۶	۰/۰۰۰۲۶	۴/۹۸	۳/۹۹	۷/۰۶	۰/۰۶۹	۰/۰۶۹	۰/۰۰۰۰۴	۵/۴۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۲۱	۰/۰۰۰۰۰۰۰۶۲	۰/۰۰۰۰۰۰۰۵۶
ضریب تغییرات (%)		۱۰/۷۵	۱۲/۷۶	۱۲/۹۹	۱۱/۴۹	۴/۹۸	۳/۹۹	۷/۰۶	۰/۰۶۹	۰/۰۶۹	۵/۴۳	۹/۶۷	۷/۹۴	۸/۸۱	۰/۵۲۲	۰/۰۰۰۵۶	۰/۰۰۰۵۶

***، ** و * : به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک‌درصد، پنج‌درصد و غیرمعنی‌دار

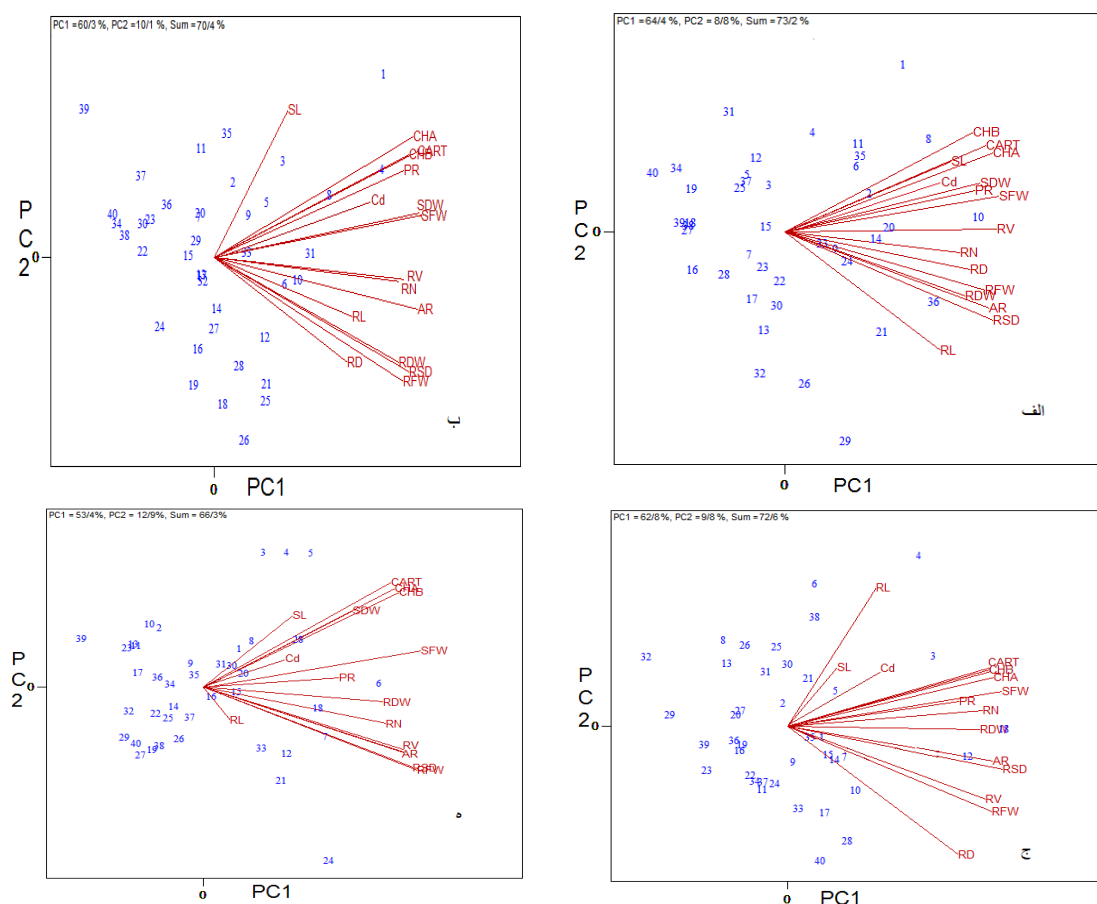
جدول ۳- بردارهای ویژه، مقادیر ویژه و واریانس تجمعی دو مؤلفه اصلی اول بر اساس صفات اندازه‌گیری شده در شرایط شاهد، ۱۰۰ میکرومولار، ۲۰۰ میکرومولار و ۳۰۰ میکرومولار

Table 3. Eigenvectors, eigenvalue and Cumulative Variance of two main components based on the measured traits in the control, 100 μm , 200 μm and 300 μm

بردارهای ویژه در سطح شاهد		بردارهای ویژه در سطح ۱۰۰ میکرومولار		بردارهای ویژه در سطح ۲۰۰ میکرومولار		بردارهای ویژه در سطح ۳۰۰ میکرومولار	
مؤلفه اول	مؤلفه دوم	مؤلفه اول	مؤلفه دوم	مؤلفه اول	مؤلفه دوم	مؤلفه اول	مؤلفه دوم
وزن تر ریشه	۰/۸۶۱	۰/۲۰۷	-۰/۴۳۵	-۰/۸۸۷	-۰/۴۰۹	-۰/۳۸۷	-۰/۳۸۷
وزن خشک ریشه	۰/۷۷۷	۰/۳۱۹	-۰/۸۰۶	-۰/۸۳۶	-۰/۰۱۸	-۰/۰۰۷	-۰/۰۰۷
وزن تر ساقه	۰/۸۹۷	-۰/۱۳۷	-۰/۹۱۲	-۰/۹۳۴	-۰/۱۵۹	-۰/۹۱۳	-۰/۹۱۳
وزن خشک ساقه	۰/۸۴۷	-۰/۱۷۲	-۰/۸۹۷	-۰/۱۴۵	-۰/۸۸۹	-۰/۶۲۸	-۰/۴۱۹
طول ریشه	۰/۶۵۷	-۰/۵۸۵	-۰/۶۰۲	-۰/۳۰۶	-۰/۳۸۶	-۰/۱۱۲	-۰/۱۴۶
طول ساقه‌چه	۰/۷۱۴	-۰/۲۹۵	-۰/۳۲۰	-۰/۵۲۴	-۰/۲۱۷	-۰/۳۷۴	-۰/۲۹۵
تعداد ریشه	۰/۷۳۵	-۰/۰۷۱	-۰/۸۴۱	-۰/۰۷۴	-۰/۸۴۸	-۰/۷۶۴	-۰/۱۲۷
حجم ریشه	۰/۹۲۰	-۰/۰۰۳	-۰/۸۱۴	-۰/۱۰۰	-۰/۸۶۲	-۰/۳۴۹	-۰/۳۵۲
قطر ریشه	۰/۸۰۵	-۰/۰۸۹	-۰/۵۸۱	-۰/۳۷۱	-۰/۷۴۴	-۰/۶۱۹	-۰/۳۰۲
سطح ریشه	۰/۸۷۴	-۰/۳۸۰	-۰/۸۹۱	-۰/۱۸۵	-۰/۸۹۴	-۰/۱۶۵	-۰/۳۴۶
چگالی سطح ریشه	۰/۹۰۰	-۰/۳۸۰	-۰/۸۵۲	-۰/۴۰۱	-۰/۹۳۷	-۰/۲۱۱	-۰/۳۶۷
کلروفیل a	۰/۸۹۹	-۰/۳۳۶	-۰/۸۷۱	-۰/۴۱۵	-۰/۸۹۸	-۰/۲۲۶	-۰/۴۴۲
کلروفیل b	۰/۸۰۹	-۰/۴۴۸	-۰/۸۵۲	-۰/۳۵۶	-۰/۸۹۷	-۰/۲۵۷	-۰/۳۷۶
کاروتنوئید	۰/۸۶۹	-۰/۳۶۱	-۰/۸۸۹	-۰/۳۷۳	-۰/۸۸۵	-۰/۲۷۱	-۰/۴۶۹
پروکلین	۰/۸۱۷	-۰/۱۸۲	-۰/۸۲۶	-۰/۳۰۸	-۰/۷۴۶	-۰/۱۲۱	-۰/۰۷۶
کادمیوم	۰/۰۰۱	-۰/۰۴۵	-۰/۱۷۰	-۰/۲۲۴	-۰/۲۵۳	-۰/۱۳۱	-۰/۷۳۵
مقادیر ویژه	۱۰/۳۰۲	۱/۴۰۴	۹/۶۴۷	۱/۶۰۹	۱۰/۰۵۲	۱/۵۷۱	۸/۵۴۹
واریانس تجمعی (%)	۶۴/۳۸۷	۷۰/۱۶۰	۶۰/۲۹۵	۷۰/۳۵۱	۶۲/۸۲۳	۷۲/۶۴۱	۵۲/۴۳۰
							۶۶/۳۰۵

توسط ریشه و در نتیجه مهار در تشکیل کلروپلاست (۲۳) و یا مداخله فلزات سنگین با متابولیسم 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 بالای کادمیوم می‌تواند به رئوس ریشه آسیب برساند، جذب مواد مغذی را کاهش و سنتز کلروفیل را مهار کند و نیز فتوسنتز را متوقف و در نتیجه مانع رشد گیاه گردد. سیستم‌های ریشه به‌ویژه به تنش فلزات سنگین حساس هستند، به‌طوری که پارامترهای ریشه گیاه می‌تواند به‌عنوان 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 ژنوتیپ $\times$ صفت برای ۴۰ ژنوتیپ و ۱۶ صفت ارزیابی شده در آن‌ها در ۴ حالت رشدی و بر اساس دو 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، نمایان‌گر پیچیدگی عوامل توجیه‌کننده تنوع داده‌ها می‌باشد. حجم وسیعی از تنوع توسط دو مؤلفه اول توجیه گردید. سهم هر مؤلفه در توجیه تنوع موجود بین ژنوتیپ‌ها در شکل ۲ نمایش داده شده است. بر اساس نتایج نمایش بای‌پلات ژنوتیپ $\times$ 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. به‌طور کلی در کلیه شرایط همبستگی بالایی بین صفات رنگدانه‌ای مشاهده شد تغییرات مشابه در محتوای رنگدانه توسط تیمار با فلزات مختلف گزارش شده است (۳۷) کادمیوم برای گیاه بسیار سمی است. کادمیوم در کلروفیل‌ها جایگزین منیزیم شده و منجر به تخریب کلروفیل می‌گردد. کاهش میزان کلروفیل و کاروتنوئید توسط کادمیوم احتمالاً نشان‌دهنده نقش مهارکننده فلزات سنگین در مرحله پروتوکلروفیل^۱ و یا آنزیم پروتوکلروفیل ردوکتاز^۲ بر کلروفیل (۳۶) است. این کاهش ممکن است به دلیل کاهش جذب یونی



شکل ۲- نمایش بای پلات ژنوتیپ $\times$ صفت بر اساس مؤلفه‌های اول و دوم به ترتیب در سطح شاهد (الف)، ۱۰۰ میکرومولار CdCl_2 (ب)، ۲۰۰ میکرومولار CdCl_2 (ج) و ۳۰۰ میکرومولار CdCl_2 (د)

Figure 2. The genotype $\times$ trait biplot representation based on the first and second components, respectively, at the control level, 100 μm , 200 μm and 300 μm CdCl_2

شده در گروه‌های مجزا طبقه‌بندی نمود. تعیین محل خط برش به کمک آماره ویلکس لامبدا انجام شد (شکل ۲). در حالت‌های مختلف برش دندروگرام گروه‌بندی انجام شد که به ترتیب در حالات مختلف آزمایش، در حالت برشی منجر به ایجاد ۲، ۵، ۳ و ۲ گروه (برای صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰) بیشترین مقدار F (۵۰/۹۹۰، ۳۲/۵۳۵، ۷۲/۱۱۱ و ۱۱۳/۶۸۸) به دست 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 خوشه‌بندی 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. نتایج گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها از طریق تجزیه خوشه‌ای با نتایج به دست آمده در مراحل قبلی مطابقت داشت (شکل ۳). بهترین گروه‌بندی داده‌ها در سطح ۲۰۰ میکرومولار ترسیم گردید. گروه اول از نظر صفات گیاهیچه‌ای 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 بای پلات مورد استفاده قرار گرفت. بین جذب کمتر کادمیوم و اکثر صفات ارتباط مثبتی مشاهده شد که نشان‌دهنده کارایی صفات ارزیابی شده در گزینش ژنوتیپ‌های متحمل به تنش کادمیوم می‌باشد. از آنجاکه ژنوتیپ‌های مجاور هر صفت بیان‌گر ارتباط آن ژنوتیپ و صفت مذکور می‌باشند، در سطح ۱۰۰ میکرومولار تنش ژنوتیپ‌های ۲۲۹R، بینام، غریب ریحانی، چمپاملو و سنگ طارم و M_{25} در نزدیکی صفت جذب کمتر کادمیوم قرار گرفتند.

همچنین نتایج مشابهی در سطح تنش ۲۰۰ میکرومولار مشاهده گردید به طوری که ژنوتیپ‌های سنگ طارم، $F_{12}L_{117}$ و Gasmal 735 در ۲۰۰ میکرومولار و ژنوتیپ $F_{12}L_{49-3}$ 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).

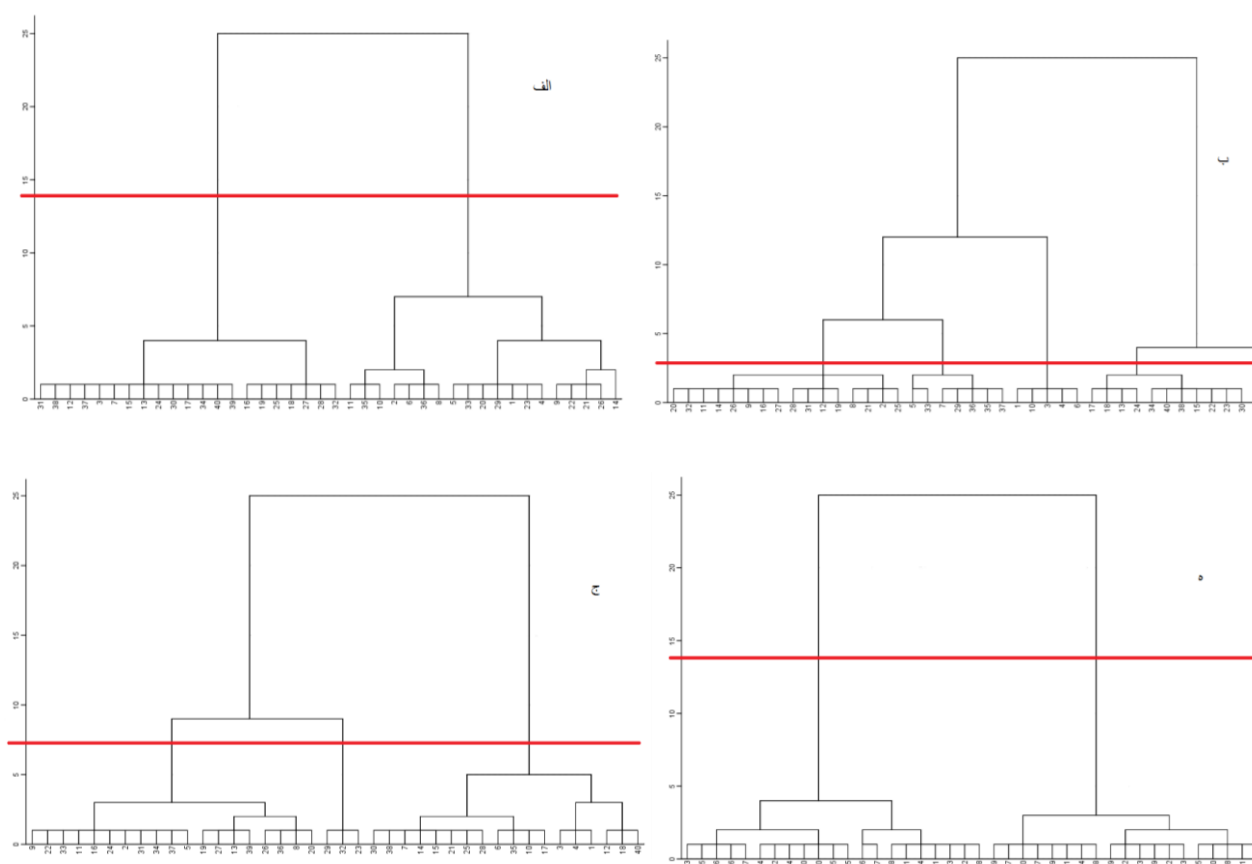
تجزیه خوشه‌ای در شرایط شاهد، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار CdCl_2 ، ژنوتیپ‌ها را براساس کلیه صفات ارزیابی

کیفی، آنها را به کمک تجزیه خوشه‌ای مبتنی بر روش حداقل واریانس وارد در سه گروه اصلی قرار دادند.

در مجموع با توجه به نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌های سنگ طارم، میر طارم، $F_{12}L_{49-3}$ و 229R و KOSHIHIKARI به عنوان ارقام متحمل به کادمیوم و ژنوتیپ‌های ARIAS HALUS، M30 و 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 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 تجزیه خوشه‌ای 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 ژنوتیپ‌هایی از نظر خصوصیات گیاهچه‌ای و جذب کادمیوم متحمل تر از سایر ژنوتیپ‌ها ارزیابی می‌شوند. با توجه به شکل ۳، تجزیه خوشه‌ای نیز بر اساس صفات مورد مطالعه در سطوح شاهد، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار کادمیوم، ژنوتیپ‌های مورد بررسی را به ترتیب در دو، پنج، سه و دو خوشه 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 خوشه‌ای به روش Ward با مجذور فاصله‌ی اقلیدوسی برای ۴۰ ژنوتیپ برنج بر اساس صفات ارزیابی شده در سطح شاهد (الف)، ۱۰۰ میکرومولار $CdCl_2$ (ب)، ۲۰۰ میکرومولار $CdCl_2$ (ج) و ۳۰۰ میکرومولار $CdCl_2$ (د)

Figure 3. dendrogram derived from Ward cluster analysis with squared Euclidean distance for 40 rice genotypes based on the evaluated traits at the control level, 100 μm , 200 μm and 300 μm $CdCl_2$

منابع

1. Agricultural Statistics. 2016. Ministry of Agriculture. Jahad, Assistant Planning and Economic Center for Information and Commubication Technology, 125 pp (In Persian).
2. Ahmadi Shad, M.A., A.A. Ebadi, M.M. Sohani, H. Samizadh 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. Schneider. 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. 3th 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. Khoshgoftarmansh. 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/cdi/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.
36. Stobart, A.K., W.T. Griffiths, I. Ameen-Bukhari and R.P. Sherwood. 1985. The effect of Cd²⁺ 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 Kelayeh¹, Nadali Bagheri², Nadali Babaeian Jelodar³ and Mehdi Ghajar Sepanlou⁴**

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 μM 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