



علوم و تحقیقات بذر ایران

سال چهارم/ شماره اول/ ۱۳۹۶ (۱۰۰ - ۸۹)

DOI: 10.22124/jms.2017.2250

گروه‌بندی ژنوتیپ‌های برنج براساس مؤلفه‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه تحت شرایط تنش شوری

کوثر موسوی^۱، زهرا خدا رحم پور^{۲*}، عبدالعلی گیلانی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۲/۱۲

چکیده

تحقیق حاضر به‌منظور مطالعه تنوع ژنتیکی در ۲۶ ژنوتیپ برنج در سال ۱۳۹۲ در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار شامل ۲۴ لاین و ۲ هیبرید به عنوان عامل اول و تنش شوری با کلرید سدیم در ۴ سطح صفر (آب مقطر)، ۴، ۸ و ۱۲ میلی‌موس بر سانتی‌متر به‌عنوان عامل دوم اجرا گردید. صفات درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، طول گیاهچه، نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه، وزن تر، نسبت وزن خشک به تر، گیاهچه و شاخص بنیه بذر مورد بررسی قرار گرفتند. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، ۱۱ صفت بررسی شده را به ۲ مؤلفه تقسیم و براساس آن ۶۴ درصد از کل تغییرات داده‌ها را توجیه نمود. با استفاده از تجزیه کلاستر ۲۶ ژنوتیپ مورد بررسی در سه کلاستر قرار گرفتند. لاین‌های ۱۵، ۱۹، ۲۰، ۴۸ و ۵۳ با توجه به نتایج تجزیه کلاستر و بای پلات دارای سرعت جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، طول گیاهچه، وزن تر و شاخص بنیه بذر پایینی می‌باشند. بنابراین لاین‌های کلاستر سوم از تحمل به شوری برخوردار نمی‌باشند. لاین‌های ۲، ۴، ۷، ۱۰، ۱۳، ۱۶، ۲۱، ۲۳، ۲۵، ۲۸، ۳۱، ۳۴، ۳۵، ۳۶، ۴۱، ۴۲، ۴۴، ۵۵، به‌همراه هیبریدهای Hb₁ و Hb₂ در کلاستر اول قرار گرفته و با توجه به نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و بای پلات نیمه متحمل به شوری می‌باشند. لاین ۴۰ به تنهایی در کلاستر دوم قرار گرفت و با توجه به نتایج تجزیه کلاستر و بای پلات از نظر کلیه صفات سرعت جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، طول گیاهچه، نسبت ریشه‌چه به ساقه‌چه، وزن تر، وزن خشک، نسبت وزن خشک به تر و شاخص بنیه بذر بالاتر از میانگین کل بوده و بنابراین متحمل به تنش شوری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: برنج، تجزیه چند متغیره، تنوع ژنتیکی، شوری

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، اهواز، ایران

۲- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر، شوشتر، اهواز، ایران

۳- استادیار پژوهش، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، اهواز، ایران

* نویسنده مسئول: Zahra_khodarahm@yahoo.com

مقدمه

برنج یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی در جهان می‌باشد و یک غله عمده غذایی برای بیش از ۵۰٪ مردم جهان است. با وجود این که در مناطقی از ایران به کشت و تولید این گیاه استراتژیک پرداخته می‌شود، ولی کشور ما در زمره یکی از واردکنندگان این محصول در جهان می‌باشد (FAO, 2007). بنابراین تأمین نیاز آینده کشور از طریق تولید ارقام پرمحصول و با کیفیت مطلوب ضروری است. تولید برنج بخش قابل توجهی از برنامه تأمین غذایی و خود کفایی را در بر دارد و در بیش از ۱۴۰ میلیون هکتار از اراضی قاره آسیا و دیگر مناطق جهان کشت می‌شود. به علت محدود بودن زمین‌های قابل استفاده در زراعت برنج، تولید آن از طریق افزایش محصول در واحد سطح مدنظر قرار می‌گیرد (Verma and Srivastava, 2004). شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که تولید محصولات زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در تمام مناطقی که آبیاری برای تولید محصولات زراعی ضروری است، شور شدن خاک نیز امری غیرقابل اجتناب می‌باشد که این پدیده به تدریج به یک مشکل عمده در مناطق خشک و نیمه‌خشک ایران تبدیل شده است (Flowers and Flowers, 2005). بنابراین جهت ادامه تولید محصولات زراعی در این مناطق، ارقامی از محصولات مورد نیاز هستند که در شرایط آبیاری با آب شور از رشد مناسبی برخوردار بوده و آستانه کاهش عملکرد آن‌ها بالا باشد (Munns and Tester, 2008). ارزیابی و تعیین تنوع ژنتیکی نه تنها مقدمه‌ای برای حفاظت از ذخایر ژنتیکی بوده، بلکه به منظور دستیابی به تنوع اولیه برای افزایش کارایی برنامه‌های اصلاحی نیز ضروری است (Espahbodi et al., 2006). ارزیابی‌ها معمولاً براساس نشانگرهای مورفولوژیکی، بیوشیمیایی، سیتوژنتیکی و مولکولی انجام می‌گیرد (Farshadfar et al., 2008). هر کدام از این نشانگرها دارای معایب و مزایای خاص خود بوده و باید به موقع و مناسب از آن‌ها استفاده گردد. اگر چه در برخی موارد نشانگرهای مولکولی در مطالعات تنوع ژنتیکی ترجیح داده می‌شوند، اما استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی به دلیل سهولت و کم هزینه بودن در ارزیابی‌های مقدماتی مناسب بوده و می‌توانند به عنوان رویکردی عمومی در بررسی تنوع ژنتیکی بین توده‌ها استفاده گردند (Weising et al., 2005). استفاده از این

ویژگی‌ها توأم با بکارگیری روش‌های آنالیز آماری و تجزیه چند متغیره مانند تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیه کلاسترای روش‌هایی مناسب برای غربال توده‌ها می‌باشد (Sorkheh et al., Chalak et al., 2007; 2010). محمدزاده و همکاران (Mohammadzadeh et al., 2009) با ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌های برنج به تنش شوری در مرحله جوانه‌زنی گزارش کردند که سرعت جوانه‌زنی با درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح ۱٪ نشان داد. وزن خشک ریشه‌چه با درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح ۱٪ نشان داد. ژنوتیپ PSBRC88 و عنبربو متحمل‌ترین و هیبرید IR58025A/IR60819R حساس‌ترین ژنوتیپ به شوری بودند. میردآرم‌منصوری و همکاران (Mirdarmansouri et al., 2009) با ارزیابی ۴۰ رقم و لاین امیدبخش اصلاح شده برنج و ۴ سطح شوری شامل: شاهد ۶، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر در گلخانه اعلام کردند که در ارقام و لاین‌های برنج تحت تنش شوری تمام صفات ارتفاع گیاه، طول ساقه، طول ریشه، وزن خشک ریشه، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه و زیست توده کاهش معنی‌داری داشتند. هم‌چنین اثر متقابل ژنوتیپ و شوری برای کلیه صفات مورد بررسی معنی‌دار بود. مؤمنی و همکاران (Moemeni et al., 2009) به منظور ارزیابی مقدماتی تحمل ژنوتیپ‌های برنج به تنش شوری آب/ خاک و استفاده از ژنوتیپ‌های متحمل در برنامه اصلاحی برنج، تعداد ۵۶ ژنوتیپ برنج را مورد مطالعه قرار دادند. براساس نتایج تجزیه‌های آماری ژنوتیپ‌های بی‌نام، هاشمی، IR67075-2B-18-2 و IR67075-2B-5-2 دارای و وضعیت مناسبی در شرایط آزمایشی بوده‌اند و جهت استفاده در برنامه اصلاحی و هم‌چنین انجام سایر آزمایش‌های زراعی و فیزیولوژیکی مرتبط انتخاب شدند. مجیدی‌مهر و امیری (Majidi Mehr and Amiri, 2014) عنوان کردند براساس تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در شرایط شوری چهار عامل شناسایی شد که ۶۸/۱۰ درصد از تنوع کل داده‌ها را توجیه کردند. براساس نتایج تجزیه کلاسترای در شرایط تنش شوری، ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه در ۳ گروه مجزا قرار گرفتند. بنابراین با توجه به اهمیت برنج، اثرات مخرب شوری و اهمیت وجود تنوع

درصد جوانه‌زنی براساس رابطه زیر محاسبه گردید (Scote et al., 1984):

$$\text{رابطه (۱)} = \frac{\text{تعداد بذور جوانه زده در دوره آزمایش}}{\text{کل بذور کاشته شده}} \times 100$$

میانگین زمان جوانه‌زنی مطابق رابطه معادله زیر محاسبه گردید (Ellis and Roberts, 1981):

$$\text{رابطه (۲)} \quad MGT = \frac{\sum nt}{\sum n}$$

MGT: متوسط زمان جوانه‌زنی، n: تعداد بذور جدید که در زمان t جوانه‌زده‌اند، t: روزها یا ساعات بعد از کاشت سرعت جوانه‌زنی بر اساس رابطه زیر محاسبه شد (Kotowski, 1926):

$$\text{رابطه (۳)} \quad G.S = \frac{\sum n}{\sum n(n \times DN)} \times 100$$

G.S: سرعت جوانه‌زنی، n: تعداد بذور جوانه‌زده در روزهای شمارش جوانه‌زنی، DN: تعداد روزهای شمارش دوره جوانه‌زنی

شاخص بنیه بذر با استفاده از رابطه فرمول زیر برآورد گردید (Abdul-baki and Anderson, 1975):

$$\text{رابطه (۴)} \quad Vi = \frac{\%Gr \times MSH}{100}$$

Vi: شاخص بنیه بذر، %Gr: درصد جوانه‌زنی، MSH: میانگین طولی گیاهچه (ریشه‌چه و گیاه‌چه)

طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه براساس میانگین از ۵ گیاهچه با کمک خط‌کش‌های پارچه‌ای با دقت میلی‌متر اندازه‌گیری شد به این منظور خمیدگی گیاهچه باز شده و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه از انتها تا محل اتصال به بذر اندازه‌گیری گردید. متوسط وزن تر گیاهچه با نمونه‌برداری از ۵ گیاهچه شاخص در هر پتری به‌وسیله ترازو و با دقت میلی‌گرم اندازه‌گیری شد. سپس هر گیاهچه را به‌منظور اندازه‌گیری وزن خشک در فویل آلومینیومی پیچانده و در دستگاه آون در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده و دوباره آن‌ها با ترازو وزن شدند.

در نهایت داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات مختلف با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ تجزیه واریانس شدند. قبل از تجزیه واریانس تبدیل آرک

ژنتیکی در ژرم‌پلاسما برنج، این پژوهش به بررسی تنوع ژنتیکی بخشی از لاین‌های پیشرفته برنج در مرحله جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری پرداخته تا با تعیین متحمل‌ترین لاین‌ها در شرایط تنش شوری در این مرحله، تعیین صفات شاخص و ارتباط میان صفات در این مرحله از رشد، راه کارهای اصلاحی برای برنامه‌های آینده ارائه دهد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در سال ۱۳۹۲ در آزمایشگاه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اهواز اجرا گردید. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. عامل اول ژنوتیپ (شامل ۲۴ لاین و دو هیبرید) برنج (جدول ۱) و عامل دوم سطوح مختلف پتانسیل اسمزی ناشی از غلظت‌های مختلف کلرید سدیم در ۴ سطح، صفر (آب مقطر)، ۴، ۸ و ۱۲ میلی‌موس بر سانتی‌متر می‌باشد.

ابتدا بذور هر ژنوتیپ به‌طور جداگانه در یک بشر ریخته و با آب مقطر چند بار شستشو داده شدند. سپس در محلول هیپوکلریت سدیم (وایتکس) ۰/۵ به‌مدت ۱ دقیقه قرار داده شد و خوب هم‌زده تا سطح بذور به محلول آغشته شدند. سپس مجدداً چند بار با آب مقطر شستشو داده و از هر ژنوتیپ ۲۵ بذر در پتری‌های حاوی کاغذ صافی که قبلاً در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴-۵ ساعت ضدعفونی شده بودند کشت گردیدند. بعد از آماده‌سازی مقدمات آزمایش در هر پتری ۲۵ بذر قرار داده و روی پتری‌ها برچسب‌زده شد. سپس تیمارهای شوری اعمال گردیدند. به‌منظور اندازه‌گیری جوانه‌زنی بذور (ISTA, 1996) بعد از قرار دادن بذرها در ظروف پلاستیکی در دار با ابعاد ۱۲×۲۵ سانتی‌متر و اعمال تنش شوری بر آن‌ها، از روز دوم، هر روز تا روز چهاردهم تعداد بذور جوانه‌زده شمارش شدند. در زمان اجرای آزمایش دمای آزمایشگاه ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. یک بذر وقتی جوانه‌زده محسوب شد که طول ریشه‌چه آن حدود ۲ میلی‌متر باشد.

سینوس برای داده‌های مربوط به درصد جوانه‌زنی انجام گردید. همبستگی بین صفات، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، رسم بای‌پلات، تجزیه کلاستر و

تابع تشخیص با استفاده از نرم‌افزار Minitab نسخه ۱۶ صورت پذیرفت.

جدول ۱- اسامی ژنوتیپ‌های برنج
Table 1. Names of rice genotypes

Code	کد	Designation	Code	کد	Designation
2		ATTEY (ACC 32382)	31		KHAU MA TUOI (ACC 78329)
4		BASMATI 370 (ACC 06426)	34		MRC 603-383
7		DOM SIAH (ACC 32294)	35		N 22
10		GANJAY (ACC 76349)	36		N 22 (ACC 117273)
13		HASAN SERAI (ACC 79564)	40		N 22 (ACC 4819)
15		IR 2006-P12-12-2-2	41		N 22 (ACC 6264)
16		IR 59418-7B-9-2	42		PADI HOJONG (ACC 8192)
19		IR 61250-3B-7-1-2	44		PEH-KUH-TSAO-TU (ACC 8237)
20		IR 64196-3B-23-3	48		TCHAMPA (ACC 32369)
21		IR 64197-3B-15-2	53		ZAKHA (ACC 86915)
23		IR 65852-4B-16-1-3	55		LOCAL CHEK (SPECIFY NAME)
25		IR 71895-3R-26-2-1	HB1		CHINA (HYBRID 1)
28		JIJAI (ACC 76357)	HB2		CHINA (HYBRID 2)

نتایج و بحث

تجزیه واریانس

نتایج تجزیه واریانس در جدول ۲ نشان داد که همه صفات اندازه‌گیری شده به جز طول ساقه‌چه، نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه و نسبت وزن خشک به تر گیاه‌چه برای فاکتور ژنوتیپ، تنش شوری و اثر متقابل ژنوتیپ در تنش شوری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند. که حاکی از وجود تفاوت ژنتیکی در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی می‌باشد. بنابراین با توجه به تفاوت‌های موجود امکان‌پذیر گزینش برای صفات مورد مطالعه وجود دارد.

همبستگی بین صفات

نتایج ضرایب همبستگی (جدول ۳) نشان داد در این آزمایش بین میانگین زمان جوانه‌زنی با سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول گیاه‌چه و شاخص بنیه بذر همبستگی منفی و معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشت. در نتیجه هرچه بذور به زمان بیش‌تری برای جوانه‌زنی نیاز داشته باشند سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر کم‌تر است. هم‌چنین سرعت جوانه‌زنی با طول ریشه‌چه، طول گیاه‌چه، وزن تر گیاه‌چه و شاخص بنیه بذر همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال ۵

درصد داشت. هر چه سرعت جوانه‌زنی بذور بیش‌تر باشد، خصوصیات رویشی و شاخص بنیه بذر بهتر و بیش‌تر خواهد بود. طول ساقه‌چه با وزن خشک گیاه‌چه همبستگی مثبت و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با ۰/۴۴ و با نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه و نسبت وزن خشک به تر همبستگی مثبت و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد داشت که مقادیر همبستگی آن‌ها به ترتیب برابر با ۰/۶۶ و ۰/۹۳ بود. همبستگی مثبت موجود بین طول ریشه‌چه می‌تواند مؤید این موضوع باشد که با تجمع ماده خشک بیش‌تر در ریشه‌چه باعث افزایش جذب آب و املاح مفید موجود در آب گشته و رشد طولی ریشه را افزایش می‌دهد و ریشه توسعه یافته‌تر می‌باشد (Francios *et al.*, 1994). نتایج این پژوهش با یافته‌های قلی‌زاده (Gholizdeh, 2012) مطابقت دارد. در این رابطه محمدزاده و همکاران (Mohammadzadeh *et al.*, 2009) با ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌های برنج به تنش شوری در مرحله جوانه‌زنی گزارش کردند که سرعت جوانه‌زنی با درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح ۱٪ نشان داد. وزن خشک ریشه‌چه با درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و

طول ساقچه همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح ۱٪ نشان داد.

تجزیه کلاستر

تجزیه کلاستر یکی از روش‌های تجزیه و تحلیل چند متغیره است که جهت بررسی رابطه خویشاوندی مواد گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این روش برای گروه‌بندی ارقام مورد مطالعه یک گیاه از نظر ژنتیکی و جغرافیایی و تعیین والدین در هیبریداسیون مفید می‌باشد به‌منظور تعیین قرابت ژنوتیپ‌های مورد بررسی و گروه‌بندی آن‌ها در ارتباط با صفات اندازه‌گیری شده، از تجزیه کلاستر به‌روش Ward و با استفاده از فاصله اقلیدسی براساس میانگین استاندارد شده با برش دندروگرام در فاصله‌ی ۱۲/۹۷ و ۱۹/۴۶ گردید. ۲۶ ژنوتیپ مورد بررسی در سه کلاستر قرار گرفتند (شکل ۱). ژنوتیپ‌های ۲، ۴، ۷، ۱۰، ۱۳، ۱۶، ۲۱، ۲۳، ۲۵، ۲۸، ۳۱، ۳۴، ۳۵، ۳۶، ۴۱، ۴۲، ۴۴، ۵۵، Hb₁ و Hb₂ در کلاستر اول قرار گرفتند و طبق جدول ۴ ژنوتیپ‌های این کلاستر از نظر سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول گیاهچه، وزن تر و شاخص بنیه بذر بالاتر از میانگین کل بودند (جدول ۴). لاین ۴۰ به تنهایی در کلاستر دوم قرار گرفت و از نظر کلیه

صفات سرعت جوانه‌زنی، طول ساقچه، طول ریشه‌چه، طول گیاهچه، نسبت ریشه‌چه به ساقچه، وزن تر، وزن خشک، نسبت وزن خشک به تر و شاخص بنیه بذر بالاتر از میانگین کل بود (جدول ۴). لاین‌های ۱۵، ۱۹، ۲۰، ۴۸ و ۵۳ در کلاستر سوم قرار گرفتند. این کلاستر از نظر کلیه صفات بجز صفات درصد جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی، وزن خشک و نسبت وزن خشک به تر پایین‌تر از میانگین کل بود (جدول ۴).

شایان ذکر است که بالابودن میانگین زمان جوانه‌زنی مطلوب نیست. فروزانفر و همکاران (Forouzanfar *et al.*, 2014) گزارش کردند که براساس نتایج تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در دو گروه جداگانه قرار گرفتند. گروه اول شامل ژنوتیپ‌های متحمل و گروه دوم شامل ژنوتیپ‌هایی بود که از نظر بیش‌تر صفات در حد پایینی قرار داشته و نسبتاً حساس به شوری بودند (Farshadfar *et al.*, 2008). مجیدی‌مهر و امیری (Majidi Mehr and Amiri, 2014) گزارش کردند که براساس نتایج تجزیه کلاستر در شرایط تنش شوری، ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه در ۳ گروه مجزا قرار گرفتند.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس مربوط به تأثیر تنش شوری بر جوانه‌زنی و خصوصیات گیاهچه ژنوتیپ‌های برنج

Table 2. Analysis of variance related to the effects of salinity stress on seed germination and seedling characteristics of rice genotypes

منابع تغییرات Sources of variance	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	میانگین زمان جوانه‌زنی Mean germination time	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	طول ساقچه Plumule length	طول ریشه‌چه radicle length	طول گیاهچه Seedling length	نسبت طول ریشه‌چه به ساقچه Ratio of radicle to plumule length	وزن تر گیاهچه Wet weight of seedling	وزن خشک گیاهچه Dry weight of seedling	نسبت وزن خشک به تر Ratio of dry to wet weight	شاخص بنیه بذر Seed Vigor Index
ژنوتیپ Genotype	25	230.19**	8.21**	0.067**	1705.90 ^{n.s}	37.27**	106.65**	2.53 ^{n.s}	3983.60**	2818.34**	0.34 ^{n.s}	97.85**
تنش شوری Salinity stress	3	90.55*	15.03**	0.202**	1133.12 ^{n.s}	200.37**	496.61**	0.45 ^{n.s}	87422.15**	3650.38**	0.24 ^{n.s}	470.07**
ژنوتیپ × تنش Genotype × Stress	75	47.07**	1.67**	0.030 ^s	1626.39 ^{n.s}	8.90**	16.89**	1.07 ^{n.s}	10842.73**	1259.12**	0.32 ^{n.s}	16.78**
خطا Error	208	28.89	0.291	0.02	1626.24	0.912	2.10	0.87	2218.739	663.52	0.31	2.92

^{n.s}، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

n.s, * and ** non-significant, significant at 5% and 1% respectively.

جدول ۳ - ضرایب همبستگی ساده بین صفات مربوط به ژنوتیپ‌های برنج در شرایط تنش شوری
 Table 3. Simple correlation coefficient between the characteristics related to rice genotypes in salinity stress conditions

صفات Traits	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	میانگین زمان جوانه‌زنی Mean germination time	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	طول ساقه‌چه Plumule length	طول ریشه‌چه Radicle length	طول گیاهچه Seedling length	نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه Ratio of radicle to plumule length	وزن تر گیاهچه Wet weight of seedling	وزن خشک گیاهچه Dry weight of seedling	نسبت وزن خشک به تر Ratio of dry to wet weight
میانگین زمان جوانه‌زنی Mean germination time	0.155 n.s	1								
سرعت جوانه‌زنی Germination rate	0.108 n.s	-0.788**	1							
طول ساقه‌چه Plumule length	0.092 n.s	-0.148 n.s	0.083 n.s	1						
طول ریشه‌چه Radicle length	-0.135 n.s	-0.632**	0.428*	0.385 n.s	1					
طول گیاهچه Seedling length	0.081 n.s	-0.592**	0.471*	0.326 n.s	0.872**	1				
نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه Ratio of radicle to plumule length	-0.337 n.s	-0.325 n.s	0.14 n.s	0.661**	0.64**	0.256 n.s	1			
وزن تر گیاهچه Wet weight of seedling	0.323 n.s	-0.377 n.s	0.46*	0.281 n.s	0.325 n.s	0.608**	-0.093 n.s	1		
وزن خشک گیاهچه Dry weight of seedling	0.342 n.s	0.65 n.s	0.35 n.s	0.444*	0.207 n.s	0.16 n.s	0.238 n.s	0.328 n.s	1	
نسبت وزن خشک به تر Ratio of dry to wet weight	-0.031 n.s	0.014 n.s	-0.033 n.s	0.938**	0.259 n.s	0.129 n.s	0.66**	0.131 n.s	0.648**	1
شاخص بنیه بذر Seed Vigor Index	0.277 n.s	-0.545**	0.48*	0.246 n.s	0.797**	0.977**	0.144 n.s	0.65**	0.189 n.s	0.063 n.s

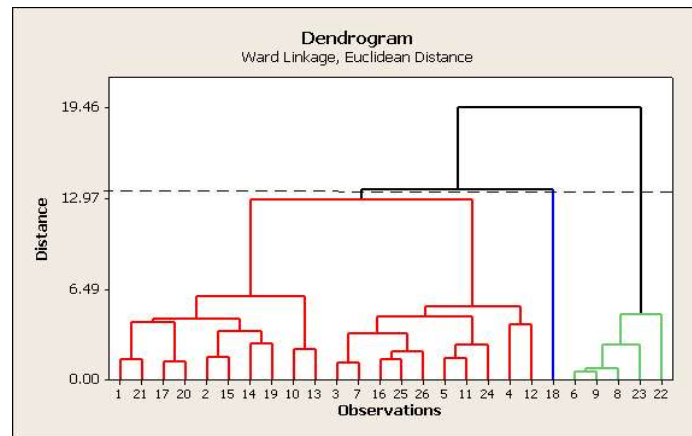
*, ** و *** به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد، n.s, * and ** non-significant, significant at 5% and 1% respectively.

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی یکی از روش‌های آماری چند متغیره برای گروه‌بندی بر پایه ضریب تشابه یا واریانس، کوواریانس در بین داده‌ها می‌باشد که اطلاعات مفیدتری درباره تمایز گروه‌های اصلی ارائه می‌کند (Bottini *et al.*, 2002). از سوی دیگر، امکان لینکاژ ژنتیکی یا آثار پلیوتروپیکی میان مجموعه صفاتی که در این روش تأکید می‌شوند وجود دارد (Rakonjac *et al.*, 2010). در این روش تغییرات موجود در متغیرهای اولیه پس از تجزیه با استفاده از تعداد کم‌تری متغیر که عامل

تجزیه تابع تشخیص

برای تأیید درستی محل برش از تابع تشخیص استفاده شد. به طوری که براساس دندروگرام به دست آمده از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های مربوط به هر گروه تخصیص یافت و به آن‌ها کد گروه مورد نظر داده شد. سپس تجزیه تابع تشخیص انجام یافت. نتایج تابع تشخیص نشان داد که ۱۰۰ درصد ژنوتیپ‌ها به گروه خود تعلق دارند. تجزیه تابع تشخیص برای آزمون درستی گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای توسط پژوهش‌گران دیگر نیز بررسی شده است (Jaynes *et al.*, 2003; Moreda *et al.*, 2003).



شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌های برنج در شرایط شوری براساس ۱۱ صفت مورد مطالعه
Figure 1. The dendrogram of cluster analysis of genotypes of rice in salinity conditions based on 11 traits

1:2, 2:4, 3:7, 4:10, 5:13, 6:15, 7:16, 8:19, 9:20, 10:21, 11:23, 12:25, 13:28, 14:31, 15:34, 16:35, 17:36, 18:40, 19:41, 20:42, 21:44, 22:48, 23:53, 24:55, 25:Hb₁, 26:Hb₂

جدول ۴- میانگین و درصد انحراف از میانگین کل کلاسترها برای صفات مختلف ژنوتیپ‌های برنج
Table 4. Mean and percentage of deviation from the all means of clusters for the different traits of rice genotypes

صفات Traits	کلاستر اول cluster 1 ۰.۲۳، ۰.۲۱، ۰.۱۶، ۰.۱۳، ۰.۱۰، ۰.۰۷، ۰.۰۴، ۰.۰۲	کلاستر دوم ۴۰ Cluster 2 40	کلاستر سوم ۴۸، ۲۰، ۱۹، ۱۵ ۵۳، Cluster 3 48.20.19.15.53	میانگین کل Mean total
درصد جوانه‌زنی Germination percentage	-0.34, 92.57	-3.1, 90	+0.88, 91.71	92.89
میانگین زمان جوانه‌زنی Mean germination time	-12.5, 2.66	-12.5, 2.26	+56.6, 4.61	3.04
سرعت جوانه‌زنی Germination rate	+8.5, 0.38	+5.7, 0.37	-28.5, 0.25	0.35
طول ساقه‌چه Plumule length	+10.9, 6.62	+8.2, 6.46	-19.8, 4.85	5.97
طول ریشه‌چه Radicle length	+6.3, 6.74	+43.6, 9.11	-33.6, 4.21	6.34
طول گیاه‌چه Seedling length	+5.7, 13.36	+24, 15.65	-28.2, 9.06	12.62
نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه Ratio of radicle length to plumule	-0.93, 1.07	+146.2, 2.66	-25.9, 0.80	1.08
وزن تر گیاه‌چه Wet weight of seedling	+3.4, 309.33	+17.3, 350.95	-17.1, 247.83	299.10
وزن خشک گیاه‌چه Dry weight of seedling	-10.3, 25.62	+115.7, 61.67	+18.3, 33.83	28.59
نسبت وزن خشک به تر Ratio of dry weight to wet	-36.3, 0.07	+727.2, 0.91	+18.1, 0.13	0.11
شاخص بنیه بذر Index seed vigor	+5.8, 12.42	+14.4, 13.43	-21.1, 8.66	11.73

می‌شود در گیاه برنج در شرایط شوری در جهت بالا رفتن مؤلفه اول تلاش کرد و این مؤلفه را متحمل به شوری نامید. مؤلفه دوم ۲۳٪ از کل تغییرات را توجیه کرد که طول ریشه‌چه، نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه و نسبت وزن خشک به تر گیاه‌چه با ضریب عاملی مثبت در این مؤلفه قرار گرفتند. بنابراین مؤلفه دوم را می‌توان به‌عنوان مؤلفه خصوصیات رویشی گیاه‌چه نام‌گذاری کرد. قربانی و همکاران (Ghorbani *et al.*, 2012) برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مختلف برنج با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌ها، تعداد ۳ عامل اصلی و مستقل را گزارش دادند که ۷۷/۷۲ درصد از تغییرات کل داده‌ها را توجیه کردند. مجیدی‌مهر و امیری (Majidi Mehr and Amiri, 2014) عنوان کردند براساس تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در شرایط شوری چهار عامل شناسایی شد که ۶۸/۱۰ درصد از تنوع کل داده‌ها را توجیه کردند.

نامیده می‌شود توجیه می‌شود و محقق را با تعداد مؤلفه‌ی کم‌تری نسبت به حجم زیادی از صفات مواجه می‌سازد. بدین ترتیب میزان نسبی که به‌وسیله‌ی هر عامل توجیه و به‌صورت درصد بیان می‌شود، بیانگر اهمیت عامل مذکور در واریانس کل صفات بررسی شده است. در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی سهم مؤلفه‌ها، سهم تجمعی و بردارهای مشخصه متناظر با هر ریشه به‌دست آمد (جدول ۵). تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، ۱۱ صفت مربوطه را به ۲ مؤلفه تقسیم کرد و براساس آن ۶۴ درصد از کل تغییرات داده‌ها را توجیه کرد. به‌طوری‌که ۴۱ درصد از تغییرات کل داده‌ها مربوط به مؤلفه اول بود و صفات طول ساقه‌چه، طول گیاه‌چه و شاخص بنیه بذر ضریب عاملی مثبت را نشان دادند. مؤلفه اول را می‌توان خصوصیات مرفولوژیک و بنیه گیاه‌چه معرفی کرد. با توجه به این‌که در این مؤلفه صفات مطلوب مورد بررسی، ضریب عاملی مثبت دارند، توصیه

جدول ۵- تجزیه به مؤلفه‌های اصلی ژنوتیپ‌های برنج در شرایط تنش شوری

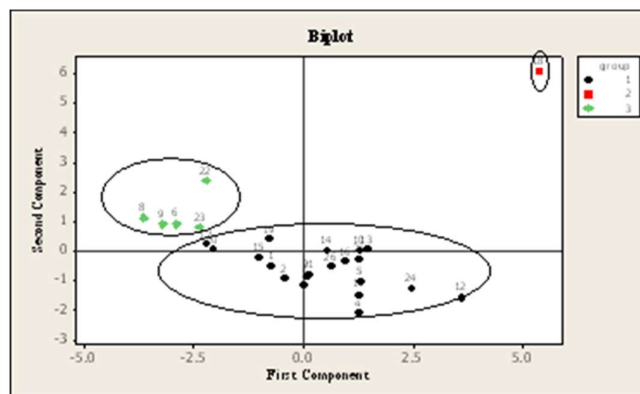
Table 5. Analysis of the main components of rice genotypes under salinity stress

صفات Traits	مؤلفه اول Component 1	مؤلفه دوم Component 2
درصد جوانه‌زنی Germination percentage	0.030	-0.140
میانگین زمان جوانه‌زنی Mean germination time	-0.328	0.233
سرعت جوانه‌زنی Germination rate	0.286	-0.272
طول ساقه‌چه Plumule length	0.279	<u>0.446</u>
طول ریشه‌چه Radicle length	<u>0.413</u>	-0.025
طول گیاه‌چه Seedling length	<u>0.415</u>	-0.183
نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه Ratio of radicle length to plumule	0.255	<u>0.40</u>
وزن تر گیاه‌چه Wet weight of seedling	0.298	-0.181
وزن خشک گیاه‌چه Dry weight of seedling	0.182	0.304
نسبت وزن خشک به تر Ratio of dry weight to wet	0.213	<u>0.541</u>
شاخص بنیه بذر Seed Vigor Index	<u>0.40</u>	-0.327
مقادیر ویژه Eigen value	4.557	2.507
واریانس نسبی Relative variance	0.41	0.23
واریانس تجمعی Cumulative variance	0.41	0.64

بای پلات

و دوم قرار گرفت بنابراین باتوجه به نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی دارای طول ساقه‌چه، طول گیاهچه، شاخص بنیه بذر و از طرفی طول ریشه‌چه، نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه و نسبت وزن خشک به تر گیاهچه بالایی دارند. بنابراین متحمل به تنش شوری می‌باشد. سایر لاین‌های مورد بررسی به‌همراه هیبریدهای Hb_1 و Hb_2 در قسمت پایین نمودار و در مکانی با مؤلفه دوم پایین تا متوسط و مؤلفه اول بالا تا پایین قرار گرفتند که این ژنوتیپ‌ها نیز نیمه متحمل به تنش شوری می‌باشند.

نمودار بای پلات (شکل ۲) نشان داد که لاین‌های ۱۵، ۱۹، ۲۰، ۴۸ و ۵۳ در سمت چپ نمودار یعنی در مؤلفه اول پایین و مؤلفه دوم بالا قرار گرفتند که این لاین‌ها با توجه به نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی دارای طول ساقه‌چه، طول گیاهچه و شاخص بنیه بذر پایینی می‌باشند و از طرفی طول ریشه‌چه، نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه و نسبت وزن خشک به تر گیاهچه مطلوبی دارند. بنابراین نیمه متحمل به تنش شوری می‌باشند. لاین ۴۰ به تنهایی در سمت راست نمودار و در مکانی با بیش‌ترین مؤلفه اول



شکل ۲- نمودار بای پلات ژنوتیپ‌های برنج در شرایط شوری براساس مؤلفه‌های اول و دوم

Figure 2. Biplot of rice genotypes under salinity conditions based on the first and second components

1:2, 2:4, 3:7, 4:10, 5:13, 6:15, 7:16, 8:19, 9:20, 10:21, 11:23, 12:25, 13:28, 14:31, 15:34, 16:35, 17:36, 18:40, 19:41, 20:42, 21:44, 22:48, 23:53, 24:55, 25:Hb₁, 26:Hb₂

خصوصیات مورد بررسی جوانه‌زنی بذر نیمه متحمل به تنش شوری می‌باشند. لاین‌های ۱۵، ۱۹، ۲۰، ۴۸ و ۵۳ در کلاستر سوم قرار گرفتند. با توجه به نتایج تجزیه کلاستر و بای پلات دارای سرعت جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، طول گیاهچه، وزن تر و شاخص بنیه بذر پایینی می‌باشند. بنابراین مشخص است که لاین‌های کلاستر سوم از لحاظ خصوصیات مورد بررسی جوانه‌زنی بذر از تحمل به شوری برخوردار نمی‌باشند. لاین ۴۰ به تنهایی در کلاستر دوم قرار گرفت و با توجه به نتایج تجزیه کلاستر و بای پلات از نظر کلیه صفات مطلوب بالاتر از میانگین کل بود. بنابراین از لحاظ خصوصیات مورد بررسی جوانه‌زنی بذر متحمل به تنش شوری می‌باشد. براساس نتایج این مطالعه، استفاده از این

نتیجه گیری

در این پژوهش ۲۶ ژنوتیپ مورد بررسی در سه کلاستر قرار گرفتند. ژنوتیپ‌های ۲، ۴، ۷، ۱۰، ۱۳، ۱۶، ۲۱، ۲۳، ۲۵، ۲۸، ۳۱، ۳۴، ۳۵، ۳۶، ۴۱، ۴۲، ۴۴، ۵۵ و Hb_2 در کلاستر اول قرار گرفتند و ژنوتیپ‌های این کلاستر از نظر سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول گیاهچه، وزن تر و شاخص بنیه بذر بالاتر از میانگین کل بودند. از طرفی این لاین‌ها و دو هیبرید در نمودار بای پلات در قسمت پایین نمودار و در مکانی با مؤلفه دوم پایین تا متوسط و مؤلفه اول بالا تا پایین قرار گرفتند که با توجه به نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی این ژنوتیپ‌ها به‌طور کلی از لحاظ خصوصیات مؤلفه اول و دوم در حد متوسطی قرار دارند بنابراین این ژنوتیپ‌ها از لحاظ

توصیه می‌شود که ارزیابی صفات متنوع‌تر همراه با اندازه‌گیری صفات کیفی انجام شود تا بتوان دامنه‌گزینش را گسترش داد. همچنین به‌عنوان پیشنهاد لازم است که آزمایش در شرایط مزرعه تحت تنش شرایط شوری تا مرحله عملکرد مورد ارزیابی قرار گیرد. تا بتوان با اطمینان بیش‌تری روی نتایج قضاوت کرد.

لاین برای برنامه‌های اصلاحی آینده برای تحمل به شوری توصیه می‌گردد. نتایج این بررسی گرچه اطلاعاتی را پیرامون توانمندی‌های موجود در ذخایر ژنتیکی برنج فراهم می‌نماید، ولی بکارگیری ژنوتیپ‌های بیش‌تر و ارزیابی طیف وسیع‌تری از ژرم‌پلاسسم موجود در ایران و جهان می‌تواند در تسریع و افزایش بازده اصلاح مفید باشد. همچنین

منابع

- Abdul-baki, A.A. and Anderson, J.D. 1975. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. *Crop Science*, 13: 630-633. **(Journal)**
- Bottini, N., Bottini, E., GloriaBottini, F. and Mustelin, T. 2002. Low molecular weight protein tyrosine phosphatase and human disease in search of biochemical mechanisms. *Journal of Biotechnology*, 10(2): 95-104. **(Journal)**
- Chalak, L., Chehade, A. and Kadri, A. 2007. Morphological characterization of cultivated almonds in Lebanon. *Fruits*, 62: 177-186. **(Journal)**
- Ellis, R.A. and Roberts, E.H. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Science and Technology*, 9: 373-409. **(Journal)**
- Espahbodi, K., Mirzaiee Nadoushan, H., Tabari, M., Akbarinia, M. and Dehghan Shooraki, Y. 2006. Investigation of genetic variation of wild service (*Sorbus torminalis* L. Crantz), using morphological analysis of fruits and leaves. *Pajouhesh and Sazandegi*, 72: 44-57. (In Persian)**(Journal)**
- FAO. 2007. FAO Annual statistics reports. Available from: <http://faostat.fao.org/site/567>. **(Website)**
- Farshadfar, E., Haghparast, R. and Qaitoli, M. 2008. Chromosomal localization of the genes controlling agronomic and physiological indicators of drought tolerance in barley using disomic addition lines. *Asian Journal of Plant Science*, 7(6): 536-543. (In Persian)**(Journal)**
- Flowers, T.J. and Flowers, S.A. 2005. Why does salinity pose such a different problem for plant breeders? *Agricultural Water Management*, 78: 15-24. **(Journal)**
- Forouzanfar, M., Nagavi, M., Jafari, A. and Nasiri Kamal Abadi, S.A. 2014. Study of salt tolerance in different ecotypes of annual Alfalfa (*Medicago truncatula* L.). *Rangeland and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 2(1): 43-54. (In Persian)**(Journal)**
- Francios, L. and Growth, E. 1994. Seed yield and oil content of canola grown under saline condition. *Agronomy Journal*, 86: 233-234. **(Journal)**
- Gholizadeh, F. 2012. Effect of salinity stress on the germination of rice genotypes. *Journal of Cellular-Molecular Biotechnology*, 5: 75-81. (In Persian)**(Journal)**
- Ghorbani, H.R., Samizadeh Lahiji, H., Rabiei, B. and Allahgholipour, M. 2012. Grouping different rice genotypes using factor and cluster analysis. *Journal of Agriculture and Stable Production*, 21(3): 90-104. (In Persian)**(Journal)**
- Jaynes, D.B., Kaspar, T.C., Colvin, T.S. and James, D.E. 2003. Cluster analysis of spatio temporal corn yield (atterns in a lowa field). *Agronomy Journal*, 95(3): 574-586. **(Journal)**
- Kotowski, F. 1926. Temperature relation to germination of vegetable seeds. *Proceeding of American Society of Horticulture Science*, 23: 176-184. **(Journal)**
- Majidi Mehr, O. and Amiri, F. 2014. Biochemical and chemical traits of different genotypes of rice under salt stress. *Journal of Grain*, 1: 45-58. (In Persian)**(Journal)**
- Mirdarmansouri, N., Babaeiyan Jelodar, N. and Bagheri, A. 2009. Evaluation of resistance of Iranian rice (*Oryza sativa* L.) under salt (NaCl). *Journal of Crop Science*, 2(3): 244-235. (In Persian) **(Journal)**
- Moemeni, A.S. and Mohammedan, G. 2009. Evaluation of rice genotypes for tolerance to salinity in Mazandaran. *Electronic Journal of Crop Production*, 2(2): 129-144. (In Persian)**(Journal)**

- Moreda, A.P., Fiher, A. and Hill, S.J. 2003. The classification of tea according to region of origin using pattern recognition techniques and trace metal data. *Journal of Food Composition and Analysis*, 16: 195-211. **(Journal)**
- Munns, R. and Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annuals Review of Plant Physiology*, 59: 651-681. **(Journal)**
- Rakonjac, V., Fotiric, M., Nikolic, D., Milatovic, D. and Colic, S. 2010. Morphological characterization of Oblacinska sour cherry by multivariate analysis. *Scientia Horticulturae*, 125: 679-684. **(Journal)**
- Scott, S.J., Jones, R.A. and Williams, W.A. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. *Crop Science*, 24: 1192-1199. **(Journal)**
- Sorkheh, K., Shiran, B., Khodambashi, M., Moradi, H., Gradziel, T.M. and Martínez-Gómez, P. 2010. Correlations between quantitative tree and fruit almond traits and their implications for breeding. *Scientia Horticulturae*, 125: 323-331. **(Journal)**
- Verma, O.P. and Srivastava, H.K. 2004. Genetic component and combining ability analysis in relation to heterosis for yield and associated traits using three diverse rice-growing ecosystems. *Field Crop Research*, 88: 91-102. **(Journal)**
- Weising, K., Nybom, H., Wolff, K. and Kahl, G. 2005. DNA fingerprinting in plants: Principles, methods and applications. 2nd Edition. Taylor and Francis Group. 444 p. **(Book)**



Grouping of rice genotypes on germination and seedling growth under salinity stress conditions

Kosar Mousavi¹, Zahra Khodarahmpour^{2*}, Abdolali Gilani³

Received: February 26, 2016

Accepted: May 1, 2016

Abstract

The research aimed to study the genetic diversity of 26 rice genotypes in 2013 at the Research Center for Agriculture and Natural Resources Khuzestan province factorial experiment in basis completely randomized design with 3 replications of 24 lines and 2 hybrid as the first factor and salinity stress with NaCl at 4 levels of zero (distilled water), 4, 8 and 12 mmoh/cm as the second factor was implemented. Traits of germination percent, mean germination time, germination rate, radicle length, plumule length, seedling length, ratio of radicle length to plumule, wet weight of seedling, dry weight of seedling, ratio of dry weight to wet and index seed vigor were studied. The principal components analysis, 11 studied traits is divided into 2 components on the basis of 64% of the data changes can be justified. Using cluster analysis were 26 genotypes in three clusters. Lines 15, 19, 20, 48 and 53, according to the results of cluster analysis and biplot rate germination, plumule length, radicle length, seedling length, weight and vigor index lower were. The third cluster lines do not have the tolerance to salinity. Lines 2, 4, 7, 10, 13, 16, 21, 23, 25, 28, 31, 34, 35, 36, 41, 42, 44, 55, with hybrids and Hb2 in the cluster were Hb1 according to principal component analysis and biplot half are salt tolerant. Line 40 was alone in the cluster according to the results of cluster analysis and biplot all traits germination, plumule length, radicle length, seedling length, radicle to plumule ratio, wet weight, dry weight, dry weight and seed vigor was higher than the overall mean and so is salt tolerant.

Key words: Genetic diversity; Multivariate analysis; Rice; Salinity

How to cite this article

Mousavi, K., Khodarahmpour, Z. and Gilani, A. 2017. Grouping of rice genotypes on germination and seedling growth under salinity stress conditions. Iranian Journal of Seed Science and Research, 4(1): 89_100. (In Persian)(Journal)
DOI: [10.22124/jms.2017.2250](https://doi.org/10.22124/jms.2017.2250)

COPYRIGHTS

Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research
The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit <http://jms.guilan.ac.ir/>

1- MSc. Student of Plant Breeding, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

2- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran

3- Research Assistant Professor Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREO), Agricultural and Natural Resources Research Center of Khuzestan, Ahvaz, Iran

*Corresponding Author: Zahra_khodarahm@yahoo.com