

بررسی تنش یخ‌زدگی بر عملکرد، اجزاء عملکرد و تعدادی از صفات بیوشیمیایی در ژنوتیپ-های کلزا

اکبر عبدالمهی حصار^۱، امید سفالیان^{۲*}، بهرام علیزاده^۳، علی اصغری^۴، حسن زالی^۴

۱. دانشجوی دکتری اصلاح نباتات گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

۲. استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

۳. دانشیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج

۴. استادیار، بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، داراب

مشخصات مقاله	چکیده
واژه‌های کلیدی: صفات مورفولوژیک و بیوشیمیایی تجزیه واریانس همبستگی عملکرد	تنش سرما و یخ‌زدگی یکی از عوامل محیطی است که بر میزان تولید محصول و سایر صفات مهم آگرونومیک در بسیاری از گونه‌های گیاهی تأثیرگذار است. کلزا به تنش یخ‌زدگی حساس است و تا ۷۰ درصد کاهش عملکرد نشان می‌دهد. این پژوهش به منظور شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم به تنش یخ-زدگی، ارزیابی اثرات تنش یخ‌زدگی بر روی عملکرد و اجزاء عملکرد و همچنین صفات فیزیولوژیک به منظور شناسایی و اصلاح صفات متأثر از تنش مذکور طراحی و اجرا گردید. آزمایش بر روی ۲۴ ژنوتیپ کلزای زمستانه و دو تاریخ کشت متفاوت به صورت کشت نرمال و کشت تأخیری در قالب طرح کرت‌های خردشده بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۹۸-۱۳۹۷ در اراضی کشاورزی شهر تیکمه داش از توابع استان آذربایجان شرقی اجرا شد. اثرات تنش یخ‌زدگی برای سه صفت تعداد غلاف در بوته، وزن هزار دانه و عملکرد در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد. میانگین مربعات ژنوتیپ‌ها برای دو صفت تعداد دانه در غلاف و عملکرد در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شده است. میانگین مربعات تنش از نظر میزان کلروفیل b، پرولین، قندهای محلول، نشت الکترولیت، مالون‌دی‌آلدهید و سوپراکسید دیسموتاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. همچنین در بین ژنوتیپ‌ها نیز از نظر صفات فوق‌الذکر در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت. لاین KS7 دارای بیشترین میانگین عملکرد و کمترین آن مربوط به لاین L62 است. هم در شرایط تنش و هم در شرایط بدون تنش میزان عملکرد کل همبستگی مثبت و معنی‌داری با تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در غلاف نشان داد. بر اساس نتایج تجزیه به عامل‌ها ۴ عامل برای هر یک از شرایط بدون تنش و تنش یخ‌زدگی شناسایی شد که در حالت بدون تنش ۷۷/۵۲ درصد از کل واریانس و در حالت تنش یخ‌زدگی ۸۱/۰۶ درصد از کل واریانس را توجیه نمودند.

مقدمه

دانه‌های روغنی پس از غلات دومین ذخایر غذایی جهان را تشکیل می‌دهند. این محصولات علاوه بر دارا بودن ذخایر غنی اسیدهای چرب، حاوی پروتئین نیز می‌باشند. استفاده از پروتئین‌های گیاهی به جای گوشت و نیز معرفی دانه‌های روغنی جدیدی چون کلزا به بازارهای جهانی، سبب افزایش روزافزون اهمیت این محصولات شده است. در این میان کلزا

دانه‌های روغنی پس از غلات دومین ذخایر غذایی جهان را تشکیل می‌دهند. این محصولات علاوه بر دارا بودن ذخایر غنی اسیدهای چرب، حاوی پروتئین نیز می‌باشند. استفاده از پروتئین‌های گیاهی به جای گوشت و نیز معرفی دانه‌های روغنی جدیدی چون کلزا به بازارهای جهانی، سبب افزایش روزافزون اهمیت این محصولات شده است. در این میان کلزا

مختلفی دارند به‌عنوان مثال تنش سرما باعث تجمع بالای ترکیبات محلول‌های سازگار می‌شود که این ترکیبات تأثیری در میزان pH سلول نداشته و از نظر فیزیولوژی غیر سمی در غلظت بالا هستند و باعث حفظ فشار اسمزی و همچنین باعث تثبیت ساختار پروتئین و غشاء تحت تنش می‌شوند که نقش مهمی در سازگاری سلول به تنش‌های مختلف دارند (Ashraf and Foolad, 2007). پرولین یکی از مهم‌ترین این نوع ترکیبات است که از دو مسیر گلوتامات و اورنیتین سنتز می‌شود که تحت تنش سرما به مقدار زیادی سنتز آن افزایش می‌یابد (Ashraf and Foolad, 2007). بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که وجود سطوح پرولین بالا در گیاهان متحمل، در تنظیم اسمزی گیاه نقش دارد. در صورتی که در بسیاری از موارد، تنظیم اسمزی نتیجه تجمع پرولین نیست، بلکه پرولین در سایر مکانیسم‌ها مانند حفاظت از تخریب تنظیم اسمزی نقش دارد. تجمع املاح سازگار حاوی پرولین به‌عنوان ماده‌ای جهت تنظیم اسمزی، حفاظت از مولکول‌های درشت سلولی از تخریب شوری، ذخیره نیتروژن و زدایش رادیکال‌های آزاد شناخته می‌شوند (Chookhampaeng et al., 2008). این تغییرات به‌طور مستقیم، در تحمل به تنش درگیر بوده و از عناصر فعال در تحمل به تنش‌های محیطی به‌خصوص تنش سرما محسوب می‌شوند (Wang et al., 2013). به‌علاوه پرولین می‌تواند همانند عمل آنتی‌اکسیدانت-ها در مکانیسم‌های مهار یک جاروب کننده ROS نیز باشد (Rahimzadeh et al., 2007). افزایش پرولین به حفظ تورم و کاهش خسارت غشاء در گیاهان منجر می‌شود. بدین ترتیب با روش تنظیم فشار اسمزی تحمل به تنش افزایش می‌یابد (Mantri et al., 2007).

سنتز کلروفیل یکی از فرآیندهای بسیار حساس به تغییرات دمایی است و به‌عنوان روشی کمی برای اندازه‌گیری حساسیت به سرما در گونه‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد (Colom and Vazzana, 2001). کاهش فتوسنتز القاشده به‌وسیله‌ی دمای پایین یک پاسخ شناخته‌شده گیاهان حساس به تیمار سرما است (Yadegari et al., 2007). بررسی غلظت مالون‌دی‌آلدهید (MDA)^۱ بافت گیاهی می‌تواند بیان‌گر میزان تخریب غشای سلولی باشد، زیرا این ترکیب تحت تأثیر تخریب و پراکسیده شدن غشای سلولی آزاد می‌شود (Bhattacharjee and mukherjee, 2002).

بیشترین سطح برداشت در سال زراعی ۱۳۸۶ با ۱۹۸۹۹۰ هکتار و تولید ۳۱۹۳۹۸ تن و سطح برداشت سال ۱۳۹۶ حدود ۱۰۳۰۴۴ هکتار و تولید ۱۸۵ هزار تن بوده است (FAO, 2017).

گیاهان همواره در معرض طیف وسیعی از تنش‌های محیطی هستند که این تنش‌ها چه زیستی و چه غیرزیستی به‌شدت بر میزان رشد و تولید آن‌ها اثر می‌گذارد. پاسخ گیاهان به این تنش‌ها، پیچیده و قابل بازگشت یا غیرقابل بازگشت بوده و به نوع بافت یا ارگانی که تحت تنش قرار گرفته بستگی دارد (Ciarmiello et al., 2011). گیاهان به علت استقرار ثابت در خاک، امکان فرار از تنش غیرزنده را ندارند. تنها گزینه برای گیاهان این است که برای مقابله با تأثیرات تنش، فعالیت‌های فیزیولوژیکی، سازوکارهای متابولیکی، تجلی ژن و فعالیت‌های نموی را اصلاح و تغییر دهند (Rampino et al., 2006).

تنش سرما و یخ‌زدگی یکی از عوامل محیطی است که بر میزان تولید محصول و سایر صفات مهم زراعی در بسیاری از گونه‌های گیاهی تأثیرگذار است (Shah et al., 2015). خسارت ناشی از دمای پایین در گیاهان به دو بخش خسارت تنش سرمازدگی و یخ‌زدگی تقسیم می‌شود. در حالت اول دمای بالای نقطه انجماد (بیشتر از صفر درجه سانتی‌گراد) و در حالت دوم دمای کمتر از نقطه انجماد (کمتر از صفر درجه سانتی‌گراد) است (Roy and Basu, 2009). میزان خسارت یخ‌زدگی به فاکتورهای مهم زیادی از قبیل مدت و شدت تنش یخ‌زدگی، مراحل مختلف دوره رشد گیاه و میزان رطوبت هوا بستگی دارد (Fiebelkorn and Rahman, 2016).

محققان زیادی اظهار داشتند که تأخیر در کاشت کلزا سبب کاهش عملکرد دانه و اجزای عملکرد دانه و مقدار روغن و نیز کاهش تعداد روز تا شروع گلدهی و تعداد روز تا رسیدن می‌شود (Mandal et al., 1994; Johnson et al., 1995). مطالعات لابانا و همکاران (Labana et al., 1993) روی ارقام مختلف جنس براسیکا نشان داد که تحت شرایط تنش یخ‌زدگی و سرما صفاتی مانند تعداد برگ روی ساقه اصلی، تعداد شاخه‌های اولیه، طول خورجین و تعداد دانه در خورجین متأثر نمی‌شوند. ارتفاع بوته ابتدا کاهش و سپس با رشد در گیاهان خونگرفته به‌شدت کاهش نشان می‌دهند. گیاهان در مقابل تنش‌های مختلف، مکانیسم‌های دفاعی

¹. Malondialdehyde

خاک محل آزمایش از نوع لوم رسی بود. عملیات تهیه زمین شامل شخم و دیسک، در پاییز اجرا گردید. هنگام تهیه زمین بر اساس آزمون خاک ۲۰ کیلوگرم کود سوپر فسفات در یک نوبت هم‌زمان با کشت و مقدار ۳۰ کیلوگرم کود اوره در دو نوبت مرحله دوبرگی (پاییز) و بعد از مرحله روزت (بهار) به خاک اضافه گردید. فاصله بلوک‌ها از یکدیگر ۳ متر و فاصله کرت‌ها ۹۰ سانتی‌متر و هر کرت شامل چهار خط چهارمتری با فاصله ۳۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. عملیات کاشت به‌صورت دستی انجام گرفت به‌طوری‌که بذور در عمق ۳-۲ سانتی‌متری قرار گرفت و عملیات تنک در مرحله ۶-۵ برگی انجام شد به‌طوری‌که تراکم به ۱۰۰ بوته در مترمربع رسید مبارزه با علف‌های هرز نازک برگ با سم سوپرگالانت صورت گرفت و آبیاری به‌صورت منظم در طول فصل رشد انجام گردید. پس از حذف اثرات حاشیه‌ای از ابتدا، انتها و کنار هر کرت از دو ردیف میانی هر کرت تعداد پنج بوته به‌طور تصادفی انتخاب و صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری صفات پس از زمستان‌گذرانی و در طول فصل رشد و تعدادی از آن‌ها نیز پس از برداشت محصول انجام گردید آخرین دمای یخبندان دیررس بهاره در هفته اول اردیبهشت اتفاق افتاد که کمینه دما به ترتیب ۰/۶-، ۰/۴-، ۰/۳-، ۰/۴-، ۰/۶- و ۱- درجه سلسیوس در طول ایام هفته ثبت شد و نمونه‌های مربوط به صفات بیوشیمیایی بعد از آن تهیه و به آزمایشگاه منتقل گردید.

صفات مورفولوژیک

صفات مورفولوژیک شامل تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و وزن هزار دانه بود. عملکرد دانه در هکتار پس از برداشت محصول به‌صورت جداگانه برای هر کرت اندازه‌گیری و محاسبه گردید.

صفات فیزیولوژیک

صفات فیزیولوژیک شامل میزان کلروفیل برگ است.

صفات بیوشیمیایی

صفات بیوشیمیایی شامل پرولین، مالون‌دی‌آلدید، فندهای محلول، درصد نشت الکترولیت و سوپراکسید دیسموتاز است. برای اندازه‌گیری صفات مذکور در اردیبهشت ۹۸ پس از سپری شدن یخبندان‌ها و سرمای دیررس بهاره از برگ

کشور ما با مشکل کمبود روغن روبه‌روست و همچنین کلزا می‌تواند در تناوب گندم قرار گیرد، از طرف دیگر کلزا گیاهی است که در پاییز کشت می‌شود و ممکن است با سرما و یخبندان مواجه شود. در نتیجه شناسایی ارقام متحمل به دماهای پایین می‌تواند محققان را در اصلاح ارقام جدید یاری کرده و انعطاف‌پذیری انتخاب تاریخ کشت مناسب برای کشاورزان را نیز افزایش دهد. بررسی‌های مختلفی به‌منظور ارزیابی ژنوتیپ‌های کلزا در برابر تنش سرما از نظر صفات مورفولوژیک و یا بیوشیمیایی صورت گرفته است ولی تحقیقات معدودی جهت مطالعه توأم صفات مذکور انجام شده است. ارقام مختلف از نظر خصوصیات فیزیولوژیکی متفاوتی که در برابر تنش از خود نشان خواهند داد می‌توانند ضمن به حداقل رساندن خسارت به محصول، در برنامه‌های اصلاحی آینده محققان در این خصوص به کار آیند. این پژوهش به‌منظور شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم به تنش یخ‌زدگی، ارزیابی اثرات تنش یخ‌زدگی روی عملکرد و اجزاء عملکرد و همچنین صفات فیزیولوژیک به‌منظور شناسایی و اصلاح صفات متأثر از تنش مذکور طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش تعداد ۲۴ ژنوتیپ کلزای پاییزه از بخش دانه‌های روغنی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه گردید که اسامی و مشخصات آن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. ژنوتیپ‌های انتخابی شامل تعدادی از لاین‌های امیدبخش و ارقام آزادگرده‌افشان و هیبرید کلزا بود. منشأ ژنوتیپ SLM046 کشور آلمان، Opera کشور سوئد، Okapi، Natatli و Hydromel از کشور فرانسه و بقیه ژنوتیپ‌ها همگی منشأ ایرانی دارند. آزمایش با دو تاریخ کشت متفاوت به‌صورت کشت نرمال در تاریخ ۱۳۹۷/۶/۱۰ و کشت تأخیری در تاریخ ۱۳۹۷/۶/۲۵ در قالب طرح کرت‌های خردشده بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۹۸-۱۳۹۷ در اراضی کشاورزی شهر تیکمه داش از توابع استان آذربایجان شرقی با ارتفاع ۱۸۵۳ متر از سطح دریا و طول و عرض جغرافیایی به ترتیب ۳۷ درجه و ۴۳ دقیقه شمالی و ۴۶ درجه و ۵۸ دقیقه شرقی، میانگین بارش سالانه ۲۷۰ میلی‌متر، حداکثر دما ۳۰ درجه سانتی‌گراد بالای صفر و حداقل دما ۳۵ درجه سانتی‌گراد زیر صفر اجرا شد متوسط بارندگی، حداقل و حداکثر دمای ماهانه در جدول ۲ ارائه شده است.

الکترولیت‌ها بر اساس روش لوتس و همکاران (Lutts et al., 1996)، انجام شد.

تجزیه و تحلیل‌های آماری شامل تجزیه واریانس، مقایسه میانگین‌ها به روش LSD، تعیین همبستگی بین صفات، تجزیه به عامل‌ها با استفاده از روش تابع تشخیص با بهره‌گیری از نرم‌افزار SAS و Excel انجام شد. همچنین جهت بهبود قابلیت تفسیر عامل‌ها از روش وریماکس برای چرخش عملی اورتوگونال استفاده شد.

بوته‌های هر کرت نمونه‌گیری و در فویل‌های آلومینیومی بسته‌بندی سپس در تانک نیتروژن مایع قرار داده شد و به یخچال آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انتقال داده شد. اندازه‌گیری میزان کلروفیل با استفاده از روش تغییر یافته آرنون (Arnon, 1949)، میزان پرولین به روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973)، میزان مالون‌دی‌آلدهید بر اساس روش نورین و اشرف (Noreen and Ashraf, 2002)، قندهای محلول کل با استفاده از روش تغییر یافته اشلیگل (Sheligi, 1986) و میزان نشت

جدول ۱. مشخصات ژنوتیپ‌ها و لاین‌های امیدبخش کلزا

Table 1. Characteristics of cultivars and promising lines in canola

شماره No.	ژنوتیپ‌ها Genotypes	نوع ژنوتیپ Genotype type	شماره No.	ژنوتیپ‌ها Genotypes	نوع ژنوتیپ Genotype type
1	SLM046	Open Pollinated	13	Zarfam	Open Pollinated
2	Opera	Open Pollinated	14	Nafis	Open Pollinated
3	L963	Inbred Line	15	HW101	Inbred Line
4	Okapi	Open Pollinated	16	Licord	Open Pollinated
5	L62	Inbred Line	17	KS7	Inbred Line
6	Nima	Open Pollinated	18	L14	Inbred Line
7	KH4	Inbred Line	19	SW101	Inbred Line
8	Talayeh	Open Pollinated	20	L1008	Inbred Line
9	L957	Inbred Line	21	L83	Inbred Line
10	Ahmadi	Open Pollinated	22	L120	Inbred Line
11	KR18	Inbred Line	23	Natali	Hybrid
12	L1009	Inbred Line	24	Hydromel	Hybrid

جدول ۲. مقادیر متوسط ماهانه بارش، دمای حداقل و حداکثر در ایستگاه هواشناسی بستان آباد در سال زراعی ۱۳۹۷-۱۳۹۸

Table 2. Monthly mean values of precipitation, minimum and maximum temperature in Bostanabad station in 2018-2019

Month	ماه	میانگین حداقل دما Min temp (⁰ C)	میانگین حداکثر دما Max temp (⁰ C)	میزان بارش Precipitation (mm)
Sep.	شهریور	10.4	28.4	1
Oct.	مهر	16.7	20.8	0.6
Nov.	آبان	1.1	11.3	0.6
Dec.	آذر	-0.1	7.4	1.3
Jan.	دی	-5.5	2.8	1.4
Feb.	بهمن	-6.3	3.8	2.3
Mar.	اسفند	2.3	6	2.5
Apr.	فروردین	1.9	11.1	2.5
May.	اردیبهشت	3.9	17.9	1
Jun.	خرداد	10.3	27	0.9
Jul	تیر	13.2	31.2	0

نتایج و بحث

عملکرد معنی‌دار نبود ولی صفات مذکور تحت تأثیر ژنوتیپ قرار گرفتند و علاوه بر این اثر برهمکنش ژنوتیپ و تنش تنها بر عملکرد دانه در سطح یک درصد از نظر آماری معنی‌دار گردید (جدول ۲).

نتایج تجزیه واریانس برای عملکرد و اجزاء عملکرد در جدول ۳ و برای صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش یخ‌زدگی بر هیچ‌کدام از صفات مربوط به عملکرد و اجزای

جدول ۳. تجزیه واریانس عملکرد و اجزای عملکرد ژنوتیپ‌های کلزا در شرایط بدون تنش و تنش یخ‌زدگی

Table 3. Analysis of variance of yield and yield components of the canola genotypes in non-stress and frost stress conditions

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی d.f	Mean of squares		میانگین مربعات	
			تعداد غلاف در بوته NPP	تعداد دانه در غلاف NSP	وزن هزار دانه TSW	عملکرد Yield
Replication	بلوک	2	13006.9 ^{ns}	62.01 ^{**}	4.69 ^{ns}	7602025*
Stress (S)	تنش	1	16325.38 ^{ns}	3.66 ^{ns}	11.49 ^{ns}	7591026 ^{ns}
Error a	خطای a	2	1538.81	2.12	1.32	451635.74
Genotype (G)	ژنوتیپ	23	840.27*	13.85 ^{**}	0.87*	980975.9 ^{**}
G * S	ژنوتیپ * تنش	23	381.08 ^{ns}	3.15 ^{ns}	0.65 ^{ns}	344842.8 ^{**}
Error b	خطای b	92	500.88	6.55	0.45	102334.94
CV (%)	ضریب تغییرات (%)	-	27.27	11.08	20.26	41.16

NPP: تعداد غلاف در بوته؛ NSP: تعداد دانه در غلاف؛ TSW: وزن هزار دانه

*, ** و ^{ns} به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیر معنی‌دار

NPP: Number of pods per plant; NSP: Number seed per pod; TSW: Thousand seed weight

*, ** and ^{ns} significant 5% and 1% probability and non-significant respectively

Opera (۳/۹۴) و Nafis (۳/۸۸) بیشترین و ژنوتیپ Nima با مقدار ۲/۷۵ گرم کمترین میزان را داشتند. از آنجاکه تعداد غلاف در بوته، دربرگیرنده تعداد دانه و نیز تأمین‌کننده مواد فتوسنتزی موردنیاز دانه و در نتیجه وزن دانه است، بنابراین یکی از اجزای مهم عملکرد به شمار می‌رود (Moradbeigi et al., 2020). طبق این پژوهش، کاهش عملکرد، ناشی از کاهش تعداد غلاف در بوته، به‌عنوان اجزای عملکرد دانه است. نتایج تحقیق دیگری نشان داد تعداد غلاف در بوته کلزاهای مربوط به کشت‌های دیرهنگام، کاهش یافت ولی تعداد دانه در غلاف آن‌ها بیشتر بود و این امر افت عملکرد را تا حدودی جبران می‌کرد (Lutman and Dixon, 1987). وزن هزار دانه آخرین جزء عملکرد است که در گیاه شکل می‌گیرد. در نتیجه هر چه که دانه زودتر تشکیل گردد و بیشتر روی بوته بماند، فرصت بیشتری برای انباشت مواد ذخیره‌ای پیدا می‌کند که در تاریخ کشت‌های زود هنگام نسبت به دیرهنگام این اتفاق می‌افتد (Mirzaei et al., 2010).

همچنین نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش بر صفات پرولین، قندهای محلول، نشت الکترولیت، مالون‌دی‌آلدئید و سوپراکسید دیسموتاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شده است. علاوه بر این تمام صفات موجود در جدول ۴ تحت تأثیر ژنوتیپ و اثر برهمکنش تنش یخ‌زدگی و ژنوتیپ قرار گرفتند (جدول ۴).

نتایج مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها برای صفات مورداندازه‌گیری به‌صورت توأم برای شرایط بدون تنش و تنش یخ‌زدگی برای اثرات ساده در جدول ۵ نشان داده شده است. در صفت تعداد غلاف در بوته، لاین‌های L14 (۹۷/۱)، L83 (۹۶/۴۷)، L1008 (۹۶/۲۳)، Opera (۹۳/۵۷)، Hydromel (۹۳/۴۷) و L957 (۹۰/۹۳) بیشترین و لاین L120 (۵۴/۲۶) و L62 (۵۸/۷۲) کمترین تعداد را داشتند. ژنوتیپ Okapi (۲۵/۵) لاین‌های L963 (۲۵/۱۷)، L957 (۲۵/۱۳) و L1009 (۲۵/۰۴) دارای بیشترین و ژنوتیپ KR18 (۱۹/۳۹) دارای کمترین تعداد دانه در غلاف بودند. از نظر صفت وزن هزار دانه، لاین HW101 (۳/۹۶)، ژنوتیپ‌های

جدول ۴. تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در ژنوتیپ‌های کلزا در شرایط بدون تنش و تنش یخ‌زدگی

Table 4. Analysis of variance of physiological and biochemical traits of the canola genotypes in non-stress and frost stress conditions

S.O.V	منابع تغییرات	درجه		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	پرولین
		آزادی	d.f	Chl. a	Chl. b	Chl. t	Pro.
Replication	بلوک	2	2	9.4**	0.31 ^{n.s}	13.11**	1.6 ^{n.s}
Stress	تنش	1	1	0.08 ^{n.s}	2.7 ^{n.s}	3.67 ^{n.s}	462.46**
Error a	خطای a	2	2	0.23	0.52	0.24	0.04
Genotype	ژنوتیپ	23	23	10.76**	2.31**	20.38**	88.27**
Genotype * stress	ژنوتیپ * تنش	23	23	13.86**	2.49**	22.80**	59.2**
Error b	خطای b	92	92	0.9	0.31	1.04	2.98
CV (%)	ضریب تغییرات (%)	-	-	10.61	10.25	7.1	7.8

Table 4. Continued

جدول ۴. ادامه

S.O.V	منابع تغییرات	درجه		درصد نشت	مالون دی‌آلدهید	سوپراکسید
		آزادی	d.f	الکترولیت‌ها	MDA	دیسموتاز
				EL		SOD
Replication	بلوک	2	2	6.37 ^{n.s}	3.21 ^{n.s}	0.14 ^{n.s}
Stress	تنش	1	1	899.05**	558.53**	30.17**
Error a	خطای a	2	2	13.15	4.37	0.33
Genotype	ژنوتیپ	23	23	176.78**	106.47**	7.04**
Genotype * stress	ژنوتیپ * تنش	23	23	116.82**	71.79**	4.38**
Error b	خطای b	92	92	2.86	2.62	0.43
CV (%)	ضریب تغییرات (%)	-	-	7.6	12.09	14.77

** و ^{ns} به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیر معنی‌دار

Chla: Chlorophyll a; Chlb: Chlorophyll b; Chlt: Chlorophyll total; Pro: Proline; SS: Soluble Sugars; EL: Electrolyte Leakage; MDA: Malondialdehyde; SOD: Superoxide dismutase

** and ^{ns} significant 1% probability and non-significant respectively

بیوشیمیایی را محدود نمی‌کند و طی تنش اسمزی نقش محافظ اسمزی را ایفا می‌کند (Çiçek and Çakırlar, 2002). اشرف و فولاد (Ashraf and Foolad, 2007) اظهار داشتند وجود غلظت‌های بالایی از پرولین و یا بتائین در گیاه باعث افزایش مقامت تنش سرما از طریق افزایش میزان ایمنی در برابر عواقب نامطلوب بیولوژیکی ناشی از اختلالات ترمودینامیکی، در اثر کمبود آب ناشی از تنش سرما می‌گردد. از سوی دیگر پرولین می‌تواند در آب پوشی لایه احاطه‌کننده فسفولیپیدها نقش داشته و با گروه‌های سر فسفولیپیدها برهمکنش انجام دهد (Sivakumar et al., 2000). پرولین در محافظت از غشاهای تایلاکوئیدی کلروپلاست در برابر رادیکال‌های آزاد ناشی از آسیب‌های نوری نیز نقش دارد (Ashraf and Foolad, 2007).

مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش یخ‌زدگی و ژنوتیپ در جدول شماره ۶ نشان داده شده است. میزان عملکرد همه ژنوتیپ‌ها در شرایط نرمال بیشتر از شرایط تنش است. لاین KS7 در شرایط نرمال با ۲۴۵۰/۲۱ کیلوگرم در هکتار و ژنوتیپ Opera در شرایط تنش یخ‌زدگی با ۱۲۴۴ کیلوگرم در هکتار بیشترین عملکرد را نشان دادند. همچنین ژنوتیپ Opera کمترین کاهش عملکرد را در اثر تنش یخ‌زدگی نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها از خود نشان داد. میزان پرولین در اثر تنش یخ‌زدگی در همه ژنوتیپ‌ها افزایش یافته است. ژنوتیپ Licord با ۳۵ میکرو مول برگرم بیشترین میزان پرولین در شرایط تنش را نشان داد. با تجمع پرولین، پتانسیل اسمزی واکوئل‌ها کاهش یافته و گیاه در برابر تنش متحمل‌تر می‌شود. تصور می‌شود که پرولین جمع شده تحت تنش‌های محیطی، واکنش‌های

جدول ۵. مقایسه میانگین صفات با استفاده از روش LSD در ۲۴ ژنوتیپ کلزا

Table 5. Mean comparison of traits by LSD method in 24 rapeseed genotypes

ژنوتیپ‌ها Genotypes	تعداد غلاف در بوته NPP	تعداد دانه در غلاف NSP	وزن هزار دانه (گرم) TSW (g)	عملکرد Yield
SLM046	71.23 ^{a-c}	23.97 ^{a-d}	3.49 ^{a-c}	687.9 ^{e-k}
Opera	93.57 ^a	21.95 ^{b-f}	3.94 ^a	1383 ^{a-c}
L963	78.70 ^{a-c}	25.17 ^a	3.25 ^{a-c}	835.3 ^{d-j}
Okapi	8.23 ^{a-c}	25.5 ^a	3.1 ^{b-c}	668.4 ^{e-k}
L62	58.72 ^c	22.63 ^{a-f}	3.22 ^{a-c}	107 ^l
Nima	75.23 ^{a-c}	23.83 ^{a-d}	2.75 ^c	1240.4 ^{a-d}
KH4	80.6 ^{a-c}	25.06 ^{a-c}	3.48 ^{a-c}	504.3 ^{g-l}
Talaye	89 ^{ab}	23.12 ^{a-c}	3.48 ^{a-c}	948.1 ^{b-h}
L957	90.93 ^a	25.13 ^a	3.28 ^{a-c}	1439.8 ^{ab}
Ahmadi	81.23 ^{a-c}	25.08 ^{a-c}	3.04 ^{b-c}	556.7 ^{f-l}
KR18	86.83 ^{ab}	19.93 ^f	3.03 ^{b-c}	375.7 ^{j-l}
L1009	87.6 ^{ab}	25.04 ^a	3 ^{b-c}	902.8 ^{c-i}
Zarfam	61.18 ^{bc}	25.59 ^{ab}	3.3 ^{a-c}	784.1 ^{d-j}
Nafis	76.83 ^{a-c}	22.70 ^{a-f}	3.88 ^a	962.4 ^{b-g}
HW101	73.4 ^{a-c}	23.16 ^{a-d}	3.96 ^a	426.1 ^{i-l}
Licord	80.67 ^{a-c}	21.93 ^{b-f}	2.93 ^{c-e}	1068.7 ^{b-c}
KS7	87.47 ^{ab}	23.06 ^{a-e}	3.19 ^{b-c}	1699.9 ^a
L14	97.1 ^a	22.99 ^{a-c}	3.26 ^{a-c}	532.2 ^{f-l}
SW101	89.27 ^{ab}	23.22 ^{a-d}	3.72 ^{ab}	451.1 ^{h-l}
L1008	96.23 ^a	22.63 ^{a-f}	3.56 ^{a-d}	1011.9 ^{b-f}
L83	96.47 ^a	22.94 ^{a-c}	3.28 ^{a-c}	227.9 ^{kl}
L120	54.26 ^c	20.25 ^{ef}	3.29 ^{a-c}	264.8 ^{kl}
Natalli	87.2 ^{ab}	21.26 ^{c-f}	3.64 ^{a-c}	617.4 ^{e-k}
Hydromel	93.47 ^a	21.06 ^{d-f}	2.83 ^{de}	958.4 ^{b-g}

NPP: تعداد غلاف در بوته؛ NSP: تعداد دانه در غلاف؛ TSW: وزن هزار دانه

اختلاف میانگین‌های هر ستون که دارای حروف مشترک هستند از نظر آماری در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار نمی‌باشند.

NPP: Number of pods per plant; NSP: Number seed per pod; TSW: Thousand seed weight

Means followed by similar letters in each column are not significant at %5 probability level

شرایط تنش در ژنوتیپ Licord با مقدار ۴۱/۷۰ میلی‌گرم مشاهده گردید. غلظت مواد درونی از جمله میزان قندهای محلول با از دست دادن تدریجی آب گیاه، افزایش می‌یابد و خسارات حاصل از تنش به حداقل می‌رسد (Honty et al., 2008). تأثیر تنش سرما بر فعالیت غشاء و در نتیجه نشت الکترولیت‌ها، با توجه به تحمل به یخ‌زدگی گونه‌های مختلف گیاهی تفاوت دارد، لذا اندازه‌گیری میزان نشت یونی، گزینه‌ی مناسبی جهت سنجش مقاومت به یخ‌زدگی است. در نتیجه پایین بودن میزان نشت یونی در ژنوتیپ‌های Nima و Licord نشان‌دهنده تحمل مناسب آن‌ها به تنش یخ‌زدگی است. ژنوتیپ Licord همچنین بیشترین میزان مالون‌دی‌آلدهید و سوپراکسید دیسموتاز در شرایط تنش را نشان داد. بوربولیس و همکاران (Burbulis et al., 2011) تغییرات میزان پرولین و قندهای محلول را در پاسخ به سازگاری به سرما در ژنوتیپ‌های زمستانه کلزا (Insider, Sunday, Valeska, Siska) مورد بررسی قرار دادند.

بیشترین مقدار کلروفیل در شرایط تنش، مربوط به لاین L957 با مقدار ۱۶/۰۴ بود. رنگی‌های فتوسنتزی در گیاهان نقش مهمی در به دام انداختن نور بر عهده‌دارند. هر دو کلروفیل a و b نسبت به تنش‌های محیطی حساس می‌باشند (Anjum et al., 2011; Farooq et al., 2009). همان‌طور که فتوسنتز تحت تنش سرما کاهش می‌یابد، احیا شدن بیش‌ازحد زنجیره‌ی انتقال الکترون فتوسنتزی منجر به تشکیل ROS شده که ممکن است آسیب اکسیداتیو ایجاد کند. کاهش محتوای کلروفیل، یک نشانه‌ی شاخص تنش اکسیداتیو است (Bryant et al., 1983). گزارش‌ها نشان داده است که در گیاهان نواحی مدیترانه، در شرایط زمستان، با تخریب ساختارهای فتوسنتزی، فرآیند بازدارندگی نوری رخ داده و مقدار فتوسنتز کاهش می‌یابد. مقدار این بازدارندگی، در روزهای سردتر افزایش یافته که همین امر باعث تشدید کاهش فتوسنتز می‌شود (Oliveira and Penuelas, 2000). بیشترین میزان قندهای محلول در

گردیدند. بعد از روز هفتم میزان پرولین، مالون‌دی‌آلدئید و کلروفیل نمونه‌های برگ‌گی اندازه‌گیری شد. رقم متحمل به سرما کمترین میزان کاهش کلروفیل و کمترین میزان افزایش مالون‌دی‌آلدئید و انباشت پرولین را در مقایسه با رقم حساس به سرما نشان داد. این تحقیق تأیید کننده تحمل بالای رقم زرقام به دماهای پایین است.

ضرایب همبستگی بین صفات در شرایط بدون تنش و تنش یخ‌زدگی به صورت مجزا در جدول ۷ نشان داده شده است. هم در شرایط تنش و هم در شرایط بدون تنش میزان عملکرد کل همبستگی مثبت و معنی‌داری با تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در غلاف نشان داد. در شرایط بدون تنش هیچ همبستگی بین عملکرد و صفات فیزیولوژیک مشاهده نشد در حالی که در شرایط تنش یخ‌زدگی بین عملکرد با پرولین، قندهای محلول، مالون‌دی‌آلدئید و سوپراکسید دیسموتاز همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت، لذا می‌توان این صفات را به عنوان صفات مثبت در جهت انتخاب ارقام مقاوم به یخ‌زدگی معرفی نمود.

سازگاری به سرما باعث افزایش معنی‌دار پرولین و قندهای محلول شد. بیشترین افزایش پرولین در سازگاری ۲۱ روزه مشاهده شد.

بیشترین انباشت قندهای محلول در طول دو هفته اول اتفاق افتاد. افزایش زمان سازگاری به بیش از ۲۱ روز میزان قندهای محلول را فقط در جوانه‌های ژنوتیپ Insider افزایش داد. از بین تیمارهای تحت تنش سرما، ژنوتیپ Siska کمترین میزان تحمل به سرما را بعد از Sunday، Insider و Valesca نشان داد. کربکندی و همکاران (Korbekandi et al., 2014) آزمایشی را جهت بررسی تغییرات میزان پرولین، مالون‌دی‌آلدئید و کلروفیل در ارقام بهاره کلزا انجام دادند. در این تحقیق جوانه‌های دو رقم Option500 به عنوان رقم حساس به سرما و Zarfam به عنوان رقم متحمل به سرما در معرض سرمای اولیه بهاره قرار گرفتند. نمونه‌های برگ‌گی در اولین روز انتقال به محیط سرد، دو روز بعد، چهار روز بعد و روز هفتم، هم از بوته‌های منتقل شده و هم از بوته‌های باقیمانده در اتاقک رشد تهیه و در نیتروژن مایع نگهداری

جدول ۶. مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنش × ژنوتیپ بر عملکرد و تعدادی از صفات فیزیولوژیک در ۲۴ ژنوتیپ کلزا در شرایط نرمال و تنش یخ‌زدگی با استفاده از روش برش‌دهی

Table 6. Mean comparison for interaction effect of stress × genotype on yield and some of physiologic traits for 24 canola cultivars under non stress and frost stress using

ژنوتیپ‌ها Genotypes	عملکرد Yield		کلروفیل a Chla		کلروفیل b Chlb		کلروفیل کل Chlt		پرولین Pro			
	نرمال Normal	تنش Stress	نرمال Normal	تنش Stress	نرمال Normal	تنش Stress	نرمال Normal	تنش Stress	نرمال Normal	تنش Stress		
	----- kg ha ⁻¹ -----		----- mg -----								----- μmol -----	
SLM046	854.9	520.7	9.56	5.18	5.02	4.28	14.58	9.46	15.72	26.94		
Opera	1521.4	1244	10.26	5.67	5.49	2.75	15.75	8.42	17.87	28.66		
L963	888.8	781.7	11.44	8.82	6.65	6.09	18.09	14.91	25.09	27.30		
Okapi	705.4	631.3	10.64	7.43	6.57	5.78	17.21	13.21	18.67	27.19		
L62	144.7	69.23	8.7	8.24	4.71	4.67	13.41	12.91	14.81	17.49		
Nima	2000.3	480.5	10.83	9.77	5.31	6.17	16.14	15.94	15.47	21.40		
KH4	791.1	217.4	8.91	8.27	4.62	4.80	13.53	13.07	20.21	21.06		
Talaye	1206.8	689.3	9.7	9.34	5.40	5.05	15.10	14.39	15.47	27.44		
L957	2043.7	835.7	10.57	10.33	5.91	5.47	16.24	16.04	19.43	27.36		
Ahmadi	811.7	301.6	10.63	8.14	5.94	5.66	16.57	13.8	14.28	23.20		
KR18	543.7	207.7	9.75	8.22	5.99	5.63	15.74	13.85	16.43	20.23		
L1009	1353.6	451.9	9.61	8.09	6.35	5.34	15.96	13.43	16.69	20.43		
Zarfam	1033.2	534.9	8.23	6.47	4.47	5.31	12.70	11.78	14.63	17.35		
Nafis	1392.5	532.2	9.56	6.21	5.73	4.48	15.29	11.10	15.13	21.77		
HW101	593.5	258.8	10.36	8.66	5.90	5.66	16.26	14.32	14.74	19.67		
Licord	1442.2	695.2	9.98	6.87	5.13	4.19	15.11	11.06	19.17	35.77		
KS7	2450.2	949.6	10.55	10.13	6.02	5.46	16.57	15.59	20.40	26.35		
L14	647.1	417.4	11.82	10.35	6.45	4.84	18.27	15.19	18.05	30.73		
SW101	568.7	333.4	10.50	10.28	5.84	5.63	16.34	15.91	25.98	26.10		
L1008	1330.5	693.4	11.30	6.93	6.81	5.75	18.11	12.68	19.13	28.88		
L83	258.5	197.2	8.57	6.21	5.33	3.62	13.9	9.83	25.80	26.52		
L120	457.8	71.81	9.03	6.33	5.74	4.75	14.77	11.08	16.94	19.94		
Natati	649.8	584.8	10.24	5.32	4.23	3.52	14.47	8.84	26.69	30.85		
Hydromel	991.7	925.0	12.01	10.43	7.21	5.17	19.22	15.6	24.46	26.14		
LSD 0.05	711		1.537		0.903		1.654		2.799			

Table 6. Continued

جدول ۶. ادامه

ژنوتیپ‌ها Genotypes	قندهای محلول SS		درصد نشت الکترولیت‌ها EL		مالون‌دی‌آلدهید MDA		سوپراکسید دیسموتاز SOD	
	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش
	Normal	Stress	Normal	Stress	Normal	Stress	Normal	Stress
	mg/g		%				μmol/g	
SLM046	13.43	29.18	26.73	69.55	6.51	19.95	2.74	5.99
Opera	17.14	30.67	29.46	82.39	9.38	19.88	3.85	6.32
L963	26.55	29.42	63.47	73.78	16.68	18.90	5.22	5.92
Okapi	17.54	29.54	51.29	84.20	9.70	19.00	3.75	6.13
L62	12.24	15.76	44.22	51.13	5.46	8.31	2.33	3.64
Nima	12.90	21.31	34.56	40.67	6.09	12.61	2.89	4.11
KH4	19.52	20.83	84.36	86.08	11.29	12.24	3.77	4.06
Talaye	25.18	30.07	41.20	80.16	15.62	19.41	5.05	6.08
L957	18.56	29.77	49.59	93.38	10.54	19.18	3.95	6.11
Ahmadi	11.36	23.87	88.29	90.96	4.82	14.60	1.87	4.33
KR18	14.27	19.66	69.09	91.64	7.16	11.37	3.11	4.02
L1009	14.63	19.94	38.72	52.16	7.43	11.55	3.15	4.13
Zarfam	11.70	15.51	61.58	82.87	5.17	8.13	2.31	3.47
Nafis	12.21	21.84	56.99	73.55	5.58	13.03	2.49	4.19
HW101	12.07	18.86	59.03	87.36	5.40	10.72	2.36	3.18
Licord	18.11	41.70	35.52	43.83	10.16	28.53	3.58	7.52
KS7	19.75	28.34	32.68	69.79	11.40	18.07	4.08	5.98
L14	16.51	34.55	61.07	74.36	8.91	22.88	3.39	7.02
SW101	27.81	27.99	28.85	51.34	17.66	17.68	5.11	5.52
L1008	18.07	31.93	39.80	74.41	10.12	20.85	3.69	6.26
L83	27.63	28.58	74.39	76.54	17.52	18.26	5.39	5.55
L120	14.98	19.29	45.27	94.21	7.71	11.04	3.11	3.68
Natati	28.86	34.73	69.83	77.08	18.44	23.02	5.72	7.33
Hydromel	25.96	27.99	47.07	86.40	16.22	17.79	4.96	5.77
LSD 0.05	2.742		5.149		2.623		1.068	

Chla: کلروفیل a؛ Chlb: کلروفیل b؛ Chlt: کلروفیل کل؛ Pro: پرولین؛ SS: قندهای محلول؛ EL: درصد نشت الکترولیت‌ها؛ MDA: مالون‌دی-آلدهید؛ SOD: سوپراکسید دیسموتاز

Chla: Chlorophyll a; Chlb: Chlorophyll b; Chlt: Chlorophyll total; Pro: Proline; SS: Soluble Sugars; EL: Electrolyte Leakage; MDA: Malondialdehyde; SOD: Superoxide dismutase

جدول ۷. ضرایب همبستگی بین صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک در شرایط بدون تنش (پایین جدول) و تنش یخزدگی (بالای جدول)

Table 7. Correlation coefficients between physiological and morphological traits under the non-stress (Down) and frost stress (Top) conditions

صفات Traits	کلروفیل a Chla	کلروفیل b Chlb	کلروفیل کل Chlt	پرولین Pro	قندهای محلول SS	درصد نشت الکترولیت EL
	mg			μmol	mg	%
Chla		0.543**	0.960**	0.049	0.060	-0.233*
Chlb	0.439**		0.757**	-0.202	-0.194	-0.250*
Chlt	0.937**	0.725**		-0.029	-0.018	-0.265*
Pro	0.209	0.264*	0.263*		0.937**	-0.021
SS	0.203	0.280*	0.264*	0.950**		-0.018
EL	0.447**	0.198	0.420**	0.085	0.078	
MDA	0.236*	0.285*	0.291*	0.950**	0.942**	0.078
SOD	0.115	0.197	0.165	0.909**	0.858**	0.069
NPP	0.059	0.131	0.096	0.061	0.093	0.159
NSP	0.001	0.054	0.022	-0.168	-0.138	-0.011
TSW	-0.258*	-0.292*	-0.311**	-0.099	-0.129	-0.042
Yield	0.088	0.020	0.075	-0.073	-0.029	-0.056

Table 7. Continued

جدول ۷. ادامه

صفات Traits	مالون‌دی	سوپراکسید	تعداد غلاف	تعداد دانه در	وزن هزار دانه TSW	عملکرد در هکتار Yield
	آلدهید MDA	دیسموتاز SOD	در بوته NPP	غلاف NSP		
	----- μmol -----				g	kg/ha
Chla	0.021	0.027	0.122	0.180	-0.022	0.229
Chlb	-0.110	-0.140	-0.026	-0.087	-0.039	0.076
Chlt	-0.020	-0.026	0.086	0.111	-0.030	0.204
Pro	0.933**	0.901**	0.325**	0.175	0.130	0.295*
SS	0.944**	0.889**	0.370**	0.170	0.082	0.342**
EL	-0.038	-0.017	0.063	0.036	0.067	-0.058
MDA		0.905**	0.369**	0.109	0.109	0.269*
SOD	0.908**		0.293*	0.148	0.117	0.258*
NPP	0.067	0.054		0.361**	0.156	0.601**
NSP	-0.177	-0.147	0.226		0.097	0.324**
TSW	-0.097	-0.118	-0.067	-0.079		0.005
Yield	0.025	-0.009	0.502**	0.325**	0.082	

Chla: کلروفیل a; Chlb: کلروفیل b; Chlt: کلروفیل کل؛ Pro: پرولین؛ SS: قندهای محلول؛ EL: درصد نشت الکترولیت‌ها؛ MDA: مالون‌دی‌آلدهید؛ SOD:

سوپراکسید دیسموتاز؛ NPP: تعداد غلاف در بوته؛ NSP: تعداد دانه در غلاف؛ TSW: وزن هزار دانه

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

Chla: Chlorophyll a; Chlb: Chlorophyll b; Chlt: Chlorophyll total; Pro: Proline; SS: Soluble Sugars; EL: Electrolyte Leakage; MDA: Malondialdehyde; SOD: Superoxide dismutase; NPP: Number of pods per plant; NSP: Number seed per pod; TSW: Thousand seed weight; Yield

*, ** significant 5% and 1% probability respectively

مقاومت بالا به تنش یخ‌زدگی شده و افزایش عملکرد را در پی خواهد داشت. لذا این عامل را می‌توان عامل صفات فیزیولوژیک نام‌گذاری کرد. عامل دوم ۲۰/۷۹ درصد از کل واریانس را توجیه می‌نماید و کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل دارای ضرایب عاملی بزرگ و مثبت و وزن هزار دانه دارای ضریب عاملی بزرگ و منفی است. لذا این عامل بنام عامل کلروفیل نام‌گذاری می‌شود. عامل سوم ۱۳/۸۹ درصد از تغییرات کل را توجیه نمود و در این عامل نشت الکترولیت دارای بار عاملی بزرگ با علامت مثبت است. عامل چهارم ۱۱/۶۸ درصد از واریانس کل را توجیه می‌نماید و تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و عملکرد دارای بار عاملی بزرگ و مثبت هستند.

در حالت تنش یخ‌زدگی عامل اول ۳۷/۵۲ درصد از واریانس کل را توجیه نموده و کلروفیل a، سوپراکسید دیسموتاز، پرولین، تعداد دانه در غلاف و وزن هزار دانه دارای بار عاملی بزرگ و مثبت بودند. عامل دوم ۲۲/۷۷ درصد از تنوع کل را توجیه نمود و قندهای محلول، مالون‌دی‌آلدهید و نشت الکترولیت دارای بار عاملی بزرگ و مثبت است. عامل سوم ۱۰/۶۷ درصد از کل تغییرات را توجیه نموده و کلروفیل

در شرایط بدون تنش وزن هزار دانه با کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل همبستگی منفی و معنی‌داری دارد در صورتی‌که در شرایط تنش یخ‌زدگی، وزن هزار دانه با هیچ صفتی همبستگی نداشت.

ضرایب عاملی مشترک برای شرایط بدون تنش و تنش یخ‌زدگی در جدول ۸ نشان داده شده است. بر اساس نتایج تجزیه به عامل‌ها ۴ عامل برای هر یک از شرایط بدون تنش و تنش یخ‌زدگی شناسایی شد که در حالت بدون تنش ۷۷/۵۲ درصد از کل واریانس و در حالت تنش یخ‌زدگی ۸۱/۰۶ درصد از کل واریانس را توجیه نمودند.

در حالت بدون تنش عامل اول ۳۱/۱۵ درصد از تغییرات کل را توجیه می‌کند. بزرگ‌ترین ضرایب عاملی آن مربوط به پرولین، قندهای محلول، مالون‌دی‌آلدهید و سوپراکسید دیسموتاز است. تمام متغیرها در این عامل دارای ضرایب عاملی با علامت مثبت هستند. علامت ضرایب عاملی جهت رابطه بین عامل و متغیر را نشان می‌دهد؛ بنابراین انتظار می‌رود دو متغیر با ضرایب عاملی بالا و علامت همسان در یک عامل همبستگی مثبتی با همدیگر داشته باشند (Briggs and Shebeski, 1972). وجود این مواد در گیاه باعث ایجاد

کل و تعداد غلاف در بوته دارای بار عاملی بزرگ و مثبت می‌باشند. عامل چهارم ۱۰/۰۹ درصد از تغییرات کل را توجیه می‌نماید که کلروفیل b بار عاملی بزرگ و مثبت و عملکرد بار بزرگ و منفی داشتند

جدول ۸. بردار ضرایب عاملی دوران یافته، نسبت واریانس توجیه شده با هر عامل، نسبت تجمعی واریانس توجیه شده در تجزیه عامل‌های ۲۴ ژنوتیپ کلزا در شرایط بدون تنش و تنش یخزدگی

Table 8. Rotated factor coefficients, the ratio of variance by each factor, the cumulative proportion of variance in 24 rapeseed genotypes under the non-stress and frost stress conditions

Traits	صفات	ضرایب عاملی بدون تنش یخزدگی Factor Coefficients of Non-frost stress				ضرایب عاملی تنش یخزدگی Factor Coefficients of Frost Stress			
		1	2	3	4	1	2	3	4
Chla	کلروفیل a	0.051	0.779	0.453	0.090	0.774	0.092	0.155	0.063
Chlb	کلروفیل b	0.193	0.788	0.054	0.058	0.139	0.140	0.049	0.880
Chlt	کلروفیل کل	0.112	0.890	0.363	0.091	0.198	0.063	0.660	-0.065
Pro.	پروлін	0.977	0.180	0.070	-0.027	0.597	0.396	-0.122	-0.191
SS	قندهای محلول	0.981	0.159	0.067	-0.030	0.069	0.928	-0.065	0.201
EL	نشت الکترونیک	-0.031	0.230	0.754	0.058	-0.143	0.922	-0.052	-0.111
MDA	مالون دی آلدئید	0.982	0.157	0.067	-0.027	0.009	0.977	-0.064	0.119
SOD	سوپر اکسید دیسموتاز	0.987	0.080	0.070	0.017	0.974	-0.075	0.010	0.123
NPP	تعداد غلاف در گیاه	0.148	0.087	0.402	0.635	-0.063	-0.293	0.745	0.118
NSP	تعداد دانه در غلاف	-0.268	0.171	-0.304	0.619	0.969	-0.081	0.007	0.130
TSW	وزن هزار دانه	-0.143	-0.692	0.065	0.118	0.974	-0.041	0.007	0.108
Yield	عملکرد	0.015	-0.126	0.037	0.832	-0.233	0.001	0.587	-0.594
The ratio of variance									
	نسبت واریانس	31.15	20.79	13.89	11.68	37.52	22.77	10.67	10.09
The cumulative variance									
	واریانس تجمعی	31.15	51.94	65.83	77.52	37.52	60.29	70.97	81.06

: کلروفیل a: Chla; کلروفیل b: Chlb; کلروفیل کل: Chlt; پرویلین: Pro; قندهای محلول: SS; نشت الکترونیک: EL; مالون دی آلدئید: MDA; سوپراکسید دیسموتاز: SOD; تعداد غلاف در بوته: NSP; تعداد دانه در غلاف: TSW; وزن هزار دانه

Chla: Chlorophyll a; Chlb: Chlorophyll b; Chlt: Chlorophyll total; Pro: Proline; SS: Soluble Sugars; EL: Electrolyte Leakage; MDA: Malondialdehyde; SOD: Superoxide dismutase; NPP: Number of pods per plant; NSP: Number seed per pod; TSW: Thousand seed weight; Yield

نتیجه‌گیری نهایی

مقدار و کمترین آن مربوط به لاین L62 با میزان ۱۰۷ کیلوگرم در هکتار بود.

با توجه به نتایج حاصل از همبستگی بین صفات مورد بررسی مشخص شد در شرایط بدون تنش صفات تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در غلاف می‌توانند جهت بهبود عملکرد دانه به کار روند. در شرایط تنش یخزدگی، علاوه بر تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در غلاف، میزان پرویلین، قندهای محلول، مالون دی آلدئید و سوپراکسید دیسموتاز بیشترین سهم را در توجیه تنوع ژنوتیپ‌های مورد مطالعه داشتند. با توجه به وراثت‌پذیری پایین عملکرد، بهبود آن معمولاً دشوار است. در نتیجه باید به جنبه‌های دیگر از مقاومت

نتایج نشان داد که در شرایط نرمال بیشترین عملکرد مربوط به ژنوتیپ‌های L957، KS7، Nima، Opera و Licord و کمترین عملکرد مربوط به ژنوتیپ‌های L62، Licord، L120، KR18 و SW101 است. در شرایط تنش، ژنوتیپ‌های Opera، KS7، Hydromel، L957 و L963 بیشترین عملکرد و ژنوتیپ‌های L62، L120، L83، KR18 و KH4 کمترین عملکرد را داشتند. همچنین نتایج مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها برای صفت میانگین عملکرد به صورت توأم برای شرایط بدون تنش و تنش یخزدگی نشان داد که لاین KS7 با مقدار ۱۶۹۹/۹ کیلوگرم در هکتار دارای بیشترین

همچنین بر اساس نتایج تجزیه به عامل‌ها ۴ عامل برای هر یک از شرایط بدون تنش و تنش یخ‌زدگی شناسایی شد که در حالت بدون تنش ۷۷/۵۲ درصد از کل واریانس و در حالت تنش یخ‌زدگی ۸۱/۰۶ درصد از کل واریانس را توجیه نمودند.

به تنش یخ‌زدگی مانند شاخص‌های فیزیولوژیکی اهمیت داد. به‌طور کلی، صفات فیزیولوژیک اطلاعات بیشتر و کامل‌تری را فراهم می‌کنند و جایگزین مناسبی برای صفات عملکردی هستند.

منابع

- Anjum, S.A., Xie, X., Wang, L., Saleem, M.F., Man, C., Lei, W., 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*. 6, 2026-2032.
- Anon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*. 24, 1-15.
- Ashraf, M., Foolad, M.R., 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*. 59, 206-216.
- Bates, L.S., Waldern, R.P., Tear, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*. 39, 205-207.
- Bhattacharjee, S., Mukherjee, A.K., 2002. Salt stress induced cytosolute accumulation, antioxidant response and membrane deterioration in three rice cultivars during early germination. *Seed Science and Technology*. 30, 279-287.
- Briggs, K.G., Shebeski, L.H., 1972. An application of factor analysis to some breadmaking quality data. *Crop Science*. 12, 44-46.
- Bryant, J.P., Chapin, F.S., Klein, D.R., 1983. Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivore. *Oikos*. 40, 357-368.
- Burbulis, N., Jonytiene, V., Kuperiene, R., Blinstrubiene, A., 2011. Changes in proline and soluble sugars content during cold acclimation of winter rape seeds in vitro. *Food, Agriculture and Environment*. 9, 371-374.
- Chookhampaeng, S., Pattanagul, W., Theerakulpisut, P., 2008. Effects of salinity on growth, activity of antioxidant enzymes and sucrose content in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) at the reproductive stage. *Science Asia*. 34, 69-75.
- Ciarmiello, L.F., Woodrow, P., Fuggi, A., Pontecorvo, G., Carillo, P., 2011. Plant genes for abiotic stress. In: Shanker, A., Venkateswarlu, B., (eds), *Abiotic Stress in Plants - Mechanisms and Adaptations*. IntechOpen, London. pp. 284-308. <https://doi.org/10.5772/22465>
- Çiçek, N., Çakırlar, H., 2002. The effect of salinity on some physiological parameters in two maize cultivars. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*. 28, 66-74.
- Colom, M.R., Vazzana, C., 2001. Drought stress effects on three cultivars of *Eragrostis curvula*: photosynthesis and water relations. *Plant Growth Regulation*. 34, 195-202.
- FAO., 2017. Fao statistical database (available at www.fao.org)
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S.M.A., 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*. 29, 185-212.
- Fiabelkorn, D., Rahman, M., 2016. Development of a protocol for frost-tolerance evaluation in rapeseed/canola (*Brassica napus* L.). *The Crop Journal*. 4, 147-152.
- Hejazi, A., 2000. Rapeseed Cultivation. Rozaneh Publication. 147p. [In Persian].
- Honty, K., Sardi, E., Stefanovits-Banyai, E., Toth, M., 2008. Frost induced changes in enzyme activities and carbohydrate content in spurs of some pear cultivars during the dormancy. *International Journal Horticultural Science*. 14, 41-44.
- Johnson, B.L., Mckay, K.R., Schneiter, A.A., Hanson, B.K., Schatz, B.G., 1995. Influence of planting date on canola and crambe production. *Journal of Production Agriculture*. 8, 594-599.
- Korbekandi, Z.M., Karimzadeh, G., Sharifi, M., 2014. Cold-induced changes of proline, malondialdehyde and chlorophyll in spring canola cultivars. *Plant Physiology and Breeding*. 4, 1-11. [In Persian with English summary].
- Labana, K.S., Banga, S.S., Banga, S.K., 1993. *Breeding Oilseed Brassicas*. Springer- verlag.

- Lutman, P.J., Dixon, F.L., 1987. The effect of drilling date on growth and yield of oilseed rape (*Brassica napus*). The Journal of Agricultural Science, 108(1), 195-200. <https://doi.org/10.1017/S002185960064261>
- Lutts, S., Kinet, J.M., Bouharmont, J., 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. Annals of Botany. 78, 389-398.
- Mandal, S.M.A., Mishra, B.K., Patra, A.K., 1994. Yield loss in rapeseed and mustard due to aphid infestation in respect of different varieties and dates of sowing. Orissa Journal Agriculture.
- Mantri, N.L., Ford, R., Coram, T.E., Pang, E.C.K., 2007. Transcriptional profiling of chickpea genes differentially regulated in response to high-salinity, cold and drought. BioMed Central Genomics. 8, 1-14.
- Mirzaei, M., Dashti, S.H., Absalan, M., Siadat, A., Fathi, Gh., 2010. Study the effect of planting dates on the yield, yield components and oil content of canola cultivars (*Brassica napus* L.) in Dehloran rejoin. Electronic Journal of Crop Production. 3, 159-176. [In Persian with English summary].
- Moradbeigi, L., Gholami, A., Shirani-Rad, A.H., Asghari, H.R., Abbasdokht, H., 2020. Study of yield and some physiological characteristics of canola cultivars under the drought stress and delayed planting. Environmental Stresses in Crop Sciences. 2, 371-386. [In Persian with English summary].
- Noreen, S., Ashraf, M., 2002. Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. Plant Science. 162, 569-574.
- Oliveira, G., Penuelas, J., 2000. Comparative photochemical and phenomorphological responses to winter stress of an evergreen (*Quercus ilex* L.) and a semi-deciduous (*Cistus albidus* L.) Mediterranean woody species. Acta Oecologica. 21, 97-107.
- Rahimizadeh, M., Habibi, D., Madani, H., Mohammadi, H., Mehraban, A., Sabet, A.M., 2007. The effect of micronutrients on antioxidant enzymes metabolism in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under drought stress. Journal of Helia. 47, 167-174.
- Rampino, P., Pataleo, S., Gerardi, C., Mita, G., Perrota, C., 2006. Drought stress response in wheat: physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes. Plant Cell and Environment. 29, 2143-2152.
- Roy, B., Basu, A.K., 2009. Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants: Breeding and Biotechnology. New india Publishing Agency (NIPA). Pitam Pura. New Delhi.
- Shah, S.H., Ali, S., Jan, S.A., Ali, G.M., 2015. Piercing and incubation method of in planta transformation producing stable transgenic plants by overexpressing DREB1A gene in tomato (*Solanomlisco persicum* Mill). Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 120, 1139-1157.
- Sheligl, H.Q., 1986. Die verwertung orgngischer souren durch chlorella lincht. Planta Journal. 47-51.
- Sivakumar, P., Sharmila, P., Pardha Saradhi, P., 2000. Proline alleviates salt stress induced enhancement in the activity of ribulose-1, 5-bisphosphate oxygenase. Biochemical and Biophysical Research Communications. 279, 512-515.
- Wang, X., Fang, G., Li, Y., Ding, M. Gong, H., Li, Y., 2013. Differential antioxidant responses to cold stress in cell suspension cultures of two subspecies of rice. Plant Cell Tissue Organisms Culture. 113, 353-361.
- Yadegari, L.Z., Heidari, R., Carapetian, J., 2007. The influence of cold acclimation on proline, malondi aldehyde (MDA), total protein and pigments contents in soybean (*Glycine max*) seedlings. Journal of Biological Sciences. 7, 1436-1441. [In Persian with English summary].