نشریه تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی
سال هشتم / شماره دوم / تابستان ۱۳۹۷

ارزیابی تحمل سرما در تعدادی از ژنوتیپ‌های مختلف کلزا در مرحله گیاهچه‌ای و ارتباط آن با نشانگرهای ریزماهواره

زهرا برزن[۱]، مسعود دهداری[۲*] و رضا امیری فهلیانی[۳]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۶/۲۴ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۹/۱۱)

چکیده

سرما یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیر زیستی است که رشد و تولید کلزا را در بسیاری از نقاط ایران تحت تأثیر قرار می‌دهد. به‌منظور شناسایی ارقام متحمل به سرما در کلزا در مرحله گیاهچه‌ای و ارتباط آن با نشانگرهای ریزماهواره، این پژوهش به‌صورت دو آزمایش جداگانه در دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج اجرا شد. در آزمایش اول ۲۴ ژنوتیپ کلزا تحت تأثیر درجه حرارت‌های پنج و ۲۵ (شاهد) درجه سلسیوس در مرحله گیاهچه‌ای قرار گرفتند. ۱۰ روز بعد از اعمال تیمارها تعدادی از ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک اندازه‌گیری شدند. بیشترین میزان تنوع ژنوتیپی در حالت عدم تنش (۲۵ درجه سلسیوس) و تنش (۵ درجه سلسیوس) مربوط به وزن خشک ریشه به‌ترتیب با مقادیر ۶۲/۲۲ و ۶۰/۷۷ بود. تجزیه خوشه‌ای براساس صفات اندازه‌گیری شده، ژنوتیپ‌ها را در چهار گروه قرار داد و ژنوتیپ **CR3198** متحمل به سرما در مرحله گیاهچه‌ای تشخیص داده شد. این ژنوتیپ در شرایط سرما (پنج درجه سلسیوس) از نظر صفات طول ریشه (۱۸/۲۵ سانتی‌متر)، وزن خشک ریشه (۰/۳ گرم)، میزان سبزینگی(۳۹/۷۱ عدد اسپاد) و **FV/Fm** (۰/۷۹۱۵) دارای میزان بالا و از نظر نشت الکترولیتی (۱۳/۰۲ درصد) دارای کمترین مقدار بود. ژنوتیپ‌های متحمل به سرما در کلزا دارای بنیه و توانایی اولیه بالایی بودند. در آزمایش دوم ارتباط بین ۱۰ جفت نشانگر ریزماهواره و صفات مهم مرتبط با تنش سرما بررسی شد. نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون لجستیک نشان داد که برخی نشانگرهای ریزماهواره مرتبط با ویژگی‌های اندازه‌گیری در شرایط سرما از جمله وزن خشک ساقه و ریشه و شاخص تحمل تنش سرما بودند. در این میان نشانگرهای **Na10-B08**، **Na12-E09** و **Ra2-E11** مرتبط با شاخص تحمل سرما در کلزا در مرحله گیاهچه‌ای بودند. در مجموع نتایج حاصل از این مطالعه می‌توانند برای بهبود تحمل سرما در کلزا در مرحله گیاهچه‌ای به‌کار روند.

واژه‌های کلیدی: تجزیه لجستیک، شاخص تحمل به تنش، شدت تنش، فلورسانس کلروفیل، نشت الکترولیت

۱، ۲ و ۳. به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج
*. مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: adehdari@yu.ac.ir

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1397.8.2.5.9]
[DOI: 10.29252/jcpp.8.2.33]

مقدمه

کلزا به‌عنوان یک گیاه روغنی خوراکی از زمان جنگ جهانی دوم مورد توجه قرار گرفته و امروزه بعد از سویا مقام دوم را در تأمین روغن خوراکی به خود اختصاص داده است (۹). روغن، با ارزش‌ترین جزء دانه کلزا است و اگرچه میزان و ترکیب آن به‌طور عمده به‌صورت ژنتیکی تعیین می‌شود، ولی به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر شرایط محیطی نیز قرار می‌گیرد (۸). از میان تنش‌های محیطی، سرما و دمای پایین در ایجاد خسارت به‌میزان محصولات تولیدی نقش مهمی ایفا می‌کند (۵ و ۱۷). تنش سرما، اکثر ویژگی‌های زراعی و فیزیولوژیکی گیاه را تحت تأثیر خود قرار می‌دهد؛ کاهش فتوسنتز و درنهایت کاهش عملکرد از جمله موارد مهم در این زمینه محسوب می‌شود (۲). گرچه گیاهان تدابیری را جهت تحمل درجه حرارت‌های معمول در محیط رشدشان به‌کار بسته‌اند، ولی با این وجود در محیط‌های جدید یا وقتی دما از محدوده طبیعی آن پایین‌تر می‌رود، دچار آسیب‌دیدگی می‌شوند (۲۸). دمای پایین، رشد گیاه کلزا را در مناطقی از ایالات متحده نیز محدود کرده است (۲۸). در اواخر سال ۲۰۰۷، تنش سرما (نزدیک به صفر درجه) و یخ زدگی (۵- درجه سلسیوس) منجر به آسیب قابل توجه به بسیاری از مزارع کلزا در ایالتی در آلاباما، شد (۶). در مناطق سردسیر کشور که کشت پاییزه کلزا متداول است در مرحله گیاهچه‌ای خسارات زیادی به این گیاه در سال‌های اخیر وارد شده است (۱۲). کلزا به دمای پایین در مرحله رویشی بسیار حساس است به گونه‌ای که گیاه تحت تنش از بین می‌رود و در صورتی که گیاه رشد کند درنهایت بذر ناچیزی تولید می‌کند (۱). براساس گزارش شاکری (۲۲) در سال ۱۳۹۱ بیشتر مزارع کلزای استان‌های فارس، کهگیلویه و بویراحمد و لرستان در اثر سرما (نزدیک به صفر درجه) در مرحله گیاهچه‌ای از بین رفتند. مهم‌ترین واکنش گیاهان حساس به سرمازدگی، بازدارندگی سریع فتوسنتز است که حتی در شدت‌های متوسط نور نیز می‌تواند منجر به خسارت نوری و یا اختلال در فعالیت فتوسیستم II شود. این فرآیند با کاهش متابولیسم کربن همراه است که باعث کاهش ذخیره فرآورده‌های انتقال الکترون در چرخه نوری و عملکرد کوانتومی فتوسیستم II در شرایط نوری می‌شود (۱۴).

در مطالعه‌ای موسوی و همکاران (۱۸) با بررسی تحمل به سرما در ۱۶ رقم کلزا براساس شاخص‌های تحمل به تنش شامل STI و Tol (شاخص تحمل) سه رقم متحمل و یک رقم حساس به سرما معرفی نمودند که در این مطالعه ژنوتیپ ۲۰۰۵ به‌عنوان متحمل‌ترین رقم گزارش شد. به‌طورکلی، در ارقام پاییزه کلزا که نسبت به ارقام بهاره عملکرد بالاتری دارند، کشت و تولید عملکرد بالا بر اثر تنش سرما محدود می‌شود، به‌گونه‌ای که برخی مواقع سبب کاهش عملکرد گیاه تا ۷۰ در صد می‌شود (۱۶). بنابراین، ایجاد تنوع ژنتیکی و گزینش ژنوتیپ‌های متحمل به سرما برای موفقیت تولید محصول حائز اهمیت است. امروزه شناسایی نشانگرهای مولکولی مرتبط با ویژگی‌های مهم گیاهان به‌خصوص تحمل به انواع تنش‌ها از اهمیت خاصی برخوردار است. در کلزا (۱۹ و ۲۱) نشانگرهای مولکولی مرتبط با صفات مهم گزارش شده است. اما در خصوص تحمل به سرما در گیاهان مختلف هم نظیرگیاه چمن ژاپنی (*Zoysia wild*) (۱۳) و در برنج (۲۵) چندین نشانگر پیوسته با ویژگی‌های مرتبط با تحمل به سرما معرفی کردند.

با توجه به خسارت زیاد تنش سرما در مرحله گیاهچه‌ای در مناطق مختلف ایران (از جمله شمال فارس، استان همدان، کهگیلویه و بویراحمد، چهارمحال و بختیاری و غیره)، و عدم وجود گزارش در خصوص بررسی تحمل به سرما در ژنوتیپ‌های کلزا و نشانگرهای مولکولی مرتبط، این پژوهش با به‌کارگیری تعدادی از ژنوتیپ‌های متداول و جدید کلزا و ۱۰ جفت نشانگر مولکولی ریزماهواره جهت ارزیابی تحمل به سرما طراحی شد.

مواد و روش‌ها

در فروردین ۱۳۹۲ آزمایش مقدماتی در دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج به‌صورت کرت‌های یکبار خرد شده در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. دماهای مختلف

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1397.8.2.5.9]
[DOI: 10.29252/jcpp.8.2.33]

جدول ۱. نام، منشأ و محل جمع‌آوری ژنوتیپ‌های کلزای مورد استفاده

شماره	ژنوتیپ	منشأ	محل جمع‌آوری	شماره	ژنوتیپ	منشأ	محل جمع‌آوری
۱	CR3198	کانادا	IPK	۱۳	H4722	---	ایران
۲	CR3133(Nugget)	کانادا	IPK	۱۴	H4815	---	ایران
۳	CR679(Kroko)	آلمان	IPK	۱۵	H6059	---	ایران
۴	CR3250	لهستان	IPK	۱۶	H6486	---	ایران
۵	CR677(Kosa)	آلمان	IPK	۱۷	K9209	---	ایران
۶	CR3248	پاکستان	IPK	۱۸	W6018	---	ایران
۷	CR3141(Golden)	کانادا	IPK	۱۹	H609	---	ایران
۸	CR3189	رومانی	IPK	۲۰	Q6501	---	ایران
۹	CR3152(Regent)	کانادا	IPK	۲۱	SWK5380	---	ایران
۱۰	CR3195(Marnoo)	استرالیا	IPK	۲۲	Okapi	---	ایران
۱۱	CR3186(Callypso)	آلمان	IPK	۲۳	Talaei	---	ایران
۱۲	H1750J	---	Iran	۲۴	Tasillo	---	ایران

Ipk: Institue of Plant Genetics and Crop Plant Research

به‌عنوان عامل اصلی (۰، ۵، ۱۰ و ۲۵ (شاهد) درجه سلسیوس) و ژنوتیپ‌های کلزا به‌عنوان عامل فرعی درنظر گرفته شدند. این ژنوتیپ‌ها شامل ۱۱ ژنوتیپ تهیه شده از مؤسسه (Institue of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK)) آلمان و ۱۳ ژنوتیپ (شامل سه ژنوتیپ و ۱۰ لاین) جمع‌آوری شده از مراکز تحقیقاتی ایران بودند (جدول ۱). در ابتدا بذور با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به‌مدت پنج دقیقه ضدعفونی و تعداد ۱۰ الی ۱۲ عدد بذر از هر ژنوتیپ در گلدان‌های حاوی مخلوط خاک، ماسه و کود حیوانی به‌ترتیب به نسبت ۲: ۱: ۱ کشت و در مرحله چهار برگی برای رسیدن به تعداد هفت بوته تنک شدند. سپس به‌منظور اعمال تنش سرما، گلدان‌ها در مرحله چهار برگی (حدوداً یک ماه پس از کشت) درون اتاقک رشد با دمای مورد نظر (با توجه به سطوح دمایی ذکر شده)، دوره نوری ۱۴/۱۰ ساعت (شب/ روز) قرار داده شدند (۲). پس از گذشت ده روز گلدان‌ها از اتاقک رشد بیرون آورده شدند و بعد از اندازه‌گیری ارتفاع بوته برحسب سانتی‌متر، بوته‌ها از گلدان‌ها به دقت خارج شدند و بعد از شستشو اندام هوایی از ریشه جدا شد سپس صفات مختلف گیاهچه شامل طول ریشه برحسب سانتی‌متر، وزن خشک ریشه و اندام هوایی با قرار دادن در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۴۸ ساعت برحسب گرم اندازه‌گیری شدند.

سایر ویژگی‌های مورد اندازه‌گیری در مرحله گیاهچه‌ای شامل میزان سبزینگی برگ با استفاده از دستگاه اسپد (مدل SPAD-502 Readings Minolta, Japan) در روز آخر سرمادهی بود. قرائت روی قسمت میانی پهنک جوان‌ترین برگ چهار بوته برحسب واحدSPAD اندازه‌گیری شد و از میانگین آنها برای تجزیه و تحلیل استفاده شد. خصوصیات فتوسنتزی با استفاده از دستگاه فتوسنتز متر (مدل LC4-004, England) و فلوری‌متر (مدل OS1-FL, USA) اندازه‌گیری شدند. بدین‌منظور در هر گلدان از یک بوته، جوان‌ترین برگ را انتخاب و بعد از حدود ۲۰ دقیقه سازگاری به تاریکی فلش نور به محل دریچه گیره متصل و داده‌های مربوط به فلورسانس بیشینه (Fm) و فلورسانس متغیر (Fv) قرائت شد و کارایی فتوسیستم II (Fv/Fm) محاسبه شد. اندازه‌گیری پارامترهای فتوسنتزی برگ‌ها شامل فتوسنتز خالص (A)، تبخیر و تعرق(E)، کارایی مصرف آب لحظه‌ای (A/E)، هدایت روزنه‌ای

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1397.8.2.5.9]
[DOI: 10.29252/jcpp.8.2.33]

جدول ۲. فهرست و ویژگی‌های آغازگرهای ریزماهواره مورد استفاده

نام آغازگر	توالی آغازگر رفت	توالی آغازگر برگشت	اندازه (جفت باز)
Na10-B08	AGAGAAAAACACTTCCCGCC	GTGAGCTTTGCGAAACACG	100-145
Na12-C08	GCAAACGATTTGTTTACCCG	CGTGTAGGGTGATCTAGATGGG	220-320
Na12-E09	CATGAGAACAAGATGGGTTCG	CTGAAACTTGAGCAAAGCCC	247-320
Na14-C12	CACATTTTGGTTCAATTCGG	TACGACGCTGGTTTCGATTC	180-240
Ol10-G06	GACAAGTTCCCTTGTAATGGC	TGTAATCATCACACATTTTGGG	150-210
Ra2-A11	GACCTATTTTAATATGCTGTTTTACG	ACCTCACCGGAGAGAAATCC	120-185
Ra2-D04	TGGATTCTCTTTACACACGCC	CAAACCAAAATGTGTGAAGCC	105-150
Ra2-E07	ATTGCTGAGATTGGCTCAGG	CCTACACTTGCGATCTTCACC	120-150
Ra2-G08	ATGTCCGGATAACCGAATCC	GAAGCTTTTCAATTTTTAAGTTCTCTC	297-404
Ra2-E11	GGAGCCAGGAGAGAAGAAGG	CCCAAAACTTCCAAGAAAAGC	120-185

(gs) و میزان CO_2 بین سلولی (CI) نیز در همان روز انجام گرفت. این اندازه‌گیری‌ها روی جوان‌ترین برگ کاملاً باز شده و بین ساعت ۱۰ صبح تا ۱۴ بعد از ظهر انجام گرفت. در نهایت نشت الکترولیت به‌روش بلترانو و رونکو (۴) اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1، مقایسه میانگین‌ها به‌روش LSD و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel صورت گرفت. ضریب تغییرات فنوتیپی، ژنتیکی (۱۰) و وراثت‌پذیری عمومی(۲۳) با استفاده از روابط زیر محاسبه شدند:

$$CV_p = (S_p / \mu) \times ۱۰۰ \quad (۱)$$

$$CV_g = (S_g / \mu) \times ۱۰۰ \quad (۲)$$

در روابط فوق S_p و S_g به‌ترتیب نشان‌دهنده انحراف معیار فنوتیپی و ژنتیکی و μ نشان‌دهنده میانگین صفات مربوطه است. شدت تنش (Stress Intensity) برای کلیه صفات اندازه‌گیری شده، با استفاده از فرمول زیر به‌دست آمد:

$$SI = ۱ - (\overline{Ys} / \overline{Yp}) \quad (۳)$$

در این معادله: $\overline{Yp}$ میانگین کلیه ژنوتیپ‌ها برای صفات در شرایط بدون تنش (۲۵ درجه سلسیوس)، $\overline{Ys}$ میانگین کلیه ژنوتیپ‌ها برای صفات در شرایط تنش (۵ درجه سلسیوس). شاخص تحمل به تنش (Stress Tolerance Index) نیز با فرمول زیر محاسبه شد (۱۱):

$$STI = (Yp \times Ys) / \overline{Yp}^2 \quad (۴)$$

وزن خشک هر ژنوتیپ در شرایط بدون تنش (۲۵ درجه سلسیوس)، Y_P وزن خشک هر ژنوتیپ در شرایط تنش (۵ درجه سلسیوس) و Y_S جهت گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مشابه براساس صفات اندازه‌گیری شده با استفاده از داده‌های استاندارد شده، از تجزیه خوشه‌ای به روش وارد استفاده شد. از آزمون‌های T^2 کاذب (Pseudo T square test) و سی.سی.سی (Cubic clustering criterion) برای تشخیص تعداد مناسب گروه‌ها استفاده شد. سپس با رسم نمودار سه‌بعدی STI، Y_P و Y_Sژنوتیپ‌های مناسب جهت کشت در شرایط ۲۵ درجه‌سلسیوس (شاهد) و ۵ درجه سلسیوس (تنش سرما) شناسایی شدند.

برای شناسایی نشانگرهای ریزماهواره مرتبط با مهم‌ترین ویژگی‌های تحمل به سرما، از امتیازهای صفر و یک ده آغازگر ریزماهواره (جدول ۲) که در مطالعه دیگر (۳) به‌دست آمده بودند، استفاده شد. بررسی ارتباط بین نشانگرها و صفات به کمک مدل لجستیک (Binary logistic regression) انجام شد. این تجزیه با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ و با درنظر گرفتن مشاهدات مربوط به نشانگرها به‌عنوان متغیر تابع و سایر ویژگی‌ها به‌عنوان متغیر مستقل صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثرات اصلی تنش سرمایی و ژنوتیپ برای کلیه صفات اندازه‌گیری شده، معنی‌دار بودند. بنابراین ژنوتیپ‌ها واکنش‌های متفاوتی نسبت به سرما از لحاظ ویژگی‌هایی مورد بررسی داشتند. با مقایسه سطوح مختلف سرما به‌وسیله معیار شدت تنش یعنی

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1397.8.2.5.9]
[DOI: 10.29252/jcpp.8.2.33]

[DOI: 10.29252/jcpp.8.2.33] [DOR: 20.1001.1.22518517.1397.8.2.5.9] [Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

جدول ۳. میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس برای صفات اندازه‌گیری شده در ژنوتیپ‌های کلزا مورد مطالعه

منابع تغییرات	درجه آزادی	F_v/F_m	میزان سبزینگی	نشت الکترولیت	کارایی مصرف آب لحظه‌ای	تبخیر و تعرق	میزان CO_2 بین سلولی	طول ریشه	ارتفاع ساقه	وزن خشک ریشه	وزن خشک ساقه
دما	۳	۰/۳۶۶**	۳۳۹۸/۶**	۵۴۹۱۷/۹**	۷۶۹۹/۹**	۱۲۴/۰۲**	۶۴۶۴۶۳**	۱۷۳۳/۲۳**	۲۶۰/۰۹**	۳/۱۱۴**	۰/۴۰۵**
خطای۱	۱۲	۰/۰۰۱	۳۰/۴	۱۳	۳/۵	۰/۰۶	۶۰	۳۹/۵۹	۰/۳۹	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲
ژنوتیپ	۲۳	۰/۰۱۷**	۱۳۵/۵**	۳۱۴۴/۳**	۴۷۱۹**	۵/۰۲**	۳۰۷۷۶**	۷۵/۰۶**	۶۹/۱۹**	۰/۲۳۵**	۰/۰۲۹**
ژنوتیپ × دما	۹۶	۰/۰۱۱**	۱۸/۴**	۳۷۴/۴**	۳۲۷/۸**	۱/۲۸**	۹۹۲۳**	۱۰/۹۱**	۵/۱۶**	۰/۰۸۶**	۰/۰۰۹**
خطای۲	۲۷۶	۰/۰۰۳	۱۳/۸	۹/۷	۵/۱	۰/۱۳	۹۵	۶/۹۳	۰/۳۳	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات (٪)	-		۹/۵	۹/۵	۲۵/۱	۲۷/۱	۳/۶	۱۳/۳۳	۱۳/۱۱	۱۲/۳۱	۲۰/۴۷
شدت تنش			۰/۲۲	۰/۷۲	۰/۸۱	۰/۶۶	۰/۳۲	۰/۲۷	۰/۳۶	۰/۳۳	۰/۴۶

** نشان دهنده معنی‌داری در سطح یک درصد

میزان تأثیری که سطوح سرما بر ویژگی‌های اندازه‌گیری شده داشتند، در نهایت سطح سرمای ۵ درجه سلسیوس به‌عنوان تنش درنظر گرفته شد و سایر محاسبات صرفاً در این سطح و شرایط شاهد (۲۵ درجه سلسیوس) صورت پذیرفت.

نتایج حاصل از آمار توصیفی در جدول ۴ آورده شده‌است. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود در شرایط تنش سرما (۵ درجه سلسیوس)، میانگین بیشتر صفات (به‌جز میزان نشت الکترونیک) کاهش یافتند. در بین صفات فیزیولوژیکی بررسی شده بیشترین ضریب تنوع ژنتیکی در شرایط عدم تنش سرما به کارآیی مصرف آب لحظه‌ای به‌میزان ۹۳/۹۳ درصد و نشت الکترولیت به‌میزان ۹۰/۳۲ درصد و کمترین میزان آن به Fv/Fm (۱/۱۷ درصد) تعلق داشت. در مجموع میزان تنوع در شرایط تنش نسبت به شرایط بدون تنش کمتر بود. در شرایط تنش سرما علاوه‌بر دو صفت فوق صفات وزن خشک ریشه، ارتفاع ساقه و تبخیر و تعرق نیز دارای مقادیر بالایی بودند. هرچه تنوع موجود در صفات بیشتر باشد، انتخاب در آنها از کارایی بالاتری برخوردار است. اگر واریانس ژنتیکی در محیط تنش بزرگ‌تر از شرایط بدون تنش باشد، انتخاب در محیط تنش از بازدهی ژنتیکی بالاتری نسبت به انتخاب در شرایط بدون تنش و انتخاب در دو محیط برخوردار خواهد بود (۱۵). در این مطالعه این وضعیت برای صفات تبخیر و تعرق و طول ریشه برقرار بود. اما برای سایر صفات انتخاب در شرایط بدون تنش مفید خواهد بود. بیشترین میزان تغییرات فنوتیپی در بین صفات فیزیولوژیکی مربوط به نشت الکترولیت در حالت تنش و کارایی مصرف آب لحظه‌ای در حالت عدم تنش بوده است. زمانی که میزان وراثت‌پذیری، ضریب تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی پایین باشند، نشان‌دهنده این است که ارزش اصلاح صفات برای انتخاب مستقیم پایین است. بنابراین، صفتی مثل نشت الکترولیت که از نظر این سه پارامتر مقادیر بالایی داشت را می‌توان به‌عنوان یک صفت مطلوب برای انتخاب غیر مستقیم برگزید. این نتایج با یافته‌های محقق دیگر مطابقت داشت (۲).

بیشترین میزان تنوع ژنوتیپی در حالت عدم تنش مربوط به وزن خشک ریشه با میزان ۶۲/۲۲ و در حالت تنش نیز به همین صفت با میزان ۶۰/۷۷ تعلق داشت. ضرایب تنوع فنوتیپی کلیه صفات از ضریب تنوع ژنتیکی زیادتر بودند که نشان‌دهنده تأثیر عوامل محیطی بر این صفات است، اما تأثیر این عوامل کم بود. این نتیجه نشان‌دهنده این است که قسمت اعظم صفات مورد نظر قابل انتقال به نتاج می‌باشند. بیشتر بودن قابلیت توارث در این بررسی حاکی از آن است که اثرات محیطی قسمت اندکی از تغییرات فنوتیپی این صفات را به‌وجود می‌آورند، در نتیجه انتخاب براساس این صفات مؤثر است. گزارش شده که تحمل به سرما در کلزا، صفت کمی است که به‌وسیله تعداد زیادی ژن کوچک اثر با اثر افزایشی کنترل می‌شود (۲۴ و ۲۶).

براساس معیار توان سوم خوشه‌ها و T^2 کاذب هتلینگ دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای در شرایط بدون تنش در فاصله مقیاس تغییر یافته تقریبی ۴/۷۵ برش داده شد که ژنوتیپ‌ها در چهار گروه متفاوت قرار گرفتند. گروه اول تا چهارم به‌ترتیب ۹، ۹، ۴ و ۲ ژنوتیپ را شامل شدند که درنظر اول بر وجود تنوع ژنتیکی در میان ژنوتیپ ها دلالت دارد (شکل ۱). گروه اول (c_1) شامل ژنوتیپ‌های CR3198، Nugget، Kroko، Golden، Regent، CR3248، Kosa، CR3189 و CR3250 بودند. این ژنوتیپ‌ها که همه از IPK ارسال شده بودند از نظر صفات فلوئورسانس کلروفیل و طول ریشه دارای بیشترین مقدار بودند. گروه دوم (c_2)، خود به دو زیرگروه تفکیک شد، که زیرگروه اول شامل ژنوتیپ‌های H6486، H609، K9209، H4815 و Callypso و زیرگروه دوم شامل ژنوتیپ‌های H4722، H6059، Marnoo و Q6501 بودند. ارقام مربوط به این گروه از نظر کلیه صفات به‌جز صفت هدایت روزنه‌ای، مقدار نسبتاً کمی داشتند.

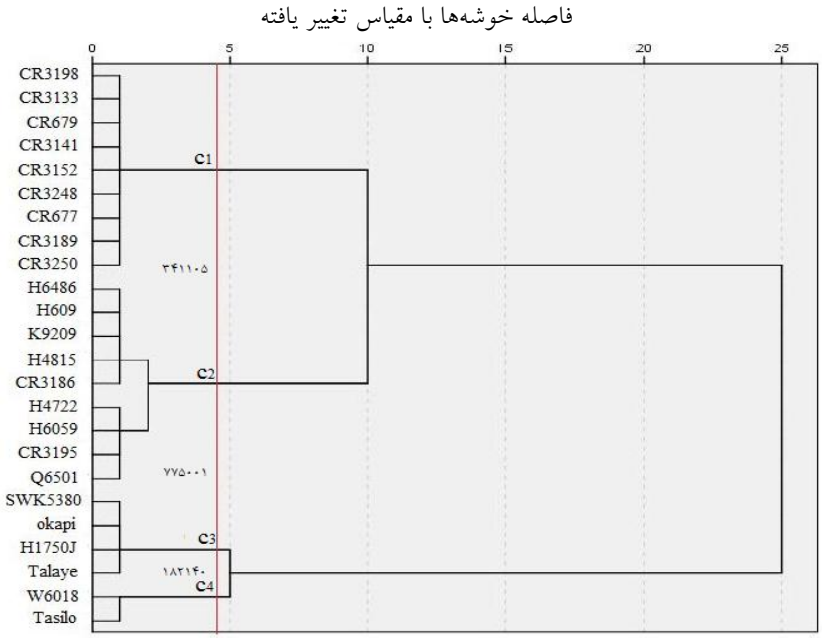
گروه سوم (c_3) شامل ژنوتیپ‌های SWK5380، H1750J، اکاپی و طلایه بود. این ژنوتیپ‌های نیز از نظر صفت وزن خشک ساقه دارای مقدار بالایی بودند. در نهایت ژنوتیپ‌های تاسیلو و W6018 در گروه چهارم (c_4) قرار گرفتند که دارای

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1397.8.2.5.9]
[DOI: 10.29252/jcpp.8.2.33]

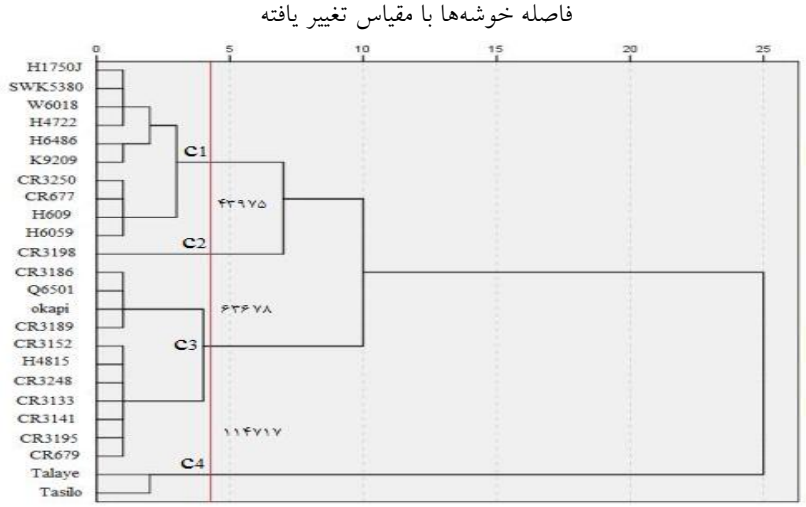
[DOI: 10.29252/jcpp.8.2.33] [DOR: 20.1001.1.22518517.1397.8.2.5.9] [Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

جدول ۴. برآورد برخی پارامترهای آماری برای صفات مورد مطالعه در شرایط تنش سرما (۵ درجه سلسیوس) و بدون تنش (۲۵ درجه سلسیوس)

پارامتر	شرایط دمایی (درجه سلسیوس)	F_v/F_m	میزان سبزینگی (عدد اسپاد)	نشت الکترولیت (درصد)	کارایی مصرف آب لحظه‌ای (میکرومول CO_2 بر میلی‌مول آب)	تبخیر و تعرق (میلی‌مول بر مترمربع بر ثانیه)	میزان CO_2 بین سلولی (میکرولیتر در لیتر)	طول ریشه (سانتی‌متر)	ارتفاع ساقه (سانتی‌متر)	وزن خشک ریشه (میلی‌گرم)	وزن خشک ساقه (میلی‌گرم)
میانگین	۲۵	۰/۸۶	۴۶/۷۶	۱۰/۸۱	۲۲/۰۵	۳/۱۴	۳۶۱/۱۵	۲۴/۷۶	۶/۲۷	۰/۴۹	۰/۲۳
	۵	۰/۸۲	۳۶/۶۲	۳۹/۲۰	۴/۲۸	۱/۰۷	۲۴۵/۱۴	۱۷/۹۶	۴/۰۳	۰/۱۵	۰/۱۲
ضریب تنوع ژنتیکی	۲۵	۱/۱۷	۸/۴۳	۹۰/۳۲	۹۳/۹۳	۳۳/۳۸	۲۳/۵۸	۹/۲۵	۵۴/۷۲	۶۲/۲۲	۴۱/۰۶
	۵	۱/۷۲	۸/۴۹	۴۸/۴۲	۴۵/۴۸	۵۳/۰۰	۱۶/۲۸	۱۱/۷۵	۴۶/۷۶	۶۰/۷۷	۲۶/۶۴
ضریب تنوع فنوتیپی	۲۵	۱/۱۷	۱۰/۲۰	۹۰/۳۳	۸۴/۴۲	۳۴/۶۴	۲۳/۶۶	۱۱/۹۱	۵۵/۰۳	۶۲/۳۴	۴۲/۲۳
	۵	۲/۱۱	۹/۰۵	۴۸/۵۰	۴۶/۸۲	۵۳/۶۲	۱۵/۳۴	۱۳/۵۸	۴۷/۲۲	۶۱/۰۹	۲۸/۰۸



شکل ۱. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها به روش وارد براساس صفات مورد مطالعه در شرایط عدم تنش سرما (دمای ۲۵ درجه سلسیوس). اعداد مربع فاصله اقلیدسی گروه‌ها را نشان می‌دهند.



شکل ۲. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها به روش وارد بر اساس صفات مورد مطالعه در شرایط تنش سرما (دمای ۵ درجه سلسیوس). اعداد مربع فاصله اقلیدسی گروه‌ها را نشان می‌دهند.

بیشترین میزان CO_2 بین سلولی نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بودند. بیشترین فاصله بین گروه‌های c_3 و c_4 مشاهده شد. بنابراین، برای دست‌یابی به هتروزیس حداکثر، می‌توان ژنوتیپ‌های این گروه‌ها را با هم تلاقی داد.

در شرایط تنش سرما (۵ درجه سلسیوس) براساس آزمون‌های فوق در فاصله مقیاس تغییر یافته تقریبی ۴/۷ ژنوتیپ‌ها به چهار گروه تقسیم شدند. گروه اول تا چهارم به‌ترتیب ۱۰، ۱، ۱۱ و ۲ ژنوتیپ را شامل شدند که بیانگر وجود تنوع ژنتیکی در میان ارقام در شرایط سرما بود (شکل ۲). گروه اول (c_1) شامل ژنوتیپ‌های H1750J، SWK5380، W6018،

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1397.8.2.5.9]
[DOI: 10.29252/jcpp.8.2.33]

H4722، H6486، K9209، Kosa، CR3250، H609 و H6059 بودند. در این گروه ژنوتیپ‌های H1750J، SWK538، W601، H4722، H6486، K9209، H609 و H6059 مربوط به یک اقلیم و از ایران جمع‌آوری شده بودند. ژنوتیپ‌های Kosa و CR3250 نیز مربوط به مناطق معتدله آلمان و لهستان هستند. اعضای این گروه از نظر وزن تر ریشه، کمترین مقادیر را به خود اختصاص دادند، این ژنوتیپ‌ها ارتفاع متوسط تا کوتاه داشتند. گروه دوم (c_2) تنها شامل ژنوتیپ CR3198 بود. این ژنوتیپ از نظر صفات طول ریشه، وزن خشک ریشه، میزان سبزینگی، F_0، F_M، F_V، F_V/F_M و سرعت فتوسنتز دارای میزان بالا و از نظر نشت الکترولیتی دارای کمترین مقدار بود. بنابراین، می‌توان گفت ژنوتیپ متحمل به سرما است. گروه سوم (c_3) خود به دو زیرگروه تفکیک شد. زیرگروه اول چهار ژنوتیپ به نام‌های Callypso، Q6501، اکاپی و CR3189 در خود جای داد و زیرگروه دوم شامل هفت ژنوتیپ (Regent، H4815، CR3248، Nugget، Golden، Marnoo و Kroko) شد. این ژنوتیپ‌ها از نظر صفات F_M، F_V، F_V/F_M، محتوی کلروفیل، سرعت فتوسنتز، کارآیی مصرف آب لحظه‌ای، هدایت روزنه‌ای، وزن تر و خشک ریشه، ارتفاع ساقه و وزن خشک اندام هوایی دارای مقادیر نسبتاً زیاد بودند و برخی ژنوتیپ‌های موجود در این گروه مثل CR3248 دارای نشت الکترولیتی پایینی بودند. بنابراین ژنوتیپ‌های این گروه را می‌توان نسبتاً متحمل به سرما در مرحله گیاهچه‌ای دانست. در نهایت گروه چهارم (c_4) شامل دو رقم به نام‌های طلایه و تاسیلو بودند که این دو ژنوتیپ بیشترین فاصله ژنتیکی را با سایر ژنوتیپ‌ها داشتند. این دو رقم از نظر تمامی صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک به جز صفت میزان CO_2 بین سلولی و نشت الکترولیت دارای کمترین میزان بودند. بنابراین، ژنوتیپ‌های این گروه از جمله حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها به سرما در مرحله گیاهچه‌ای بودند.

ملاحظه می‌شود که علی‌رغم اینکه تعداد گروه‌ها در هر دو شرایط سرمای پنج درجه و بدون سرما (۲۵ درجه) یکسان است اما ژنوتیپ‌های داخل گروه‌ها در بیشتر موارد متفاوت است، که این خود بیانگر تنوع از نظر تحمل به سرما در ژنوتیپ‌ها می‌باشد. در مطالعه‌ای با بررسی تحمل به سرما در چهار رقم زمستانه کلزا تفاوت معنی‌داری میان آنها گزارش شد. معیار انتخاب در این پژوهش نسبت F_v/F_m و هدایت الکتریکی در مرحله گیاهچه‌ای بود (۷). این گونه تنوع‌ها میان ارقام مختلف کلزا، از نظر ویژگی‌های مهمی مثل درصد بقا، کارایی مصرف آب، میزان فتوسنتز خالص و هدایت روزنه‌ای در شرایط سرما نیز گزارش شده است (۲۴ و۲۷).

ژنوتیپ‌های Golden و CR3189 متحمل به سرما، در مرحله گیاهچه‌ای وزن خشک اندام هوایی بالاتری در هر دو شرایط تنش و بدون تنش داشتند. در گروه‌بندی از طریق تجزیه خوشه‌ای این دو ژنوتیپ جزء ژنوتیپ‌های نسبتاً مقاوم بودند. گزارش شده که شاخص STI می‌تواند به‌عنوان بهترین شاخص جهت دست‌یابی به ارقام پرمحصول، در هر دو شرایط محیطی استفاده شوند (۱۱). ژنوتیپ‌های Nugget، Kroko، Kosa، CR3250، CR3248، Regent، H1750J، Callypso، H4722، H6059، K9209، W6018، H609، CR3198T، Q6501، SWK5380 حساس به تنش سرما، دارای ماده خشک بالا در شرایط بدون تنش و میزان ماده خشک کم در شرایط تنش بودند و بنابراین فقط برای کاشت در شرایط بدون تنش سرمایی هستند. ژنوتیپ‌های متحمل به سرما در کلزا باید از بنیه اولیه خوبی برخوردار باشند. ژنوتیپ‌های اکاپی، تاسیلو، H6486 و CR3195، ماده خشک کمتری در شرایط تنش و بدون تنش داشتند. لذا این ارقام در هیچ‌کدام از شرایط آزمایش توصیه نمی‌شوند.

ارتباط بین نشانگرهای مولکولی و ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در مرحله گیاهچه‌ای

تجزیه لجستیک نشان داد که ضریب تأثیر B در برخی مکان‌ها برای ویژگی‌های اندازه‌گیری شده مثبت و بزرگ بود (جدول ۵)، بنابراین، این احتمال وجود دارد که مکان‌های موردنظر با

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1397.8.2.5.9]
[DOI: 10.29252/jcpp.8.2.33]

[DOI: 10.29252/jcpp.8.2.33] [DOR: 20.1001.1.22518517.1397.8.2.5.9] [Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

جدول ۵. ضرایب تأثیر B در تجزیه لجستیک دوتایی بین صفات گیاه کلزا و امتیازهای نشانگرهای SSR

آغازگر صفات	Na10-B08	Na12-C08	Na12-E09	Na14-C12	Ol10-G06	Ra2-A11	Ra2-D04	Ra2-E07	Ra2-G08	Ra2-E11
وزن خشک ریشه	۵۷۸/۷۰*	۰	۶۸۱/۱۳*	۰	−۱۲/۰۸	−۸/۲۱	−۳۸۵۷۱/۴۹	−۸/۶۴	−۱۳۶۷/۴۲	−۱۰۳۷۷/۰۷
وزن خشک ساقه	۵۷۳/۹۱*	۰	۱۵/۷۱	۰	−۴۱/۵۲	۸/۱۱	۷۵۷۹/۸۹**	−۱۲/۹۹	۸۳۰۷/۷۹**	−۵۰۴۷۹/۹۱
کلروفیل	۵/۵۰	۰	−۰/۱۹	۰	۰/۰۰	۰/۰۶	−۹۰۶/۳۸	−۰/۰۴	۴۵/۰۹	۴۸۰/۱۵*
ارتفاع ساقه	−۸/۱۷	۰	۲۶۴۵**	۰	۰/۷۱	۳/۴۲	−۳۷۲/۱۶	۱/۶۵	−۶/۳۹	−۱۹۸/۶۴
نشت الکترولیت	۰/۳۸	۰	−۰/۰۷	۰	۰/۰۸	۰/۰۸	−۲۰۸/۷۲	۰/۱۳	۱۱/۶۷	−۸۷/۶۱
کارایی مصرف آب لحظه‌ای	−۲۲/۵۷	۰	۰/۰۳	۰	−۱/۴۰	۰/۶۳	۲۵۷۶/۹۱**	−۰/۲۲	۶/۴۵	−۹۱۹/۳۲
تبخیر و تعرق	−۳۱/۵۷	۰	−۲/۲۵	۰	−۸/۷۳	−۰/۶۷	−۵۱۵۴/۹۵	−۱/۶۵	۴۴/۴۶	−۴۱۴۳/۹۳
میزان CO_2 مزوفیلی	−۱/۱۲	۰	−۰/۰۲	۰	−۰/۰۶	۰/۰۱	۸/۵۹	۰/۰۰	−۴/۰۳	−۳۱/۱۴
شاخص تحمل تنش	۲۹۲۲**	۰	۲۵۲۲**	۰	−۳/۴۷	۳/۴۲	−۲۱۰۵۵/۰۶	۲/۲۶	−۵۱۴/۸۳	۴۴۷۵/۰۶**

*و** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک در صد

صفات اندازه‌گیری شده در شرایط دمای پنج درجه ارتباط داشته باشد، وقتی ضریب تأثیر (B) یک متغیر مستقل بر متغیر وابسته مثبت و بزرگ باشد، مرتبط با وجود باند است و اگر منفی باشد مرتبط با عدم باند است. بنابراین در این تجزیه اعداد مثبت و معنی‌دار درنظر گرفته می‌شوند. طبق جدول ۵ مکان ریزماهواره‌ای Na10-B08 با صفات وزن خشک ریشه (ضریب تأثیر *۵۷۸/۷)، وزن خشک ساقه (ضریب تأثیر *۵۷۳/۹۱) و شاخص تحمل به تنش (ضریب تأثیر **۲۹۲۲)؛ نشانگر Na12-E09 با صفت وزن خشک ریشه (ضریب تأثیر *۶۸۱/۱۳)، ارتفاع ساقه (ضریب تأثیر **۲۶۴۵) و شاخص تحمل به تنش (ضریب تأثیر **۲۵۲۲)؛ نشانگر Ra2-D04 با وزن خشک ساقه (ضریب تأثیر **۷۵۷۹/۸۹) و کارایی مصرف آب لحظه‌ای (ضریب تأثیر **۲۵۷۶/۹۱)؛ نشانگر Ra2-G08 فقط با وزن خشک ساقه (ضریب تأثیر **۴۸۰/۱۵) و در نهایت نشانگر Ra2-E11 با میزان سبزینگی (ضریب تأثیر *۴۸۰/۱۵) و شاخص تحمل به تنش (ضریب تأثیر **۴۴۷۵/۰۶) مرتبط بودند. درحالی‌که سایر نشانگرها با هیچ‌کدام از صفات ضریب تأثیر مثبت و معنی‌دار نشان ندادند.

امروزه یافتن نشانگرهای مولکولی مرتبط با صفات مهم در انواع گیاهان به امری متداول در برنامه‌های اصلاحی تبدیل شده است. سمیع‌زاده و همکاران (۲۱) دو نشانگر RAPD که احتمالاً مرتبط با طول غلاف در کلزا هستند را شناسایی کردند. راجکان و همکاران (۱۹) دو نشانگر RAPD مرتبط با میزان اسید لینولنیک و یک نشانگر RAPD مرتبط با میزان اسید اروسیک در کلزای بهاره را گزارش کردند، اما در خصوص تحمل به سرما در گیاهان مختلف هم مطالعاتی برای یافتن نشانگرهای مولکولی پیوسته انجام شده است. گیو و همکاران (۱۳) در مطالعه‌ای توانستند سه نشانگر SSR مرتبط با تحمل به سرما در گیاه چمن ژاپنی (*Zoysia wild*) شناسایی و معرفی کنند. سوح و همکاران (۲۵) هشت نشانگر SSR مرتبط با تحمل به سرما را با مطالعه برروی میزان تلقیح خوشه ۲۳ رقم برنج گزارش کردند. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود، در این مطالعه هم چند نشانگر SSR مرتبط با ویژگی‌های تحمل به سرما در کلزا شناسایی شدند که در این میان با توجه به نتایج بخش اول آزمایش، نشانگرهای مرتبط با شاخص تحمل به تنش یعنی نشانگرهای Na10-B08، Na12-E09 و Ra2-E11 و نشانگر مرتبط با صفت کارآیی مصرف آب لحظه‌ای یعنی Ra2-D04، می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی جهت بهبود تحمل به سرما در کلزا مفید واقع شوند.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش حاکی از تنوع وسیع میان ژنوتیپ‌های درون گونه‌ای از نظر ویژگی‌های مختلف است. به‌عبارت دیگر ژرم‌پلاسم کافی برای بهبود تحمل به سرما در مرحله گیاهچه در این گیاه وجود دارد. در این میان ژنوتیپ CR3198 نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها تحمل به سرمای بالاتری از خود نشان داد. با توجه به نتایج این پژوهش صفت نشت الکترولیتی و وزن خشک ریشه و ساقه در مرحله بعد، می‌توانند به‌عنوان معیارهای تحمل به تنش سرما در مرحله گیاهچه‌ای به‌کار روند. از طرف دیگر تنوع از نظر ویژگی‌های مختلف، بیانگر وجود مکانیسم‌های متفاوت تحمل به سرما در کلزا است. به‌علاوه استفاده از نشانگرهای شناسایی شده در این مطالعه می‌تواند انتخاب در مرحله گیاهچه‌ای را قابل اعتمادتر و آسان‌تر کند. نظر به اینکه سرمای زودرس پاییزه در بیشتر نقاط جهان، به ارقام زمستانه کلزا در مرحله گیاهچه‌ای خسارت شدید وارد می‌کند (۱۸ و ۲۰) و نشان داده شده که تحمل به سرمای ارقام در شرایط کنترل شده (اتاقک رشد) دارای همبستگی زیادی با تحمل به سرما در شرایط مزرعه است (۱۲) نتایج این مطالعه می‌تواند برای کشت ارقام کلزا در مناطقی که خطر سرمازدگی وجود دارد، مفید واقع شود.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1397.8.2.5.9]
[DOI: 10.29252/jcpp.8.2.33]

منابع مورد استفاده

1. Ahmad Jan, S., N. Bibi, Z. Khan Shinwari, M. Ashiq Rabbani, S. Ullah and A. Qadirand Nadar Khan. 2017. Impact of salt, drought, heat and frost stresses on morpho-biochemical and physiological properties of *Brassica species*: An updated review. *Journal of Rural Development and Agriculture* 2(1): 1-10.
2. Asghari, A., S. A. Mohammadi, M. Moghadam, M. Toorchi and A. Dabagh-Mohammadi Nasab. 2005. Mapping of cold resistance genes in rapeseed (*Brassica napus* L.) using microsatellite markers. *Iranian Journal of Crop Sciences* 7: 202-211. (In Farsi).
3. Barzan, Z., M. Dehdari and R. Amiri Fahliani. 2015. Study of genetic diversity in rapeseed (*Brassica napus* L.) genotypes using microsatellite markers. *Journal of Agricultural Biotechnology* 7(1): 29-41. (In Farsi).
4. Beltrano, J. and E. Ronco. 2008. Improved tolerance of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to drought stress and rewatering by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum*. *Journal of Plant Physioligy* 20: 29-31.
5. Burbulis, N., V. Jonytienė, A. Blinstrubienė, R. Kuprienė, V. Liakas and I. Vagusevičienė. 2012. Cold tolerance of *Brassica napus* L. as influenced by weather conditions during wintering. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 10: 277-280.
6. Cebert, E. and W. Rufina. 2007. Genetic variation among winter canola cultivars to freezing temperatures during flowering and early seed formation. *In:* Proceedings of the ASA-CSSACSSA. International Annual Meetings, New Orleans, Louisiana, PP: 4-8.
7. Chengci, C., J. Grant, N. Karnes, W. David, J. Gregory and J. Duane. 2005. Determining the feasibility of early seeding canola in the Northern Great Plains. *Agronomy Journal* 97: 1252-1262.
8. Dhawan, A. K. 1985. Freezing in oileed *Brassica ssp*. some factors affecting injurity. *Journal of Agricultural Sciences* 104: 513- 518.
9. FAO. 2008. Available online at http:// FAO.org. FAOSTATE. Agriculture Statistics.
10. Farshadfar, E. 2000. Application of Quantitative Genetics in Plant Breeding. Razi UnivPress, Iran. (In Farsi).
11. Fernandez, G. C. J. 1992. Effective selection criteria for assessing stress tolerance. *In:* C. G. Kuo, (Ed.). *In:* Proceedings of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and Other Food Crops in Temperature and Water Stress. AVRDC Publication, Tainan, Taiwan. PP. 257-270.
12. Fowler, D. B., L. V. Gusta and N. J. Tyler. 1981. Selection for winterhardiness in wheat. III. Screening methods. *Crop Science* 21: 896-901.
13. Guo, H. L., J. P. Xuan, J. X. Liu, Y. M. Zhang and Y. Q. Zheng. 2012. Association of molecular markers with cold tolerance and green period in zoysiagrass (*Zoysia willd* L.). *Breeding Science* 62: 320–327.
14. Jamali, B. 2011. Cultivation of canola. Available online at: http://www.agri-borkhar.ir/Portals/5/zerat-kolza.doc.
15. Joshi, S. C., S. Chandra and L. M. S. Palni. 2007. Differences in photosynthetic characteristics and accumulation of osmoprotectants in saplings of evergreen plant grown inside and outside a glasshouse during the winter season. *Photosynthetica* 45: 594-600.
16. Kafi, M., A. Borzouei, A. Kamandi and J. Nabati. 2008. Environmental Stress Physiology of Plants. Publications Jihad Mashhad University. Mashhad. (In Farsi).
17. Kumar, D. 1997. Crop Response to Abiotic Stresses, Vol 2: Oilseed. Scientific Publishers Jodhpur, India.
18. Mossavi, A., B. Alizadeh, M. Khodarahmi and KH. Mostavafi. 2012. Investigation of cold resistance in winter canola (*Brassica napus* L.) cultivars in feld condition. *Journal of Agronomy and Plant Breeding* 8(3): 29-37. (In Farsi).
19. Rajcan, I., K. J. Kasha, L. S. Kott and W. D. Beversdorf. 1999. Detection of molecular markers associated with linolenic and erucic acid levels in spring rapeseed (*Brassica napus* L.). *Euphytica* 105: 173-181.
20. Roy, B. and A. K. Basu. 2009. Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants: Breeding and Biotechnology. New India Publishing Agency (NIPA). Pitam Pura, New Delhi.
21. Samizadeh, H., B. Yazdisamadi, M. R. Behamta, A. Taleii and G. R. Stringham. 2007. Study of pod length trait in doubled haploid *Brassica napus* population by molecular markers. *Journal of Agricultural Science and Technology* 9: 129-136. (In Farsi).
22. Shakeri, A. 2010. Agricultural Annual Report. Avialable online at: http://www.farsnews.com/newstext.php.
23. Singh, B. D. 2005. Plant Breeding: Principles and Methods (7th Ed.). Kalyani Publishing, New Delhi.
24. Singh, S. K., V. G. Kakani, D. Brand, B. Baldwin and K. R. Reddy. 2008. Assessment of cold and heat tolerance of winter-grown canola *(Brassica napus* L.) cultivars by pollen based parameters. *Journal Agronomy and Crop Science* 194(3): 225-236.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1397.8.2.5.9]
[DOI: 10.29252/jcpp.8.2.33]

25. Suh, J. P., Y. C. Cho, J. H. Lee, S. B. Lee, J. Y. Jung, I. S. Choi, M. K. Kim, C. K. Kim and K. K. Jena. 2013. SSR analysis of genetic diversity and cold tolerance in temperate rice germplasm. *Plant Breeding and Biotechnology* 1: 103-110.
26. Thomashow, M. F. 1990. Molecular genetics of cold acclimation in higher plants. *Advances in Genetics* 28: 99-131.
27. Urban, M. O., M. Klíma, P. Vítámvás, J. Vasek, A. A. Hilgert-Delgado and V. Kucera. 2013. Significant relationships among frost tolerance and net photosynthetic rate, water use efficiency and dehydrin accumulation in cold-treated winter oilseed rapes. *Journal of Plant Physiology* 170: 1600–1608.
28. Willenborg, J., R. Gulden, E. Johnson and S. Shirtliffe. 2004. Germination characteristics of polymer-coated canola (*Brassica napus* L.) seeds subjected to moisture stress at different temperatures. *Agronomy Journal* 96: 786-791.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1397.8.2.5.9]
[DOI: 10.29252/jcpp.8.2.33]

Journal of Crop Production and Processing
Vol. 8, No.2, Summer 2018, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

Evaluation of Cold Tolerance in Rapeseed (*Brassica napus* L.) Genotypes at Seedling Stage and its Association with Microsatellite Markers

Z. Barzan[1], M. Dehdari[2*] and R. Amiri Fahliani[3]

(Received: September 14-2016; Accepted: December 2-2017)

Abstract

Cold is one of the most important abiotic stresses, limiting growth and yield of rapeseed in cold prone areas in Iran. In order to study the cold tolerance of selected popular rapeseed genotypes in Iran and its relationship with SSR markers, this research was conducted in two separate experiments. In the first experiment 24 genotypes of rapeseed were exposed to 25˚C (as control) and 5˚C (as cold stress) treatments at seedling stage. Ten days after implementing cold treatment (about 30 days after sowing), an array of morphological and physiological characteristics were measured. A wide genetic variation was observed among genotypes for the measured traits. The maximum of the genetic diversities of morphological characters in cold and non-stress conditions (60.77 and 62.22, respectively) was observed for the root dry weight. Cluster analysis classified genotypes into four groups based on the measured characters and CR3198 was the genotype identified as cold tolerant at seedling stage. This genotype indicated the greatest root length (18.25 cm), root dry weight (0.3 g), SPAD value (39.71) and Fv/Fm (0.79) and the smallest electrolyte leakage (13.02) under cold stress (5˚C) treatment. Cold tolerant genotypes were characterized by a high seedling vigor. In the second experiment relationships between ten pairs of SSR markers and cold-related traits were investigated. Results of binary logistic regression showed that some SSR markers were associated with shoot and root dry weight and cold stress tolerance index. Three SSR markers including Na10-B08, Na12-E09 and Ra2-E11 were found to be related to cold stress tolerance index of rapeseed at seedling stage. In general, results of this investigation can be used for improving cold tolerance of rapeseed seedlings in breeding programs.

Keywords: Binary logistic analysis, Stress tolerance index, Stress intensity, Chlorophyll fluorescence, Electrolyte leakage

1, 2, 3. MSc. Student, Associate Professor and Assistant Professor, Respectively, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Yasouj, Yasouj, Iran.
*. Corresponding Author, Email: adehdari@yu.ac.ir

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1397.8.2.5.9]
[DOI: 10.29252/jcpp.8.2.33]