Plant Production and Genetics **تولید و ژنتیک گیاهی**
Vol. 5, No. 1, Spring & Summer 2024, p. 65-78 **جلد ۵، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۴۰۳، صفحه ۷۸-۶۵**
مقاله پژوهشی
DOI: 10.22034/PLANT.2023.62945

ارزیابی مولکولی و بیوشیمیایی برخی صفات در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه کلزا تحت شرایط تنش خشکی

سعید نواب‌پور[*1]، ابوالفضل مازندرانی[2]، امین چله مال دزفول‌نژاد[3]

۱. دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۲. دانش آموخته دکتری، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۳. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۱۶

چکیده

دانه‌های روغنی پس از غلات، دومین ذخایر غذایی جهان را تشکیل می‌دهند. کلزا به هنگام جوانه‌زنی و در مراحل رشد غلاف‌ها حساس به خشکی بوده و بیشترین افزایش خسارت هم‌زمان با کمبود آب در زمان رشد گیاهچه جوان تازه استقرار یافته است. بذور ۶ رقم کلزا (شامل: Kodiak، Jerry، Brutus، Jacomo، Julius، Traviata) در شرایط گلخانه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به‌صورت آزمایش‌های فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی با ۴ تکرار مورد آزمون قرار گرفتند. سطوح تیمار خشکی مشتمل بر مقادیر ۶-، ۴-، ۲-، ۱- ، ۰/۵- بار برحسب مقدار معادل آب مورد نیاز در تکرارهای هر تیمار آبیاری شد. نمونه‌برداری جهت محاسبه شاخص عملکرد و صفات وابسته، درصد روغن، شاخص بیوشیمیایی TBARM، میزان کلروفیل و پرولین و همچنین نمونه‌برداری تصادفی جهت انجام مطالعات مولکولی و بررسی بیان ژن صورت گرفت. نتایج حاصل نشان داد با افزایش سطوح تنش در ارقام کلزا، میزان عملکرد دانه و صفات وابسته به آن، درصد روغن و میزان کلروفیل کاهش یافت. همچنین مشاهده شد که با افزایش تنش، شاخص TBARM و پرولین نیز به میزان بیشتری تولید شدند. در مورد دو ژن ACCase و SAD بیشترین میزان بیان ژن مربوط به رقم Traviata در سطح تنش ۴- بار بود و همچنین نتایج به‌دست آمده از دو ژن P5CS1 و PDH نشان داد که با افزایش میزان تنش خشکی در ارقام کلزا میزان بیان ژن نیز در آن‌ها افزایش داشت.

کلیدواژگان: ارزیابی مولکولی، بیان ژن، تنش خشکی، شاخص‌های بیوشیمیایی

[*]ایمیل نویسنده مسئول: s.navabpour@gau.ac.ir

مقدمه

دانه‌های روغنی پس از غلات، دومین ذخایر غذایی جهان را تشکیل می‌دهند. بسیاری از این محصولات علاوه بر دارا بودن ذخائر غنی اسید چرب، حاوی پروتئین نیز می باشند. در این میان کلزا به عنوان یکی از مهم‌ترین گیاهان روغنی در سطح جهان مطرح می‌باشد. ارقام منتشره از سوی سازمان خواربار و کشاورزی جهانی نشان می‌دهد کلزا پس از سویا و نخل روغنی، سومین منبع تولید روغن نباتی جهان به شمار می‌رود. روغن کلزا در مقام مقایسه با روغن حاصله از دانه های روغنی ممتاز، نظیر آفتابگردان، ذرت و سویا به دلیل وجود اسیدهای چرب غیراشباع و فقدان کلسترول از کیفیت تغذیه‌ای بالایی برخوردار است (Shariati and Ghazi, 2000). کلزا از گیاهان روغنی بسیار مهم در جهان است، اطلاعات کمی از مکانیسم تحمل خشکی و سازگاری ژنتیکی آن وجود دارد (Fletcher *et al*., 2016). کلزا با نام علمی *Brassica napus* گیاهی است یکساله از تیره چلیپائیان (Crusiferae)، آلوتترا پلوئید با ۱۹ جفت کروموزوم (2n=38) که به صورت بوته‌ای استوار، با انشعابات محدود و ارتفاع متوسط تا بلند رشد می‌کند. ارقام کلزا دارای دو تیپ بهاره و پائیزه می‌باشند که ارقام بهاره به دلیل دوره رشد کوتاه‌تر از عملکرد کمتری برخوردار هستند و در ضمن نیازی به بهاره‌سازی (ورنالیزاسیون) ندارند، درحالیکه ارقام پائیزه نیازمند گذراندن یک دوره سرما می‌باشند (Azizi *et al*., 1999). تنش‌های محیطی مانند خشکی، گرما و شوری موجب کاهش تولید گیاهان زراعی از جمله کلزا می‌شوند (Gharechahi *et al*., 2016). خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که تعیین‌کننده نحوه توزیع پوشش گیاهی یک منطقه و محدودکننده تولید در بخش کشاورزی می‌باشد و یک خطر جدی در تامین امنیت غذایی جهان محسوب می‌گردد (Yari *et al*., 2016). به نظر می‌رسد افزایش دانش ما از تحمل به تنش خشکی اهمیت زیادی در کشت گیاهان و پیدا کردن روش‌های موثر برای کاهش اثرات مضر خشکی روی گیاهان داشته است. تنش خشکی باعث ایجاد تغییرات مضر در فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در سلول‌های گیاهی می‌شود (Zali *et al*., 2016). تنش خشکی شدید باعث کاهش فتوسنتز، اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیکی و سرانجام خشک شدن و مرگ گیاه می‌گردد (Shao *et al*., 2005; 2007). علت اصلی ایجاد تنش خشکی در گیاه، افزایش تعرق یا کافی نبودن جذب آب و یا ترکیبی از این دو می‌باشد. زمانی که خاک مرطوب است، پتانسیل آب در خاک بالاست و آب به‌صورت آزادانه حرکت می‌کند و به‌آسانی توسط ریشه گیاه جذب می‌شود. در خاک‌های خشک این پتانسیل کمتر است و تحت تأثیر نیروهای کاپیلاری و ماتریک خاک قرار دارد و در نتیجه، گیاه نمی‌تواند به‌آسانی از آن استفاده کند. هنگامی‌که پتانسیل آب در خاک از یک حد آستانه کمتر شود، گیاه تحت تنش قرار می‌گیرد (Bery, 2007). گیاهان زراعی از نظر ظرفیت جذب آب، تعرق و واکنش نسبت به تنش خشکی عکس‌العمل‌های متفاوتی دارند و این اختلاف زمانی که حفظ بیلان کافی آب مشکل است، بیشتر بروز می‌کند. فرآیندهای فیزیولوژیکی در گیاهان عمدتاً تابع وضعیت آب در گیاه هستند و تنها به طور غیر مستقیم تحت تاثیر تنش کمبود آب در خاک و هوا قرار می‌گیرند (Bayomil *et al*., 2008). بنابراین مقدار معینی تنش کمبود آب در خاک، الزاماً همان مقدار تنش در گیاه ایجاد نخواهد کرد. این تفاوت در میزان تنش، تابع عواملی چون مقاومت در برابر جریان آب در خاک که با محتوای آب تغییر می‌کند، مقاومت در برابر حرکت آب از روزنه‌ها به هوا که با شرایط جوی تغییر می‌کند و مهم‌تر از همه مقاومت در برابر حرکت آب در ریشه‌ها و سایر بافت‌های گیاهی که به عوامل فیزیولوژیکی و ساختار ژنتیکی بستگی داشته و به هیچ وجه ثابت نیست، می‌باشد. بنابراین، معمولاً پیش‌بینی وضع آب در گیاه، به تنهایی از روی شرایط خاک یا هوا امکان پذیر نمی‌باشد و ممکن است یک گیاه با وجود رطوبت زیاد در خاک پژمرده شود و یا با وجود خشکی نسبی خاک شاداب بماند (Bery, 2007). بر این اساس اتکا به پتانسیل ژنتیکی ارقام و تلاش در جهت بهبود و اصلاح ژنتیکی آنها نقش اساسی در القای مقاومت به خشکی ایجاد می‌نماید. مطالعات و بررسی‌های به عمل آمده روشن نمود مکانیسم‌های مولکولی در زمزه مهم‌ترین فرآیندهای ژنتیکی (رونویسی، ترجمه، نحوه بیان ژن‌ها) هستند (Mohammadabadi *et al*.,2021). از آنجا که اصول بنیادی هر برنامه اصلاحی از طریق مطالعه پارامترهای ژنتیکی تعیین می گردد، لذا آگاهی از نحوه اثر ژن‌ها در حصول موفقیت برنامه‌های به نژادی ضروری می‌باشد. با توجه به مطالب فوق الذکر این مطالعه به منظور دستیابی به اهداف زیر تنظیم شده است:

۱. ارزیابی الگوی بیان ژن‌های دفاعی مهم در واکنش به

تنش خشکی، ۲. بررسی اهمیت ژن‌های یاد شده با توجه به ساختار و نقش پروتئین‌های کد شده، ۳. مطالعه ارتباط بیان ژن‌ها و برخی صفات ظاهری همراه با تغییرات محتوی کلروفیل، پرولین و شاخص TBARM و ۴. اندازه گیری میزان روغن و صفات وابسته.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و روش کاشت: بذور ۶ رقم کلزا (شامل: Kodiak، Jerry، Brutus، Jacomo، Julius، Traviata) از مرکز تحقیقات دانه‌های روغنی شهرستان گرگان تهیه و در یک بستر کاشت سبک (کوارتز- ماسه-پرلیت و کوکوپیت به نسبت ۳۰، ۳۰، ۲۰ و ۲۰ درصد) کاشته شدند و در مرحله چهار برگی جهت بهاره‌سازی به مدت ۶ هفته در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در ادامه، گیاهچه‌ها به گلخانه تحقیقاتی با میزان روشنایی ۱۶ ساعت و دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد در روز و ۱۶ درجه سانتی‌گراد در شب منتقل شدند. در ابتدا در هر گلدان بزرگ ۲۰ کیلوگرمی سه بوته کاشت گردید و پس از استقرار کامل، بوته‌ها در مرحله سه تا چهار برگی تنک شدند و تنها یک بوته در هر گلدان نگه داشته شد.

اعمال تنش خشکی: سطوح تیمار خشکی مشتمل بر مقادیر ۰/۵-، ۱-، ۲-، ۴- و ۶- بار برحسب مقدار معادل آب موردنیاز در تکرارهای هر تیمار بود. بدین منظور برای تیمار شاهد (ظرفیت زراعی) گلدان مربوطه با احتیاط لازم تا حدی آبیاری شد که با ظهور اولین قطره از پایین گلدان آبیاری متوقف شد، میزان آب داده شده ثبت شد. برای اطمینان با استفاده از تانسیومتر نیز میزان پتانسیل آب در حد ظرفیت زراعی (۰/۳- بار) لحاظ گردید. پس از آن بقیه تیمارها با ایده گرفتن از میزان آب تیمار شاهد آبیاری شدند و با کمک تانسیومتر درصد تیمارهای فوق‌الذکر تنظیم گردیدند. ثبات تیمارهای آزمایشی با آبیاری هفتگی در محدوده پتانسیل تیمارهای آزمایش (۰/۵-، ۱-، ۲-، ۴- و ۶-) تنظیم شد.

طرح آماری و نمونه‌برداری: آزمایش به‌صورت فاکتوریل با طرح پایه کاملا تصادفی با ۴ تکرار اجرا شد. نمونه‌برداری جهت محاسبه شاخص بیوشیمیایی TBARM و میزان کلروفیل به‌صورت ماهانه و تکراردار انجام شد. همچنین نمونه‌برداری تصادفی و تکراردار جهت انجام مطالعات مولکولی و بررسی بیان ژن نیز در زمان حداکثر رشد رویشی صورت گرفت.

اندازه‌گیری کلروفیل: برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل از روش Porra و همکاران (۱۹۸۹) استفاده گردید. مقدار ۰/۵ گرم نمونه برگ (به‌صورت یخزده) کاملاً خرد و یکنواخت شد، سپس با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط شد، پس از سانتریفیوژ با ۶۰۰۰ دور میزان جذب (A) در طول موج های ۶۴۶/۶، ۶۶۳/۶ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر (Uvikon) ثبت گردید. میزان کلروفیل‌های a، b و کل بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه شد:

معادله ۱

$$chla\ (mg/g) = 12.25A663.6-2.55A646.6$$

معادله ۲

$$chlb\ (mg/g) = 20.31A646.6-4.91A663.6$$

معادله ۳

$$chl\ T\ (mg/g) = 16.76A646.6-6.34A663.6$$

اندازه‌گیری TBARM:

Measurment of Thiobarbituric Acid Reactive) Material) در این سنجش که معیاری برای اندازه‌گیری میزان تنش اکسیداسیونی است مقدار اسید تیوباربی تیوریک که محصول نهایی و نسبتاً پایدار واکنش اکسیداسیون مولکول‌های بزرگ حیاتی است اندازه‌گیری شد. دراین‌خصوص از روش Hagege و همکاران (۱۹۹۰) با تغییراتی استفاده گردید. مقدار ۰/۵ گرم نمونه برگ هموژنیزه گردید و یک میلی‌لیتر اسید تری کلرواستیک (15% w/v) به آن اضافه شد. ۱۰ میلی‌لیتر استون به محلول تهیه شده اضافه گردید و به شدت مخلوط (ورتکس) شد و با دور ۴۷۵۰ در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. رسوب کوچکی که پس از سانتریفیوژ حاصل شد با ۵ میلی‌لیتر استون شستشو داده شد، ورتکس گردید و مجدداً با همان دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و آخرین مرحله چهار مرتبه تکرار شد. مقدار ۳ میلی‌لیتر (H3PO4 1%) و یک میلی‌لیتر اسید تیوباربیورتیک (0.6% w/v) اضافه گردید و محلول برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ c قرار داده شد، سپس واکنش با سرد کردن سریع لوله‌ها در داخل یخ متوقف گردید. مقدار جذب محلول حاصل در طول موج‌های ۵۳۲ و ۵۹۰ به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (Uvikon) اندازه‌گیری شد.

نمونه‌برداری جهت استخراج RNA و ارزیابی بیان ژن‌ها در مرحله حداکثر رشد رویشی (قبل از گل دهی) و به تعداد سه برگ به طور تصادفی و با الگوی ثابت در هر نوبت نمونه برداری از هر تیمار انجام شد و بلافاصله در نیتروژن مایع قرار داده شد و به فریزر ۸۰- درجه منتقل گردید. به‌منظور ارزیابی الگوی تظاهر ژن‌های دخیل در متابولیسم پرولین شامل P5CS و PHD استخراج RNA به کمک کیت بایوزول از نمونه‌ها استخراج و با استفاده از آغازگر الیگو دی نوکلئوتیدی و آنزیم رونویس بردار معکوس به cDNA رونویسی شد. از این نمونه‌های cDNA برای انجام واکنش RT-PCR کمّی با استفاده از رنگ SYBER Green ودستگاه iQ5 شرکت BIO-RAD استفاده شد. آغازگرهای اختصاصی این ژن‌ها بر اساس اطلاعات موجود در بانک‌های اطلاعاتی و توسط نرم‌افزار Primer3 طراحی و در نهایت از نرم‌افزار آماری REST به‌منظور ارزیابی الگوی بیان ژن استفاده گردید.

اندازه‌گیری روغن و پروتئین: در زمان رسیدگی مقدار ۱۰۰ گرم بذر از هر تکرار جهت اندازه‌گیری میزان روغن و پروتئین دانه برداشت گردید. درصد روغن دانه‌ها با استفاده از دستگاه NMR مدل H20-18-25A ساخت کارخانه بروکر کشور کانادا در بخش تحقیقات دانه‌های روغنی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری پروتئین، مقدار ۰/۵ گرم نمونه بذر منجمد در ۱/۵ میلی‌لیتر محلول بافر استخراج که مواد تشکیل‌دهنده آن در جدول ۲-۴ آورده شده است، کاملاً مخلوط گردید و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۱۲۰۰ گرادیان سانتریفیوژ شد. سپس با استفاده از محلول سنجش پروتئین کوماسی (Coomasie protein assay reagent from Pierce chemical, Rackford,Il) اندازه‌گیری پروتئین انجام گرفت.

جدول ۱. مشخصات آغازگرهای ژن‌های مورد مطالعه

Δ1-Pyrroline-5-carboxylate synthetase1 (P5CS1):
F 5/-GAGCTAGATCGTTCACGTGCTTT-3/
R 5/-ACAACTGCTGTCCCAACCTTAAC-3/
Proline dehydrogenase (PDH):
F 5/-TCACAACCACTGAGCTAAAGTGAGA-3/
R 5/-CGATGACGCTGTATCTTGTGATG-3
Fatty acid elongase 1 (FAE1)
F:5'GTCAGGCTTTAAGTGTAACAGTGCA3'
R:5'TTATTAGGACCGACCGTTTTGG3
Homomeric acetyl CoA carboxylase (ACCase)
F:5'AGGACTTGCCAATCTTCTAAAC3'
R:5'AGCTTCTTTCACCGTAGGACAC3'
Stearoyl-ACP desaturase (SAD)
F:5'GTTTACACTGCCAAAGACTATGCG3'
R:5'CCTGATTCTCGGAGTCAACCCAC3'
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)
F:5'GCTATCAAGGAGGAATCTGAGGAC3'
R:5'CTTCACGAAATTGTCACTCAACG3'

نتایج و بحث

شاخص‌های عملکرد: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی رقم و تنش خشکی و اثرات متقابل آن‌ها به طور معنی‌داری صفات مرتبط با عملکرد را تحت تاثیر قرار داد (جدول ۱).

جدول ۲- تجزیه واریانس مقادیر صفات ارتفاع بوته، تعداد شاخه در بوته، عملکرد و اجزای عملکرد دانه ارقام مورد مطالعه کلزا تحت سطوح مختلف تنش خشکی

منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع بوته	تعداد شاخه در بوته	تعداد غلاف در بوته	تعداد دانه در غلاف	وزن هزار دانه	عملکرد دانه
خشکی	۴	۴۹۳/۰۱**	۷۷/۹**	۸۹۳/۰۱**	۲۱۸/۰۰**	۶۷/۹۰**	۵۵/۵۱**
رقم	۵	۳۱۷/۰۰**	۴۰/۷۲*	۷۷۸/۰۰**	۱۳۲/۰۱**	۱۹/۹۱*	۵۴/۳۰**
خشکی × رقم	۲۰	۹۹/۲۲**	۳۳/۷۰**	۵۷۲/۰۲**	۶۶/۷۲**	۳۵/۶۱**	۴۸/۸۴**
خطا	۹۰	۲۵/۳۱	۱۳/۴۳	۱۹۹/۰۱	۱۹/۲۱	۸/۵۱	۱۵/۲۲
ضریب تغییرات (٪)	-	۷/۳۰	۶/۱۰	۹/۳۲	۵/۱۴	۷/۹۱	۱۴/۶۰

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد *: معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد

نتایج حاصل از مقایسه میانگین ارقام مختلف برای عملکرد دانه و صفات مرتبط با آن نشان داد که ارقام مورد مطالعه بسته به صفت مورد ارزیابی در سطوح مختلف قرار داشتند. باتوجه‌به صفات تعداد غلاف در بوته، وزن هزاردانه و عملکرد دانه، رقم Traviata در بهترین سطح قرار گرفت. رقم Julius در صفات وزن هزار دانه و تعداد شاخه در بوته در بهترین سطح قرار گرفت. نکته قابل تأمل این است که این دو رقم در تمامی صفات مرتبط با عملکرد در سطوح بالایی قرار گرفتند و می‌توانند در نهایت به‌عنوان بهترین ارقام معرفی شوند. بین ارتفاع بوته و عملکرد دانه رابطه عکس وجود داشت و این تفاوت را می‌توان در رقم Jerry مشاهده نمود که بیشترین اندازه ارتفاع بوته را در بین ارقام داشت ولی از لحاظ عملکرد در پایین‌ترین سطح قرار گرفت (جدول ۲).

جدول ۳- مقایسه میانگین تفاوت ارقام کلزای مورد مطالعه به لحاظ صفات ارتفاع بوته، تعداد شاخه در بوته، عملکرد و اجزای عملکرد دانه

صفات / ارقام	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	تعداد شاخه در بوته	عملکرد دانه (تن در هکتار)	وزن هزار دانه (گرم)	تعداد دانه در غلاف	تعداد غلاف در بوته
Jerry	۱۵۲/۴۱a	۴/۶۲d	۳/۵۱c	۲/۹۹ab	۱۵/۲۶d	۳۸۲/۶۰ b
Kodiak	۱۳۱/۴۰d	۴/۰۸d	۳/۸۳ ab	۳/۲۵a	۱۷/۸۸b	۲۸۴/۲۰ e
Brutus	۱۲۵/۲۲f	۵/۲۸c	۳/۷۰bc	۳/۰۴ab	۱۷/۰۸c	۳۲۲/۲۱d
Jacomo	۱۲۷/۴۱e	۵/۵۶bc	۳/۲۴bc	۲/۷۴b	۱۸/۶a	۳۶۸/۶۰c
Julius	۱۴۱/۸۰b	۶/۵۰a	۳/۷۳bc	۳/۲۸a	۱۷/۷۴b	۳۸۳/۲۲b
Traviata	۱۳۹/۴۱c	۶/۰۰ab	۴/۹۳a	۳/۳۶a	۱۷/۰۸b	۳۹۷/۰۱a

در هر ستون، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس روش دانکن فاقد اختلاف آماری معنی‌دار هستند (α=٪۱).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح تنش در ارقام نشان داد که رقم Jerry در شرایط عدم تنش، بالاترین ارتفاع بوته را داشت. همچنین داده‌ها نشان می‌دهد که در سطوح تنش نیز این رقم نسبت به سایر ارقام ارتفاع بوته بیشتری داشت. این رقم علاوه بر ارتفاع بوته بیشتر، از تعداد غلاف در بوته بیشتری نیز برخوردار بود. تعداد دانه کمتر در غلاف‌های بیشتر این رقم و وزن هزار دانه کمتر منجر به عملکرد دانه کمتر در سطح هکتار شد. رقم Julius به لحاظ تعداد شاخه در بوته در شرایط بدون تنش و سطوح تنش ۱-، ۲- و ۶- بار نسبت به سایر ارقام در سطح بالاتری قرار داشت. لازم به توضیح است که این رقم از لحاظ ارتفاع بوته در سطوح مختلف تنش نیز بعد از رقم Jerry از سایر ارقام بالاتر بود. در شرایط تنش و عدم تنش، رقم Traviata برای صفات تعداد غلاف در بوته، وزن هزار دانه و در نهایت، عملکرد دانه نسبت به سایر ارقام برتری داشت (جدول ۴). اثرات متقابل تنش در ارقام مختلف نشان داد که با افزایش سطوح تنش از سطح کنترل تا سطح ۶- بار در تمامی ارقام، کاهش قابل ملاحظه‌ای در صفات اندازه‌گیری شده مشاهده شد Madder (1993) نشان داد که در شرایط تنش خشکی، کاهش مقدار مواد فتوسنتزی ذخیره‌ای در زمان گلدهی موجب کاهش تشکیل دانه در کلزا گردید. البته افزایش مقدار مواد فتوسنتزی با محدود نمودن رقابت بین گیاهان، تشکیل دانه را در تنش خشکی افزایش نداده است. این محقق اظهار داشت تحت شرایط تنش، سطح بالای ذخایر مواد فتوسنتزی به‌تنهایی جهت فائق آمدن بر فقدان مواد فتوسنتزی یا کمبود مخازن زایشی کافی نیست.

داده‌های به دست آمده برای رقم Kodiak در شرایط تنش و عدم تنش خشکی نشان داد که این رقم با ارتفاع کوتاه‌تر و تعداد غلاف کمتر در بوته، دارای تعداد دانه بیشتر در غلاف و وزن هزار دانه بالا بود که در نهایت، عملکرد نسبتاً مطلوبی تولید کرد. این رقم در سطوح تنش بالاتر نیز تا حدودی برتری عملکرد خود را نسبت به اکثر ارقام حفظ نمود. این رقم بعد از رقم Traviata می‌تواند به‌عنوان رقمی مطلوب معرفی شود.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح تنش در ارقام برای صفات مورفولوژیک و صفات مرتبط به عملکرد دانه گیاه کلزا

سطوح تنش	ارقام	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)		تعداد شاخه در بوته		عملکرد دانه (تن در هکتار)		وزن هزار دانه (گرم)		تعداد دانه در غلاف		تعداد غلاف در بوته	
کنترل	Jerry	۱۷۱	a	۵/۷	def	۳/۶۱	d–i	۳/۷۹	ab	۱۹/۶	e	۴۵۰	a
	Kodiak	۱۴۹	g	۵/۳	fgh	۴/۹۳	ab	۳/۹۵	a	۲۳/۸	a	۳۲۵	n
	Brutus	۱۴۷	i	۶/۷	bc	۴/۶۵	abc	۳/۶۸	abc	۲۱/۷	c	۳۸۷	i
	Jacomo	۱۴۸	h	۷/۳	b	۴/۱۲	c–f	۳/۲۰	c-f	۲۴/۰	a	۴۲۷	c
	Julius	۱۵۹	c	۸/۰	a	۴/۱۴	cde	۳/۸۳	ab	۲۱/۴	c	۴۲۲	d
	Traviata	۱۵۴	e	۷/۳	b	۵/۲۱	a	۳/۹۴	a	۲۲/۷	b	۴۵۲	a
-۱	Jerry	۱۶۸	b	۵/۵	efg	۳/۵۴	e–i	۳/۵۷	a–d	۱۸/۱	f	۴۳۰	b
	Kodiak	۱۴۵	k	۵/۰	ghi	۴/۵۵	bc	۳/۸۴	ab	۲۰/۱	de	۳۰۹	p
	Brutus	۱۴۰	l	۶/۲	cd	۴/۲۸	cd	۳/۴۱	b-e	۲۰/۴	d	۳۵۰	k
	Jacomo	۱۳۹	m	۷/۰	b	۴/۱۱	c–f	۳/۲۵	c-f	۲۲/۵	b	۴۰۰	g
	Julius	۱۵۲	f	۸/۰	a	۴/۰۹	c–f	۳/۶۹	abc	۲۰/۰	de	۴۱۱	e
	Traviata	۱۴۸	h	۷/۰	b	۵/۰۶	ab	۳/۸۲	ab	۱۹/۸	de	۴۲۸	bc
-۲	Jerry	۱۵۵	d	۴/۸	hi	۳/۲۶	hij	۳/۰۸	def	۱۵/۷	hi	۴۰۶	f
	Kodiak	۱۳۳	o	۴/۲	j	۳/۷۹	d–h	۳/۱۲	def	۱۷/۳	g	۲۸۱	t
	Brutus	۱۲۵	r	۶/۰	de	۳/۶۶	d–i	۳/۰۲	efg	۱۶/۸	g	۳۳۷	l
	Jacomo	۱۳۰	p	۵/۵	efg	۳/۴۸	e–i	۲/۸۴	f-i	۱۸/۶	f	۳۸۷	i
	Julius	۱۴۶	j	۷/۰	b	۳/۹۸	c–g	۳/۳۷	b-e	۱۸/۲	f	۳۹۶	h
	Traviata	۱۴۰	l	۶/۰	de	۴/۴۷	bc	۳/۴۵	a-e	۱۸/۴	f	۴۰۲	g
-۴	Jerry	۱۴۰	l	۳/۶	kl	۲/۹۷	i-l	۲/۵۱	h-k	۱۴/۳	k	۳۳۹	l
	Kodiak	۱۲۲	s	۳/۱	lm	۳/۱۶	h-k	۲/۸۱	f-i	۱۵/۵	hi	۲۵۹	u
	Brutus	۱۱۳	w	۴/۰	jk	۳/۳۶	g-j	۲/۷۹	f-j	۱۴/۷	jk	۲۹۸	q
	Jacomo	۱۱۶	v	۵/۰	ghi	۳/۰۲	i–l	۲/۴۵	ijk	۱۵/۹	h	۳۳۴	m
	Julius	۱۳۳	o	۵/۰	ghi	۳/۴۴	f-i	۳/۰۰	e-h	۱۶/۰	h	۳۶۹	j
	Traviata	۱۳۴	n	۵/۷	def	۳/۹۷	c-g	۳/۱۱	def	۱۵/۱	ij	۳۷۱	j
-۶	Jerry	۱۲۸	q	۳/۵	kl	۲/۳۹	l	۲/۰۳	k	۱۰/۴	n	۲۸۸	s
	Kodiak	۱۰۸	x	۲//۸	m	۲/۷۳	jkl	۲/۵۶	g-j	۱۲/۷	l	۲۴۷	v
	Brutus	۱۰۱	z	۳/۵	kl	۲/۵۴	kl	۲/۳۰	jk	۱۱/۸	m	۲۳۹	w
	Jacomo	۱۰۴	y	۳/۰	lm	۲/۳۸	l	۱/۹۸	k	۱۲/۰	m	۲۹۵	r
	Julius	۱۱۹	u	۴/۵	ij	۳/۰۱	i-l	۲/۵۲	hij	۱۳/۱	l	۳۱۸	o
	Traviata	۱۲۱	t	۴/۰	jk	۳/۲۵	hij	۲/۵۱	h-k	۱۳/۰	l	۳۳۲	m

در هر ستون، میانگین‌هایی که حداقل دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس روش دانکن فاقد اختلاف آماری معنی‌دار هستند (α=٪۱).

میزان روغن و صفات وابسته

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد که اثر خشکی و اثر متقابل خشکی در رقم بر تمام صفات مرتبط با روغن دانه و کیفیت آن در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید. همچنین تفاوت بین ارقام برای تمامی صفات مرتبط با روغن به جز درصد اسیدهای چرب پالمیتولئیک و استئاریک معنی‌دار بود (جدول ۵).

جدول ۵- تجزیه واریانس میزان روغن و مقادیر اسیدهای چرب و گلوکوزینولات روغن دانه ارقام مورد مطالعه کلزا تحت سطوح مختلف تنش خشکی

منابع تغییر	درجه آزادی	محتوای روغن	پالمیتیک اسید	پالمیتولئیک اسید	استئاریک اسید	سیس اولئیک اسید	گلوکوزینولات
خشکی	۴	۳۵۶/۰۰**	۵۵/۵۰**	۷/۲۸**	۳۸/۳۱**	۱۰۸/۰۰**	۷۹/۸۱**
رقم	۵	۱۱۷/۰۱**	۴۱/۹۰*	۲/۲۱^{ns}	۱۴/۷۰^{ns}	۸۶/۰۹**	۸۴/۲۰**
خشکی × رقم	۲۰	۸۲/۸۱**	۳۷/۷۱**	۵/۷۲**	۱۶/۳۰*	۴۹/۶۱**	۵۱/۷۸**
خطا	۹۰	۱۷/۹۰	۱۳/۲۰	۱/۵۱	۸/۰۱	۹/۳۸	۸/۵۵
ضریب تغییرات (٪)	-	۸/۳	۵/۱	۳/۴	۲/۲	۵/۲	۴/۶

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد *: معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد

نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف تنش در ارقام مختلف نشان داد که رقم Jacomo در تمامی سطوح تنش و عدم تنش بالاترین درصد روغن را داشت. همچنین داده‌ها نشان می‌دهد که در سطوح تنش ۱- و ۲- بار نیز این رقم نسبت به سایر ارقام اسید اولئیک بیشتری داشت و در سطوح ۴- و ۶- بار رقم Traviata نسبت به سایر ارقام برتری داشت. رقم Traviata در همه سطوح تنش، دارای پالمیتیک اسید بیشتر و در سطوح ۴- و ۶- بار، دارای پالمیتولئیک اسید بالاتری نسبت به سایر ارقام مورد مطالعه می‌باشد. لازم به توضیح است که میزان این اسیدهای چرب اشباع با اعمال تنش و افزایش شدت آن به طور قابل توجهی افزایش پیدا کرد. کمترین درصد روغن در بین ارقام مورد بررسی در تحقیق حاضر به رقم Brutus در سطح تنش ۶- بار اختصاص یافت. درصد روغن علی‌رغم اکثر اجزای وابسته به روغن با افزایش میزان تنش، کاهش قابل ملاحظه‌ای را از خود نشان داد. در بررسی صفات پالمیتولئیک اسید و استئاریک اسید طی سطوح مختلف تنش در ارقام مختلف تحت آزمایش تفاوت بارزی نشان نداد (جدول ۶).

جدول ۶- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح تنش در ارقام مختلف برای صفات درصد روغن، محتوی اسیدهای چرب و میزان گلیکوزینولات موجود در دانه کلزا

سطوح تنش (بار)	ارقام	درصد روغن		پالمیتیک اسید		پالمیتولئیک اسید		استئاریک اسید		سیس اولئیک اسید		گلوکوزینولات	
کنترل	Jerry	۴۲/۶۶	hi	۴/۰۷	lmn	۰/۳۵۷	bcd	۱/۲۵	gh	۶۸/۷	c	۱۸/۷	m
	Kodiak	۴۳/۱۸	gh	۳/۹۱	n	۰/۳۱۶	d	۰/۹۹	h	۶۷/۲۷	f	۱۹/۴	kl
	Brutus	۴۱/۴۸	kl	۴/۱۵	lmn	۰/۳۵۱	bcd	۱/۰۱	h	۶۶/۶۷	g	۱۷/۶	n
	Jacomo	۴۵/۴۹	abc	۴/۰۴	mn	۰/۳۱۹	cd	۱/۰۸	h	۶۸/۴۹	cd	۱۸/۳	m
	Julius	۴۵/۲۷	bcd	۳/۹۲	n	۰/۳۱۶	d	۱/۲۳	gh	۶۸/۰۵	de	۱۶/۹	o
	Traviata	۴۴/۷۴	def	۴/۰۱	mn	۰/۳۰۸	d	۰/۹۸	h	۶۷/۸۰	e	۱۹/۳	l
-۱	Jerry	۴۱/۲۵	kl	۴/۶۷	jkl	۰/۳۸۹	a-d	۱/۳۲	gh	۶۹/۲۰	b	۲۰/۴	j
	Kodiak	۴۱/۹۳	jk	۴/۱۵	lmn	۰/۳۴۶	bcd	۱/۲۵	gh	۶۶/۸۰	fg	۱۹/۸	k
	Brutus	۴۰/۰۶	m	۴/۸۸	h-k	۰/۴۰۶	a-d	۱/۴۳	fgh	۶۷/۲۰	f	۱۹/۴	kl
	Jacomo	۴۵/۰۱	cde	۵/۰۳	g-k	۰/۳۵۹	bcd	۱/۳۷	gh	۷۰/۶۰	a	۲۱/۳	fgh
	Julius	۴۴/۳۱	f	۴/۵۹	klm	۰/۳۷۴	bcd	۱/۶۴	efg	۶۹/۴۰	b	۱۹/۶	kl
	Traviata	۴۳/۶۲	g	۵/۱۲	g-k	۰/۳۶۱	bcd	۱/۴۴	fgh	۷۰/۵۰	a	۲۱/۷	efg
-۲	Jerry	۴۲/۸۹	hi	۵/۸۰	c-f	۰/۴۳۵	a-d	۱/۹۷	cde	۶۵/۴۰	h	۲۱/۵	fg
	Kodiak	۴۳/۰۲	ghi	۴/۷۹	ijk	۰/۴۲۲	a-d	۱/۶۷	d-g	۶۲/۱۰	l	۲۱/۲	ghi
	Brutus	۴۰/۸۶	l	۵/۳۴	f-i	۰/۴۷۱	a-d	۱/۹۴	cde	۶۳/۷۰	k	۲۰/۹	hi
	Jacomo	۴۶/۱۰	a	۵/۶۵	c-g	۰/۴۲۳	a-d	۲/۰۷	cde	۶۶/۷۰	g	۲۲/۱	de
	Julius	۴۵/۵۳	abc	۵/۷۸	c-f	۰/۴۸۵	a-d	۲/۱۵	a-d	۶۴/۳۰	j	۲۱/۴	fg
	Traviata	۴۵/۸۷	ab	۶/۱۳	bcd	۰/۴۷۹	a-d	۱/۸۹	c-f	۶۷/۲۰	f	۲۲/۳	d
-۴	Jerry	۴۰/۸۳	l	۵/۶۴	c-g	۰/۵۴۲	abc	۲/۰۴	cde	۶۰/۵۰	no	۲۲/۱	de
	Kodiak	۴۲/۳۷	ij	۵/۲۵	f-j	۰/۵۰۸	a-d	۱/۸۸	c-f	۵۹/۸۰	pq	۲۲/۳	d
	Brutus	۳۸/۷۰	no	۵/۴۸	e-h	۰/۵۴۵	ab	۲/۱۲	a-e	۶۰/۲۰	op	۲۱/۸	ef
	Jacomo	۴۴/۵۱	ef	۵/۵۷	d-g	۰/۴۹۸	a-d	۲/۳۴	abc	۶۳/۸۰	k	۲۳/۲	ab
	Julius	۴۱/۸۸	jk	۶/۰۲	b-e	۰/۵۲۴	a-d	۲/۳۳	abc	۶۱/۲۰	m	۲۲/۸	bc
	Traviata	۴۳/۲۰	gh	۶/۵۷	b	۰/۵۶۷	ab	۲/۳۴	abc	۶۴/۹۰	i	۲۳/۶	a
-۶	Jerry	۳۷/۴۸	p	۴/۷۶	ijk	۰/۵۲۳	a-d	۲/۳۵	abc	۵۶/۵۰	s	۲۱/۳	fgh
	Kodiak	۳۸/۱۹	o	۶۰/۲۰	bc	۰/۵۱۶	a-d	۲/۰۲	cde	۵۲/۷۰	t	۲۰/۸	ij
	Brutus	۳۵/۹۲	q	۴/۴۹	k-n	۰/۵۳۱	a-d	۲۰/۱۰	b-e	۵۸/۷۰	r	۲۱/۶	fg
	Jacomo	۴۰/۲۰	m	۴/۸۲	ijk	۰/۵۴۶	ab	۲/۶۱	a	۵۹/۶۰	q	۲۱/۵	fg
	Julius	۳۸/۸۹	n	۵/۱۲	g-k	۰/۵۵۵	ab	۲/۲۹	abc	۵۸/۴۰	r	۲۲/۱	de
	Traviata	۳۹/۷۸	m	۷/۲۳	a	۰/۶۰۴	a	۲/۵۹	ab	۶۰/۸۰	mn	۲۲/۵	cd

در هر ستون، میانگین‌هایی که حداقل دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس روش دانکن فاقد اختلاف آماری معنی‌دار هستند (۱٪=**α**).

نتایج حاصل از شاخص‌های میزان کلروفیل، پرولین و شاخص TBARM:

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از این است که تمامی اثرات اصلی و متقابل، صفات محتوی کلروفیل، پرولین و نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف تنش در ارقام مختلف نشان داد که رقم Jacomo در شرایط بدون تنش، بالاترین میزان کلروفیل را داشت. همچنین داده‌ها نشان داد که این رقم در سطوح مختلف تنش نیز نسبت به سایر ارقام تا حدودی برتر بود. در شرایط عدم تنش خشکی و شدت تنش ۱- بار رقم Jerry نسبت به سایر ارقام در پایین‌ترین سطح قرار داشت با افزایش شدت تنش رقم Brutus کمترین محتوی کلروفیل را در مقایسه با سایر ارقام به خود اختصاص داد. نتایج حاصل از اثرات متقابل برای شاخص TBARM نشان داد که رقم Brutus در شرایط عدم تنش در بالاترین سطح قرار داشت. این رقم همراه با رقم Jerry در سطوح مختلف تنش در سطوح بالاتری نسبت به سایر ارقام قرار گرفتند. لازم به توضیح است که با اعمال تنش و افزایش شدت آن تا سطح تنش ۶- بار میزان TBARM افزایش بیشتری پیدا کرد. سنجش TBARM به‌منظور تکمیل اطلاعات بیوشیمیایی از روند تاثیر سطوح TBARM را به طور معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد تحت تاثیر قرار داده است (جدول ۷).

تنش خشکی در بروز سطح اکسیداسیون انجام شد. این سنجش، اطلاعاتی از میزان اکسیداسیون سلولی و بویژه پراکسیداسیون چربی‌ها را فراهم می‌آورد. از نقاط مشترک اغلب تنش‌های زنده و غیرزنده افزایش سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن (AOS) است (Navabpour *et al*., 2003). نتایج حاصل از اثرات متقابل سطوح تنش و رقم برای پرولین نشان داد که رقم Jerry در سطح تنش ۶- بار بیشترین مقدار پرولین را در مقایسه با سایر تیمارها را داشت. این رقم در تمام سطوح تنش نسبت به ارقام دیگر محتوی پرولین بیشتری را تولید کرد. اما در شرایط عدم تنش برتری با رقم Traviata بود نتایج حاصل برای شاخص TBARM و پرولین با یکدیگر مشابه بود و در هر دو صفت رقم Jerry نسبت به سایر ارقام برتری داشت و این در حالی بود که محتوی کلروفیل در این رقم نسبت به سایر ارقام به جز رقم Brutus در پایین‌ترین سطح بود (جدول ۸).

جدول ۷-تجزیه واریانس محتوای کلروفیل، پرولین و شاخص TBRM در ارقام مورد مطالعه گیاه کلزا تحت سطوح مختلف تنش خشکی

منابع تغییر	درجه آزادی	میزان کلروفیل (mg/g FW)	TBARM (ng/g FW)	پرولین (µmol/g FW)
خشکی	۴	۱۳/۱۸**	۲۲/۳**	۱۵۲/۲۸**
رقم	۵	۵/۲۱**	۱۵/۷**	۸۴/۵۲**
خشکی × رقم	۲۰	۵/۷۲**	۱۶/۳**	۸۲/۴۳**
خطا	۹۰	۱/۵۱	۴/۰۱	۸/۱۱
ضریب تغییرات (٪)	-	۴/۴	۵/۱	۵/۱

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد *: معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد

جدول ۸- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح تنش در ارقام مختلف برای صفات محتوی کلروفیل، محتوی MDA و پرولین در گیاه کلزا

سطوح تنش (بار)	ارقام	میزان کلروفیل (mg/g Fw)		MDA (ng/g FW)		پرولین (µmol/gr FW)	
کنترل	Jerry	۱/۵۴	g-j	۱/۰۵	hi	۲۰۱	s
	Kodiak	۱/۷۵	c-h	۱/۱۹	f-i	۱۸۸	w
	Brutus	۱/۶۴	e-i	۱/۳۴	e-i	۱۹۷	t
	Jacomo	۲/۱۲	a	۱/۰۶	hi	۱۹۳	uv
	Julius	۱/۹۸	a-c	۱/۱۱	ghi	۱۸۴	x
	Traviata	۲/۰۴	ab	۱/۹۶	i	۲۰۴	r
-۱	Jerry	۱/۵۳	g-j	۱/۲۱	f-i	۲۱۰	q
	Kodiak	۱/۸۱	b-f	۱/۱۴	g-i	۱۹۴	u
	Brutus	۱/۵۸	f-j	۱/۳۹	e-h	۲۲۱	p
	Jacomo	۱/۸۹	a-d	۱/۱۷	ghi	۲۰۱	s
	Julius	۲/۰۴	ab	۱/۱۵	ghi	۱۹۱	v
	Traviata	۱/۸۸	b-e	۱/۱۱	ghi	۲۰۹	q
-۲	Jerry	۱/۳۶	jkl	۱/۴۹	d-g	۲۹۹	hi
	Kodiak	۱/۴۹	ij	۱/۳۸	e-i	۲۵۸	n
	Brutus	۱/۲۲	lmn	۱/۸۴	a-d	۲۹۴	j
	Jacomo	۱/۸۵	b-e	۱/۴۱	e-h	۲۶۱	m
	Julius	۱/۷۶	c-g	۱/۳۴	e-i	۲۸۵	l
	Traviata	۱/۶۹	d-i	۱/۲۷	e-i	۲۵۵	o
-۴	Jerry	۱/۰۹	m-p	۱/۸۴	a-d	۳۷۱	c
	Kodiak	۱/۱۳	l-o	۱/۶۷	b-e	۳۶۷	d
	Brutus	۰/۹۸	opq	۲/۰۴	ab	۳۱۳	f
	Jacomo	۱/۴۶	ijk	۱/۶۲	cde	۳۰۱	h
	Julius	۱/۴۵	ijk	۱/۵۹	c-f	۲۹۷	i
	Traviata	۱/۵۱	hij	۱/۶۶	b-e	۲۸۸	k
-۶	Jerry	۰/۸۶	pq	۲/۱۵	a	۴۶۱	a
	Kodiak	۰/۹۷	opq	۱/۹۴	abc	۳۹۴	b
	Brutus	۰/۷۶	q	۲/۲۳	a	۳۶۱	e
	Jacomo	۱/۲۵	klm	۱/۸۹	a-d	۳۰۴	g
	Julius	۱/۰۰	n-q	۱/۹۷	abc	۲۹۹	hi
	Traviata	۱/۱۴	l-o	۱/۸۸	a-d	۲۹۷	i

در هر ستون، میانگین هایی که حداقل دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس روش دانکن فاقد اختلاف آماری معنی‌دار هستند (α=٪۱).

جدول ۹- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح تنش در ارقام مختلف برای بیان ژن‌ها در گیاه کلزا

سطوح تنش (بار)	ارقام	P۵CS۱		PDH		FAE۱		ACCase		SAD	
-۱	Jerry	۱/۶۲	ef	۰/۸۹	h	۰/۶۷	hi	۰/۱۶۵	f	۱/۲۱	e-a
	Kodiak	۱/۱۴	fg	۱/۴۵	h-e	۰/۵۵	i	۰/۲۳۴	f-c	۰/۹۷	def
	Brutus	۱/۱۹	fg	۱/۰۸	gh	۰/۶۱	i	۰/۲۰۵	ef	۱/۰۵	cde
	Jacomo	۰/۹۵	g	۱/۴۲	h-e	۰/۷۴	ghi	۰/۱۸۹	ef	۰/۸۶	ef
	Julius	۰/۹۸	g	۱/۳۹	fgh	۰/۵۹	i	۰/۲۱۲	ef	۱/۲۵	d-a
	Traviata	۱/۰۷	g	۱/۵۸	efg	۰/۶۳	hi	۰/۱۹۶	ef	۱/۰۸	e-b
-۲	Jerry	۲/۴۱	abc	۱/۰۴	gh	۱/۲۵	i-d	۰/۳۵۲	bcd	۱/۴۴	ab
	Kodiak	۱/۸۱	de	۱/۵۱	h-e	۱/۵۶	f-b	۰/۳۲۴	e-b	۱/۳۲	d-a
	Brutus	۲/۳۶	abc	۱/۱۵	gh	۱/۴۱	g-c	۰/۴۱۲	ab	۱/۲۶	d-a
	Jacomo	۱/۱۶	fg	۱/۹۵	def	۲/۰۵	bc	۰/۳۶۵	abc	۱/۱۳	e-b
	Julius	۱/۰۹	g	۲/۰۵	cde	۱/۹۹	bc	۰/۴۰۱	ab	۱/۴۵	ab
	Traviata	۱/۱۱	g	۲/۳۸	bcd	۱/۸۵	bcd	۰/۳۸۹	ab	۱/۳۵	d-a
-۴	Jerry	۲/۶۵	ab	۱/۱۱	gh	۱/۳۴	h-c	۰/۳۱۱	e-b	۱/۱۸	e-a
	Kodiak	۲/۰۱	cde	۱/۲۴	gh	۱/۸۰	bcd	۰/۳۶۴	abc	۱/۴۶	ab
	Brutus	۲/۷۸	a	۱/۰۶	gh	۱/۵۹	e-b	۰/۳۸۹	ab	۱/۳۷	abc
	Jacomo	۱/۲۴	fg	۲/۶۱	abc	۳/۱۲	a	۰/۴۲۵	ab	۱/۴۱	abc
	Julius	۱/۲۱	fg	۲/۷۴	ab	۳/۳۱	a	۰/۴۰۰	ab	۱/۳۴	d-a
	Traviata	۱/۱۹	fg	۳/۰۱	ab	۳/۶۱	a	۰/۵۰۱	a	۱/۵۶	a
-۶	Jerry	۲/۵۱	ab	۰/۹۸	gh	۰/۸۷	i-f	۰/۱۲۶	f	۰/۵۹	f
	Kodiak	۲/۲۱	bcd	۱/۰۹	gh	۱/۰۱	i-e	۰/۲۱۴	ef	۰/۸۵	ef
	Brutus	۲/۸۲	a	۱/۱۱	gh	۰/۹۵	i-e	۰/۱۶۸	f	۰/۹۸	de
	Jacomo	۱/۳۵	fg	۲/۵۹	abc	۲/۱۶	b	۰/۲۱۹	def	۱/۰۴	cde
	Julius	۱/۱۸	fg	۲/۹۸	ab	۲/۲۱	b	۰/۱۵۷	f	۱/۰۸	e-b
	Traviata	۱/۲۳	fg	۳/۱۴	a	۳/۳۱	a	۰/۲۴۵	f-c	۱/۲۱	e-a

در هر ستون، میانگین هایی که حداقل دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس روش دانکن فاقد اختلاف آماری معنی‌دار هستند (α=٪۱)

بررسی بیان ژن‌ها: در این طرح نمونه‌برداری تصادفی و تکراردار جهت انجام مطالعات مولکولی و بررسی بیان ژن‌ها نیز در زمان حداکثر رشد رویشی صورت گرفت و نتایج حاصل از بیان ژن‌ها مورد مقایسه میانگین قرار گرفت (جدول۹). نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف تنش در ارقام کلزا برای بیان ژن‌های مورد آزمون نشان داد که ژن P5CS1 بیشترین میزان بیان ژن را در رقم Brutus تحت سطوح تنش ۶- و۴- بار داشت. بیان این ژن‌ها در رقم مذکور در بقیه سطوح تنش نیز در سطح بالاتری نسبت به سایر ارقام قرار گرفت. خسارات ناشی از TBARM در سطح تنش ۶- بار مشابهت دارد و نتایج Mackerness و همکاران (۱۹۹۹) را توجیه می‌کند. نتایج استرس‌های محیطی به لحاظ مولکولی و در سطح سلولی به دلیل بروز تنش اکسیداتیو می‌باشد. تنش‌های محیطی از مهمترین محدودکننده‌های رشد و تولید گیاهان زراعی می‌باشند. بررسی میزان این رادیکال‌ها از دو جهت حائز اهمیت است اول اینکه این رادیکال‌ها در غلظت‌های بالا منجر به بروز تنش اکسیداتیو و در پی آن اختلال در فعل و انفعالات سلولی می‌شوند و دوم اینکه غلظت‌های پائین این رادیکال‌ها به‌عنوان فاکتورهای سیگنالی در فعال نمودن ژن‌های دفاعی ایفای نقش می‌نمایند (Mackerness *et al.*,1999). نتایج بدست آمده از بیان ژن P5CS1 با میزان حاصل در مورد بیان ژن PDH نشان داد که بیشترین میزان بیان این ژن به رقم Traviata در سطح تنش ۶- بار مربوط

بود و بیان این ژن در رقم مذکور در سایر سطوح تنش نیز نسبت به ارقام دیگر بالاتر بود. در مورد میزان بیان ژن FAE1، رقم Traviata در هر دو سطح تنش ۶- بار و ۴- بار و دو رقم Jacomo و Julius در سطح تنش ۴- بار بالاترین مقدار را به خود اختصاص دادند. نکته قابل‌توجه این است که رقم Traviata از لحاظ میزان بیان در هر دو ژن FAE1 و PDH در سطح تنش ۶- بار در بالاترین سطح قرار گرفت (جدول ۳-۱۳). رقم Traviata در مورد تمام ژن‌ها به استثنای ژن P5CS1 در سطوح تنش بالای ۴- بار بیشترین میزان بیان ژن را داشت و این در حالی بود که در مورد ژن P5CS1 در سطح نسبتاً پایین‌تر نسبت به سایر ارقام بود. این موضوع در برخی مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (Navabpour *et al.*, 2033). ژن دلتا- پیرولین- ۵ کربوکسیلات - سینتاز یکی از ژن‌های کاملاً شناخته شده در مسیر بیوشیمیایی ساخت پرولین از گلوتامات می‌باشد. این آنزیم باعث تبدیل ال-گلوتامات به گلوتامات- گاما- سمی آلدهید می‌شود که از این ترکیب جدید دلتا پیرولین-۵-کربوکسیلات ساخته شده و در نهایت به واسطه فعالیت آنزیم پیرولین-۵-کربوکسیلات ردوکتاز، پرولین تولید می‌شود. پرولین یکی از مهم‌ترین موادی است که در هنگام تنش‌های اسمزی در سلول‌های گیاهی انباشته شده و با افزایش خاصیت اسمزی سلول‌های گیاهی مانع خروج آب از آن‌ها می‌گردد (Shinozaki and Yamaguchi, 2007). همچنین طبق آزمایشات انجام شده توسط Hare و (1997) Cress تولید پرولین در گیاه در هنگام مواجهه با تنش‌های غیر زنده‌ای که باعث عدم تعادل واکنش‌های احیا در سلول می‌شوند، راهکاری برای ایجاد تعادل در وضعیت پتانسیل احیا در سلول محسوب می‌شود. نتایج تحقیق نشان داد که گیاه کلزا تحت تنش شوری تولید پرولین را از طریق افزایش بیان ژن دلتا- پرولین-۵-کربوکسیلات- سینتاز افزایش می‌دهد. این یافته‌ها با نتایج Jamadi و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری کلی

با افزایش سطوح تنش در ارقام کلزا، میزان عملکرد دانه و صفات وابسته به آن کاهش پیدا کرد و بیشترین میزان مربوط به سطوح کنترل و رقم Traviata بود. با افزایش شدت تنش خشکی در ارقام مورد مطالعه، درصد روغن و محتوی اسید چرب غیر اشباع اولئیک کاهش پیدا کرد اما مقادیر اسیدهای چرب اشباع و میزان گلوکوزینولات افزایش یافت. بیشترین درصد روغن به ارقام Jacomo و Traviata تحت شرایط عدم تنش مربوط بود. نتایج حاصل از مقایسه میانگین ارقام مختلف برای میزان کلروفیل نیز نشان داد که سه رقم Traviata, Jacomoو Julius در بالاترین سطح نسبت به سایر ارقام قرار گرفتند. نتایج الگوی تغییرات کلروفیل و TBARM نشان داد که در سطوح مختلف تنش، بین میزان کلروفیل و شاخص TBARM رابطه معکوس وجود داشت. در مورد دو ژن ACCase و SAD بیشترین میزان بیان به رقم Traviata در سطح تنش ۴- بار مربوط بود. بیان این دو ژن روند منظمی را در سطوح مختلف تنش نشان نداد. نتایج به دست آمده از دو ژن P5CS1 و PDH روند منظمی را دنبال کرد و با افزایش میزان تنش خشکی در ارقام کلزا میزان بیان نیز در آن‌ها افزایش داشت. نتایج حاصل از اثرات متقابل سطوح تنش و رقم برای پرولین نشان داد که در سطح تنش ۶- بار و رقم Jerry بیشترین مقدار را داشت. این رقم در تمام سطوح تنش نسبت به سایر ارقام مقدار بالاتری داشت. در واقع این نتایج با میزان بیان ژن P5CS1 مشابهت دارد و بیان ژن پرولین نیز در این رقم در سطوح بالایی قرار داشت. نتایج حاصل برای شاخص TBARM و پرولین با یکدیگر مشابه بود و در هر دو شاخص نشان داد که رقم Jerry به‌عنوان رقم مطلوب می‌باشد و این در حالی است که میزان کلروفیل در این رقم در پایین‌ترین سطح نسبت به سایر ارقام بود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در انجام این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

Angadi, S.V., & Cut forth, H.V. (2003). Yield adjustment by canola grown at different by plant population under semiarid condition. *Crop Science*, *43*, 1357-1366.

Azizi, M., Soltani, A., & Khavari-Khorasani, S. (1378). Canola (Physiology, Agronomy, Breeding, Biotechnology). Jahad Daneshgahi Mashhad, 230PP. (In Persian).

Bayoumil, T.Y., Manal, H.E., & Metwali, E.M. (2008). Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. *African Journal of Biotechnology, 7(14), 2341-2352*.,

Bery, E.A. (2007). Molecular And Physiological Responses to Water Deficit Stress. Advances in Molecular Breeding Toward Drought and Salt Tolerant Crops, 121-140 p.

Bybordi, A. (2010). Effects of salinity on yield and component characters in canola (*Brassica napus* L.) cultivars. *Notulae Scientia Biologicae*, *2*, 81-83.

Fletcher, R.S., Herrmann, D., Mullen, J.L., Li, Q., Schrider, D.R., Price, N., Lin, J., Grogan, K., Kern, A., & McKay, J.K. (2016). Identification of polymorphisms associated with drought adaptation QTL in Brassica napus by resequencing. G3: Genes. Genomes. *Genetics*, *6*(4), 793-803.

Gharechahi, J., Sharifi, G., Mirzaei, M., Zeinalabedini, M., & Salekdeh, G. H. (2019). Abiotic stress responsive microRNome and proteome: How correlated are they? *Environmental and Experimental Botany*, *165*, 150-160.

Hagege, D., Nouvelot, A., Boucard, J. & Gaspar, T. (1990). Malondialdehyde titration with thiobarbiturate in plant extracts: avoidance of pigment interference. *Phytochemistry Analysis*, *1*, 86-89.

Hare, P. & Cress, W. (1997). Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation*, *21*, 79-102.

Jamadi, M., Taheri, H., Shafeinia, A., & Ghasemi Gojani, A. (2013). Examining the gene expression pattern of Galactinol synthase 1 and Delta 1-pyrrolin-5-carboxylate synthetase in rapeseed (*Brassica napus* L.) under salt stress. The first conference on new findings in the environment and agricultural ecosystems. University of Tehran, New Energy and Environment Research Institute.

Madder, L.O. (1993) Effect of three farming systems on yield and quality of beetroot in seven-year croprotation. *Acta Horticulture*, *339*, 11-31.

Navabpour, S., Morris, K., Allen, R., Harrison, E., Mackerness, S., & Buchanan-Wollaston, V. (2003). Expression of senescence –enhanced genes in response to oxidative stress. *Journal of Experimental Botany*, *54*(391), 2285-2292.

Mackerness, S.A.H., Jordan, B.R. & Thomas, B. (1999). Reactive oxygen species in the regulation of photosynthetic genes by ultraviolet-B radiation (UV-B:280-320 nm) in green and etiolated buds of pea (*Pisum sativum* L.). *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *48*, 180-188.

Mohammadabadi, M. 2021. Tissue-specific mRNA expression profile of ESR2 gene in goat. *Agricultural Biotechnol Journal*, *12* (4), 167-181 (In Persian).

Porra, R.J., Thompson, W.A., & Kriedmann, P.E. (1989). Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochemistry Biophysics Acta*, *975*, 384-394.

Shinozaki, K. & Yamaguchi-Shinozaki K. (2007). Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, *58*, 221-227.

Shariati, S., & Ghazi-shahinzadeh, P. (1379). Canola. Agricultural Information Affair, 115PP. (In Persian). indices

Shao. H.B., Liang, M.A., Shao, M.A., & Wang, B.C. (2005). Changes of some physiological and biochemical for soil water deficits among 10 wheat (*Triticum aestivum*) genotypes at seedling stage. Colloids Surf, B*: Biointerfaces*, *42*(2), 107-113.

Yari, P., Keshtkar, A.H., & Mazahery Laghab, H. (2016). Evaluation of water stress in spring safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars using tolerance indices in hamadan region. *Journal of Crop Breeding*, *8*, 88-96.

Zali, H., Sofalian, O., Hasanloo, T., Asgharii, A,. & Zeinalabedini, M. (2016). Drought stress effect on acids physiological parameter and amino accumulations in canola. *Journal of Crop Breeding, 8,* 191-203 (In Persian).

Plant Production and Genetics **تولید و ژنتیک گیاهی**

Vol. 5 , No. 1, Spring & Summer 2024, p. 65-78 **جلد ۵، شماره ۱، بهار و تابستان، صفحه ۷۸-۶۵**

Research Article DOI: 10.22034/PLANT.2023.62945

Molecular and biochemical evaluation of some traits in rapeseed cultivars under drought stress condition

Saied Navabpour [*1], Abolfazl Mazandarani [2], Amin Chelemal Dezfulnezhad [3]

1. Professor. Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
2. Ph.D. Graduate.Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
3. MSc. graduate. Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Received: 30-05-2023
Accepted: 07-08-2023

Abstract

Oilseeds are the second largest food reserves in the world after cereals. Rapeseed cultivars were drought sensitive during germination and during pod growth stages and the greatest increase in damage occurs simultaneously with the lack of water during the growth of newly established young seedlings. Seeds of 6 rapeseed cultivars (including: Kodiak, Jerry, Brutus, Jacomo, Julius, Traviata) were tested in the research greenhouse of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources as factorial experiments with a completely randomized design with 4 replications. Drought treatment levels including 6-, 4-, 2-, 1-, 0.5-bar were irrigated according to the equivalent amount of water required in the repetitions of each treatment. Sampling was performed to calculate yield index and related traits, oil percentage, TBARM biochemical index, chlorophyll and proline content as well as random sampling to perform molecular studies and study of gene expression. The results showed that with increasing stress levels in rapeseed cultivars, grain yield and related traits, oil content and chlorophyll content decreased. It was also observed that with increasing stress, TBARM and proline index were produced to a greater extent. In the case of ACCase and SAD genes, the highest gene expression was related to Traviata cultivar at 4-bar stress level and also the results obtained from P5CS1 and PDH genes showed that with increasing drought stress in rapeseed cultivars, gene expression was also increased. There was an increase in them.

Keywords: Drought stress, molecular evaluation, biochemical parameters, gene expression

Citation: Navabpour, S., Mazandarani, A., & Chelemal Dezfulnezhad, A. (2024) Oilseeds are the second largest food reserves in the world after cereals. Rapeseed cultivars were drought sensitive during germination and during pod growth stages. *Plant Production and Genetics*, 5(1), 65-78. https://doi.org/10.22034/PLANT.2023.62945

Copyrights:
Copyrights rights for this article is retained by the author (s), with publication rights granted to Plant Production and Genetics. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

[*]Corresponding Author Email: s.navabpour@gau.ac.ir