

شناسایی ژنتیپ‌های کلزای متحمل به سرما با استفاده از شاخص‌های تحمل به تنش تحت تأثیر کاربرد هیومیک اسید

شیرین علیزاده^۱، آرش روزبهانی^{۱*}، امیرحسین شیرانی‌راد^۲ و محمد رضا حاج سیدهادی^۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۲

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۸/۲۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۱۵

چکیده

به منظور شناسایی تحمل به سرما در ژنتیپ‌های کلزا با کاربرد هیومیک اسید بر اساس شاخص‌های تحمل به تنش، آزمایشی در سال ۱۳۹۶-۹۷ و ۱۳۹۷-۹۸ در مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج به صورت فاکتوریل اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تنش سرما به صورت عامل تاریخ کاشت در دو سطح شامل ۱۰ مهر ماه و ۱۰ آبان ماه، و عامل هیومیک اسید نیز در دو سطح شامل عدم کاربرد (محلول پاشی آب خالص) و کاربرد (محلول پاشی با غلظت ۱/۵ در هزار در مرحله ۴ تا ۶ برگی) به عنوان عوامل اصلی به صورت فاکتوریل در کرت‌های اصلی استفاده شدند. نتایج این پژوهش نشان داد که بین ژنتیپ‌های کلزا از نظر شاخص‌های تحمل به تنش تنوع وجود دارد. بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها ژنتیپ سوم (WRL-95-07) در هر دو محیط تنش و عدم تنش سرما و همچنین کاربرد و عدم کاربرد هیومیک اسید نسبت به سایر ژنتیپ‌ها عملکرد بالایی را نشان داد. نتایج تجزیه همبستگی نشان داد شاخص‌های میانگین تولید شاخص بهره‌وری (MP)، میانگین هندسی (GMP)، میانگین هارمونیک (HARM) و شاخص تحمل خشکی (STI)، بیشترین همبستگی معنی‌دار را با عملکرد دانه در شرایط نرمال و تنش داشتند. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی توانست بین شاخص‌های معرفی کننده ژنتیپ‌های متحمل با شاخص‌های معرفی کننده ژنتیپ‌های حساس تفاوت قابل شود و بر این اساس تجزیه کلاستر، ۱۰ ژنتیپ کلزا را در ۳ گروه قرار داد. درنتیجه ژنتیپ WRL-95-07 برای شرایط تنش و عدم تنش با کاربرد هیومیک اسید عملکرد مناسبی داشت و در رتبه بعدی ژنتیپ WRL-95-12 و ژنتیپ WRL-95-12-12 تحت شرایط تنش با کاربرد هیومیک اسید می‌تواند عملکرد مطلوبی نسبت به سایر ژنتیپ‌ها داشته باشد.

واژگان کلیدی: تجزیه کلاستر، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، تنش محیطی، عملکرد محصول.

۱- گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران.

۲- مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

roozbahani@riau.ac.ir

نگارنده‌ی مسئول

مقدمه

است که دارای عملکرد بالا در هر دو شرایط بوده و مقادیر بیشتر این مؤلفه مطلوب‌تر است. چنانچه در مولفه دوم شاخص‌های SSI و TOL نقش بیشتری داشته باشند بدان معنی است که این مؤلفه می‌تواند ژنوتیپ‌های با عملکرد پایین در شرایط تنش و پتانسیل عملکرد مناسب را انتخاب نماید و از آن جا که مقادیر کم شاخص تحمل و حساسیت به تنش مطلوب است پس اگر در بای پلات به دست آمده نواحی با میزان پایین این مؤلفه در نظر گرفته شود، می‌توان ژنوتیپ‌های با عملکرد در شرایط تنش و شاخص تحمل و حساسیت به تنش پایین را انتخاب نمود (Naghavi *et al.*, 2016).

در نمونه‌ای دیگر محققان با استفاده از تجزیه خوش‌های توانستند ژنوتیپ‌های حساس و متحمل ذرت را در شرایط تنش سرما گروه‌بندی و تفکیک کنند (Andreas Hunda *et al.*, 2008). نتایج بررسی اعمال تنش سرما بر ژنوتیپ‌های برنج نشان داد که گروه‌بندی منطقی ژنوتیپ‌ها عاملی مؤثر برای گزینش ژنوتیپ‌های متحمل به سرما است و روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی با ارایه تصویری روشن از قابلیت‌های زراعی ژنوتیپ‌ها به انتخاب هیبریدهای برتر در این آزمایش کمک نمود و می‌تواند در برنامه‌های تهیه ژنوتیپ‌های متتحمل مورد استفاده قرار گیرد (Ye *et al.*, 2009). با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و بای پلات در شرایط کشت نرمال و کشت تاخیری، از ۲۲ ژنوتیپ کلزا، ژنوتیپ‌های پاراده، کریستینا، گولیات، شیرالی، کیمبرلی و الکت دارای پایداری عملکرد در روغن بودند (Rezaizad *et al.*, 2018).

طی تحقیقات انجام گرفته توسط خیربری و همکاران (Kheybari *et al.*, 2020)، نتایج آزمایش تجزیه بای پلات روش مناسبی در انتخاب ژنوتیپ

تغییرات آب و هوا موجب به خطر افتادن تولید محصولات، ایمنی مواد غذایی و افزایش نگرانی جامعه شده است. کاهش دما و تنش سرما می‌تواند برای برخی از ژنوتیپ‌های زمستانی با خسارت همراه شود (Klepeckas *et al.*, 2020). امروزه به دست آمدن اطلاعات بیشتری در خصوص تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی، انسان را قادر ساخته تا در رابطه با شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل و با مکانیسم‌های موجود در تحمل گیاهان در برابر تنش‌ها برای تولید محصولات زراعی درک بیشتری داشته و در نتیجه می‌تواند امنیت غذایی بیشتری ایجاد کند (Mackova *et al.*, 2013). در این رابطه با استفاده از شاخص‌های تحمل می‌توان ژنوتیپ‌های متحمل به تنش را شناسایی نمود. شاخص‌های تحمل به تنش امکان غربال‌گری و شناسایی ژنوتیپ‌های سازگار با محیط تنش را فراهم می‌آورند (Fisher and Maurer, 1978).

در این رابطه می‌توان به تفاوت معنی‌دار ژنوتیپ‌های کلزا با استفاده از شاخص‌های تحمل به تنش در کاشت دیر هنگام اشاره داشت و اینکه تجزیه به همبستگی دو شاخص MP و GMP همبستگی بسیار قوی با علمکرد در شرایط نرمال و تنش دارند (Rameeh, 2018). از بین ۱۶ ژنوتیپ کلزا، ژنوتیپ SLMO46 بر اساس شاخص‌های GMP، MP، STI و SSI از توانایی تحمل به تنش سرمایی بیشتری برخوردار بود (Mousavi *et al.*, 2012).

همبستگی شاخص‌های تحمل به تنش با مؤلفه اول که مؤلفه پتانسیل عملکرد می‌باشد، نشان می‌دهد که مقادیر مثبت و بالای این مؤلفه بر روی بای پلات، مشخص کننده ژنوتیپ‌هایی

مزرعه در دو عمق ۰-۳۰ و ۳۰-۶۰ سانتی‌متری نمونه‌برداری به صورت مرکب صورت گرفت و نمونه‌ها جهت تعیین خواص فیزیکو-شیمیایی (جدول ۲) به آزمایشگاه منتقل شدند.

مجموع GDD دریافتی از زمان کاشت تا شروع مرحله روزت (بروز دماهای زیر صفر درجه سلسیوس) به شرح زیر بود:

در تاریخ کاشت اول (۱۰ مهر) در سال اول اجرای آزمایش (۹۶-۹۷): ۷۹۹ درجه روز رشد، در تاریخ کاشت دوم (۱۰ آبان) در سال اول اجرای آزمایش (۹۶-۹۷): ۴۱۲ درجه روز رشد، در تاریخ کاشت اول (۱۰ مهر) در سال دوم اجرای آزمایش (۹۷-۹۸): ۷۰۷ درجه روز رشد، در تاریخ کاشت دوم (۱۰ آبان) در سال دوم اجرای آزمایش (۹۷-۹۸): ۳۵۸ درجه روز رشد.

گیاه کلزا جهت مقاومت به سرما باید با روزت قوی (به طور متوسط با هشت برگ کامل، قطر طوقه ۸ میلی‌متر، طول ریشه ۲۰ سانتی‌متر و وزن خشک گیاهچه ۸ گرم) وارد مرحله زمستان گذرانی و دماهای زیر صفر درجه سلسیوس شوند و این موضوع نیازمند دریافت حداقل ۷۰۰ درجه روز رشد از زمان کاشت تا شروع زمستان و دماهای زیر صفر درجه سلسیوس می‌باشد، که تاریخ کاشت بهینه کلزا در هر منطقه بر اساس همین موضوع تعیین می‌شود. در مناطق معتدل سرد نظیر کرج که دما در زمستان از منفی ۱۴ درجه سلسیوس کمتر نمی‌شود تاریخ کاشت مناسب نیمه اول مهر ماه است و تأخیر در کاشت سبب می‌شود که گیاه فرصت کافی برای دریافت درجه روز رشد مناسب تا شروع زمستان نداشته باشد، بنابراین تحمل آن به دماهای زیر صفر درجه سلسیوس در طول زمستان کاهش می‌یابد که البته ارقام مختلف کلزا واکنش متفاوتی را نشان

بهتر و پایدارتر در تاریخ‌های کاشت مناسب و تأخیری می‌باشد و بهترین ژنتیپ از نظر عملکرد برای تاریخ کاشت اول G9 و برای کشت تأخیری کلزا G7 بود. این تحقیق با هدف بررسی واکنش ژنتیپ‌های کلزا در برابر تنفس سرما با استفاده از شاخص‌های تحمل به تنفس و روش‌های آماری چند متغیره، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیه کلاسستر و معرفی ژنتیپ‌های متحمل به تنفس سرما انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر تنفس سرما بر روی ژنتیپ‌های کلزا با کاربرد هیومیک اسید آزمایشی در سال ۱۳۹۶-۹۷ و ۱۳۹۷-۹۸ در مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج به صورت فاکتوریل اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تنفس سرما به صورت عامل تاریخ کاشت در دو سطح شامل ۱۰ مهر ماه و ۱۰ آبان ماه، و عامل هیومیک اسید نیز در دو سطح شامل عدم کاربرد (محلول پاشی با آب خالص) و کاربرد (محلول پاشی با غلظت ۱/۵ در هزار در مرحله ۴ تا ۶ برگی) (Barekati et al., 2018) به عنوان عوامل اصلی به صورت فاکتوریل در کرت‌های اصلی استفاده شدند. ژنتیپ‌های کلزا (جدول ۱) به عنوان عوامل فرعی در نظر گرفته شدند. بر اساس آمار آب و هوایی و منحنی آمبروترومیک (شکل ۱) این منطقه به دلیل داشتن ۱۵۰ تا ۱۸۰ روز خشک، جزو مناطق آب و هوایی مدیترانه‌ای گرم و خشک و با داشتن زمستان سرد و مرطوب و تابستان گرم و خشک جزو رژیم رطوبتی خشک محسوب می‌شود (Nasiri et al., 2017). بر اساس اطلاعات ۳۰ ساله هواشناسی کرج، متوسط بارندگی منطقه ۲۴۳ میلی‌متر در سال است. در این آزمایش از نقاط مختلف خاک

متحمل‌تر است. این مؤلفه نشانه حساسیت نسبی ژنوتیپ‌ها به تنش بوده و ژنوتیپ‌های گزینش شده توسط این شاخص در شرایط نرمال عملکرد نسبی کم ولی در شرایط تنش عملکرد نسبی زیادی دارند. همچنین، این شاخص اختلاف بین گروه A و C را تشخیص نمی‌دهد و به سود ژنوتیپ‌های دارای عملکرد پایین در شرایط فاقد تنش و عملکرد بالا در شرایط تنش است. YI ژنوتیپ‌ها را فقط بر اساس عملکرد تحت تنش رتبه‌بندی کرده و کاربردی برای گروه A ندارد. مقادیر بالای YSI نشان‌دهنده مقاومت بالای ژنتیکی ژنوتیپ است و Fischer and Maurer, 1978 عملکرد در هر دو محیط بالا است (SSI)، بیانگر تغییرات کم عملکرد در شرایط تنش نسبت به نرمال است (Menezes *et al.*, 2014). به عبارت دیگر مقادیر کوچک‌تر <0.5 SSI مبین این است که ژنوتیپ مورد نظر متحمل‌تر است و برای شرایط تنش مناسب‌تر بوده و بیشتر برای انتخاب ژنوتیپ‌هایی با سازگاری بیشتر و پایدارتر در تنش متوسط به کار می‌آید و >1 SSI نشان‌دهنده ژنوتیپ حساس است.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳ و ۴) نشان داد بین ژنوتیپ‌های کلزا در خصوص شاخص‌های تحمل به تنش تفاوت معنی‌دار آماری وجود دارد. نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۵) در شرایط کاربرد هیومیک اسید نشان داد که ژنوتیپ WRL-95-07 از تیپ دیررس بیشترین مقدار YP، STI، MP، YI و STI را دارد. کمترین مقدار YP، Falstaff، MP، YI و STI از ژنوتیپ‌های Claremore و SLM046 حاصل شده است. ژنوتیپ‌های WRL-95-08 و Claremore دارای بیشترین SSI می‌باشند و ژنوتیپ WRL-95-02

داده و تحمل به سرما در آنها در این شرایط متفاوت خواهد بود.

هر کرت آزمایشی شامل شش خط به طول شش متر، فاصله خطوط ۳۰ سانتی‌متر از هم بود که دو خط کناری به عنوان حاشیه در نظر گرفته شدند. فاصله بوته‌ها روی ردیف ۵ سانتی‌متر بود. ارزیابی ژنوتیپ‌ها با استفاده از شاخص‌های تحمل (Stress Susceptibility Index) SSI (TOL)، (Stress Tolerance Index) STI (YSI)، (Yield Index) YI، (Tolerance Index) Yield in no (YP)، (Yield Stability Index) Mean (MP)، (Yield Stress) YS، (stress Geometric Mean) GMP، (Productivity Harmonic Mean) HARM، (Productivity Fernandez, 1992) شامل صورت گرفت. فرناندز ژنوتیپ‌های گیاهی را به چهار گروه A, B, C, D تقسیم می‌کند ژنوتیپ‌هایی که در هر دو محیط عملکرد مطلوبی دارند در گروه A، ژنوتیپ‌هایی که فقط در محیط نرمال عملکرد خوبی دارند گروه B، ژنوتیپ‌هایی که فقط در محیط تنش عملکرد خوبی دارند گروه C و ژنوتیپ‌هایی که در هر دو محیط تظاهر ضعیف دارند در گروه D طبقه‌بندی می‌شوند. میانگین هندسی (GMP) در مقایسه با میانگین تولید شاخص بهره‌وری (MP) قدرت بالاتری در تفکیک گروه A از سایر گروه‌ها دارد. مقادیر بالای GMP دلالت بر تحمل ژنوتیپ مورد نظر دارد. مقادیر بالای شاخص تحمل تنش (STI) برای معرفی ژنوتیپ‌هایی که برای هر دو محیط عملکرد بالا دارند و از طرفی متحمل به تنش هستند کاربرد دارد و گروه‌های B و C را مشخص می‌کند و چون شدت تنش و مقادیر عملکرد را در دو محیط در نظر می‌گیرد ژنوتیپ‌های گروه A را نیز می‌تواند شناسایی کند. هر چه مقادیر به شاخص TOL، کوچک‌تر باشد ژنوتیپ مورد نظر

دارند ولی تحمل آنها به تنش پایین است و قادر به جداسازی ژنوتیپ‌ها از گروه A و B نمی‌باشد. تاکنون برای شناسایی ژنوتیپ‌های متholm به تنش شاخص‌های متعددی بر اساس روابط ریاضی بین شرایط تنش و غیرتنش ارایه شده است. ولی به طور کلی، شاخص‌هایی که در هر دو شرایط تنش و غیرتنش دارای همبستگی بالایی با عملکرد باشند به عنوان بهترین شاخص معرفی می‌شوند زیرا این شاخص‌ها قادر به جدا کردن و شناسایی ژنوتیپ‌هایی با عملکرد بالا در هر دو محیط می‌باشند. بنابراین، نتایج تجزیه همبستگی (جدول ۷) نشان داد که عملکرد ژنوتیپ‌ها در شرایط کاربرد اسید هیومیک با شاخص‌های MP، STI، TOL و YI مثبت، معنی‌دار و قوی است. همچنین، همبستگی عملکرد در شرایط عدم کاربرد اسید هیومیک با شاخص‌های MP، STI و YI مثبت، معنی‌دار و قوی است. وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار بین شاخص‌های مذکور نشان دهنده همسویی نتایج آنها بود.

شاخص‌های MP و STI برای شناسایی ژنوتیپ‌هایی با عملکرد بالا تحت شرایط محیطی مختلف در مقایسه با شاخص‌های دیگر مؤثرتر می‌باشند. بنابراین انتخاب بر اساس شاخص‌های اخیر شанс موفقیت در بهبود عملکرد در شرایط تنش و بدون تنش را افزایش می‌دهد. در محاسبه YI فقط از عملکرد تحت شرایط تنش استفاده می‌شود در نتیجه چون عملکرد ژنوتیپ‌ها در محیط تنش بر متوسط عملکرد آنها در این محیط تقسیم می‌شود قطعاً از همبستگی قوی‌تری در شرایط تنش برخوردار هست (*Soleimani et al., 2017*). از طریق TOL، ژنوتیپ‌هایی با عملکرد کم در شرایط عدم تنش ولی با عملکرد بالا در تنש انتخاب می‌گردند و شاخص YSI برای شرایط

دارای کمترین مقدار TOL است. بیشترین مقدار YSI به ژنوتیپ ۹۵-۰۲ WRL-۹۵-۰۲ و کمترین آن به ژنوتیپ‌های Claremore و WRL-۹۵-۰۸ WRL-۹۵-۰۸ اختصاص دارد. نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۶) در شرایط عدم کاربرد هیومیک اسید نشان داد که ژنوتیپ ۹۵-۰۷ WRL-۹۵-۰۷ از تیپ دیررس بیشترین مقدار YP، MP، STI و YSI را دارد. کمترین مقدار شاخص‌های تحمل به تنش به ژنوتیپ‌های HARM و Falstaff و Claremore و MP، YS، STI و YI به WRL-۹۵-۱۱ WRL-۹۵-۱۱، ژنوتیپ‌های WRL-۹۵-۰۵ WRL-۹۵-۰۵ و Falstaff و Claremore اختصاص دارد. بالاترین مقدار SSI از ژنوتیپ ۹۵-۰۵ WRL-۹۵-۰۵ و کمترین آن از ژنوتیپ ۹۵-۰۷ WRL-۹۵-۰۷ حاصل شده است. بیشترین مقدار STI به ژنوتیپ ۹۵-۰۷ WRL-۹۵-۰۷ و کمترین آن به ژنوتیپ‌های Claremore و Falstaff و SLM046 WRL-۹۵-۱۱ و WRL-۹۵-۰۵ اختصاص یافته است. ژنوتیپ ۹۵-۰۸ WRL-۹۵-۰۸ دارای بیشترین و ژنوتیپ‌های WRL-۹۵-۰۲ Falstaff و WRL-۹۵-۰۲ و دارای کمترین مقدار TOL هستند. بیشترین مقدار YI از ژنوتیپ ۹۵-۰۷ WRL-۹۵-۰۷ و کمترین آن از ژنوتیپ‌های WRL-۹۵-۱۱ WRL-۹۵-۱۱، ژنوتیپ‌های WRL-۹۵-۰۵ WRL-۹۵-۰۵ و SLM046 Falstaff و Claremore حاصل شده است. بیشترین مقدار YSI به ژنوتیپ ۹۵-۰۷ WRL-۹۵-۰۷ و کمترین آن به ژنوتیپ ۹۵-۰۵ WRL-۹۵-۰۵ اختصاص دارد.

طبق جدول ۵ و ۶ ژنوتیپ ۹۵-۰۷ و ۹۵-۰۸ نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها در هر دو محیط دارای STI، YP و MP بالاتری است. همچنین، در شرایط تنش دارای کمترین SSI و TOL نسبتاً پایین است. بنابراین، عدد بالای میانگین هارمونیک (HARM) نشان‌دهنده تحمل به تنش ژنوتیپ است. میانگین تولید شاخص بهره‌وری (MP) نشان می‌دهد در شرایط عادی، ژنوتیپ‌ها عملکرد بالایی

شاخص‌های SSI و TOL وجود دارند که هرچه عدد بیشتری نشان دهنند مبین حساسیت گیاه به تنش است؛ بنابراین این مؤلفه به نام مؤلفه حساسیت گیاه به تنش نامیده می‌شود. نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در خصوص ارزیابی تحمل به تنش سرمای ژنوتیپ‌های سویا نشان داد که در مؤلفه اول شاخص‌های YS، MP، GMP و STI در مؤلفه دوم SSI و TOL بیشترین همبستگی را با عملکرد داشتند (AmiriOghan *et al.*, 2019). با استفاده از روش تحلیل مؤلفه‌های اصلی تفاوت‌ها و شباهت‌های ژنوتیپ‌های سویا تحت تاریخ‌های متفاوت کشت در یک پروژه ۳۴ ساله بر جسته شد به طوری که مواجه شدن ژنوتیپ‌ها با سرما واکنش‌های متفاوتی را از خود بروز داده و ژنوتیپ‌های متحمل به سرما اغلب عملکرد بهتری را دارند ولی ممکن است این ژنوتیپ‌های متحمل در شرایط نرمال از عملکرد مطلوبی برخوردار نباشند و لازم است ژنوتیپ‌های سازگار با شرایط نرمال نیز شناسایی شوند (De *et al.*, 2019). تطابق نتایج همبستگی و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نشان می‌دهد شاخص‌های YS، MP، GMP، STI، TOL، HARM و YI برای تشخیص ژنوتیپ‌های متحمل به تنش مناسب می‌باشد.

بررسی نمودار دو بعدی کاربرد هیومیک اسید (شکل ۲) نشان داد ژنوتیپ WRL-95-07 در مجاورت بردارهای مربوط به شاخص‌های مهم HARM، GMP، MP و STI تحمل به تنش مانند YP، MP، GMP و HARM دارای قدرت تولید پتانسیل بالا و حساسیت پایین به تنش می‌باشد. این شاخص‌ها با عملکرد دانه در شرایط معمول و تنش همبستگی مثبت نشان دادند، پس بهترین شاخص‌ها برای تفکیک

تنش مناسب‌تر بوده و بیشتر منجر به گزینش نژادهایی با سازگاری بیشتر و پایدارتر در تنش متوسط به کار می‌آید.

نتایج همبستگی شاخص‌های MP، GMP، STI و TOL نشان داد که اغلب این شاخص‌ها دارای همبستگی معنی‌دار هستند. همچنین، شاخص‌هایی که بیشترین همبستگی را با وزن دانه در هر دو شرایط تنش و بدون تنش دارند مناسب خواهند بود (Butler *et al.*, 2005).

طبق نتایج به دست آمده (جدول ۸) استفاده از هیومیک اسید در شرایط تنش و عدم تنش سرما، مؤلفه‌های اول و دوم در مجموع ۹۹٪ واریانس کل را تبیین می‌نمایند به طوری که سهم مؤلفه اول ۷۵٪ و مؤلفه دوم ۲۴٪ می‌باشد.

عدد بالای شاخص‌های YP، YI، MP، YS، GMP، HARM و STI در مؤلفه اول نشان‌دهنده متحمل بودن ژنوتیپ به تنش می‌باشد، بنابراین این مؤلفه به نام مؤلفه مقاومت به تنش معرفی می‌شود. در مؤلفه دوم شاخص‌های SSI و TOL وجود دارند که هرچه عدد بیشتری نشان دهنده مبین حساسیت گیاه به تنش است؛ بنابراین این مؤلفه به نام مؤلفه حساسیت گیاه به تنش نامیده می‌شود.

مطابق یافته‌های به دست آمده (جدول ۹) عدم کاربرد هیومیک اسید در شرایط تنش و عدم تنش سرما، مؤلفه‌های اول و دوم در مجموع ۹۹٪ واریانس کل را تبیین می‌نمایند به طوری که سهم مؤلفه اول ۷۹٪ و مؤلفه دوم ۲۰٪ می‌باشد. در مؤلفه اول شاخص‌های YS، MP، GMP، HARM، YI و STI دارای بیشترین همبستگی هستند، این موضوع نشان‌دهنده متحمل بودن ژنوتیپ‌ها به تنش می‌باشد، بنابراین این مؤلفه به نام مؤلفه مقاومت به تنش معرفی می‌شود. در مؤلفه دوم

بین ژنتیپ‌های هر گروه می‌باشد. در شرایط کاربرد هیومیک اسید (شکل ۴) ژنتیپ‌های ۱، ۲، ۵، ۶ و ۷ گروه اول را تشکیل می‌دهند، این ژنتیپ‌ها با عملکرد متوسط در هر دو محیط بدون تنش و تنش قرار می‌گیرند. گروه دوم ژنتیپ ۳ است با بالاترین عملکرد در شرایط تنش و عدم تنش و گروه سوم ژنتیپ‌های ۸، ۹ و ۱۰ هستند که عملکرد ضعیفی در شرایط تنش و عدم تنش نشان دادند (جدول ۹).

مطابق شکل ۵ در شرایط عدم کاربرد هیومیک اسید ژنتیپ‌های ۱، ۲ و ۴ در گروه اول قرار گرفتند. این ژنتیپ‌ها با عملکرد متوسط در هر دو محیط بدون تنش و تنش بودند. گروه دوم ژنتیپ‌های ۳ و ۶ را با بالاترین عملکرد در شرایط تنش و عدم تنش نشان می‌دهد و گروه سوم ژنتیپ‌های ۲، ۵، ۸، ۹ و ۱۰ هستند که عملکرد ضعیفی در شرایط تنش و عدم تنش نشان دادند (جدول ۱۰).

تجزیه کلاستر بر اساس شاخص‌های تحمل به تنش، ژنتیپ‌های کلزا تحت شرایط تنش سرما را به خوبی از یکدیگر تفکیک نمود و ژنتیپ‌های Amiri Oghan (2019 et al.,). نتایج تحقیقات در ژنتیپ‌های گندم تحت تنش نشان داد تجزیه کلاستر به خوبی ژنتیپ‌های حساس و متحمل را از یکدیگر جدا کرد (Eid and Sabry, 2019). به عبارت دیگر شاخص‌ها می‌توانند ارجحیت ژنتیپ‌ها را برای تحمل به تنش نشان دهند (Ene et al., 2016).

تاخیر در کشت کلزا پاییزه موجب ایجاد روزت ضعیف در زمستان می‌شود و سرمای زمستان به بوته‌ها آسیب وارد می‌کند. بنابراین، پس از گرم شدن شرایط اقلیمی بوته‌ها جهت انجام فتوسنتز و تولید شیره پرورده کافی توانایی لازم را نخواهند

ژنتیپ‌های حساس و متحمل می‌باشند. ژنتیپ WRL-95-08 بین دو بردار SSI و TOL قرار دارد به عبارت دیگر این ژنتیپ در شرایط تنش ممکن عملکرد خوبی دارد ولی در شرایط تنش است حساسیت نسبی به تنش نشان دهد. ژنتیپ‌های Claremore Falstaff SLM046، WRL-95-33 و WRL-95-12، WRL-95-02 عملکرد مناسبی ندارند و نمی‌توان به آنها اعتماد نمود.

بررسی نمودار دو بعدی عدم کاربرد هیومیک اسید (شکل ۳) نشان داد که ژنتیپ‌های WRL-95-07 و WRL-95-12 در راستای بردارهای مربوط به شاخص‌های مهم تحمل به تنش مانند قرار STI، GMP، MP، YP، HARM و GMP گرفته‌اند. قدرت تولید پتانسیل بالا و حساسیت پایین به تنش از خصوصیات مهم این ژنتیپ‌ها به شمار می‌رود. این شاخص‌ها با عملکرد دانه در شرایط معمول و تنش همبستگی مثبت نشان دادند، پس بهترین شاخص‌ها برای تفکیک ژنتیپ‌های حساس و متحمل می‌باشند. ژنتیپ WRL-95-08 در راستای بردار TOL قرار دارد به عبارت دیگر این ژنتیپ در شرایط نرمال عملکرد خوبی دارد ولی در شرایط تنش ممکن است حساسیت نشان دهد. سایر ژنتیپ‌ها نیز عملکرد مناسبی در شرایط تنش و حتی نرمال نشان ندادند.

تجزیه کلاستر بر روی متغیرهای مورد استفاده در این آزمایش بر اساس فاصله اقلیدسی و روش وارد (Ward) در هر دو شرایط بدون تنش و تنش انجام و مشخص شد که در هر دو شرایط بدون تنش و تنش ژنتیپ‌ها به ۳ گروه جدا تفکیک شدند. این ۳ گروه در فاصله دورتری از یکدیگر به هم وصل شده‌اند که نشان‌دهنده تفاوت

کاربرد هیومیک اسید و در محیط تنش به‌طور متوسط ۱۱٪ و در شرایط عدم تنش سرما به‌طور متوسط حدود ۲۰٪ نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بیشتر بود. شاخص‌های میانگین تولید (MP)، میانگین هندسی (GMP)، میانگین هارمونیک (HARM) و شاخص تحمل خشکی (STI)، بیشترین همبستگی معنی‌دار را با عملکرد در شرایط نرمال و تنش داشتند. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی توانست بین شاخص‌های معرفی کننده ژنوتیپ‌های متحمل با شاخص‌های معرفی کننده ژنوتیپ‌های حساس تفاوت قابل شود و بر این اساس تجزیه کلاستر ۳ گروه از بین ۱۰ ژنوتیپ را مشخص کرد. ژنوتیپ WRL-95-07 برای شرایط تنش و عدم تنش با کاربرد هیومیک اسید عملکرد مناسبی نشان داد و در رتبه بعدی ژنوتیپ- WRL-95-12 تحت شرایط تنش با کاربرد هیومیک اسید توانست عملکرد مطلوبی نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها داشته باشد.

داشت. این تاخیر موجب می‌شود پرشدن دانه‌ها همزمان با افزایش دمای محیطی بوده و گرمای زیاد مانع از پرشدن دانه‌ها می‌شود و میزان مواد متابولیکی ذخیره‌ای با تشديد تنفس کاهش خواهد یافت (Ozer, 2003). بنابراین، برای جلوگیری از گسترش خسارت سرمازدگی با کاربرد هیومیک اسید در شرایط تنش و عدم تنش تحمل گیاه افزایش یافته و عملکرد بیشتری را برای همه ژنوتیپ‌ها و گروه‌ها نسبت به عدم کاربرد آن در بر دارد. استفاده از هیومیک اسید بر روی کلزای زمستانه نشان داد که هیومیک اسید موجب توسعه ریشه و شاخه‌های جانبی می‌شود به‌طوری که عملکرد افزایش می‌یابد (Jannin *et al.*, 2012).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد بین ژنوتیپ‌های کلزا از نظر شاخص‌های تحمل به تنش تنوع وجود دارد. بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها تولید ژنوتیپ WRL-95-07 در محیط کاربرد و عدم

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ‌های کلزا
Table 1- Characteristics of rapeseed cultivars

شماره ژنوتیپ‌ها Genotype No.	نام ژنوتیپ Genotype	منشا Origin	نوع رشد Growth type	لاین اژنوتیپ Genotype /Line	نوع روغن Oil	تیپ Type
1	WRL-95-02	Iran	Winter	L	لاین امیدبخش	Canola(00)
2	WRL-95-05	Iran	Winter	L	لاین امیدبخش	Canola(00)
3	WRL-95-07	Iran	Winter	L	لاین امیدبخش	Canola(00)
4	WRL-95-08	Iran	Winter	L	لاین امیدبخش	Canola(00)
5	WRL-95-11	Iran	Winter	L	لاین امیدبخش	Canola(00)
6	WRL-95-12	Iran	Winter	L	لاین امیدبخش	Canola(00)
7	WRL-95-33	Iran	Winter	L	لاین امیدبخش	Canola(00)
8	Falstaff	American	Winter	G	ژنوتیپ	Canola(00)
9	Claremore	American	Winter	G	ژنوتیپ	Canola(00)
10	SLM046	Germany	Winter	G	ژنوتیپ	Canola(00)

جدول ۲- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش
Table 2- Physical and chemical properties of soil of the test

عمق نمونه برداری Sampling depth (30-60 cm)		عمق نمونه برداری Sampling depth (0- 30 cm)	مشخصات Characteristic
EC (dS.m ⁻²)	هدایت الکتریکی	1.45	1.24
pH		7.9	7.2
NM (%)	درصد مواد خنثی شونده	8.56	8.68
SCM (%)	درصد رطوبت گل اشباع	36	38
Organic C (%)	کربن آلی	0.91	0.99
Total N (%)	نیتروژن کل	0.09	0.07
Absorbable P (mg.kg ⁻¹)	فسفر قابل جذب	14.7	15.8
Absorbable K (mg.kg ⁻¹)	پتاسیم قابل جذب	197	155
Clay (%)	درصد رس	28	25
Silt (%)	درصد سیلت	47	49
Sand (%)	درصد شن	25	26
Soil texture	بافت خاک	Clay Lumi	Clay Lumi
		رسی لوہی	رسی لوہی

جدول ۳- تجزیه واریانس شاخص‌های تحمل به تنش در شرایط کاربرد هیومیک اسید تحت تنش و عدم تنش سرما
Table 3- Analysis of variance for stress tolerance indices under application of humic acid in non-stress and cold stress conditions

متابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	TOL	STI	SSI	HARM	GMP	MP	YS	YP	YI	YSI
تکرار Rep.	2	0.003 ^{ns}	0.029 ^{**}	0.012 [*]	0.505 ^{**}	0.477 ^{**}	0.437 ^{**}	0.426 ^{**}	0.457 ^{**}	0.038 ^{**}	0.002 [*]
ژنوتیپ G.	9	0.321 ^{**}	0.057 ^{**}	0.023 ^{**}	0.821 ^{**}	0.832 ^{**}	0.853 ^{**}	0.613 ^{**}	1.258 ^{**}	0.053 ^{**}	0.004 ^{**}
خطا E	18	0.026	0.001	0.003	0.015	0.013	0.012	0.017	0.019	0.001	0.001
ضریب تغییرات C.V. (%)		6.51	4.17	5.71	2.85	2.54	2.34	3.8	2.36	3.78	4.3

ns, * and **: no significant, significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.
ns, * و **: به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

جدول ۴- تجزیه واریانس شاخص‌های تحمل به تنش در شرایط عدم کاربرد هیومیک اسید تحت تنش و عدم تنش سرما**Table 4-** Analysis of variance for stress tolerance indices under non-application of humic acid in non-stress and cold stress conditions

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	TOL	STI	SSI	HARM	GMP	MP	YS	YP	YI	YSI
تکرار Rep.	2	0.140*	0.011**	0.005ns	0.120**	0.132**	0.152**	0.068**	0.304**	0.014**	0.001ns
ژنوتیپ G.	9	0.202**	0.042**	0.025**	0.545**	0.494**	0.451**	0.437**	0.563**	0.085**	0.008**
E خط	18	0.032	0.001	0.003	0.008	0.006	0.006	0.01	0.019	0.002	0.001
ضریب تغییرات C.V. (%)		6.79	4.8	5.37	2.88	3.38	2.18	4.29	2.8	4.31	6.33

ns, * and **: بهترین غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ ns, * and **: no significant, significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول ۵- مقایسه میانگین شاخص‌های تحمل به تنش در شرایط کاربرد هیومیک اسید تحت تنش و عدم تنش سرما**Table 5-** Means comparison for stress tolerance indices under humic acid application in non-stress and cold stress conditions

Genotype	YI	TOL	STI	SSI	HARM	GMP	MP	YS	YP	YSI
1	1.09bc	1.92d	0.61cd	0.82d	4.44cd	4.54de	4.64de	3.68bc	5.60c	0.66a
2	1.00d	2.33bc	0.56d	0.97bc	4.23d	4.37e	4.53e	3.37d	5.69c	0.59b
3	1.22a	3.01a	0.86a	1.00bc	5.20a	5.40a	5.61a	4.10a	7.12a	0.58bc
4	0.97d	2.95a	0.60cd	1.12a	4.29d	4.51de	4.75cd	3.27d	6.22b	0.53d
5	1.03cd	2.52b	0.62c	0.99bc	4.43cd	4.59cd	4.76cd	3.50cd	6.02b	0.58bc
6	1.12b	2.48bc	0.69b	0.94c	4.71b	4.86b	5.02b	3.78b	6.26b	0.60b
7	1.09bc	2.53b	0.67b	0.97bc	4.62bc	4.78bc	4.94bc	3.68bc	6.20b	0.59b
8	0.85e	2.20c	0.43e	1.03abc	3.68e	3.83f	3.99f	2.88e	5.09d	0.56b-d
9	0.82e	2.41bc	0.42e	1.11a	3.60e	3.78f	3.97f	2.76e	5.17d	0.53d
10	0.83e	2.27bc	0.42e	1.06ab	3.61e	3.78f	3.95f	2.81e	5.08d	0.55b-d

حروف غیر مشترک در هر ستون نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار آماری در سطح احتمال ۵٪ درصد می‌باشد.
Non-common letters in each column indicate a statistically significant difference at the 5% level.

جدول ۶- مقایسه میانگین شاخص‌های تحمل به در شرایط عدم کاربرد هیومیک اسید تحت تنش و عدم تنش سرما**Table 6-** Means comparison for stress tolerance indices under non-application of humic acid in non-stress and cold stress conditions

Genotype	YI	TOL	STI	SSI	HARM	GMP	MP	YS	YP	YSI
1	1.06c	2.33de	0.4c	0.92de	3.19c	3.38c	3.5d	2.41c	4.74c	0.51
2	0.84e	2.88	0.3d	1.12	2.72d	3.02d	3.3e	1.90e	4.79c	0.40e
3	1.34	2.51c-e	0.7a	0.84e	3.93	4.10	4.3a	3.04	5.55	0.55
4	0.97d	3.13	0.4c	1.09	3.12c	3.43c	3.7c	2.21d	5.34	0.41de
5	0.89e	2.65b-d	0.4d	1.06c	2.83d	3.08d	3.3e	2.03e	4.68c	0.43c-e
6	1.22b	2.69bc	0.6b	0.92de	3.65b	3.87b	4.0b	2.75b	5.44	0.51
7	1.06c	2.68bc	0.5c	0.98cd	3.27c	3.50c	3.7c	2.41c	5.09b	0.47bc
8	0.91e	2.28e	0.3d	0.97cd	2.79d	2.98d	3.2e	2.06de	4.34d	0.48bc
9	0.83e	2.66bc	0.3d	1.09	2.67d	2.94d	3.2e	1.89e	4.56d	0.41de
10	0.83e	2.27c-e	0.4d	1.06b-d	3.61b	3.78b	3.9c	2.81b	5.08b	0.55b-d

حروف غیر مشترک در هر ستون نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار آماری در سطح احتمال ۵٪ درصد می‌باشد.
Non-common letters in each column indicate a statistically significant difference at the 5% level.

جدول ۷- تجزیه همبستگی شاخص‌های تحمل به در شرایط عدم کاربرد هیومیک اسید تحت تنش و عدم تنش سرما

Table 7- Correlation analysis of tolerance indices in the absence of humic acid application under non-stress and cold stress conditions

	YP	YS	MP	GMP	HARM	SSI	STI	TOL	YI	YSI
YP	1	.869**	.977**	.959**	.937**	-0.2 ^{ns}	.964**	.713**	.872**	0.2 ^{ns}
YS	.752**	1	.955**	.974**	.987**	-0.652**	.965**	0.2 ^{ns}	.992**	.656**
MP	.947**	.924**	1	.997**	.990**	-0.401*	.997**	.546**	.957**	.406*
GMP	.893**	.968**	.990**	1	.998**	-0.465**	.997**	.484**	.975**	.470**
HARM	.838**	.990**	.969**	.994**	1	-0.523**	.993**	.424*	.988**	.527**
SSI	-0.25 ^{ns}	-.820**	-.542**	-.653**	-.732**	1	-.435*	.544**	-.647**	-.998**
STI	.890**	.968**	.988**	.998**	.992**	-0.652**	1	.508**	.967**	.441*
TOL	.558**	-0.13 ^{ns}	0.2 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.01 ^{ns}	.663**	0.12 ^{ns}	1	0.279	-.536**
YI	.754**	.991**	.925**	.969**	.990**	-.819**	.968**	-0.13 ^{ns}	1	.651**
YSI	0.23 ^{ns}	.811**	.528**	.640**	.720**	-.998**	.639**	-.675**	.809**	1

جدول ۸- تجزیه به مولفه‌های اصلی شاخص‌های تحمل به در شرایط عدم کاربرد هیومیک اسید تحت تنش و عدم تنش سرما

Table 8- Principal component analysis of tolerance indices under non-application of humic acid in non-stress and cold stress conditions

هیومیک اسید	مولفه	مقدار ویژه	درصد واریانس	درصد واریانس جمعی	YP	YS	MP	GMP	HARM	SSI	STI	TOL	YI	YSI
					c1	c2	c3	c4	c5	c6	c7	c8	c9	c10
کاربرد	1	7.52	0.75	0.75	0.34	0.38	.34	0.33	0.39	-0.17	0.36	0.18	0.36	0.18
	2	2.45	0.24	0.99	0.21	-0.08	0.09	0.05	0.01	0.55	0.07	0.56	-0.08	-0.54
عدم کاربرد	1	7.94	0.79	0.79	0.29	0.35	0.34	0.36	0.35	-0.29	0.33	-0.02	0.38	0.29
	2	2.04	0.20	0.99	0.38	-0.03	0.19	0.11	0.04	0.38	0.10	0.69	-0.03	-0.39

جدول ۹- میانگین شاخص‌های تحمل به تنش ژنتیپ‌های موجود در هر کلاستر در شرایط کاربرد هیومیک اسید

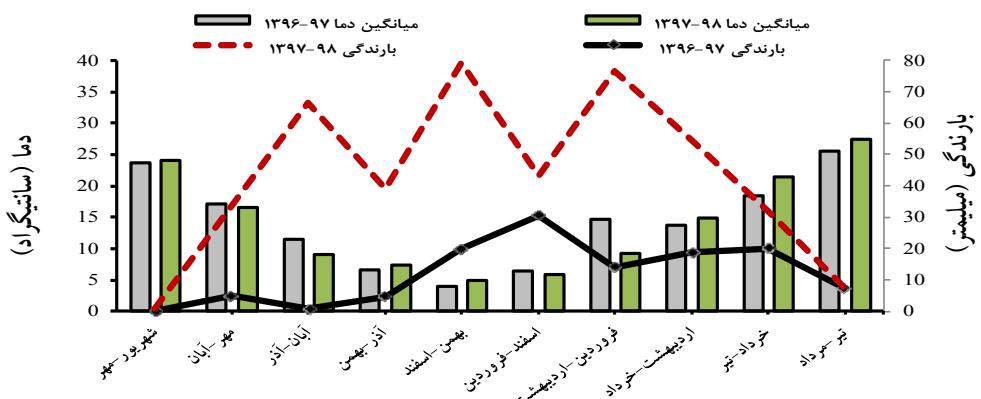
Table 9- Average stress tolerance indices of cultivars in each cluster under humic acid application

کلاستر	YP	YS	MP	GMP	HARM	SSI	STI	TOL	YI	YSI
1	6.00	3.55	4.77	4.61	4.45	0.97	0.62	2.45	1.05	0.59
2	7.12	4.10	5.61	5.40	5.20	1.00	0.86	3.01	1.22	0.58
3	5.11	2.82	3.97	3.80	3.63	1.07	0.42	2.29	0.83	0.55

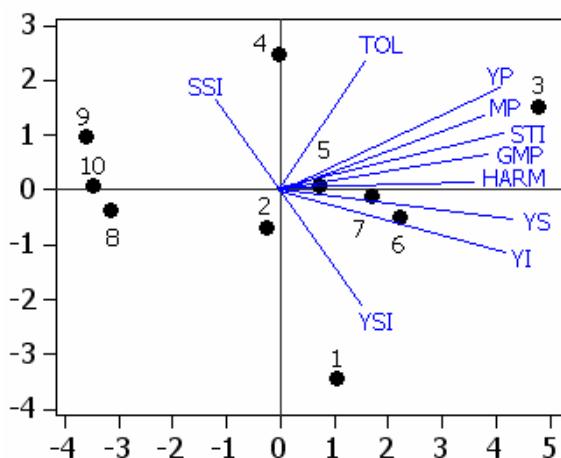
جدول ۱۰- میانگین شاخص‌های تحمل به تنش ژنتیپ‌های موجود در هر کلاستر در شرایط عدم کاربرد هیومیک اسید

Table 10- Average stress tolerance indices of cultivars in each cluster in the absence of humic acid

کلاستر	YP	YS	MP	GMP	HARM	SSI	STI	TOL	YI	YSI
1	5.06	2.34	3.70	3.44	3.20	1.00	1.00	2.71	1.03	0.46
2	5.49	2.90	4.20	3.99	3.79	0.88	0.88	2.60	1.28	0.53
3	4.56	1.98	3.27	3.00	2.76	1.05	1.05	2.57	0.87	0.44

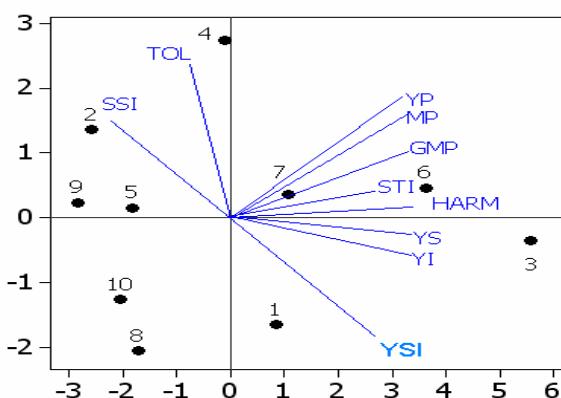


شکل ۱- تغییرات میانگین دما و بارندگی ایستگاه هواشناسی منطقه کرج (سال‌های زراعی ۱۳۹۶-۹۸)
Figure 1- Average metrological parameters in growing season in two years



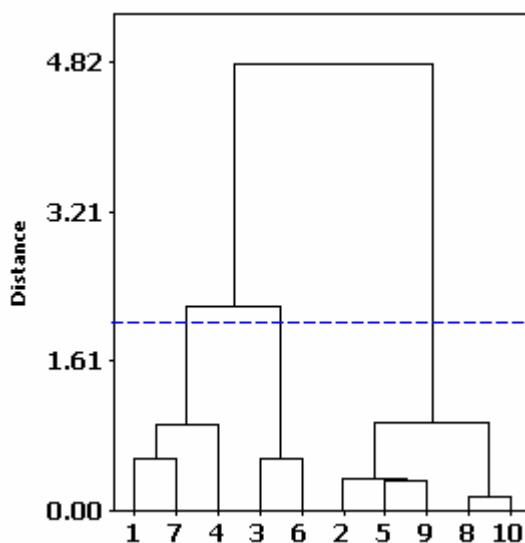
شکل ۲- نمودار دو وجهی ژنوتیپ‌های کلزا بر پایه مولفه‌های اصلی اول و دوم در شرایط کاربرد هیومیک اسید تحت تنش و عدم تنش سرما

Figure 2- Two-dimensional diagram of rapeseed cultivars based on the first and second principal components under the application of humic acid in non-stress and cold stress conditions



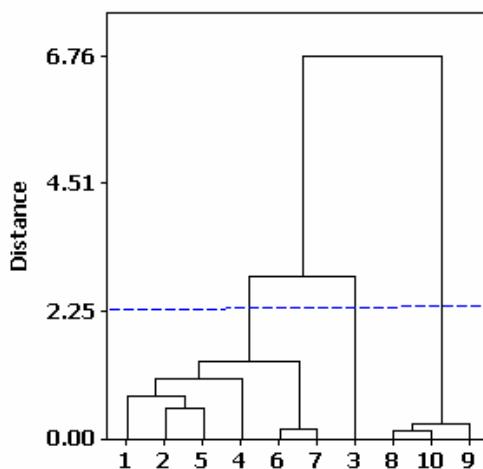
شکل ۳- نمودار دو وجهی ژنوتیپ‌های کلزا بر پایه مولفه‌های اصلی اول و دوم در شرایط عدم کاربرد هیومیک اسید تحت تنش و عدم تنش سرما

Figure 3- Two-dimensional diagram of rapeseed cultivars based on the first and second principal components under the non-application of humic acid in non-stress and cold stress conditions



شکل ۴- نمودار درختواره گروه بندی ژنتیپ‌های کلزا بر پایه مولفه‌های اصلی اول و دوم در شرایط کاربرد هیومیک اسید تحت تنش و عدم تنش سرما

Figure 4- Dendrogram of rapeseed cultivars grouped based on the first and second principal components under humic acid application in non-stress and cold stress conditions



شکل ۵- نمودار درختواره گروه بندی ژنتیپ‌های کلزا بر پایه مولفه‌های اصلی اول و دوم در شرایط عدم کاربرد هیومیک اسید تحت تنش و عدم تنش سرما

Figure 5- Dendrogram of rapeseed cultivars grouped based on the first and second principal components in the absence of humic acid application under non-stress and cold stress conditions

منابع مورد استفاده

References

- Amiri Oghan, H., R. Ataei, M. Gholamhosseini, and B. Alizadeh. 2018. Evaluation of cold tolerance in rapeseed (*Brassica napus* L.) using stress tolerance indices. *Journal of Crop Production and Processing*. 9(2): 13-28. doi: 10.29252/jcpp.9.2.13 (In Persian).
- Andreas Hunda, Y., V. Fracheboud, A. Soldatia, and P. Stampa. 2008. Cold tolerance of maize seedlings as determined by root morphology and photosynthetic traits. *European Journal of Agronomy*. 28(3): 178-185. doi: 10.1016/j.eja.2007.07.003
- Barekati, F., E. Majidi-Hervan, A.H. Shirani-Rad, and G. Noor-Mohamadi. 2018. Effect of sowing date and humic acid foliar application on yield and yield components of canola cultivars. *Journal of Agricultural Sciences*. 25: 70-78. doi: 10.15832/ankutbd.539003 (In Persian).
- Butler, D., F. Byrne, V. Mohammadi, and P. Chapman. 2005. Agronomic performance of Rht alleles in a spring wheat population across a range of moisture levels. *Crop Science*. 45: 939-947. doi:10.2135/cropsci2004.0323
- De, R., S. Nônia, J. Paulo, and C. Sentelhas. 2019. Soybean-maize succession in Brazil: Impacts of sowing dates on climate variability, yields and economic profitability. *European Journal of Agronomy*. 103: 140-151. doi:10.1016/j.eja.2018.12.008
- Eid, M.H., and S. Sabry. 2019. Assessment of variability for drought tolerance indices in some wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. *Journal of Agronomy*. 41(2): 79 – 91. doi: 10.21608/agro.2019.10401.1153
- Ene, O., E. Peter, and U. Christian. 2016. Studies of phenotypic and genotypic variation in sixteen cucumber genotypes. *Chilian Journal of Agricultural Research*. 76(13): 307-311. doi:10.4067/S0718-58392016000300007
- Fernandez, G.C.J. 1992. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. In Kuo CG, ed. *Adaptation of Food Crops to inTemperature and Water Stress*. Shanhua: Asian Vegetable Research and Development Center, Taiwan, Publ. No 93-410, 257-270.
- Fischer R.A., and R. Maurer. 1978. Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses. *Crop and Pasture Science*. 29: 897–912. doi:10.1071/AR9780897
- Jannin, L., M, Arkoun, A. Ourry, P. Laýne, D. Goux, M. Garnica, M. Fuentes, S. Francisco, R. Baigorri, F. Cruz, F. Houdusse, J.M.Garcia-Mina, J.C. Yvin, and P. Etienne. 2012. Microarray analysis of humic acid effects on *Brassica napus* growth: Involvement of N, C and S metabolisms. *Plant Soil*. 359: 297–319. doi 10.1007/s11104-012-1191-x
- Kheybari, M., S. Saifzadeh, A.H. Shirani-Rad, E. Hadidi-Masouleh, H.R. Zakerin, H. Zeinalzadeh-Tabrizi. 2020. Determination of suitable planting date and stable genotype in cultivars and promising lines of rapeseed (*Brassica napus* L.) using GGE Biplot graphical analysis. *Applied Research in Field Crops*. 32(4): 91-108. (In Persian). doi:10.22092/aj.2019.121709.1295
- Klepeckas, M., I. Januškaitienė, L. Vagusevičienė, and R. Juknys. 2020. Effects of different sowing time to phenology and yield of winter wheat. *Agricultural and Food Science*. 29: 346–358. doi: 10.23986/afsci.90013

- Mackova, H., M. Hronkova, and J. Dobra. 2013. Enhanced drought and heat stress tolerance of tobacco plants with ectopically enhanced cytokinin oxidase/dehydrogenase gene expression. *Journal of Experimental Botany*. 64: 2805–2815. doi: 10.1093/jxb/ert131
- Menezes, C., C. Ticona-Benavente, F. Tardin, M. Cardoso, E. Bastos, D. Nogueira, A. Portugal, C. Santos and R. Schaffert. 2014. Selection indices to identify drought-tolerant grain sorghum cultivars. *Genetics and Molecular Research*. 13(4): 9817-9827. doi: 10.4238/2014.November.27.9
- Mousavi, A., B. Alizadeh, M. Khodarahmi, and K. Mostafavi. 2012. Investigation of cold resistance in winter canola (*Brassica napus* L.) cultivars in field condition. *Iranian Journal of Agronomy and Plant Breeding*. 8(3): 29-37. (In Persian).
- Naghavi, M.R., M. Moghaddam, M. Toorchchi, and M.R. Shakiba. 2016. Evaluation of spring wheat cultivars based on drought resistance indices. *Journal of Crop Breeding*. 8(17): 192-207. (In Persian). doi: 10.18869/acadpub.jcb.8.17.207
- Nasiri, A., M. Sam-Daliri, A.H. Shirani-Rad, A.A. Mousavi, and H. Jabari. 2017. Evaluation of agronomic traits and some physiological characteristics under humic acid application conditions and different plant densities in some winter rapeseed cultivars. *Journal of Crop Physiology*. 9(35): 55- 72 (In Persian).
- Ozer, H. 2003. Sowing date and nitrogen rate effects on growth, yield and yield components of two summer rapeseed cultivars. *European Journal of Agronomy*. 19: 453-463. doi: 10.1016/S1161-0301(02)00136-3
- Rameeh, V. 2018. Late sowing stress tolerance indices for seed yield and contributing traits in rapeseed (*Brassica napus* L.) genotypes. *Journal of Oilseed Brassica*. 9(1): 17-21. doi: 10.2478/ats-2013-0010
- Rezaizad, A., A. Zaree Siahbidi, and F. Moradgholi. 2018. Stability analysis of oil yield in different oilseed rape (*Brassica napus* L.) genotypes in two normal and delayed sowing date in Kermanshah Province. *Journal of Crop Breeding*. 10(25): 129-137. DOI: 10.29252/jcb.10.25.129 (In Persian).
- Soleimani, A., M.R. Bihamta, S.A. Peyghambari, and R. Maali-Amiri. 2017. Evaluation of late season drought in barley genotypes using some drought tolerance indices. *Journal of Crop Breeding*. 9(23): 166-176. doi:102952/jcb.9.23.166 (In Persian).
- Ye, C., S. Fukai, I. Godwin, R. Reinke, P. Snell, J. Schiller and J. Basnayake. 2009. Cold tolerance in rice varieties at different growth stages. *Crop and Pasture Science*. 60(4): 328-338. doi: 10.1071/CP09006

Research Article

DOI:10.30495/JCEP.2023.1923621.1773

Identification of Cold Tolerant Rapeseed (*Brassica napus L.*) Cultivars Using Stress Tolerance Indices under Humic Acid Application

Shirin Alizadeh¹, Arash Roozbahani^{1*}, Amir Hosein Shirani Rad² and Mohamadreza Haj Seyedhadi¹

Received: March 2020, Revised: 20 November 2021, Accepted: 1 February 2022

Abstract

In order to identify cold tolerant cultivars of rapeseed (*Brassica napus L.*) using stress tolerance indices under the influence of humic acid application, an experiment was conducted as factorial split plot based on randomized complete block design with three replications in 2017 and 2018 at Seed and Plant Improvement Research Institute, Karaj, Iran. Factorial combination of cold stress as planting date factor in two levels including 20 October and 20 November, and humic acid factor in two levels including non-application (foliar spraying with pure water) and application (foliar spraying with a concentration of 1.5 per mil at 4-6-leaf stage) were assigned to the main plots and the cultivars were allocated to the sub-plots. The results showed that rapeseed cultivars differed significantly. Based on the results of means comparison, the cultivar WRL-95-07 showed higher yield in both stress and non-stress environments as well as the application and non-application of humic acid than the other cultivars. The correlation of drought tolerance indices with grain yield under stress and non-stress conditions was used to determine the most suitable indices. Arithmetic mean productivity (MP), geometric mean productivity (GMP), harmonic mean (HARM) and stress tolerance index (STI) had the highest significant correlation with yield under normal and stress conditions. Principal component analysis differentiated indices introducing tolerant cultivars and indices introducing susceptible cultivars, and on this basis, the 10 rapeseed cultivars were divided into three groups using cluster analysis. Finally, WRL-95-07 cultivar performed well under stress and non-stress conditions with the use of humic acid, followed by WRL-95-12 cultivar which displayed better performance than the other cultivars under stress conditions when treated with humic acid.

Key words: Cluster analysis, Crop yield, Environmental stress, Principal component analysis.

1- Department of Agronomy and Plant Breeding, Roudehen branch, Islamic Azad University, Roudehen, Iran.

2- Seed and Plant Improvement Institute (SPII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

*Corresponding Author: roozbahani@riau.ac.ir