

اثر تنش خشکی با استفاده از پلی اتیلن گلیکول (PEG 6000) در محیط کشت جامد روی خصوصیات گیاهچه ژنوتیپ‌های چندرقد

Effect of water stress induced by solid medium of poly ethylene glycol (PEG 6000) on the seedling characteristics of sugar beet genotypes

زهرا ردائی الامی^۱، محمد عبداللهیان نوقابی^۲، غلامباس اکبری^۳، فرانک روزبه^۴ و سید احمد سادات نوری^۵

چکیده

ردائی الامی، ز.، م. عبداللهیان نوقابی، غ.، اکبری، ف. روزبه و س. ا. سادات نوری. ۱۳۸۹. اثر تنش خشکی با استفاده از پلی اتیلن گلیکول (PEG 6000) در محیط کشت جامد روی خصوصیات گیاهچه ژنوتیپ‌های چندرقد. مجله علوم زراعی ایران. ۱۲ (۳) ۲۷۹-۲۹۰.

در پژوهش حاضر از پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ در محیط کشت جامد به منظور ایجاد سطوح مختلف تنش خشکی با هدف بررسی واکنش خصوصیات گیاهچه ۲۰ ژنوتیپ مختلف چندرقد استفاده شد. تعداد ۱۵ ژنوتیپ جدید (O-Type) همراه با ۵ ژنوتیپ شاهد شامل سه متحمل، یک نیمه متحمل و یک حساس و چهار سطح تنش خشکی با پتانسیل اسمزی صفر، -۰/۶ و -۰/۸ و -۰/۰-۰/۸-۰/۰ مگاپاسکال (به ترتیب از ترکیب صفر، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درصد وزن در حجم 6000 PEG) به صورت آزمایش فاکتوریل (۴×۲۰) بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط آزمایشگاه مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از اعمال تیمارهای تنش خشکی و حدود ۳۰ روز پس از رشد گیاهچه‌ها، صفات طول اندام هوایی و ریشه چه، وزن تر اندام هوایی و ریشه چه، وزن خشک اندام هوایی و ریشه چه، اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که اثر تنش خشکی، ژنوتیپ و اثر متقابل تنش در ژنوتیپ برای صفات وزن تر اندام هوایی و ریشه چه معنی دار ($P<0.01$) بود. اثر ژنوتیپ نیز برای طول اندام هوایی و ریشه چه معنی دار ($P<0.01$) بود. اثر متقابل ژنوتیپ در تنش برای طول اندام هوایی ($P<0.01$) و طول ریشه چه ($P<0.05$) معنی دار شد. نتایج نشان داد که بین ژنوتیپ‌های چندرقد از لحاظ تحمل به خشکی تنوع ژنتیکی بالایی وجود داشت، به طوریکه ژنوتیپ‌های G18 و G16 در بین شاهدها و ژنوتیپ‌های G10، G7 و G5 در بین لاین های نگهدارنده (O-Type) در سطوح مختلف تنش خشکی برای اکثر صفات مورد بررسی نسبت به میانگین ژنوتیپ‌های شاهد، برتری داشتند. به نظر می‌رسد که جهت بررسی تنوع ژنتیکی چندرقد تحت شرایط تنش خشکی با استفاده از محیط کشت جامد PEG، استفاده از صفت طول ریشه چه و وزن تر ریشه چه گیاهچه چندرقد و اعمال تنش خشکی تا ۰/۶-۰/۰ مگاپاسکال مناسب تر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰، تنش خشکی، چندرقد، ژنوتیپ، گیاهچه و لاین نگهدارنده.

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۷/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۱۰/۲۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت پردیس ابوریحان دانشگاه تهران

۲- دانشیار موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چندرقد کرج (مکاتبه کننده) (پست الکترونیک: noghabi@yahoo.com)

۳- دانشیار پردیس ابوریحان دانشگاه تهران

۴- مریب موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چندرقد

۵- دانشیار پردیس ابوریحان دانشگاه تهران

(Gul *et al.*, 1979; Sojka, 1985; Al-Baharany, 2002; Georgieva *et al.*, 2004; Macar *et al.*, 2009). به این که PEG توسط گیاه جذب نمی شود، غلظت آن در تمام مدت تنفس ثابت می ماند و بهمین جهت به عنوان بهترین تیمار برای تنفس های اسموتیکی در مقایسه با دیگر اسماولایت ها از جمله مانیتول، شکر، نمک شناخته شده است (Kramer and Boyer, 1995; Dami and Haghess, 1997). بهزاد گران چغندرقند به دنبال شاخص ها و خصوصیاتی هستند که بتوان از آنها در اصلاح ارقام متحمل به خشکی استفاده نمود. در این پژوهش، تنوع ژنتیکی ژنتوتیپ های چغندرقند از نظر تحمل به تنفس خشکی مورد ارزیابی قرار گرفته و ژنتوتیپ های امید بخش و متحمل به تنفس خشکی در شرایط آزمایشگاه با یکدیگر مورد مقایسه قرار گرفته است.

مواد و روش ها

در این پژوهش از پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ جامد به منظور ایجاد سطوح مختلف تنفس خشکی با هدف ارزیابی واکنش ۲۰ ژنتوتیپ چغندرقند استفاده شد. تعداد ۱۵ ژنتوتیپ (O-Type) همراه با ۵ ژنتوتیپ شاهد شامل سه متحمل، یک نیمه متحمل و یک حساس (جدول ۱) و چهار سطح تنفس خشکی با پتانسیل اسمزی صفر، -۰/۶، -۰/۷ و -۰/۸ (به ترتیب از ترکیب صفر، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درصد وزن بر حجم (W/V) (PEG 6000 به صورت آزمایش فاکتوریل (۴×۲۰) بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه کشت بافت موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند واقع در کرج مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای این منظور تعداد ۱۰۰ عدد بذر از هر ژنتوتیپ در شیشه های مختلف با محلول آب و مایع ظرفشویی شستشو داده شد و محلول دو در هزار قارچ کش تیرام به آنها اضافه شد و به مدت دو ساعت بر روی شیکر قرار گرفت. پس از شستشو سطحی بذور با آب مقطر استریل، با الکل ۷۰ درجه به

مقدمه

تنفس های محیطی مثل خشکی و شوری عامل محدود کننده ای در نمو گیاهان بوده و باعث کاهش عملکرد آنها می شوند. افزایش جمعیت جهان، روند کاهش منابع آب شیرین و شور شدن زمین های زراعی بررسی امکان ایجاد گیاهان متحمل در شرایط نامناسب محیطی را ضروری ساخته است (Cook, 1997). در بسیاری از گیاهان زراعی جوانه زنی بذر و رشد اولیه گیاهچه از حساس ترین مراحل نسبت به تنفس های محیطی محسوب می شود (Kaya *et al.*, 2006). خشکی یکی از مهمترین عوامل محدود کننده تولید چغندرقند است (Ober *et al.*, 2005). در چغندرقند کمبوم آب باعث تغییرات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه AL-Baharany, 2002; Mohammadian *et al.*, 2005; Valliyodan and Nguyen, 2006 شرایط خشکی در صورتی می توان یک رقم را پایدار و متحمل فرض کرد که عملکرد آن چندان کاهش نیابد. ارزیابی قدرت سازگاری ژنتوتیپ ها در محیط های مختلف تحت تنفس خشکی از روش هایی است که در اصلاح و معرفی ارقام جدید کاربرد دارد (Sojka, 1985; Zhogyjin *et al.*, 2001) گلیکول (PEG) یک پلی مر قابل انعطاف و غیر سمی بوده و می تواند باعث ایجاد فشار اسمزی منفی گردد. همچنین تمایلی به واکنش با مواد شیمیایی و بیولوژیکی ندارد و این خصوصیت PEG را به یکی از مفید ترین مولکول ها برای ایجاد فشار اسمزی منفی در آزمایش های بیوشیمیایی (بویژه ایجاد تنفس اسمزی) تبدیل کرده است (Blum, 2005; AL-Khayri and Al-Baharany, 2004; Makar, 2009). در بسیاری از گیاهان برای ایجاد تنفس خشکی از PEG استفاده شده است و در مقالات متعدد به دلیل عدم تحرک، غیر یونی و غیر سمی بودن و عدم قابلیت نفوذ از آن به عنوان یک اسماولایت موثر و مناسب نام برده شده است

کردن در محیط آب و آگار کشت شدند. تعداد ۱۰ عدد بذر جوانه زده در هر ظرف آزمایشگاهی مت Shankل از سه سطح تنش خشکی و یک سطح بدون تنش شامل صفر(شاهد)، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درصد PEG در سه تکرار در شرایط استریل و زیر دستگاه لامینر کشت شدند و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت چهار هفته نگهداری شدند.

پس از گذشت ۳۰ روز طول اندام هوایی (SL)، طول ریشه (RL)، وزن تر اندام هوایی (SFW)، وزن تر ریشه (RFW)، وزن خشک اندام هوایی (SDW) و وزن خشک ریشه (RDW)، اندازه گیری شدند. شرایط محیطی ظروف کشت در طی ۳۰ روز تنش در اتفاک رشد با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی بود. پس از اندازه گیری صفات، تجزیه واریانس داده ها با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد. برای صفات طول اندام هوایی و ریشه چه، وزن خشک اندام هوایی و ریشه چه که اثر Rep(PEG) معنی دار نشد، تجزیه واریانس به صورت آزمایش فاکتوریل ولی برای صفات وزن تر اندام هوایی و ریشه چه به دلیل معنی دار شدن اثر Rep(PEG) در نتیجه چهار غلظت PEG به عنوان چهار آزمایش مستقل تلقی شده و نتایج کل آنها به صورت تجزیه واریانس مرکب انجام شد. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن انجام گرفت. ضمناً برای صفاتی که اثر متقابل ژنوتیپ \times PEG معنی دار شد، برش دهی اثر متقابل در هر یک از سطوح PEG با استفاده از نرم افزار SAS صورت گرفت (Soltani, 2007) و مقایسه میانگین ژنوتیپ ها و رتبه بندی آنها در هر سطح PEG به طور مجزا انجام شد. برای مقایسه میانگین بین ژنوتیپ های جدید، ابتدا میانگین ژنوتیپ های شاهد G16، G17 و G20 محاسبه و سپس میانگین هر ژنوتیپ جدید نسبت به متوسط این شاهدها مقایسه شد. از ژنوتیپ متحمل (G18) به دلیل علوفه ای بودن در مقایسه میانگین ها استفاده نشد. به طور کلی مقایسه چغدرقند با سایر ژنوتیپ های علوفه ای به ویژه

مدت سی ثانیه استریل شدند. سپس بذور به زیر دستگاه لامینر انتقال داده شده و با محلول هیپوکلریت سدیم دو درصد در دو مرحله ضد عفونی شدند. بذرها به مدت ده دقیقه در محلول آب اکسیژن ۳ درصد قرار داده شده و پس از خارج کردن آنها بذرها هوادهی و خشک شدند. بذرها پس از ضد عفونی در محیط کشت حاوی آب و آگار کشت شدند. تعداد ۳ شیشه و در هر شیشه حدود ۳۰ عدد بذر کشت شد. پس از یک هفته جوانه های یکنواخت که دارای طول ریشه چه، ۵ میلی متر بودند انتخاب و به محیط واحد تنش منتقل شدند. برای تهیه محیط کشت تنش ابتدا PEG در غلظت های ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درصد در نصف حجم نهایی آب مقطر با استفاده از حرارت و هم زدن حل شده و سپس با عبور دادن از فیلتر ۰/۰ میکرون، محلول تهیه شده استریلیزه گردید، در نصف دیگر از حجم محلول، محیط غذایی MS تهیه شد. سپس به آرامی فیتاژل به آن اضافه شده توام با هم زدن سریع روی هیتر حرارت داده شد. پس از آن محیط به مدت بیست دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار ۱/۲ بار اتوکلاو استریل گردید. در مرحله آخر دو محلول آماده شده در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد با هم مخلوط و سریعاً در ظروف کوچک کشت استریل توزیع گردید (Roozbeh et al., 2007). ضمناً از هر یک از سطوح PEG یک نمونه تصادفی تهیه و با استفاده از دستگاه اسموتر (5520XR, Wescor, USA) مولاریته محیط کشت اندازه گیری شد. با استفاده از رابطه یک پتانسیل اسمزی غلظت های ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درصد PEG به ترتیب معادل -۰/۷، -۰/۶ و -۰/۸ مگاپاسکال محاسبه شد

$$(1) \quad \text{MIRT} = \pi R^2$$

در این رابطه π پتانسیل اسمزی بر حسب مگاپاسکال، R ثابت گازها، I ضربی اشتقاء که معادل یک در نظر گرفته شد، T دما بر حسب درجه کلوین و M مولاریته محلول می باشند. برای اعمال تیمارهای تنش، بذور ۲۰ ژنوتیپ پس از شتیشو و استریلیزه

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ های چغندر قند مورد ارزیابی

Table 1. Characteristics of 20 sugar beet genotypes in the experiment

| تیمارها Treatments | ژنوتیپ Genotype | تعداد ژرم Number of germ | سطح پلوئیدی Ploidy level | تحمل به خشکی Drought tolerance |
|-----------------------|--------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| G1 | O-Type 9621 | Mono | دیپلوبloid | Tolerant |
| G2 | O-Type 9669 | Mono | دیپلوبloid | Tolerant |
| G3 | O-Type 428 | Mono | دیپلوبloid | Tolerant |
| G4 | O-Type 9590 | Mono | دیپلوبloid | Tolerant |
| G5 | O-Type 1609 | Mono | دیپلوبloid | Tolerant |
| G6 | O-Type 7173 | Mono | دیپلوبloid | Tolerant |
| G7 | O-Type 8090 | Mono | دیپلوبloid | Tolerant |
| G8 | O-Type 7617 | Mono | دیپلوبloid | Tolerant |
| G9 | O-Type 463 | Mono | دیپلوبloid | Tolerant |
| G10 | O-Type 463 | Mono | دیپلوبloid | Tolerant |
| G11 | O-Type 463 | Mono | دیپلوبloid | Tolerant |
| G12 | O-Type 463 | Mono | دیپلوبloid | Tolerant |
| G13 | O-Type 419 | Mono | دیپلوبloid | Tolerant |
| G14 | O-Type 463 | Mono | دیپلوبloid | Tolerant |
| G15 | O-Type 474 | Mono | دیپلوبloid | Tolerant |
| G16 | 7233-P.12 | Poly | پلی ژرم | Tolerant (Check) |
| G17 | 436B | Poly | پلی ژرم | Semi-tolerant (Check) |
| G18 | 7221-II-79 | Poly | پلی ژرم | Tolerant (Check) |
| G19 | 191 | Poly | پلی ژرم | Susceptible (Check) |
| G20 | IR7 | Mono | دیپلوبloid | Tolerant (Check) |

تش تش برای صفت طول اندام هوایی ($P<0.01$) و طول ریشه چه ($P<0.05$) معنی دار بود (جدول ۴). نتایج تجزیه واریانس برش داده شده اثر متقابل مشخص کرد که اثر عدم تنفس خشکی و تنفس $-0/6$ - مگاپاسکال در سطح یک درصد معنی دار بود. در سطح تنفس $-0/8$ - مگاپاسکال وزن خشک ریشه چه ($P<0.01$) و وزن خشک اندام هوایی ($P<0.05$) معنی دار شدند (جدول ۵). معنی دار شدن اثر متقابل نشان می دهد که عکس العمل ژنوتیپ ها نسبت به تغییرات PEG یکسان نبوده است. ماکار و همکاران (Macar *et al.*, 2009) نیز طی آزمایشی روی واریته های نخود، تفاوت معنی داری را در سطح یک درصد بین ژنوتیپ ها، سطوح PEG و اثر متقابل PEG در ژنوتیپ از نظر طول ریشه و طول اپی کوتیل گزارش کردند. در آزمون اول تفاوت معنی داری بین ژنوتیپ ها و سطوح مختلف تنفس خشکی (PEG) از نظر صفات طول اندام هوایی و ریشه چه، وزن تر اندام هوایی و ریشه چه وجود داشت اما اثر

از لحاظ عملکرد شکر ممکن است اشتباه آمیز باشد (Baradaran-Firouzabadi, 2002).

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس مرکب برای صفات وزن تر اندام هوایی و ریشه چه نشان داد که اثر تنفس خشکی، ژنوتیپ و اثر متقابل تنفس در ژنوتیپ ($P<0.01$) معنی دار بود (جدول ۲). نتایج تجزیه واریانس برش داده شده اثر متقابل نشان داد که در سطح عدم تنفس، وزن تر اندام هوایی و ریشه چه در سطح یک درصد معنی دار بودند و در تنفس $-0/6$ - مگاپاسکال وزن تر ریشه چه ($P<0.01$) معنی دار بود (جدول ۳). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنفس خشکی برای صفات طول اندام هوایی و ریشه چه، وزن خشک ریشه چه در سطح یک درصد و برای وزن خشک اندام هوایی در سطح پنج درصد معنی دار بود. اثر ژنوتیپ نیز برای طول اندام هوایی و ریشه چه ($P<0.01$) معنی دار بود. اثر متقابل ژنوتیپ در

داد که ژنوتیپ G4 بلندترین طول ریشه چه را داشت و نسبت به ژنوتیپ های شاهد (G16, G17, G20)، ۲۵ درصد افزایش نشان داد (شکل های ۲ و ۹). در سطح تنفس ۰/۶-مگاپاسکال به ترتیب O-Type O های G5، G2، G1 و G7 بلندترین طول ریشه چه را داشتند و در بین شاهد ها ژنوتیپ ۱۸ G1 برتر بود. ژنوتیپ G5 نسبت به متوسط شاهد ها (G16, G17, G20) ۳۵ درصد افزایش داشت (شکل های ۱۰ و ۲). مقایسه میانگین طول ریشه همه ژنوتیپ ها در سطوح مختلف تنش نشان داد که بالاترین میانگین طول ریشه چه مربوط به سطح عدم تنش بود و با افزایش شدت تنش از طول ریشه چه کاسته شد (جدول ۶). نتایج آزمایشی روی گیاه نخود نشان داد که با افزایش شدت تنش از سطح شاهد به سطح تنش ۲۵ درصد از میزان طول ریشه چه کاسته شد (Macar *et al.*, 2009). مقایسه میانگین ژنوتیپ ها در سطح بدون تنش نشان داد که ژنوتیپ های G5 و G10 بالاترین و G19 نیز کمترین وزن تر اندام هوایی را داشتند (شکل های ۳ و ۱۱). مقایسه میانگین وزن تر اندام هوایی گیاهچه همه ژنوتیپ ها در سطوح مختلف نشان داد که بالاترین میانگین وزن تر اندام هوایی در سطح عدم تنش تولید شد ولی با افزایش شدت تنش خشکی، از وزن تر اندام هوایی گیاهچه ها کاسته شد (جدول ۶).

متقابل ژنوتیپ در PEG غیر معنی دار بود (Mousavi *et al.*, 2005).

مقایسه میانگین ژنوتیپ ها در سطح بدون تنش نشان داد که ژنوتیپ G18 بلندترین طول اندام هوایی را داشت و پس از آن ژنوتیپ G10 فرار گرفت، همچنین G19 دارای کمترین طول اندام هوایی بود (شکل ۱) و G10 در مقایسه با میانگین ژنوتیپ های شاهد، G20، G17، G16 ۳۲ درصد افزایش طول اندام هوایی را داشت (شکل ۷). در سطح تنفس ۰/۶-مگاپاسکال ژنوتیپ G10 بالاترین میانگین طول اندام هوایی را داشت و در مقایسه با ژنوتیپ های شاهد (G16، G17، G20) ۱۲ درصد افزایش نشان داد (شکل های ۱ و ۸). مقایسه میانگین طول اندام هوایی همه ژنوتیپ ها در سطوح مختلف تنش نشان داد که در سطح ۰/۶-مگاپاسکال نسبت به سطح شاهد، طول اندام هوایی افزایش یافت ولی در سطوح ۰/۷-۰/۸ و مگاپاسکال طول اندام هوایی نسبت به سطح عدم تنش کاهش یافت (جدول ۶). در آزمایشی PEG روی تمشک با سه سطح تنش ایجاد شده توسط PEG (صفر، ۲۰ و ۲۵ درصد) در سطوح ۲۰ و ۲۵ درصد کاهش طول اندام هوایی نسبت به سطح شاهد گزارش شد (Georgiva *et al.*, 2004).

مقایسه میانگین ژنوتیپ ها در سطح بدون تنش نشان

جدول ۲- تجزیه واریانس مرکب برای تنش خشکی در چهار غلظت پلی اتیلن گلیکول در محیط کشت جامد برای وزن تر اندام هوایی (SFW) و وزن تر ریشه چه (RFW) ۲۰ ژنوتیپ چوندرقد

Table 2. Combined analysis of variance for seedlings, shoot fresh weight (SFW), root fresh weight (RFW) of

20 sugar beet genotypes under four water stress levels induced by PEG

| S.O.V | متغیر تغییر | درجه آزادی d.f | میانگین مربعات (MS) | |
|----------------|------------------|----------------|----------------------|--------------------------|
| | | | وزن تر ریشه چه (RFW) | وزن تر اندام هوایی (SFW) |
| (PEG) | پلی اتیلن گلیکول | 3 | 2540.9** | 147.4** |
| REP (PEG) | خطا | 4 | 139.4 | 34.7 |
| Genotype | ژنوتیپ | 19 | 83.5** | 12.5** |
| PEG × Genotype | | 57 | 70.0** | 8.8** |
| Error | خطا | 145 | 30.2 | 3.3 |
| C.V (%) | ضریب تغییرات | | 26 | 29.9 |

ns: Non-significant

غیر معنی دار

* و **: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد

* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively

جدول ۳- برش دهی اثر متقابل ژنوتیپ های چغندرقند در هر سطح پلی اتیلن گلیکول برای وزن تر اندام هوایی (RFW) و وزن تر ریشه چه (SFW)

Table 3. The sliced analysis of variance for seedlings shoot fresh weight (SFW) and root fresh weight (RFW)

of 20 sugar beet genotypes in each level of water stress induced by PEG

| PEG | پلی اتیلن گلیکول | درجه آزادی d.f | (MS) | | وزن تر ریشه چه (RFW) | میانگین مربعات |
|----------|------------------|-------------------|---------|-----------------------------|-------------------------|----------------|
| | | | عدم تنش | وزن تر اندام هوایی (SFW) | | |
| Control | عدم تنش | 19 | 213.3** | | 27.7** | |
| -0.6 MPa | -0/۶- مگاپاسکال | 19 | 44.6ns | | 9.4** | |
| -0.7 MPa | -0/۷- مگاپاسکال | 19 | 41.0ns | | 2.1ns | |
| -0.8 MPa | -0/۸- مگاپاسکال | 19 | 6.2ns | | 1.0ns | |

ns: Non-significant

*: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد

* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively

جدول ۴- تجزیه واریانس تاثیر تنش خشکی با پلی اتیلن گلیکول برای طول اندام هوایی (RL)، طول ریشه چه (SL)، وزن خشک اندام هوایی (SDW) و وزن خشک ریشه چه (RDW) ۲۰ ژنوتیپ چغندرقند

Table 4. Analysis of variance for seedlings, shoot length (SL), root length (RL), shoot dry weight (SDW), root dry weight (RDW), of 20 sugar beet genotypes subjected to water stress induced by PEG

| S.O.V | منابع تغیر | درجه آزادی d.f | (MS) | | میانگین مربعات | |
|----------------|------------------|-------------------|-------------------------|---------------------|----------------------|------------------------------|
| | | | طول اندام هوایی (SL) | طول ریشه چه (RL) | طول ریشه چه (SDW) | وزن خشک اندام هوایی (RDW) |
| PEG | پلی اتیلن گلیکول | 3 | 11137.2** | 5269.2** | 20.9* | 16.0** |
| Genotype | ژنوتیپ | 4 | 53.2** | 38.3** | 3.0ns | 3.4ns |
| PEG × Genotype | | 19 | 42.0** | 23.1* | 4.2ns | 3.2ns |
| Error | خطا | 57 | 23.5 | 14.4 | 5.0 | 4.0 |
| C.V (%) | ضریب تغیرات | 145 | 20.7 | 22.3 | 22.3 | 38.4 |

ns: Non-significant

غير معنی دار

* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively

*: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد

جدول ۵- برش دهی اثر متقابل ژنوتیپ های چغندرقند در هر سطح پلی اتیلن گلیکول برای طول اندام هوایی (SL)، طول ریشه چه (RL)، وزن خشک اندام هوایی (SDW) و وزن خشک ریشه چه (RDW)

Table 5. The sliced analysis of variance for seedlings shoot length (SL), root length (RL), shoot fresh weight (SFW) and root fresh weight (RFW) of 20 sugar beet genotypes in each level of water stress induced by PEG

| S.O.V | منابع تغیر | درجه آزادی d.f | (MS) | | میانگین مربعات | |
|----------|-----------------|-------------------|-------------------------|---------------------|----------------------|------------------------------|
| | | | طول اندام هوایی (SL) | طول ریشه چه (RL) | طول ریشه چه (SDW) | وزن خشک اندام هوایی (RDW) |
| Control | عدم تنش | 19 | 51.2** | 31.3** | 0.3ns | 0.2ns |
| -0.6 MPa | -0/۶- مگاپاسکال | 19 | 91.5** | 58.4** | 0.5ns | 0.4ns |
| -0.7 MPa | -0/۷- مگاپاسکال | 19 | 27.8ns | 10.0ns | 4.2ns | 4.3ns |
| -0.8 MPa | -0/۸- مگاپاسکال | 19 | 15.8ns | 10.0ns | 10.6ns | 8.5** |

ns: Non-significant

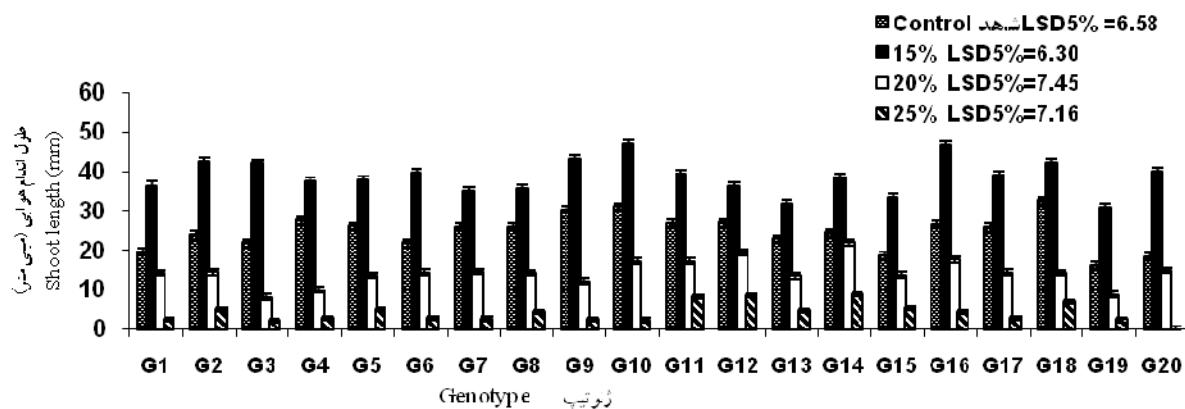
غير معنی دار

* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively

*: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد

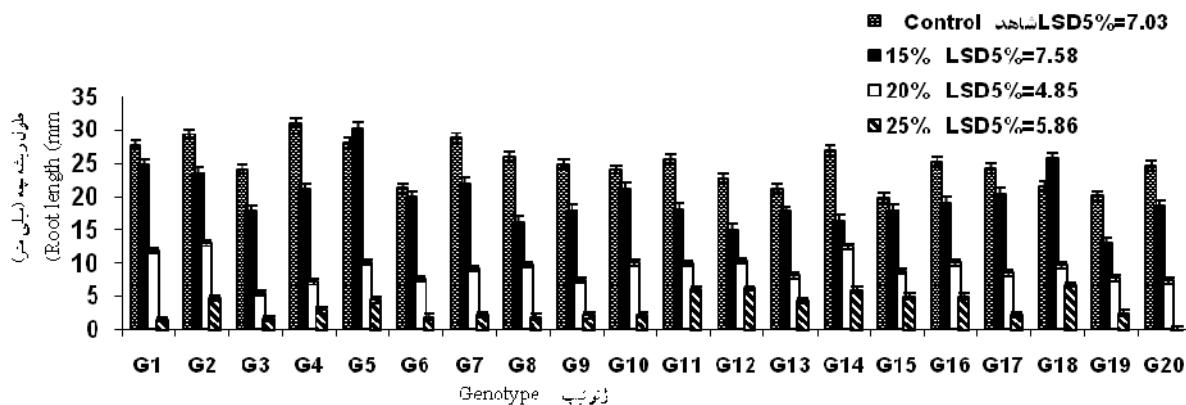
داشتند. در سطح -0/۶- مگاپاسکال، ژنوتیپ شاهد G18 و ژنوتیپ های G7، G5، G3 و G2 بیشترین میانگین

مقایسه میانگین ژنوتیپ ها در سطح بدون تنش نشان داد که ژنوتیپ های G4 و G7 بیشترین وزن تر ریشه را



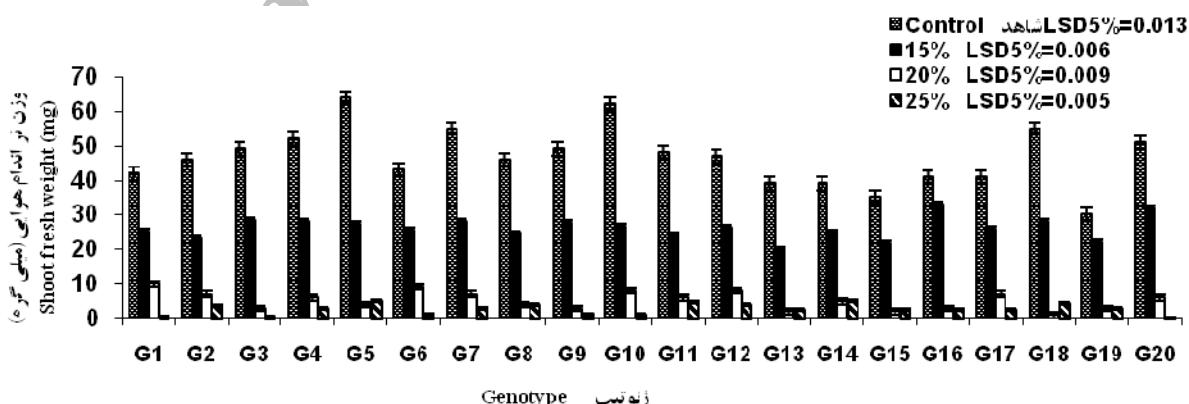
شکل ۱- مقایسه میانگین طول اندام هوایی گیاهچه ۲۰ ژنوتیپ چغدرقد به تفکیک در سطوح مختلف تنش خشکی با استفاده از پلی اتیلن گلیکول. میله های روی میانگین ها نشان دهنده دامنه خطای معیار میانگین (SE) است

Fig. 1. Mean comparison of shoot length of 20 sugar beet genotypes under water stress levels induced by PEG. Error bars represent the range of SE for each mean



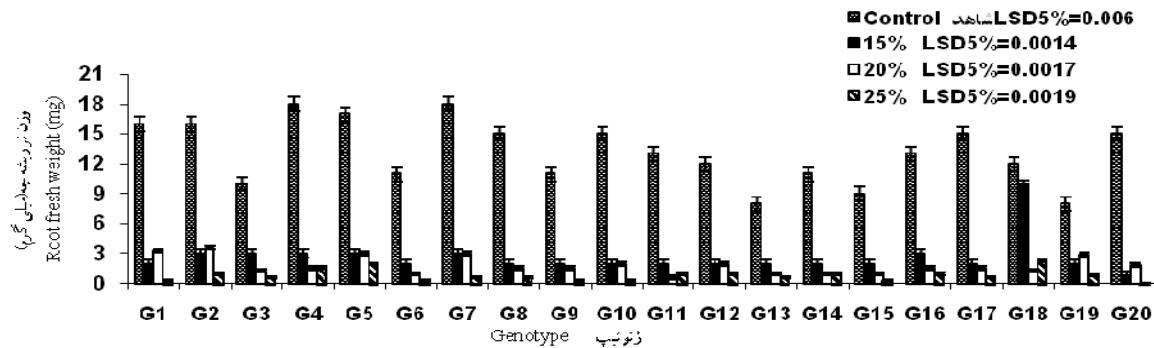
شکل ۲- مقایسه میانگین طول ریشه چه ۲۰ ژنوتیپ چغدرقد به تفکیک در سطوح مختلف تنش خشکی با استفاده از پلی اتیلن گلیکول. میله های روی میانگین ها نشان دهنده دامنه خطای معیار میانگین (SE) است

Fig. 2. Mean comparison of seedling root length of 20 sugar beet genotypes under water stress levels induced by PEG. Error bars represent the range of SE for each mean



شکل ۳- مقایسه میانگین وزن ترا اندام هوایی ۲۰ ژنوتیپ چغدرقد به تفکیک در سطوح مختلف تنش خشکی با استفاده از پلی اتیلن گلیکول. میله های روی میانگین ها نشان دهنده دامنه خطای معیار میانگین (SE) است

Fig. 3. Mean comparison of shoot fresh weight of 20 sugar beet genotypes under water stress levels induced by PEG. Error bars represent the range of SE for each mean



شکل ۴- مقایسه میانگین وزن تر ریشه ۲۰ ژنوتیپ چغدرقدن به سطوح مختلف تنش خشکی با استفاده از پلی اتیلن گلیکول. میله های روی میانگین ها نشان دهنده دامنه خطای معیار میانگین (SE) است

Fig. 4. Mean comparison of seedling root fresh weight 20 sugar beet genotypes under water stress levels induced by PEG. Error bars represent the range of SE for each mean

ژنوتیپ های G18 و G16 در بین شاهد ها و ژنوتیپ های G10، G4، G7، G5 در بین O-Type ها تحت تاثیر سطوح مختلف تنش خشکی برای اکثر صفات مورد بررسی، نسبت به بقیه ژنوتیپ ها برتری داشتند. نتایج تحقیقات گذشته نیز نشان داده است که بین ژنوتیپ های چغدرقدن از لحاظ مقاومت به خشکی تنوع ژنتیکی وجود دارد (Sadaghian *et al.*, 2000; Mohammadian *et al.*, 2005). نتایج مربوط به وضعیت تفرق و ت نوع بین ژنوتیپ های مورد بررسی برای صفات مختلف گیاهچه چغدرقدن پس از ۳۰ روز رشد تحت تأثیر سطوح تنش خشکی مشخص نمود که در سطح تنش خشکی ۰/۶-۰/۸ مگاپاسکال شرایط برای بروز تفاوت های بین ژنوتیپ ها بهتر مهیا بود. بنابراین جهت بررسی

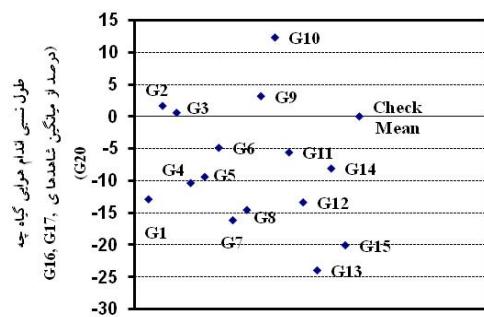
رانشان دادند و ژنوتیپ G20 پس این ترین وزن تر ریشه چه را داشت (شکل ۴). در این سطح تنش خشکی، ژنوتیپ G7 نسبت به متوسط ژنوتیپ های شاهد (G16، G20، G17)، ۲۹ درصد افزایش نشان داد (شکل ۱۲). مقایسه بین میانگین همه ژنوتیپ ها در سطوح مختلف تنش نشان داد که بالاترین میانگین وزن تر ریشه مربوط به سطح عدم تنش خشکی بود و با افزایش شدت تنش از وزن تر آن کاسته شد (جدول ۶). نتایج این پژوهش نشان داد که بین ژنوتیپ های چغدرقدن، مخصوصاً لاین های نگهدارنده جدیدی (O-Type ها) که در موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغدرقدن تهیه شده است، از لحاظ تحمل به خشکی تنوع ژنتیکی بالایی وجود دارد. به طوریکه

جدول ۶- مقایسه میانگین چهار سطح پلی اتیلن گلیکول برای صفات ، طول اندام هوایی (SL)، طول ریشه (RL)، وزن تر اندام هوایی (SFW)، وزن تر ریشه (RFW)، وزن خشک اندام هوایی (SDW) و وزن خشک ریشه (RDW) ۲۰ ژنوتیپ چغدرقدن

Table 6. Mean comparison of four water stress induced by Poly Ethylene Glycol for shoot length (SL), root length (RL), shoot fresh weight (SFW), root fresh weight (RFW), shoot dry weight (SDW), root dry weight (RDW) of sugar beet (mean of 20 genotype)

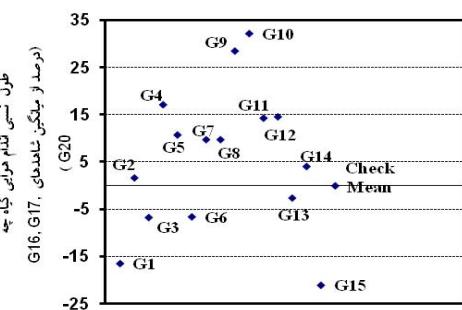
| PEG | پلی اتیلن گلیکول | طول اندام هوایی SL (mm) | طول ریشه RL (mm) | وزن تر اندام هوایی SFW (mg) | وزن تر ریشه RFW (mg) | وزن خشک اندام SDW (mg) | وزن خشک ریشه RDW (mg) |
|----------|------------------|-------------------------|------------------|-----------------------------|----------------------|------------------------|-----------------------|
| Control | عدم تنش | 24.9b | 25.1a | 46.0a | 13.0a | 3.7ab | 2.3b |
| -0.6 MPa | ۰/۶ مگاپاسکال | 38.9a | 20.1b | 26.0b | 3.0b | 4.7a | 2.7b |
| -0.7 MPa | ۰/۷ مگاپاسکال | 14.9c | 9.4c | 6.0c | 1.8b | 4.3ab | 3.7a |
| -0.8 MPa | ۰/۸ مگاپاسکال | 4.4d | 3.7d | 2.8c | 0.8b | 3.4b | 3.0ab |

در هر ستون میانگین هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی داری ندارند. Means in each column followed by similar letter(s), are not significantly different at 5% probability level, using Duncan's Multiple Range Test



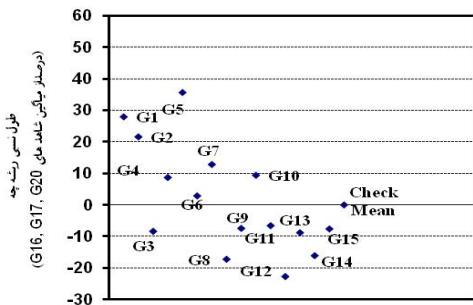
شکل ۸- مقایسه تغییرات طول اندام هوایی گیاهچه ۲۰
ژنوتیپ چغندر قند تحت تنش تنش -۰/۶ مگاپاسکال

Fig. 8. Changes of seedling shoot length in 20 sugar beet genotypes under water stress induced by -0.6 MPa



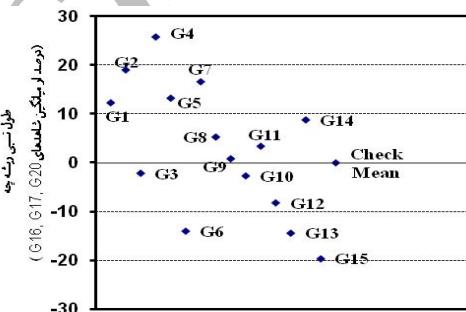
شکل ۷- مقایسه تغییرات طول اندام هوایی گیاهچه ۲۰
ژنوتیپ چغندر قند تحت شرایط شاهد

Fig. 7. Changes of seedling shoot length in 20 sugar beet genotypes at normal condition



شکل ۱۰- مقایسه تغییرات طول ریشه چه ۲۰ ژنوتیپ
چغندر قند تحت تنش تنش -۰/۶ مگاپاسکال

Fig. 10. Changes of seedling root length in 20 sugar beet genotypes under water stress induced by -0.6 MPa



شکل ۹- مقایسه تغییرات طول ریشه چه ۲۰ ژنوتیپ
چغندر قند تحت شرایط شاهد

Fig. 9. Changes of seedling root length in 20 sugar beet genotypes at normal condition

شرایط تنش خشکی با مکش -۰/۶ مگاپاسکال را مورد
توجه قرار داد.

تنوع ژنتیکی چغندر قند تحت شرایط تنش خشکی با
استفاده از محیط کشت جامد PEG، احتمالاً می‌توان
صفت طول یا وزن تر ریشه چه گیاهچه چغندر قند در

References

- Al-Khayri, J. M. and A. M. Al-Baharany. 2004. Growth, water content, and prolin accumulation in drought stressed callus of date palm. *Biologia Plantarum* 48(1), 105-108.
- Al-Baharany, A. M. 2002. Callus growth and proline accumulation in response to Poly Ethylene Glycol-induced osmotic stress in rice, *Oryza sativa*. *Pak. J. Biol. Sci.* 5(12): 1294-1296.
- Baradaran-Firouzabadi, M. 2002. Study of physiologic and morphologic characteristics of sugar beet species subjected to drought stress, MSc. Thesis. Tabriz University. (In Persian).

منابع مورد استفاده

- Blum A.** 2005. Use of PEG to induce and control plant water deficit in experimental hydroponics culture. www.plantstress.com/method/PEC.htm.
- Cook, R. E.** 1997. Pattern of juvenile morbidity and recruitment in plants. In: O. Tsolbering, S. Jain, G. B. Johanson and P. H. Raven (Eds). Topics in plant population biology, 207-301. Columbia Univ. Press Los Angles.
- Dami, I. and G. H. Hages.** 1997. Effect of PEG induced water stress on in vitro hardening of "Valiant" gape. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 47: 97-101.
- Georgieva, M. D., D. Djilianov, T. Konstantinova and D. Parvanova.** 2004. Screening of Bulgarian raspberry cultivars and elites for osmotic tolerance in vitro. Biotech. Equip. 18(2): 95-98.
- Gul, A. and R. E. Allen.** 1979. Stand establishment of wheat line under different levels of water potential. Crop Sci. 16: 611-615.
- Kaya, M. D., G. Okcu, M. Atak, Y. Cikili and O. Kolsarici.** 2006. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Eur. J. Agron. 24: 291- 295.
- Kramer, P. J. and J. S. Boyer.** 1995. Water relation of plant and soil. Academic press. San Diego, USA. PP 1-495.
- Lemcoff, J. H., F. Ling and P. M. Neumann.** 2006. Short episodes of water stress increase barley root resistance to radial shrinkage in a dehydrating environment. Phisiologia Plantarum 127: 603-611.
- Macar, T. K., T. Ozlem and Y. Ekmekci.** 2009. Effect of deficit induced by PEG and NaCl on chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars and lines at early seedling stages. Gazi Univ. J. Sci. 2009. 22(1): 5-14.
- Mohammadian, R., M. Moghadam, H. Rahimian and S. Y. Sadeghian.** 2005. Effect of early season drought stress on growth characteristics of sugar beet genotypes. Turk. J. Agric. Forest. 29: 357-368.
- Mousavi, S. S., B. Y. Samadi, A. Zali, M. Ghannadha, M. Omidi and M. Naghavi.** 2005. Investigation the effect of abscisic acid on drought stress induction in wheat seedling. Czech J. Genet. Plant Breed. 41: 273-280.
- Ober, E., M. L. Bloa, C. J. A. Clark, A. Royal, K. W. Jaggard and J. D. Pidgeon.** 2005. Evaluation of physiological traits as indirect selection criteria for drought tolerance in sugar beet. Field Crops Res. 91: 231-249.
- Roozbeh, F.** 2007. Study of drought tolerant of sugar beet genotypes under tissue culture. Final report of Sugar Beet Seed Institute. (In Persian).
- Sadeghian, S. Y., H. Fazli, R. Mohammadain, D. F. Taleghani and M. Mesbah.** 2000. Genetic variation for drought stress in sugar beet. J. Sugar Beet Res. 37: 55-78.
- Sojka, L. E.** 1985. Field evaluation of drought response in small grain cereals. In: Progress in plant breeding. 165-190. Russuell, G. E. (Ed). London.
- Soltani, A., M. Gholipoor and E. Zeinali.** 2006. Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as

affected by drought and salinity, Environ. Exp. Bot. 55: 195-200.

Soltani, A. 2007. Application of SAS in statistical analysis. Jehad-e-Daneshgahi Mashhad Press (2th Ed.) pp 182.
(In Persian).

Valliyodan, B. and H. T. Nguyen, 2006. Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plant. Curr. Opinion in plant Biol. 9: 1-7.

Zhongjin, L. U., K. Tamar, P. M. Neumann and E. Nevo. 1999. Physiological characterization of drought tolerance in wild barley (*Hordeum spontaneum*) from the Judean desert; Barley Genet. Newslett. Vol. (29) pp: 36-40.

Effect of water stress induced by solid medium of poly ethylene glycol (PEG 6000) on the seedling characteristics of sugar beet genotypes

Radaei Alamoli, Z.¹, M. Abdollahian-Noghabi², Gh. Akbari³, F. Roozbeh⁴ and S. A. Sadat Noori⁵

ABSTRACT

Radaei Alamoli, Z., M. Abdollahian-Noghabi, Gh. Akbari, F. Roozbeh and S. A. Sadat Noori. 2010. Effect of water stress induced by solid medium of poly ethylene (PEG 6000) on the seedling characteristics of sugar beet genotypes. **Iranian Journal of Crop Sciences.** 12 (3) 279-290. (In Persian)

Solid medium of poly ethylene glycol (PEG 6000) was used to induce various levels of water stress for evaluating the reaction of seedlings of 20 different genotypes of sugar beet under water stress conditions. Fifteen restorer lines (O-Types) are tolerant of drought and five genotypes (control) with three of them tolerant, one moderately-tolerant and one sensitive to drought as well as four drought stress levels of osmosis potentials: 0, -0.6, -0.7 and -0.8 MPa (from combination of 0, 15, 20 and 25% PEG, respectively). A factorial arrangements (4×20) in CRD with three replications was employed in the tissue culture environment. In each experimental units shoot and root length, shoot fresh weight and dry weight of shoots and roots in all seedlings were determined following growth of sugar beet genotypes in the solid media of PEG for 30 days. The ANOVA showed that the main effects of water stress, genotype and their interactions were significant ($P < 0.01$) on shoot and root fresh weights. Effect of genotype was significant ($P < 0.01$) for shoot and root lengths. There was significant interaction for shoot length ($P < 0.01$) and root length ($P < 0.05$). Results confirmed that there was high genetic variation among sugar beet genotypes under water stress conditions. Genotypes G16 and G18 among checks and genotypes G10, G4, G7 and G5 among O-types showed the least reduction in all traits as compared with to the other genotypes. It could be concluded that under water stress condition (up to 0.6 MPa in PEG medium), root length and root fresh weight seems to be suitable traits in sugar beet seedlings genetic diversity assessment.

Key words: Genotype, PEG 6000, Restorer line, Sugar beet and Water stress.

Received: October, 2009 Accepted: January, 2010

1- M.Sc. student, Aboureyhan Campus, The University of Tehran, Iran

2- Associate Prof., Sugar Beet Seed Research Institute, Karaj, Iran. (Corresponding author) (E-mail: noghabi@yahoo.com)

3- Associate Prof., Aboureyhan Campus, The University of Tehran, Iran

4- Faculty member, Sugar Beet Seed Research Institute, Karaj, Iran

5- Associate Prof., Aboureyhan Campus, The University of Tehran, Iran