

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

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

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

چکیده

ردائی الاملی، ز.، م. عبداللهیان نوقابی، غ.ع. 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 چغندرقد. 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 چغندرقد 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، -۰/۲ و -۰/۸ - مگاپاسکال (به ترتیب از ترکیب صفر، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درصد وزن در حجم PEG 6000) 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 معنی‌دار ($P < 0.01$) بود. اثر ژنوتیپ نیز برای طول اندام هوایی و ریشه چه معنی‌دار ($P < 0.01$) بود. اثر متقابل ژنوتیپ در تنش برای طول اندام هوایی ($P < 0.01$) و طول ریشه چه ($P < 0.05$) معنی‌دار شد. نتایج نشان داد که بین ژنوتیپ‌های چغندرقد از لحاظ تحمل به خشکی تنوع ژنتیکی بالایی وجود داشت، به طوریکه ژنوتیپ‌های G16 و G18 در بین شاهد‌ها و ژنوتیپ‌های G5 و G7، G4، G10 در بین لاین‌های 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 چغندرقد تحت شرایط تنش خشکی با استفاده از محیط کشت جامد PEG، استفاده از صفت طول ریشه چه و وزن تر ریشه چه گیاهچه چغندرقد و اعمال تنش خشکی تا -۰/۶ مگاپاسکال مناسب‌تر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰، تنش خشکی، چغندرقد، 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 چغندرقد کرج (مکاتبه کننده) (پست الکترونیک: noghabi@yahoo.com)

۳- دانشیار پردیس ابوریحان دانشگاه تهران

۴- مربی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقد

۵- دانشیار پردیس ابوریحان دانشگاه تهران

مقدمه

تنش 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 بذور و رشد اولیه گیاهچه از حساس ترین مراحل نسبت به تنش های محیطی محسوب می شود (Kaya et al., 2006). خشکی یکی از مهمترین عوامل محدود کننده تولید چغندر قند است (Ober et al., 2005). در چغندر قند کمبود آب باعث تغییرات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه می گردد (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 ژنوتیپ ها در محیط های مختلف تحت تنش خشکی از روش هایی است که در اصلاح و معرفی ارقام جدید کاربرد دارد (Sojka, 1985; Zhogyjin et al., 2001). پلی اتیلن 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 (بوئزه ایجاد تنش اسمزی) تبدیل کرده است (Blum, 2005; AL-Khayri and Al-Baharany, 2004; Makar, 2009). در بسیاری از گیاهان برای ایجاد تنش 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 اسمولایت موثر و مناسب نام برده شده است

(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 تنش ثابت می ماند و بهمین جهت به عنوان بهترین تیمار برای تنش های اسموتیکی در مقایسه با دیگر اسمولایت ها از جمله مانتول، شکر، نمک شناخته شده است (Kramer and Boyer, 1995; Dami and Haghes, 1997). بهنژاد گران چغندر قند به دنبال شاخص ها و خصوصیاتی هستند که بتوان از آنها در اصلاح ارقام متحمل به خشکی استفاده نمود. در این پژوهش، تنوع ژنتیکی ژنوتیپ های چغندر قند از نظر تحمل به تنش خشکی مورد ارزیابی قرار گرفته و ژنوتیپ های امید بخش و متحمل به تنش 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 تنش خشکی با هدف ارزیابی واکنش ۲۰ ژنوتیپ چغندر قند استفاده شد. تعداد ۱۵ ژنوتیپ (O-Type) همراه با ۵ ژنوتیپ شاهد شامل سه متحمل، یک نیمه متحمل و یک حساس (جدول ۱) و چهار سطح تنش 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 PEG 6000 (W/V)) به صورت آزمایش فاکتوریل (۴×۲۰) بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه کشت بافت موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذور چغندر قند واقع در کرج مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای این منظور تعداد ۱۰۰ عدد بذور از هر ژنوتیپ 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 شستشوی سطحی بذور با آب مقطر استریل، با الکل ۷۰ درجه به

کردن در محیط آب و آگار کشت شدند. تعداد ۱۰ عدد بذر جوانه زده در هر ظرف آزمایشگاهی متشکل 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 اتاقک 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 دامنه‌ای دانکن انجام گرفت. ضمناً برای صفاتی که اثر متقابل ژنوتیپ×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 ژنوتیپ‌های جدید، ابتدا میانگین ژنوتیپ های شاهد G16، G17 و G20 محاسبه و سپس میانگین هر ژنوتیپ جدید نسبت به متوسط این شاهد ها مقایسه شد. از ژنوتیپ متحمل (G18) به دلیل علوفه‌ای بودن در مقایسه میانگین ها استفاده نشد. به طور کلی مقایسه چغندر قند با سایر تیپ های علوفه‌ای 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 اکسیژنه 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 واجد 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 ۰/۲ 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 هیتز 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 اسمومتر (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 ۰/۶، ۰/۷ و ۰/۸ - مگاپاسکال محاسبه شد

$$\Psi_{\pi} = \text{MIRT} \quad (1)$$

در این رابطه Ψ_{π} پتانسیل اسمزی بر حسب مگاپاسکال، R ثابت گازها، I ضریب اشتقاق 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 شستشو 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	منوژرم Mono	دیپلوئید 2n	متحمل Tolerant
G2	O-Type 9669	منوژرم Mono	دیپلوئید 2n	متحمل Tolerant
G3	O-Type 428	منوژرم Mono	دیپلوئید 2n	متحمل Tolerant
G4	O-Type 9590	منوژرم Mono	دیپلوئید 2n	متحمل Tolerant
G5	O-Type 1609	منوژرم Mono	دیپلوئید 2n	متحمل Tolerant
G6	O-Type 7173	منوژرم Mono	دیپلوئید 2n	متحمل Tolerant
G7	O-Type 8090	منوژرم Mono	دیپلوئید 2n	متحمل Tolerant
G8	O-Type 7617	منوژرم Mono	دیپلوئید 2n	متحمل Tolerant
G9	O-Type 463	منوژرم Mono	دیپلوئید 2n	متحمل Tolerant
G10	O-Type 463	منوژرم Mono	دیپلوئید 2n	متحمل Tolerant
G11	O-Type 463	منوژرم Mono	دیپلوئید 2n	متحمل Tolerant
G12	O-Type 463	منوژرم Mono	دیپلوئید 2n	متحمل Tolerant
G13	O-Type 419	منوژرم Mono	دیپلوئید 2n	متحمل Tolerant
G14	O-Type 463	منوژرم Mono	دیپلوئید 2n	متحمل Tolerant
G15	O-Type 474	منوژرم Mono	دیپلوئید 2n	متحمل Tolerant
G16	7233-P.12	پلی ژرم Poly	دیپلوئید 2n	متحمل (شاهد) Tolerant (Check)
G17	436B	پلی ژرم Poly	دیپلوئید 2n	نیمه متحمل (شاهد) Semi-tolerant (Check)
G18	7221-Il-79	پلی ژرم Poly	دیپلوئید 2n	متحمل (شاهد) Tolerant (Check)
G19	191	پلی ژرم Poly	دیپلوئید 2n	حساس (شاهد) Susceptible (Check)
G20	IR7	منوژرم Mono	دیپلوئید 2n	متحمل (شاهد خارجی) Tolerant (Check)

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 تنش خشکی، ژنوتیپ و اثر متقابل تنش در ژنوتیپ ($P < 0.01$) معنی دار بود (جدول ۲). نتایج تجزیه واریانس برش داده شده اثر متقابل نشان داد که در سطح عدم تنش، وزن تر اندام هوایی و ریشه چه در سطح یک درصد معنی دار بودند و در تنش ۰/۶- مگاپاسکال وزن تر ریشه چه ($P < 0.01$) معنی دار بود (جدول ۳). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش 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

تنش 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 تنش خشکی و تنش ۰/۶- مگاپاسکال در سطح یک درصد معنی دار بود. در سطح تنش ۰/۸- 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 تنش خشکی (PEG) از نظر صفات طول اندام هوایی و ریشه چه، وزن تر اندام هوایی و ریشه چه وجود داشت اما اثر

مقابل 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 قرار گرفت، همچنین G19 دارای کمترین طول اندام هوایی بود (شکل ۱) و G10 در مقایسه با میانگین ژنوتیپ های شاهد، G20، G16، G17، ۳۲ درصد افزایش طول اندام هوایی را داشت (شکل ۷). در سطح تنش 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- و ۰/۸- مگاپاسکال طول اندام هوایی نسبت به سطح عدم تنش کاهش یافت (جدول ۶). در آزمایشی 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

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 تنش ۰/۶- مگاپاسکال به ترتیب O-Type های G2، G5، G1 و G7 بلندترین طول ریشه چه را داشتند و در بین شاهد ها ژنوتیپ G18 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).

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) گیاهچه های ۲۰ ژنوتیپ چغندر قند

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	منابع تغییر	درجه آزادی d.f	میانگین مربعات (MS)	
			وزن تر اندام هوایی (SFW)	وزن تر ریشه چه (RFW)
(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

ns: 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 چغندر قند در هر سطح پلی اتیلن گلیکول برای وزن تر اندام هوایی (SFW) و وزن تر ریشه چه (RFW)

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 اندام هوایی (SFW)	میانگین مربعات (RFW)	وزن تر ریشه چه
Control	عدم تنش	19	213.3**		27.7**
-0.6 MPa	۰/۶- مگاپاسکال	19	44.6 ^{ns}		9.4**
-0.7 MPa	۰/۷- مگاپاسکال	19	41.0 ^{ns}		2.1 ^{ns}
-0.8 MPa	۰/۸- مگاپاسکال	19	6.2 ^{ns}		1.0 ^{ns}

ns: Non-significant

ns: 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 ۴- تجزیه واریانس تاثیر تنش خشکی با پلی اتیلن گلیکول برای طول اندام هوایی (SL)، طول ریشه چه (RL)، وزن خشک اندام هوایی (SDW) و وزن خشک ریشه چه (RDW) گیاهچه های ۲۰ ژنوتیپ چغندر قند

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

(MS) میانگین مربعات					
S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی d.f	طول اندام هوایی (SL)	طول ریشه چه (RL)	وزن خشک اندام هوایی (SDW)
PEG	پلی اتیلن گلیکول	3	11137.2**	5269.2**	20.9°
Genotype	ژنوتیپ	4	53.2**	38.3**	3.0 ^{ns}
PEG × Genotype		19	42.0**	23.1°	4.2 ^{ns}
Error	خطا	57	23.5	14.4	5.0
C.V (%)	ضریب تغییرات	145	20.7	22.3	22.3

ns: Non-significant

ns: 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 ۵- برش دهی اثر متقابل ژنوتیپ های چغندر قند 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

(MS) میانگین مربعات					
S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی d.f	طول اندام هوایی (SL)	طول ریشه چه (RL)	وزن خشک اندام هوایی (SDW)
Control	عدم تنش	19	51.2**	31.3**	0.3 ^{ns}
-0.6 MPa	۰/۶- مگاپاسکال	19	91.5**	58.4**	0.5 ^{ns}
-0.7 MPa	۰/۷- مگاپاسکال	19	27.8 ^{ns}	10.0 ^{ns}	4.2 ^{ns}
-0.8 MPa	۰/۸- مگاپاسکال	19	15.8 ^{ns}	10.0 ^{ns}	10.6 ^{ns}

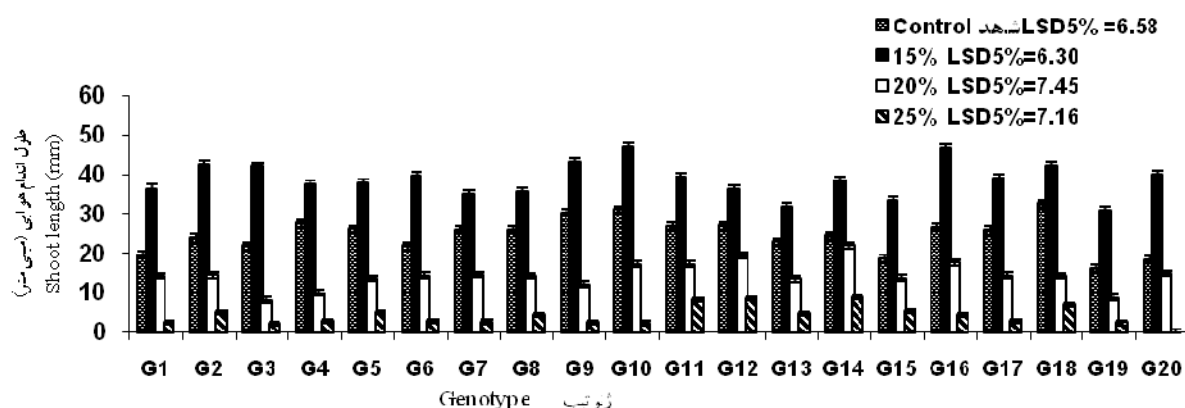
ns: Non-significant

ns: غیر معنی دار

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

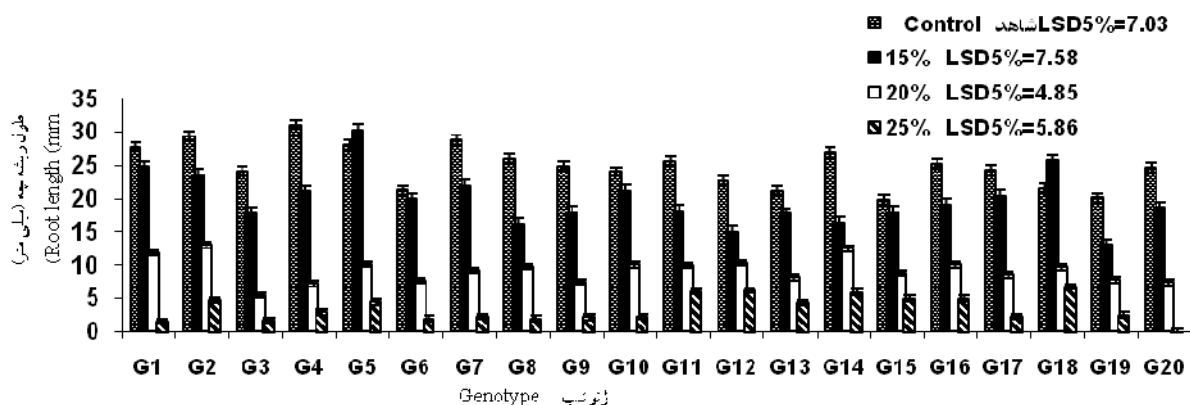
* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively

مقایسه میانگین ژنوتیپ ها در سطح بدون تنش نشان داد که ژنوتیپ های G4 و G7 بیشترین وزن تر ریشه را داشتند. در سطح ۰/۶- مگاپاسکال، ژنوتیپ شاهد G18 و ژنوتیپ های G5، G7، G3 و G2 بیشترین میانگین



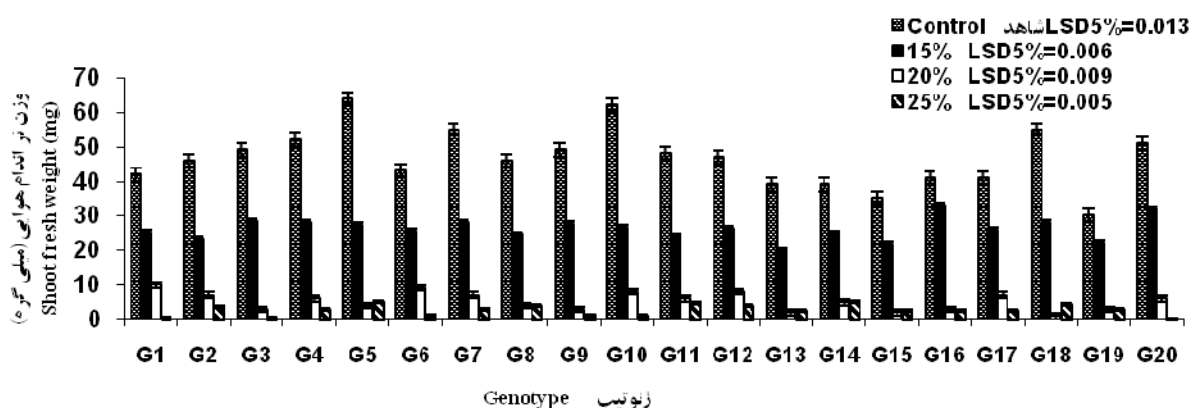
شکل ۱- مقایسه میانگین طول اندام هوایی گیاهچه ۲۰ ژنوتیپ چغندر قند به تفکیک در سطوح مختلف تنش خشکی با استفاده از پلی اتیلن گلیکول. میله های روی میانگین ها نشان دهنده دامنه خطای معیار میانگین (SE) است

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



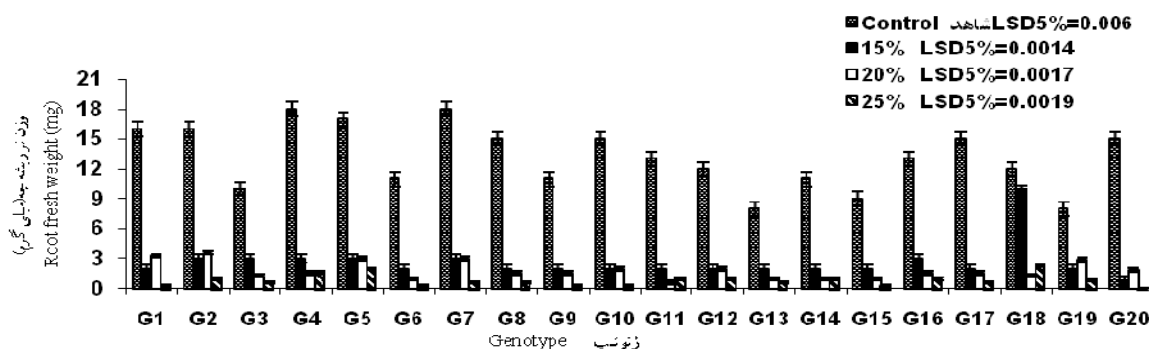
شکل ۲- مقایسه میانگین طول ریشه چه ۲۰ ژنوتیپ چغندر قند به تفکیک در سطوح مختلف تنش خشکی با استفاده از پلی اتیلن گلیکول. میله های روی میانگین ها نشان دهنده دامنه خطای معیار میانگین (SE) است

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 تر اندام هوایی ۲۰ ژنوتیپ چغندر قند 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 چغندر قند 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. 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 G16 و G18 در بین شاهد ها و ژنوتیپ های G5، G7، G4، G10 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 چغندر قند از لحاظ مقاومت به خشکی تنوع ژنتیکی وجود دارد (Sadaghian *et al.*, 2000; Mohammadian *et al.*, 2005) تفاوت و تنوع بین ژنوتیپ های مورد بررسی برای صفات مختلف گیاهچه چغندر قند پس از ۳۰ روز رشد تحت تاثیر سطوح تنش خشکی مشخص نمود که در سطح تنش خشکی ۰/۶- مگاپاسکال شرایط برای بروز تفاوت های بین ژنوتیپ ها بهتر مهیا بود. بنابراین جهت بررسی

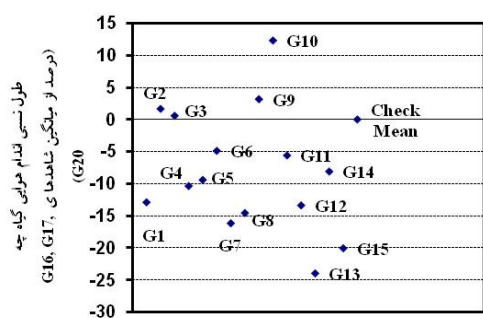
را نشان دادند و ژنوتیپ G20 پایین ترین وزن تر ریشه چه را داشت (شکل ۴). در این سطح تنش خشکی، ژنوتیپ G7 نسبت به متوسط ژنوتیپ های شاهد (G16، G20، G17)، ۲۹ درصد افزایش نشان داد (شکل ۱۲). مقایسه بین میانگین همه ژنوتیپ ها در سطوح مختلف تنش نشان داد که بالاترین میانگین وزن تر ریشه مربوط به سطح عدم تنش خشکی بود و با افزایش شدت تنش از وزن تر آن کاسته شد (جدول ۶). نتایج این پژوهش نشان داد که بین ژنوتیپ های چغندر قند، مخصوصا لاین های نگهدارنده جدیدی (O-Type ها) که در موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند 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) گیاهچه ۲۰ ژنوتیپ چغندر قند

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)

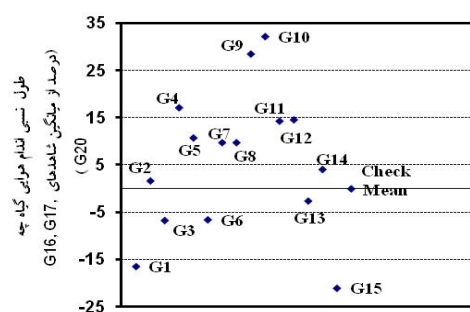
PEG	پلی اتیلن گلیکول	طول اندام هوایی SL (mm)	طول ریشه RL (mm)	وزن تر اندام هوایی SFW (mg)	وزن تر ریشه RFW (mg)	وزن خشک اندام SDW (mg)	وزن خشک ریشه RDW (mg)
Control	عدم تنش	24.9b	25.1a	46.0a	13.0a	3.7ab	2.3b
-0.6 MPa	۰/۶- مگاپاسکال	38.9a	20.1b	26.0b	3.0b	4.7a	2.7b
-0.7 MPa	۰/۷- مگاپاسکال	14.9c	9.4c	6.0c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



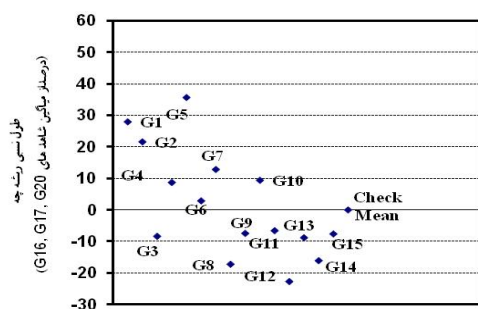
شکل ۸- مقایسه تغییرات طول اندام هوایی گیاهچه ۲۰ ژنوتیپ چغندر قند تحت تنش ۰/۶- مگاپاسکال

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



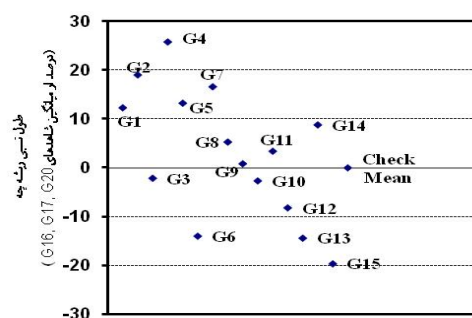
شکل ۷- مقایسه تغییرات طول اندام هوایی گیاهچه ۲۰ ژنوتیپ چغندر قند تحت شرایط شاهد

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 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 proline 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.** Patern of juvenile morbidity and vecruitment 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. Haghes. 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. Cıkhı and O. Kolsarıcı. 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 arientinum* 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. Omidı 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. Jihad-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. Ncumann and E. Nevo. 1999. Physiological characterization of drought tolerance in wild barley (*Hordeum spontaneum*) from the Judean desert; Barley Genet. Newsl . 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