



"مقاله پژوهشی"

ارزیابی شاخص‌های بیوشیمیایی در معرفی ژنوتیپ‌های برتر چندرقند (*Beta Vulgaris L.*)میلاد قاسمی^۱, محمود تورچی^۲, سعید اهریزاد^۳ و عبدالمجید خورشید^۴

- ۱- دانشجوی دکتری ژنتیک و به نظر ادی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
 (mtoorchi@tabrizu.ac.ir)
- ۲- استاد گروه بهنزاوی و بیوتكنولوژی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران، (نویسنده مسؤول:
 ۳- استاد گروه بهنزاوی و بیوتكنولوژی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
 ۴- استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ارومیه، ایران
- تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۳/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۵/۳۰ صفحه: ۲۱۹ تا ۲۲۷

چکیده

کمبود آب یکی از مشکلات اساسی در کاهش تولید محصولات کشاورزی می‌باشد. در ایران به دلیل شرایط آب و هوایی خشک و نیمه‌خشک شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به تنش کم‌آبی دارای اهمیت زیادی می‌باشد. در همین راستا این پژوهش در دانشگاه تبریز در سال ۱۳۹۸ با بررسی اثر تنش کم‌آبی بر روی ۱۰ ژنوتیپ چندرقند به صورت کرت‌های خرد شده بر پایه طرح بلوك‌های کامل تصادفی در سه تکرار به اجرا درآمد. فاکتور اصلی شامل دو سطح آبیاری (مطلوب و کم‌آبی) و فاکتور فرعی شامل ۱۰ ژنوتیپ چندرقند بود. در این آزمایش بذرهای چندرقند داخل لوله‌های پلیکا (PVC) کاشته شدند. صفات مورد ارزیابی شامل مالون دی‌آلدئید، هیدروژن پراکسید، پرولین، کلروفیل a و b، کاروتونوئید و قندهای محلول بودند. بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر آبیاری، ژنوتیپ و اثر مقابل ژنوتیپ × آبیاری برای تمامی صفات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. تنش کم‌آبی باعث کاهش صفات کلروفیل a و b و کاروتونوئید شد. همچنین تنش کم‌آبی باعث افزایش صفات مالون دی‌آلدئید، هیدروژن پراکسید، پرولین و قندهای محلول شده است. بر اساس شاخص‌های مالون دی‌آلدئید، هیدروژن پراکسید و پرولین ژنوتیپ شماره ۵ به عنوان ژنوتیپ متحمل شناسایی شد. بر اساس شاخص‌های کلروفیل a، b، کاروتونوئید و قندهای محلول ژنوتیپ شماره ۱۰ به عنوان ژنوتیپ متحمل به تنش کم‌آبی شناسایی شد. با توجه به زمینه تحمل ژنوتیپ شماره ۱۰ به تنش شوری، شاخص‌های کلروفیلی و قندهای محلول را می‌توان در انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل به تنش کم‌آبی مورد استفاده قرار داد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، قندهای محلول، کلروفیل، لوله پلیکا، مالون دی‌آلدئید، متحمل، هیدروژن پراکسید

مقدمه

فعال اکسیژن باعث آغاز فعالیت‌های هیدرولیتیک، از قبیل فرآیندهای تخریبی غشا سلولی می‌گردد. بدین ترتیب مالون دی‌آلدئید^۱ حاصل از تخریب چربی‌های غشا در شرایط تنش خشکی افزایش می‌یابد (۱۱). در صورتی که تنش قبل از استقرار کامل گیاه اتفاق افتاد، توانایی تحمل و سازگاری ندارد. ولی اگر گیاه بعداز استقرار کامل با تنش مواجه شود از طریق فعالیت‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی تا حدی تحمل می‌کند. یکی از راههای تحمل تنش کم‌آبی، تنظیم اسمزی است. طی این فرایند، گیاه پتانسیل آب سلول را با افزایش ترکیبات اسمزی از قبیل پرولین و قندهای محلول کاهش می‌دهد (۲۱)، (۲۶). در پژوهشی با بررسی تاثیر تنش کم‌آبی بر روی ژنوتیپ‌های چندرقند از شاخص میزان کلروفیل برگ جهت غربالگری ژنوتیپ‌های متحمل و حساس استفاده شده است (۳). در تحقیق دیگر از شاخص‌های میزان پرولین، کلروفیل و قندهای احیاء کننده در جهت شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل و حساس لوبيا قرمز نسبت به تنش کم‌آبی استفاده شده است (۵). محققین بر اساس نتایج پژوهشی بر روی گندم بیان داشتند ظرفیت کلروفیل بالا و محتوای پرولین کمتر، شاخص‌های مناسبی برای اصلاح کنندگان نبات هستند تا ژنوتیپ‌های متحمل و حساس را شناسایی کنند (۲۶). هدف از این پژوهش بررسی تنوع بین ژنوتیپ‌های چندرقند و شناسایی صفات مهم جهت غربالگری ژنوتیپ‌های متحمل و

چندرقند (*Beta vulgaris spp. vulgaris*) هالوفیتی متعلق به خانواده اسفناجیان^۲ است که به دلیل ذخیره قند در ریشه یکی از مهمترین گیاهان زراعی به حساب می‌آید. طی دو قرن گذشته شکر به یک ماده اصلی تبدیل شده است بطوری که در جهان متوسط مصرف سالانه هر فرد در حال حاضر بیش از ۲۰ کیلوگرم است. گزارش‌ها حاکی از آن می‌باشد که تقاضای جهانی برای قند رو به افزایش بوده است، در عین حال تنها دو گیاه چندرقند و نیشکر قابلیت استحصال قند را دارا می‌باشند (۸). از طرفی کشور ایران دارای اقلیم خشک و نیمه خشک می‌باشد و پیش‌بینی می‌شود در سال ۲۰۲۵ با شدیدترین خشکسالی روبرو خواهد شد (۲). بیش از ۹۰ درصد کالری مورد نیاز انسان از محصولات زراعی تامین می‌گردد، در حالی که تولید این محصولات در دنیا غالباً تحت تاثیر تنش‌های محیطی (عدم تراشش‌های غیر زندگ) هستند و با محدودیت‌هایی مواجه می‌شوند (۲۸). تنش خشکی باعث از بین رفن کلروفیل‌استها و به دنبال آن باعث کاهش میزان کلروفیل‌های سلول می‌شود. در نتیجه باعث اختلال در فرایند فتوسنتر و کاهش رشد محصول خواهد شد (۲۰). در این شرایط وقتی گیاه در معرض تنش‌های محیطی مانند خشکی قرار می‌گیرد، سبب تولید برخی گونه‌های فعال اکسیژن (مانند هیدروژن پراکسید)^۳ می‌گردد (۱۸). گونه‌های

۳۸ درجه و ۲ دقیقه عرض شمالی، با اقلیم نیمه خشک اجرا گردید. تبریز دارای آب و هوای سرد کوهستانی و در ارتفاع ۱۳۶۵ متر از سطح دریا واقع شده است. مواد گیاهی مورد مطالعه در این پژوهش ۱۰ ژنوتیپ شامل هفت لاین تنی و سه رقم شاهد که از موسسه تحقیقات چندرقند

کرج تهیه شدند. اسمای ژنوتیپ‌ها در جدول ۱ آمده است.

حساس از نظر صفات بیوشیمیایی تحت شرایط تنفس کم‌آبی بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۸ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز واقع در ۱۰ کیلومتری شرق تبریز در اراضی کرج با ۴۶ درجه و ۳۶ دقیقه طول شرقی و

جدول ۱- نام و کد ژنوتیپ‌ها

کد ژنوتیپ	نام ژنوتیپ	کد ژنوتیپ	نام ژنوتیپ	کد ژنوتیپ	نام ژنوتیپ	کد ژنوتیپ	نام ژنوتیپ
۱	لاین فول سیب	۲	لاین فول سیب	۳	لاین فول سیب	۴	لاین فول سیب
S1 - ۲ - ۸۰۰۱	S1 - ۵ - ۸۰۰۱	S1 - ۶ - ۸۰۰۱	S1 - ۷ - ۸۰۰۱	S1 - ۹ - ۸۰۰۱	۵	لاین فول سیب	۱۰
۶	لاین فول سیب	۷	لاین فول سیب	۸	لاین فول سیب	۹	لاین فول سیب
S1 - ۱۱ - ۸۰۰۱	S1 - ۱۰ - ۸۰۰۱	IR7 - ۸	C2 * A.1	SCC2 * 7233-P.29	هیبرید سینگل کراس	هیبرید شاهد متحمل به شوری	هیبرید شاهد

موچ‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر میزان مالون دی آلدئید را با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{ضریب رقت} \times \text{حجم مخلوط واکنش} \times \frac{\text{OD}}{\text{حجم آنزیم} \times \text{ضریب خاموشی}} = \text{میزان مالون دی آلدئید}$$

OD: اختلاف عدد اسپکتروفوتومتر در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ ضریب رقت: ۰/۰۳، حجم مخلوط واکنش: ۱/۷۵ میلی‌لیتر

حجم آنزیم: ۱ میلی‌لیتر، ضریب خاموشی: ۱۵۵

هیدروژن پراکسید

برای استخراج میزان هیدروژن پراکسید از روش ولیکوا و همکاران (۲۷) استفاده شد. ابتدا ۰/۱ گرم از نمونه پودر شده برگ در نیتروژن مایع با مقدار یک میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد همگن شد. سپس نمونه هموژنیزه شده در شرایط دمای چهار درجه سانتی گراد در مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰ سانتریفیوژ می‌گردد. به ۲۵۰ میکرولیتر از محلول رویی مقدار یک میکرولیتر از محلول بافر فسفات پتاسیم (pH=۷) و ۵۰۰ میکرولیتر بافر یدید پتاسیم یک مولار اضافه شد. به منظور جلوگیری از تجزیه مواد در اثر نور کلیه مراحل آزمایش در حداقل نور و روی ظرف بیخ انجام گردید. میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۳۹۰ نانومتر اندازه‌گیری و میزان هیدروژن پراکسید برگ‌های چندرقند بر اساس منحنی استاندارد به دست آمد.

پرولین

جهت استخراج و اندازه‌گیری پرولین از روش بیتس و همکاران (۶) استفاده شده است. پس از تهیه محلول‌ها، حدود ۰/۲ گرم از نمونه برگی پس از انجام در ازت مایع، در هاون پودر شد و در پنج میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک سه درصد هموژنیزه و درون فالکون ریخته شد. عصاره حاصل با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۷ دقیقه و در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ و فاز مایع جدا شد. این فاز مایع در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. یک میلی‌لیتر از روشنوار به دست آمده با همان حجم اسید نین هیدرین و یک میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال مخلوط و درون فالکون ۱۵ میلی‌لیتری

این آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. فاکتور اصلی شامل دو سطح آبیاری (مطلوب و تنفس کم‌آبی) و فاکتور فرعی شامل ۱۰ ژنوتیپ چندرقند بود. از هر ژنوتیپ تعداد پنج بذر داخل لوله‌های پلیکا به طول یک متر و قطر ۲۰ سانتی متر کاشته شد. قابل ذکر است که لوله‌های پلیکا به صورت چسبیده به هم در عمق یک متری زمین قرار داشتند، به طوری که سطح لوله‌های پلیکا با سطح زمین زراعی یکسان بود. تا استقرار کامل گیاهان (مرحله شش تا هشت برگ) آبیاری به صورت نرمال انجام و داخل هر لوله پلیکا یک بوته از گیاه مورد نظر نگهداری شد. سطح اول آبیاری بعد از ۸۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A و سطح دو آبیاری بعد از ۱۸۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر انجام شده است. برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی، نمونه‌های برگی در اواخر دوره رشد از جوان‌ترین برگ برداشت شده و داخل یخچال منفی ۸۰ درجه سانتی گراد تا زمان اندازه‌گیری صفات نگهداری شدند. صفات مورد مطالعه شامل میزان مالون دی آلدئید، هیدروژن پراکسید، پرولین، قندهای محلول، کلروفیل a و کاروتینتید بود.

مالون دی آلدئید

برای اندازه‌گیری مالون دی آلدئید از روش هیت و پاکر (۱۰) استفاده شده است. ۰/۰۳ گرم برگ تازه را داخل هاون چینی با ازت مایع پودر کرده و داخل میکروتیوب دو میلی‌لیتری قرار داده شد. سپس مقدار یک میلی‌لیتر از محلول تری کلرواستیک اسید (TCA) یک درصد به آن اضافه شد. بعد در شرایط چهار درجه به مدت ۱۵ دقیقه و دور ۲۰۰۰۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس مقدار ۲۵۰ میکرو لیتر از عصاره حاصل از سانتریفیوژ برداشته و به فالکن ۱۵ میلی‌لیتر منتقل شد. در مرحله بعدی یک و نیم میلی‌لیتر از محلول TBA نیم درصد در ۰/۲ TCA درصد به بالکن اضافه شده و در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵۰ دقیقه در حمام آب گرم (بن ماری) قرار داده شد. بعد از خنک کردن فالکن‌ها در آب بیخ، میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتری در طول

تا ۱ میلی لیتر با آب مقطر به حجم رسانده شد. پس از آن چهار میلی لیتر از معرف آنtronون به آن اضافه شد. در نهایت همراه با محلول‌های استاندارد در حمام آب گرم به مدت هشت دقیقه در ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. پس از سرد شدن نمونه‌ها میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتری در طول موج ۶۳۰ نانومتر، قرائت شده و با برقراری رابطه رگرسیونی بین غلظت محلول و مقدار جذب در ۶۳۰ نانومتر، غلظت محلول‌ها برای هر نمونه بر حسب ppm برآورد شد.

بعد از جمع‌آوری داده‌ها، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرمافزارهای SPSS، MSTAT-C و EXCEL انجام شده است. قبل از انجام تجزیه‌های آماری، فرض‌های اساسی تجزیه واریانس شامل مستقل بودن اشتباه‌های آزمایشی، توزیع نرمال اشتباه‌های آزمایشی، یکنواختی واریانس‌های درون تیماری و عدم وجود اثر متقابل بین تیمار و بلوک انجام شد و برقراری مفروضات فوق در همه صفات تأیید گردید.

نتایج و بحث

نتایج جدول ۲ نشان داد که اثر تکرار در تمام صفات مورد ارزیابی غیر معنی‌دار بوده که این نشان‌دهنده یکنواختی تکرارها می‌باشد. فاکتور اصلی آزمایش (آبیاری) برای تمامی صفات مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شده و این نشان می‌دهد بین دو سطح آبیاری مطلوب و تنفس کم‌آبی اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد. با توجه به جدول تجزیه واریانس، اثر ژنتیک برای همه صفات مورد ارزیابی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود که این بدان معنی است که حداقل بین دو ژنتیک در سطح احتمال یک درصد اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد. همچنین اثر متقابل ژنتیک × آبیاری برای تمامی صفات مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. این نشان می‌دهد عکس العمل ژنتیک‌های مختلف از سطح مطلوب به تنفس کم‌آبی مشابه نبوده و رفتارهای متفاوتی از خود نشان دادند. همچنین میزان تغییرات ژنتیک‌ها موازی و هم راستا باهمدیگر نمی‌باشند.

جدول ۲- تجزیه واریانس کرت‌های خرد شده صفات مورد مطالعه در ژنتیک‌های چندگزند

Table 2. Analysis of split plots variance of studied traits in sugar beet genotypes

میانگین مربوط										
قندهای محلول	کاروتونوئید	کلروفیل a	کلروفیل b	پروولین	هیدروژن پراکسید	مالون دی الید	درجه آزادی	منابع تغییر		
۱۵۴۹۰/۴۶ns	۳/۸۴۴ns	۹/۸۹۱ns	۵/۵۸۲ns	۰/۸۳۷ns	۰/۸۶۶ns	۵/۴۱ns	۲	تکرار		
۴۵۷۳۷.۶۹**	۳۱۶/۶۱۸**	۴۴۳/۷۴۱**	۵۶۰.۱/۲۵۵**	۹۸۵/۷۷۶**	۱۳۲/۳۴۳**	۴۵۳/۷۵**	۱	آبیاری		
۴۴۰.۲/۱۰.۱	۵/۶۳۲	۰/۸۳۵	۲۵/۱۷۳	۴/۴۴۴	۰/۹۴۵	۲/۵۳	۲	خطای اصلی		
۲۳۵.۹۵/۰.۲**	۶۱/۳۶۳**	۵۲۰/۱۸**	۶۲۶/۰.۴**	۴۰/۸۴۵**	۳/۴۱۰**	۹/۸۹**	۹	ژنتیک		
۸۸۹۸۷/۸۸*	۲۹/۱۱۹**	۳۳/۰.۲۸*	۳۱۹/۷۵۵**	۶۲/۸۲۵**	۳/۲۵۳**	۱۰/۵۰**	۹	ژنتیک × آبیاری		
۱۹۵.۰/۰.۵	۲/۸۴۴	۳/۲۵۹	۱۸/۴۹۷	۲/۵۰.۳	۰/۵۸۱	۱/۴	۳۶	خطای فرعی		
۱۳/۲۶	۹/۲۴	۹/۰.۸	۷/۰.۱	۱۵/۲۷	۱۶/۷۰	۱۲/۲۷		ضریب تغییرات (درصد)		

ns و **: غیر معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

ریخته شد. سپس نمونه‌ها همراه با محلول‌های استاندارد پروولین (بین صفر تا ۱۰۰ میکرومول در لیتر) به مدت یک ساعت در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتی گراد همراه با تکان‌های ملایم قرار گرفتند. بعد از آن اجازه داده شد تا نمونه‌ها در حمام یخ به مدت ۵ دقیقه خنک شوند. به نمونه‌ها و نیز محلول‌های استاندارد دو میلی لیتر تولوئن اضافه شد. محلول‌ها به مدت ۱۰ ثانیه تکان داده شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه به حالت سکون رها شدند تا فاز قرمز رنگی در بالای لوله تشکیل شود. از این فاز حدود ۱۰۰۰ میکرولیتر برای اندازه‌گیری استفاده شد. در این مرحله اسپکتروفوتومتر توسط تولوئن صفر شد و سپس استانداردهای پروولین در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت و منحنی استاندارد رسم شد. میزان جذب معادله رگرسیون به غلظت پروولین تبدیل شد.

کلروفیل a، b و کاروتونوئید

میزان کلروفیل a، b و کاروتونوئید به روش لیختنال (۱۶) اندازه‌گیری گردید. مقدار ۱۰ گرم از برگ تازه را در هاون چینی با ازت مایع پودر کرده و به اندازه ۱ میلی لیتر استون ۸۰ درصد به آن اضافه شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با ۶۰ دور سانتی‌فیوژ شده و میزان جذب عصاره یکنواخت فاز بالایی، داخل میکروتیوب با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتری در طول موج‌های ۴۳۷، ۴۷۰ و ۶۶۴ قرائت شده و با قرار دادن در فرمول‌های زیر میزان کلروفیل a، b و کاروتونوئید به دست آمد.

$$2) Ca = 12.25 \times A664 - 2.79 \times A647$$

$$3) Cb = 21.51 \times A647 - 5.01 \times A664$$

$$4) C x+c = (1000 \times A470 - 1.8 \times Ca - 85.02 \times Cb) \div 198$$

قندهای محلول

برای اندازه‌گیری قندهای محلول از روش بیم و ویلیس (۳۹) استفاده شد. نمونه‌های تازه به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه قرار گرفت. سپس با ازت مایع در هاون چینی پودر شده و از هر نمونه پودر شده مقدار ۱۰ گرم برداشته و در چهار میلی لیتر آب دیونیزه به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق روی شیکر قرار گرفت. بعد از تهیه معرف آنtronون، مقدار ۵۰ میکرولیتر از نمونه را به فالکن ۱۵ میلی لیتری اضافه و سپس

ژنوتیپ شماره چهار حساس‌ترین ژنوتیپ نسبت به تنفس کم‌آبی بود. زیرا در هر دو سطح آبیاری دارای بالاترین میزان هیدروژن پراکسید بوده است.

پرولین

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) و معنی‌داری اثرهای آبیاری، ژنوتیپ و اثر متقابل ژنوتیپ × آبیاری، بین دو سطح آبیاری (مطلوب و تنفس کم‌آبی) اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد. میزان پرولین برگ در سطح اول آبیاری (مطلوب) ۲/۱۹ میلی‌گرم بر گرم و در سطح دوم آبیاری پنج میلی‌گرم در گرم بود. این نشان می‌دهد میزان پرولین در اثر تنفس کم‌آبی افزایش معنی‌داری داشته است. همراستا با نتایج این تحقیق کامروا و همکاران (۱۲) با بررسی شش سطح آبیاری بر روی هشت ژنوتیپ سویا برایه آزمایش فاکتوریل بیان، داشتند که با افزایش، شدت تنفس، کم‌آبی، میزان، پرولین، افزایش معنی‌داری داشته و میزان کلروفیل a و b نیز در اثر تنفس خشکی کاهش یافته‌اند. همچنین عالائم مقدم و همکاران (۳) با بررسی اثر تنفس کم‌آبی بر روی شش ژنوتیپ چندرقد بر پایه آزمایش فاکتوریل به این نتیجه رسیدند که تنفس کم‌آبی باعث افزایش میزان پرولین می‌شود. مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها در سطح اول آبیاری نشان داد ژنوتیپ شش کمترین و ژنوتیپ چهار بیشترین میزان پرولین را در سطح مطلوب آبیاری داشت. نتایج مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های سطح دوم آبیاری (تنفس کم‌آبی) نشان داد ژنوتیپ شماره سه دارای بیشترین و ژنوتیپ‌های شماره چهار، هفت و نه دارای کمترین میزان پرولین بودند.

کلروفیل a و b و کاروتینوئید

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد بین سطوح مختلف آبیاری برای هر سه صفت کلروفیل a، b و کاروتینوئید اختلاف معنی‌دار وجود داشت. میزان کلروفیل بر اثر تنفس کم‌آبی دچار افت معنی‌دار شد. در تحقیقه، دیگری نیز افشار و همکاران (۱) با بررسی اثر تنفس خشکی بر روی لوبیا بیان داشتند میزان فلوروسانس و کلروفیل در اثر تنفس خشکی کاهش معنی‌دار داشت. برخلاف نتایج این پژوهش ناداعلی و همکاران (۲۳) با بررسی تنفس کمبود آب بر روی چندرقد به این نتیجه رسیدند فلوروسانس برگ چندرقد دچار کاهش و محتوى کلروفیل برگ افزایش یافه است. با توجه به جدول مقایسه میانگین (جدول ۴) ژنوتیپ شماره ۱۰ در هر دو سطح آبیاری دارای بیشترین میزان کلروفیل a بود. ژنوتیپ‌های ۲، ۳، ۹ و ۱۰ در هر دو سطح آبیاری میزان دارای بیشترین میزان کلروفیل b بودند. از نظر میزان کاروتینوئید ژنوتیپ ۱۰ در دو سطح آبیاری به ترتیب مطلوب و تنفس کم‌آبی با مقادیر ۲۲/۷۶ و ۲۲/۵۴ میکرو‌گرم بر میلی‌لیتر دارای بیشترین میزان این صفت بود. به طور کلی ژنوتیپ ۱۰ از نظر میزان کلروفیل a، b و کاروتینوئید در هر دو سطح آبیاری ژنوتیپ بهتری بود.

قندهای محلول

با توجه به معنی‌داری اثر آبیاری و جدول مقایسه میانگین (جدول ۳)، تنفس کم‌آبی باعث افزایش معنی‌دار میزان قندهای محلول در ژنوتیپ‌های چندرقد شد. مطابق با نتایج حاصل از این پژوهش چلوج و همکاران (۷) با بررسی اثر

مالون دی‌آلدئید

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) و معنی‌داری اثر آبیاری، ژنوتیپ و اثر متقابل ژنوتیپ × آبیاری، مقایسه میانگین با آزمون دانکن انجام شد. طبق جدول مقایسه میانگین (جدول ۳) میزان مالون دی‌آلدئید در شرایط آبیاری مطلوب برابر با ۶/۹ میلی‌مول بر گرم دارای افزایش معنی‌دار بوده است. مطابق با این گزارش نبی ایلکایی و همکاران (۲۲) با بررسی اثر تنفس کم‌آبی بر روی ژنوتیپ‌های چندرقد به این نتیجه رسیدند میزان مالون دی‌آلدئید به طور معنی‌داری در شرایط تنفس خشکی افزایش یافته است. همچنین حبیبی و همکاران (۹) با بررسی دو سطح آبیاری نرمال و تنفس خشکی بر روی ۱۵ ژنوتیپ چندرقد به این نتیجه رسیدند که تنفس خشکی باعث افزایش میزان مالون دی‌آلدئید و کاهش عملکرد ژنوتیپ‌های چندرقد می‌شود. طبق جدول مقایسه میانگین (جدول ۴) ژنوتیپ‌ها در سطح مطلوب آبیاری (تنفس کم‌آبی) ژنوتیپ‌های شماره سه، هفت و هشت دارای کمترین میزان مالون دی‌آلدئید بودند. از نظر صفت بودند. در سطح دوم آبیاری (تنفس کم‌آبی) ژنوتیپ‌های شماره هفت و پنج دارای کمترین میزان مالون دی‌آلدئید بودند. از نظر صفت مالون دی‌آلدئید می‌توان ژنوتیپ‌های شماره هفت و پنج را به عنوان ژنوتیپ‌های برتر معرفی کرد. زیرا در آبیاری مطلوب دارای میزان کم مالون دی‌آلدئید بودند و در شرایط تنفس خشکی افزایش قابل توجهی نداشتند. صیدی و همکاران (۲۵) با بررسی سطوح تنفس بر روی گوجه فرنگی بیان داشتند؛ میزان پرولین و مالون دی‌آلدئید در اثر تنفس خشکی افزایش معنی‌داری داشت.

هیدروژن پراکسید

بر اساس نتایج به دست آمده از جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) بین سطوح آبیاری اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت. همچنین با توجه به جدول مقایسه میانگین (جدول ۳) میزان هیدروژن پراکسید در سطح اول آبیاری (مطلوب) برابر است با مقدار ۳/۰۸ میکرو‌مول بر گرم و سطح دوم آبیاری (تنفس کم‌آبی) برابر با مقدار ۶/۰۵ میکرو‌مول بر گرم بود. نتایج نشان داد که تنفس کم‌آبی باعث افزایش میزان هیدروژن پراکسید شده است. مطابق با نتیجه این پژوهش در تحقیقی بر روی ذرت محققان اذغان داشتند تنفس خشکی باعث افزایش میزان مالون دی‌آلدئید و هیدروژن پراکسید می‌شود (۴). در تحقیقی دیگر محزنزاد و همکاران (۱۹) با بررسی اثر تنفس خشکی بر روی ذرت نتیجه گرفتند، میزان مالون دی‌آلدئید در اثر تنفس خشکی افزایش معنی‌داری داشت. ولی میزان هیدروژن پراکسید در شرایط تنفس افزایش معنی‌داری نداشت. با توجه به مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها (جدول ۴) در سطح اول آبیاری (مطلوب)، ژنوتیپ چهار دارای بیشترین و ژنوتیپ هفت دارای کمترین میزان هیدروژن پراکسید بوده است. با مقایسه ژنوتیپ‌ها در سطح دوم آبیاری (تنفس کم‌آبی) نیز ژنوتیپ‌های سه، چهار و هفت دارای بیشترین و ژنوتیپ‌های یک، دو، پنج و نه دارای کمترین میزان هیدروژن پراکسید بودند. از نظر این صفت

معنی دار وجود داشت. همچنین بین کلروفیل a با پرولین همبستگی منفی و معنی دار گزارش شده است (۱۳).
نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد ژنوتیپ پنج در سطح دوم آبیاری (نتش کم‌آبی) دارای کمترین مقادیر مالون دی‌آلدئید و هیدروژن پراکسید می‌باشد. از آنجایی که افزایش میزان هیدروژن پراکسید باعث پراکسیداسیون غشا می‌شود در نتیجه یکی از محصولات تخریب غشا لبیدی میزان مالون دی‌آلدئید می‌باشد (۱۴). بنابراین ژنوتیپ‌های شماره پنج و هفت کمترین میزان تخریب غشا را در نتش کم‌آبی داشته‌اند؛ ولی فقط ژنوتیپ شماره پنج دارای کمترین میزان هیدروژن پراکسید بود. از طرفی افزایش میزان پرولین در گیاه، از مواجه شدن آن با تنفس کم‌آبی جلوگیری کرده و مانع از تولید گونه‌های فعل اکسیژن (ROS) می‌شود (۱۵). با توجه به نتایج حاصل، ژنوتیپ شماره پنج مقدار بیشتری از پرولین را به خود اختصاص داده بود. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق ژنوتیپ شماره پنج را از نظر صفات مالون دی‌آلدئید، هیدروژن پراکسید و پرولین می‌توان به عنوان ژنوتیپ متحمل به تنفس کم‌آبی معرفی کرد. همچنین ژنوتیپ شماره ۱۰ از نظر صفات کلروفیل a، b، کاروتینوئید و قندهای محلول بیشترین مقدار را داشت. با توجه به اینکه شاخص‌های کلروفیل a، b، کاروتینوئید و قندهای محلول با همیگر همبستگی مثبت و معنی دار دارند و ژنوتیپ شماره ۱۰ زمینه تحمل به شوری داشته است، بنابراین می‌توان صفات کلروفیل a، b، کاروتینوئید و قندهای محلول را به عنوان شاخص‌های برتر در شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی در گیاه چندرقند معرفی کرد.

تنش خشکی طولانی مدت بر روی ژنوتیپ‌های چندرقند به این نتیجه رسیدند که خشکی باعث افزایش تجمع اسمولیت‌ها مخصوصاً قندهای محلول شد. در تحقیقی دیگر منصوری فر و همکاران (۱۷) با بررسی تاثیر خشکی بر روی نخداد اذاعان داشتند خشکی باعث افزایش قندهای محلول، پرولین، کلروفیل a و b گردید. طبق نتایج جدول مقایسه میانگین (جدول ۴) ژنوتیپ ۱۰ بیشترین میزان قندهای محلول را داشت. ولی ژنوتیپ شماره شش در سطح اول آبیاری (مطلوب) دارای کمترین میزان و در سطح دوم آبیاری تفاوت معنی دار با ژنوتیپ ۱۰ نداشت.

همبستگی بین صفات

با توجه به نتایج حاصل از همبستگی بین صفات مورد مطالعه (جدول ۵ و ۶) می‌توان نتیجه گرفت در سطح مطلوب آبیاری بین هیدروژن پراکسید و قندهای محلول همبستگی منفی و معنی دار وجود داشت. یعنی با افزایش میزان قندهای محلول در برگ چندرقند، مقدار هیدروژن پراکسید کاهش می‌یابد که احتمالاً با افزایش میزان پرولین در برگ گیاه احساس کمیود آب نمی‌کند و بنابراین رادیکال‌های آزاد مانند هیدروژن پراکسید کمتر تولید می‌شوند. همچنین در سطح مطلوب آبیاری بین کلروفیل a و کاروتینوئید همبستگی مثبت و معنی دار وجود دارد. در سطح تنش کم‌آبی بین کلروفیل a با کلروفیل b، کاروتینوئید و قندهای محلول همبستگی مثبت و معنی دار وجود داشت. همچنین بین پرولین و کلروفیل a همبستگی منفی و معنی دار وجود دارد. کاهش میزان کلروفیل شاید به علت تغییر مسیر متabolیسم نیتروژن به سمت ساخت ترکیباتی مانند پرولین باشد. در تحقیقی مشابه با بررسی تاثیر تنش کم‌آبی بر روی گندم نان بین میزان کلروفیل a با کلروفیل b و قندهای محلول همبستگی مثبت و

جدول ۳- مقایسه میانگین سطوح آبیاری از نظر صفات مورد مطالعه

تنش کم‌آبی	مطابق	حروف غیر مشترک بیانگر اختلاف آماری معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد
۷۷۷/۱۵ ^b	۲۰/۵۴ ^a	۲۲/۶۱ ^a
۱۳۲۹/۳۴ ^a	۱۵/۹۴ ^b	۱۷/۱۷ ^b

منابع

1. Afshar Mohamadian, M., M. Omidipour and F. Jamal Omidi. 2018. Effect of different drought stress levels on chlorophyll fluorescence indices of two bean cultivars. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 31(3): 511-525 (In Persian).
2. Agrawala, S., M. Barlow, H. Cullen and B. Lyon. 2001. The drought and humanitarian crisis in central and southwest Asia: A climate perspective. International Research Institute for Climate Prediction, Columbia University in the city of New York.
3. Alaeimoghadam, S., M. Esmaeeli, A. Rajabi and H. Najafi. 2019. Effects of water deficit stress on physiological and biochemical traits of sugar beet genotypes (*Beta vulgaris L.*). Journal of Sugar Beet, 34(2): 131-146 (In Persian).
4. Anjum, S.A., U. Ashraf, M. Tanveer, I. Khan, S. Hussain, B. Shahzad, A. Zohaib, F. Abbas, M.F. Saleem, I. Ali and LC. Wang. 2017. Drought induced changes in growth, osmolyte accumulation and antioxidant metabolism of three maize hybrids. Frontiers in plant science, 8: 69- 81.
5. Baghizadeh, A., S. Mohammadinejad and M. Rahimi. 2019. Evaluation of some biochemical characteristics of some red bean ecotypes under drought stress conditions. Journal of Crop Breeding, 11(29): 55-64 (In Persian).
6. Bates, L.S., R.P. Waldren and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.
7. Chołuj, D.R. Karwowska, A. Ciszewska and M. Jasińska. 2008. Influence of long-term drought stress on osmolyte accumulation in sugar beet (*Beta vulgaris L.*) plants. Acta Physiologiae Plantarum, 30(5): 679-687.
8. Draycott, A.P. 2006. Sugar Beet. Formerly of Broom's Barn Research Station. Bury St Edmunds, Suffolk, UK.
9. Habibi, D., S. Oroojnia, D. Fatollah Taleghani, A. Pazoki and M. Davoodifard. 2013. Antioxidants and yield evaluation of sugar beet genotypes under drought stress. Iranian Journal of Agronomy and Plant Breeding, 8(4): 63-82 (In Persian).
10. Heath, R.L. and L. Packer. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of biochemistry and biophysics, 125(1): 189-98.
11. Jiang, M. and J. Zhang. 2001. Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. Plant and Cell Physiology, 42: 1265-1273.
12. Kamrava, S., N. Babaeian Jolodar and N. Bagheri. 2017. Evaluation of drought stress on chlorophyll and proline traits in soybean genotypes. Journal of Crop Breeding, 9(23): 95-104 (In Persian).
13. Keyvan, S. 2010. The effects of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrates and chlorophyll of bread wheat cultivars. Journal of Animal and Plant Sciences, 8(3): 1051-1060.
14. Lata, C., S. Jha, V. Dixit, N. Sreenivasulu and M. Prasad. 2011. Differential antioxidative responses to dehydration-induced oxidative stress in core set of foxtail millet cultivars (*Setaria italica L.*). Protoplasma, 248(4): 817-28.
15. Liang, X., L. Zhang, S.K. Natarajan and D.F. Becker. 2013. Proline mechanisms of stress survival. Antioxidants and redox signaling, 19(9): 998-1011.
16. Lichtenthaler, H.K. 1987. [34] Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in enzymology, 148: 350-82.
17. Mansorifar, S., M. Shaban, M. Ghobadi and H. Sabaghpor. 2012. Physiological characteristics of chickpea (*Cicer arietinum L.*) cultivars under drought stress and nitrogen fertilizer as starter. Iranian Journal Pulses Research, 3(1): 53-66 (In Persian).
18. Meloni, D.A., M.A. Oliva, C.A. Martinez and J. Cambraia. 2003. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. Environmental and Experimental Botany, 49: 69-76.
19. Moharramnejad, S.A., O. Sofalian, M. Valizadeh, A. Asghari, M.R. Shiri and M. Ashraf. 2019. Response of maize to field drought stress: oxidative defence system, osmolytes, accumulation and photosynthetic pigments. Pakistan Journal of Botany, 51(3): 799-807.
20. Monakhova, O.F. and I.I. Chernyadev. 2002. Protective role of kartolin-4 in wheat plants exposed to soil drought. American Society for Microbiology Journals, 38: 373-380.
21. Moradshahi, A., E.A.B. Salehi and B.B. Khodd. 2004. Some physiological responses of canola (*Brassica napus L.*) to water deficit stress under laboratory conditions. Iranian Journal of Science and Technology Transaction A- Science, 28(1): 43-50 (In Persian).
22. Nabi Ilkaee, M., P. Foroozesh, D. Habib, D. Fatollah Taleghani, A. Rajabi, S. Oroojnia and M. Davoodifard. 2012. Evaluation of biochemical traits of different sugar beet genotypes under drought stress. Iranian Journal of Agronomy and Plant Breeding, 8(3): 87-99 (In Persian).

23. Nadali, I., F. Paknejad, F. Moradi, M. Nasri and A. Pazooki. 2010. Effect of methanol application on sugar beet (*Beta Vulgaris*) relative water content, chlorophyll content, and chlorophyll fluorescence parameters under drought stress conditions. Iranian Journal of Field Crop Science, 41(4): 731-740 (In Persian).
24. Rad, R.N., M.A. Kadir, H.Z. Jaafar and D.C. Gement. 2012. Physiological and biochemical relationship under drought stress in wheat (*Triticum aestivum*). African Journal of Biotechnology, 11(7): 1574-1578.
25. Saidi, M., M. Nouri, A. Motallebi Azar, J. panahandeh and D. zare haghi. 2020. Reaction of different genotypes of tomato (*Solanum Lycopersicum*) to drought stress. Journal of Plant Process and Function, 9(36): 64-77 (In Persian).
26. Shao, H.B., L.Y. Chu, C.A. Jaleel and C.X. Zhao. 2008. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. Comptes Rendus Biologies, 331(3): 215-225.
27. Velikova, V., I. Yordanov and A. Edreva. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. Plant Science, 151(1): 59-66.
28. Yazdansepas, A. 2014. Breeding for resistance to abiotic stresses. Agricultural Research Education and Extension Organization, Seed and Plant Improvement Institute, 300 pp (In Persian).
29. Yemm, E.W. and A. Willis. 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. Biochemical Journal, 57(3): 508-14.

Evaluation of Biochemical Indices to Introduce Superior Genotypes of Sugar Beet (*Beta Vulgaris L.*) under Water Deficit Stress

Milad Ghasemi¹, Mahmoud Toorchi², Saeid Aharizad³ and Abdolmajid Khorshid⁴

1- Ph.D. Student of Genetic & Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
2- Professor, Department, of Plant Breeding & Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz,
Iran (Corresponding author: mtoorchi@tabrizu.ac.ir)
3- Professor, Department, of Plant Breeding & Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz,
Iran
4- Assistant Professor, Agriculture and Natural Resources Research Center, Agricultural Research, Education and
Extension Organization (AREOO), Urmia, Iran

Received: June 18, 2021

Accepted: August 21, 2021

Abstract

Water deficit is one of the main problems in reducing agricultural production. Due to arid and semi-arid climatic conditions, identifying genotypes tolerant to water deficit stress is of great importance in Iran. In this regard, this study was conducted at the University of Tabriz in 2019 by investigating the effect of water deficit stress on ten sugar beet genotypes in split plots based on randomized complete blocks design in three replications. The main factor consisted of two irrigation levels (optimal and water deficit), and the sub-factor included ten sugar beet genotypes. In this experiment, we planted sugar beet seeds in PVC tubes. The evaluated traits included malondialdehyde, hydrogen peroxide, proline content, chlorophyll a and b, carotenoids, and soluble sugars. Based on the analysis of variance, the effect of irrigation, genotype, and irrigation interaction × genotype for all traits was significant at the probability level of one percent. Water deficit stress reduced chlorophyll a, b, and carotenoid traits. Water deficit stress also increases the properties of malondialdehyde, hydrogen peroxide, proline content, and soluble sugars. The genotype of number five was identified as a tolerant genotype based on malondialdehyde, hydrogen peroxide, and proline content indices. Based on chlorophyll a, b, carotenoid, and soluble sugars indices, The genotype of number ten was identified as a genotype tolerant to water deficit stress. Due to the tolerance of genotype No. 10 to salinity stress, chlorophyll indices and soluble sugars can be used to select genotypes tolerant to water deficit stress.

Keywords: Chlorophyll, Hydrogen Peroxide, Malondialdehyde, Proline, PVC tube, Soluble sugars, Tolerant