نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۵، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۶، ص. ۶۲۶-۶۱۵

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 15, No. 3, Fall. 2017, p. 615-626

فلورسانس کلروفیل به‌عنوان شاخصی از خسارت تنش یخ‌زدگی در چغندرقند (*Beta vulgaris*)

احمد نظامی[۱]- حمید رضا خزاعی[۱]- مجید دشتی[۲*]- احسان عیشی رضایی[۳]- امیر حسین سعید نژاد[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۸/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۶/۰۹

به‌منظور بررسی امکان استفاده از شاخص‌های فلورسانس کلروفیل در ارزیابی تحمل ارقام چغندرقند به تنش یخ‌زدگی آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. فاکتورهای مورد مطالعه شامل ارقام چغندرقند در هفت سطح (جلگه، PP8 و SBSI1، Giada، Monatunno و Palma، Suprema)، دماهای یخ‌زدگی در ۱۰ سطح (۰، ۲-، ۴-، ۶-، ۸-، ۱۰-، ۱۲-، ۱۴-، ۱۶- و ۱۸- درجه سانتی‌گراد) و دوره‌های مختلف بازیابی در چهار سطح (۲، ۱۲، ۲۴ و ۷۲ ساعت) بودند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد، رابطه مناسبی بین درصد بقاء بوته و کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II ارقام چغندرقند وجود داشت. در بین ارقام مورد بررسی رقم Monatunno دارای بیشترین و رقم SBSI1 دارای کمترین کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II بودند. کاهش دما به کمتر از ۱۴- درجه سانتی‌گراد باعث کاهش شدید این پارامتر شد. کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در ۲۴ ساعت اول پس از تنش رو به کاهش گذاشت، ولی با شروع بازیابی گیاه پس از ۷۲ ساعت، مقادیر این پارامتر به سطح قبل از تنش نزدیک شد. این بازیافت بسته به رقم متفاوت بود و رقم Monatunno بازیافت مناسبی را در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد داشت. اما این بازیافت در رقم SBSI1 مشاهده نشد و کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II مربوط به رقم اخیر در دماهای کمتر از ۱۴- درجه سانتی‌گراد به صفر رسید.

واژه‌های کلیدی: بقاء، چغندرقند، دوره بازیافت، کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II

مقدمه

پایداری نظام‌های زراعی از طریق کشت محصولات خاصی که قادر به استفاده بهتر از نهاده‌های طبیعی مانند تشعشع خورشید (یک نهاده بدون هزینه) و آب (که هزینه آن در حال افزایش است) هستند، حاصل می‌شود (Rinaldi and Vonella, 2006). با وجود اینکه به نظر می‌رسد کشت چغندرقند (*Beta vulgaris* L.) در ایران کمتر با محدودیت تشعشع خورشیدی مواجه باشد، ولی در مناطق خشک و نیمه‌خشک، کشت آن متکی به آبیاری بوده و به‌دلیل مصرف زیاد آب کشت بهاره این گیاه مخاطره‌آمیز است. به همین دلیل کشت پاییزه چغندرقند در برخی مناطق استان خراسان مورد توجه قرار گرفته است. کشت پاییزه چغندرقند در نواحی جنوب اسپانیا، ایتالیا و یونان (Rinaldi and Vonella, 2006) به دلیل استفاده مناسب گیاه از نزولات جوی زمستانه و اجتناب از خشکی‌های تابستان رایج می‌باشد. این نواحی دارای آب و هوای مدیترانه‌ای و زمستان‌های نسبتاً ملایم می‌باشند (Scott *et al.*, 1973)، درصورتی‌که در استان خراسان زمستان‌ها غالباً سرد است و لذا ممکن است گیاه با تنش سرما مواجه گردد.

دمای پایین در مناطق معتدله یکی از تنش‌های مهم غیرزیستی و محدودکننده عملکرد گیاهان زراعی در کشت پاییزه می‌باشد (Gray *et al.*, 1997) و بنابراین تحمل گیاهان به تنش سرما یکی از عوامل ضروری جهت بقاء زمستانه و رشد و تولید مناسب آنها ذکر شده است (Nezami *et al.*, 2007). بروز خسارت و یا مرگ گیاه در دماهای پایین به دلیل رسوب پروتئین‌ها، یخ زدن آب بین سلولی و حرکت آب از پروتوپلاسم به فضای بین سلولی و یا تشکیل کریستال‌های یخ در داخل پروتوپلاسم صورت می‌گیرد (Nasiri Mahallati *et al.*,

۱- استاد، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران
۲- استادیار، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران
۳- محقق ارشد، مرکز تحقیقات توسعه‌ای، دانشگاه بن، آلمان
۴- استادیار، گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور تهران، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: Majiddashti46@gmail.com)
DOI: 10.22067/gsc.v15i3.51305

2007).

اندازه‌گیری شاخص‌های فلورسانس کلروفیل که یک روش مناسب و غیرتخریبی است، جهت تعیین تفاوت‌های موجود بین گونه‌های گیاهی (Neuner and Larcher, 1990) از نظر تحمل به تنش‌های محیطی و به‌عنوان شاخصی مهم برای کمی کردن واکنش ارقام و لاین‌های متحمل به سرمای ذرت (*Zea mays*) و برنج (*Oryza sativa*) و متحمل به گرمای آفتابگردان (*Helianthus annus*) استفاده شده است (Dobrowski *et al.*, 2005). شاخص کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II به‌عنوان اصلی‌ترین عامل بین شاخص‌های مورد بررسی کاربرد دارد و مقادیر این فاکتور برای یک گیاه سالم بین ۰/۷۵ تا ۰/۸۵ می‌باشد، در حالی‌که در اثر تنش مقدار آن کاهش می‌یابد (Petite *et al.*, 2005). قرار گرفتن گیاه در معرض تنش یخزدگی همچنین باعث بروز خسارات ناشی از تشدید اثر نور بر روی فتوسیستم II و کاهش سرعت انتقال الکترون در سیستم فتوسنتزی می‌شود (Baker and Rosenquist, 2004).

در تحقیقی کاهش دمای محیط باعث کاهش کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II (F_v/F_m) در ارقام حساس و متحمل به سرمای گندم شد، ولی میزان این کاهش در ارقام متحمل به‌صورت معنی‌داری کمتر از ارقام حساس بود (Majdi *et al.*, 2007). نتایج تحقیقات در گیاهان جو (Dai *et al.*, 2007) و قهوه (Oliveira *et al.*, 2009) همچنین نشان دادند که اعمال تیمار خوسرمایی باعث افزایش تحمل به تنش یخزدگی و بهبود کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II (F_v/F_m) نسبت به گیاهچه‌های بدون خوسرمایی شدند. بررسی Jalilian *et al,* (2002) نیز نشان داد که افزایش شدت تنش یخزدگی باعث کاهش شاخص‌های حداکثر فلورسانس کلروفیل و کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در هفت رقم تجارتی چغندر بهاره شد. کاهش دما باعث کاهش کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در ژنوتیپ‌های مختلف سویا شد، ولی این کاهش در ژنوتیپ‌های مقاوم بسیار کمتر بود (Strauss *et al.*, 2006). بررسی فلورسانس کلروفیل در گندم پاییزه قرارگرفته تحت دوره‌های مختلف خوسرمایی نشان داد که اختلاف بین دوره‌های مختلف خوسرمایی در دماهای کمتر از ۸- درجه سانتی‌گراد پدیدار می‌شود (Clement and Hasselt, 1996). بررسی تغییرات فلورسانس کلروفیل در دوره بازیافت گیاه جو نشان داد که، مقادیر کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II پس از ۷۲ ساعت از اعمال تنش یخزدگی شروع به بازگشت به حالت قبل از تنش می‌کند ولی کاملاً به مقادیر زمان قبل از تنش نمی‌رسد (Dai *et al.*, 2007).

این مطالعه، با هدف بررسی امکان استفاده از شاخص فلورسانس کلروفیل در ارزیابی تحمل به تنش یخزدگی ارقام چغندرقند اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در طی پاییز و زمستان در قالب آزمایش فاکتوریل (۴×۱۰×۷) بر مبنای طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. فاکتورهای مورد مطالعه شامل ارقام چغندرقند در هفت سطح (جلگه، PP8 و SBSI1 (ارقام داخلی)، Giada، Monatunno (تولید کشور سوئد) و Palma، Suprema (تولید کشور دانمارک))، دماهای یخزدگی در ۱۰ سطح (۰، ۲-، ۴-، ۶-،۸-، ۱۰-، ۱۲-، ۱۴-، ۱۶- و ۱۸- درجه سانتی‌گراد) و دوره‌های مختلف بازیابی در چهار سطح (۲، ۱۲، ۲۴ و ۷۲ ساعت) بودند. بذور چغندرقند در اواخر آبان ماه در گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۱۲ سانتی‌متر در عمق ۱-۲ سانتی‌متری کشت شدند. خاک گلدان‌ها از نسبت‌های یکسان خاکبرگ، ماسه و خاک تشکیل شده بود. پس از سبز شدن و استقرار مناسب گیاهچه‌ها، تعداد بوته‌ها به پنج عدد کاهش یافت. جهت اعمال خوسرمایی بوته‌ها تا مرحله ۵-۴ برگی در محیط طبیعی نگه‌داری شدند. گلدان‌ها ۲۴ ساعت قبل از تیمار سرما آبیاری شدند و سپس جهت اعمال تیمارهای دمایی به فریزر ترموگرادیان انتقال یافتند. دمای فریزر در شروع آزمایش ۵ درجه سانتی‌گراد بود و پس از قرار دادن بوته‌ها با سرعت ۲ درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت. به‌منظور ایجاد هستک یخ در گیاهچه‌ها، در دمای ۳- درجه سانتی‌گراد محلول حاوی باکتری‌های القاءکننده هستک یخ (INAB[1]) به‌صورت یک قشر نازک روی برگ‌ها پاشیده شد. جهت ایجاد تعادل در دمای محیط گیاهان در هر تیمار دمایی به مدت یک ساعت باقی‌مانده و پس از آن جهت کاهش سرعت ذوب به مدت ۲۴ ساعت در داخل اتاقک‌های رشد با دمای ۴±۲ درجه سانتی‌گراد انتقال یافته و پس از طی این مدت، بوته‌ها به شرایط شاسی سرد منتقل و پس از گذشت ۲۱ روز درصد بقا گیاهان اندازه‌گیری شد. فلورسانس کلروفیل به‌وسیله دستگاه فلورومتر (OS1-FL Chlorophyll Fluorometer) و از بخش کناری جوان‌ترین برگ کاملاً توسعه‌یافته (با فاصله از رگبرگ میانی) اندازه‌گیری شد. پارامترهای اندازه‌گیری شده شامل: فلورسانس اولیه برگ خو گرفته به روشنایی (F_s)، بیشینه فلورسانس برگ خو گرفته به نور (F_{ms})، فلورسانس متغیر (ΔF) و کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II ($\Delta F/F_{ms}$) بودند که در دوره‌های مختلف بازیابی اندازه‌گیری شدند. جهت تجزیه آماری داده‌ها از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ و جهت مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

بررسی نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تیمارهای اعمال شده و اثرات متقابل آنها تأثیر معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۰۱) بر فاکتورهای مربوط به

1- Ice Nucleation Active Bacteria

فلورسانس کلروفیل داشتند (جدول ۱). در بین ارقام چغندرقند مورد مطالعه دو رقم Monatunno (با میانگین ۰/۷) و SBSI1 (با میانگین ۰/۵۹) به‌ترتیب بیشترین و کمترین مقدار کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II را دارا بودند (شکل ۱). به نظر می‌رسد پتانسیل مقاومت ژنتیکی متفاوت ارقام در تحمل تنش یخزدگی دلیل این وضعیت باشد، زیرا رقم Monatunno که یک رقم با منشاء اقلیم سرد (سوئد) است، تحمل به سرمای بیشتری نسبت به سایر ارقام داشته است، در حالی‌که رقم SBSI1 با منشاء ایران از یک منطقه نسبتاً گرمتر نسبت به سوئد معرفی شده است.

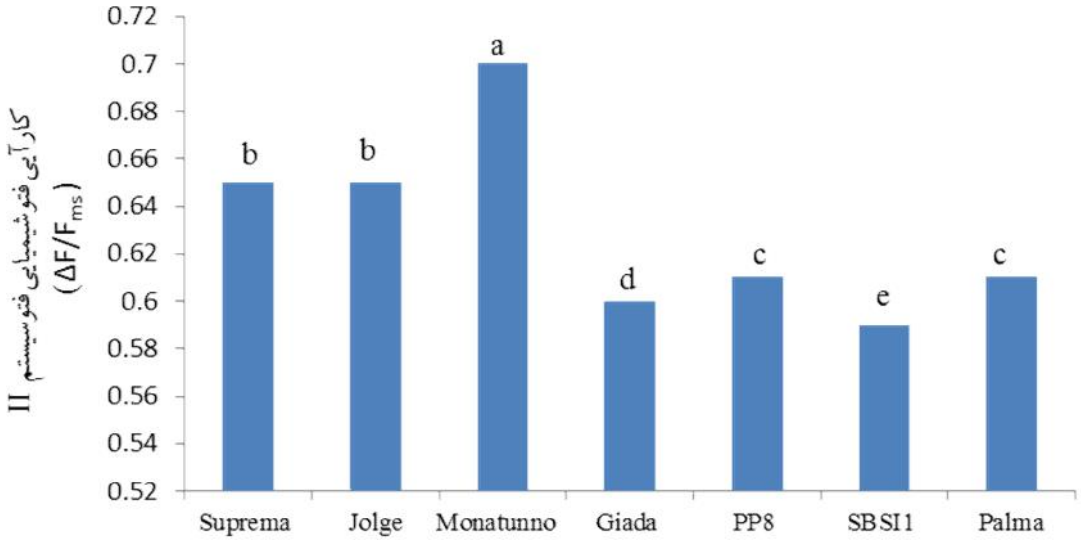
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) شاخص‌های فلورسانس کلروفیل ارقام چغندرقند تحت تأثیر تنش یخزدگی در شرایط کنترل شده

Table 1- Analysis of variance (Mean square) of Chlorophyll fluorescence parameters in sugar beet cultivars under freezing stress in controlled conditions

منابع تغییر Source of variation	درجه آزادی df	کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II $\Delta F/F_{ms}$	فلورسانس متغیر F_v	فلورسانس بیشینه F_{ms}	فلورسانس اولیه F_s
تکرار Rep	2	0.001^{ns}	547^{ns}	2807^{ns}	875^{ns}
رقم (A) Cultivar	6	0.158^{***}	737123^{***}	702864^{***}	11761^{***}
دما (B) Temperature	9	2.759^{***}	6531180^{***}	830836^{***}	81760^{***}
دوره بازیابی (C) Recovery period	3	0.253^{***}	3745561^{***}	7596582^{***}	716759^{***}
A×B	54	0.035^{***}	70924^{***}	87596^{***}	4536^{***}
A×C	18	0.009^{***}	44350^{***}	49313^{***}	2125^{***}
B×C	27	0.163^{***}	876721^{***}	1426457^{***}	87975^{***}
A×B×C	162	0.009^{***}	23311^{***}	28729^{***}	2672^{***}
اشتباه آزمایشی Error	558	0.0006	1817	1762	199

نتایج بررسی تحمل ارقام گندم پاییزه به سرما نشان داد که کاهش دمای محیط باعث کاهش کارآیی فتوسیستم II (F_v/F_m) در ارقام حساس و متحمل شد، ولی میزان این کاهش در ارقام متحمل به‌صورت معنی‌داری کمتر از ارقام حساس بوده است (Majdi *et al.*, 2007). در بررسی روند کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II تحت تأثیر دماهای زیر صفر مشاهده شد که کاهش مقادیر این کارآیی دو ساعت پس از اعمال تنش چندان محسوس نبود (شکل ۲ الف)، ولی با گذشت زمان و طی دوره‌های ۱۲، ۲۴ و ۷۲ ساعت پس از تنش یخزدگی این کاهش شدیدتر شد (شکل ۲ ب، پ و ت) به‌طوری‌که در ۷۲ ساعت بعد از تنش یخزدگی مقادیر کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد تقریباً به صفر رسید. به نظر می‌رسد دلیل عدم تأثیر شدید دماهای پایین در زمان دو ساعت پس از اعمال تنش یخزدگی عدم ذوب شدن یخ تشکیل شده در گیاه تا این زمان بود. ولی پس از گذشت ۱۲ ساعت از اعمال تنش و با ذوب شدن تدریجی یخ‌های تشکیل شده در گیاه اثرات تخریبی دماهای پایین آشکار شد. با توجه به این‌که کاهش در کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II تقریباً از دمای ۱۴- درجه سانتی‌گراد آغاز شد (شکل ۴) و از آن‌جایی‌که یکی از اولین شاخص‌های متأثر از تنش یخزدگی، ظرفیت فتوسنتزی فتوسیستم II در گیاهان می‌باشد (Dai *et al.*, 2007)، لذا به نظر می‌رسد که کارآیی فتوسنتزی ارقام چغندرقند مورد استفاده در این مطالعه تا دمای ۱۴- درجه سانتی‌گراد چندان تحت تأثیر قرار نگرفته و پس از آن به دلیل بروز خسارت ناشی از تنش یخزدگی این شاخص کاهش یافته است.

بررسی میانگین داده‌های کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در دوره‌های بازیابی نشان داد که اعمال تیمارهای یخزدگی اثر متفاوتی بر این صفت داشت. روند این پارامتر در طی ۲۴ ساعت اول پس از اعمال تیمارهای دمایی به‌صورت کاهشی بود، ولی پس از آن و با شروع به بازیابی گیاه طی ۷۲ ساعت پس از تنش یخزدگی، مقادیر این پارامتر افزایش یافته و تقریباً به سطح قبل از اعمال تنش نزدیک شد (شکل ۳). مطالعه تنش یخزدگی بر گیاه جو (*Hordeum vulgare*) نیز نشان داد، این گیاه توان بازیابی کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در طی ۷۲ ساعت پس از اعمال تیمار یخزدگی را دارد، ولی مقادیر این پارامتر کاملاً به مقادیر قبل از تنش نمی‌رسد، که دلیل این امر توانایی برگشت‌پذیری ظرفیت کاهش یافته الکترون و خسارت وارده به مراکز واکنش فتوسنتزی ذکر شده است (Dai *et al.*, 2007).



شکل ۱- میانگین کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در ارقام چغندرقند بعد از تنش یخزدگی در شرایط کنترل شده

(میانگین‌های دارای یک حرف مشترک در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری با آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند)

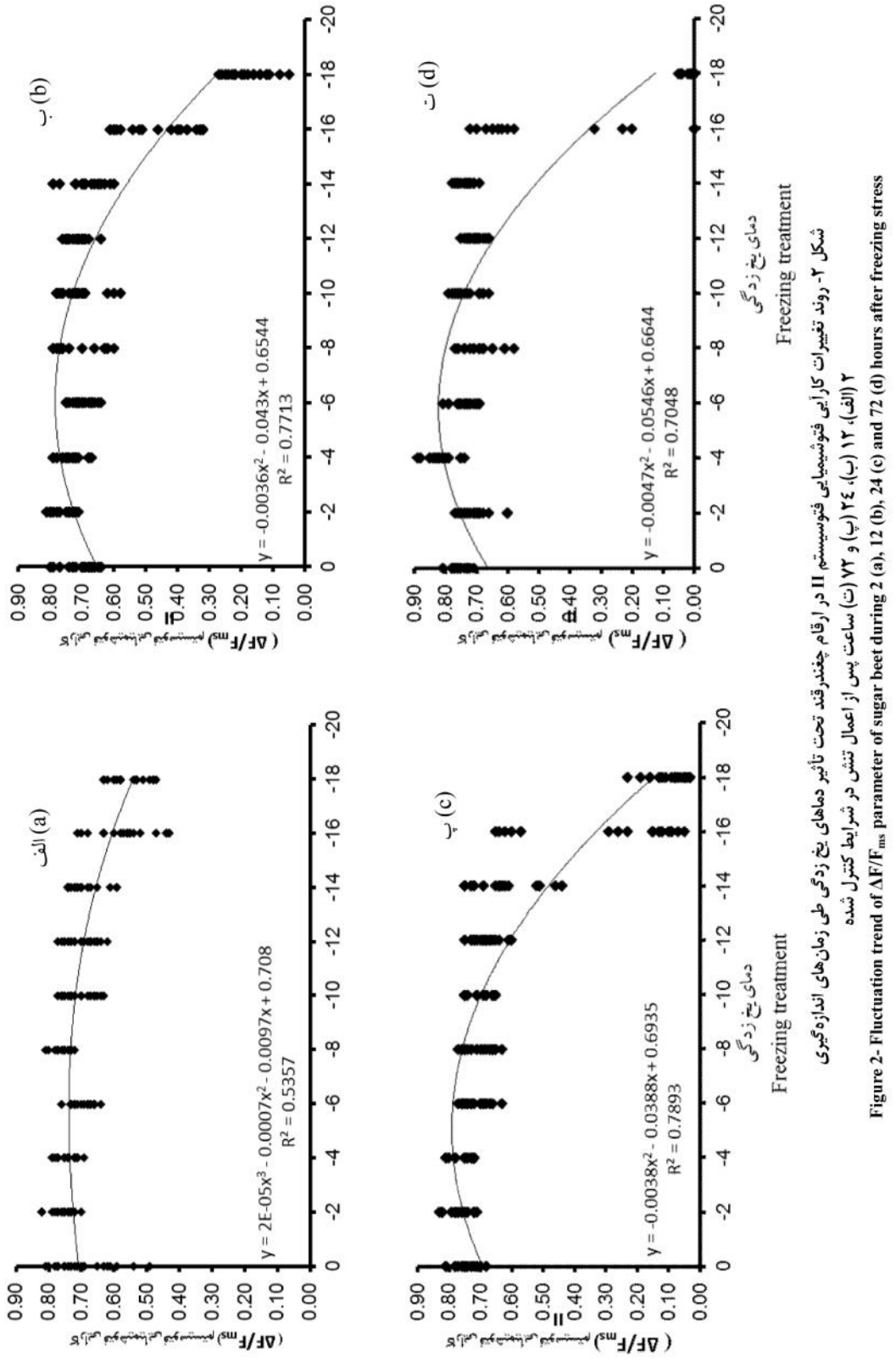
Figure 1- Average of $\Delta F/F_{ms}$ parameter of sugar beet cultivars after freezing stress in controlled conditions

(Common letters are not significant at a 0.05 probability level by Duncan's multiple range test)

بررسی روند تغییرات میانگین داده‌های حاصل از اثرات متقابل بین ارقام چغندرقند و دماهای یخزدگی نشان داد، ارقام مختلف چغندرقند تا دمای ۱۴- درجه سانتی‌گراد تفاوت چندانی را در کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II نشان ندادند اما تفاوت‌های موجود بین ارقام از دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد پدیدار شد (شکل ۴)، به‌طوری‌که شیب منحنی کاهش کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در سه رقم Monatunno، Suprema و جلگه کمتر از چهار رقم دیگر بود. با توجه به این‌که روند کلی کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II از دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد کاهش شدیدی داشت، از این رو احتمالاً دمای ۱۴- درجه سانتی‌گراد را می‌توان به‌عنوان آستانه کاهش کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در نظر گرفت. به نظر می‌رسد کاهش کندتر مقادیر کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در سه رقم فوق ناشی از تحمل بالاتر ارقام مذکور به تنش یخزدگی باشد، زیرا درصد بقاء ارقام مختلف چغندرقند پس از تنش یخزدگی با کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II رابطه مثبت و قوی (R^2=۰/۹۰**) داشت (شکل ۵).

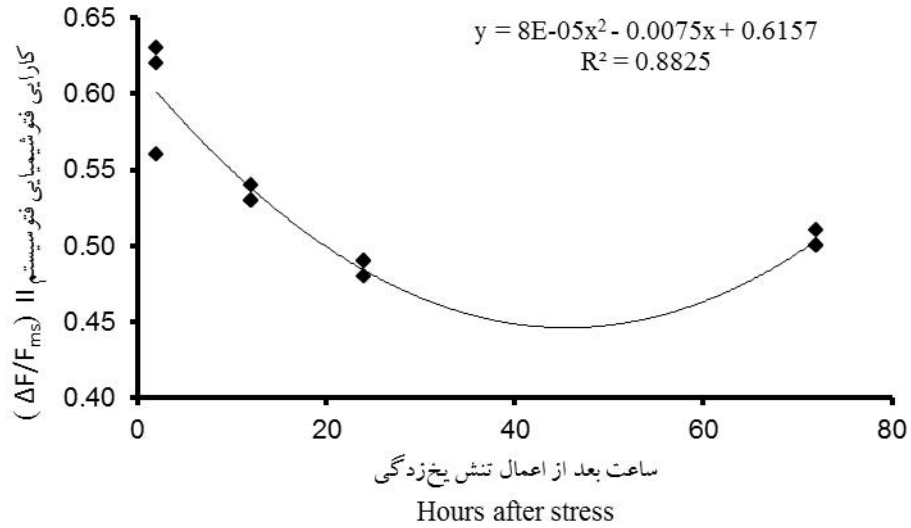
به‌عبارت دیگر گیاهانی که بقاء مناسبی داشتند، دارای کارآیی فتوشیمیایی بیشتری نسبت به گیاهانی بودند که دچار خسارت شده و سپس در پایان دوره بازیافت (سه هفته پس از تنش یخزدگی) از بین رفتند. در مطالعه‌ای افزایش شدت تنش یخزدگی و خسارت ناشی از آن در مرحلهٔ دو برگی حقیقی کشت گلدانی و در تیمارهای یخزدگی صفر و ۲- درجه سانتی‌گراد که خسارت ظاهری ایجاد نشده بود دلیل اصلی کاهش شاخص‌های حداکثر فلورسانس کلروفیل و کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در هفت رقم تجارتی چغندر بهاره ذکر شده است (Jalilian *et al.*, 2002).

بررسی روند تغییرات میانگین داده‌های حاصل از اثر متقابل دما و زمان نشان داد، تیمارهای دمایی اعمال شده تا دمای ۱۴- درجه سانتی‌گراد تغییر محسوسی در کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II ایجاد نکردند، ولی کاهش محسوس در کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II از دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد آغاز شد و این کاهش تا زمان ۲۴ ساعت به‌صورت خطی بود و پس از آن تقریباً ثابت ماند (شکل ۶). از سوی دیگر اعمال تیمار دمایی ۱۸- درجه سانتی‌گراد نیز باعث به حداقل رسیدن کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در طی دوره بازیافت شد (شکل ۶). به نظر می‌رسد تحمل ارقام چغندرقند مورد مطالعه تا دمای ۱۴- درجه سانتی‌گراد نسبتاً مناسب بوده است، اما کاهش دما از این آستانه باعث کاهش شدید در کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II شده است. مطالعه تنش یخزدگی در گیاه نوروزک نیز نشان داد که کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II تا دمای ۶-°C تحت تأثیر قرار نگرفت، اما با کاهش دما به ۲۲-°C، به میزان ۷۰٪ نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد کاهش یافت (Dashti, 2015). مطالعه صفت کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در دوره‌های مختلف خوسرمایی در گیاه گندم نشان داد که اختلاف بین دوره‌های مختلف خوسرمایی از دماهای زیر ۸- درجه سانتی‌گراد پدیدار شده است (Gray *et al.*, 1997).



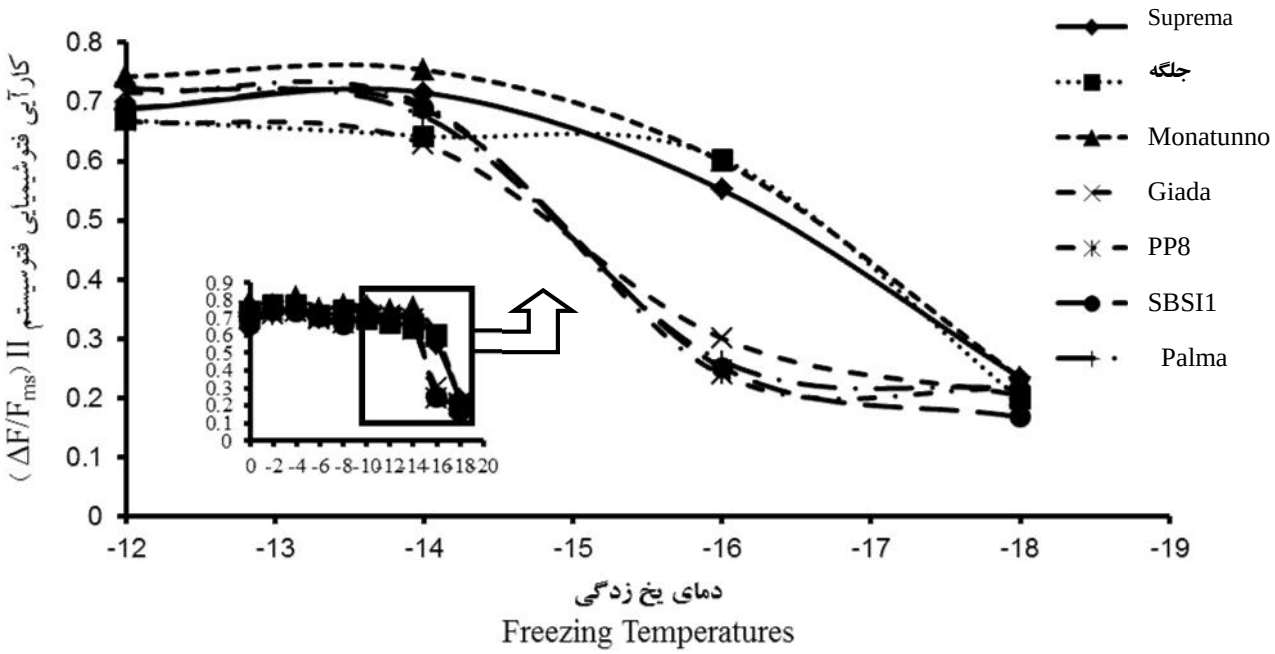
شکل ۲- روند تغییرات کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II در ارقام چغندرقند تحت تأثیر دماهای یخ زدگی طی زمان‌های اندازه‌گیری ۲ (الف)، ۱۲ (ب)، ۲۴ (پ) و ۷۲ (ت) ساعت پس از اعمال تنش در شرایط کنترل شده

Figure 2- Fluctuation trend of $\Delta F/F_{ms}$ parameter of sugar beet during 2 (a), 12 (b), 24 (c) and 72 (d) hours after freezing stress



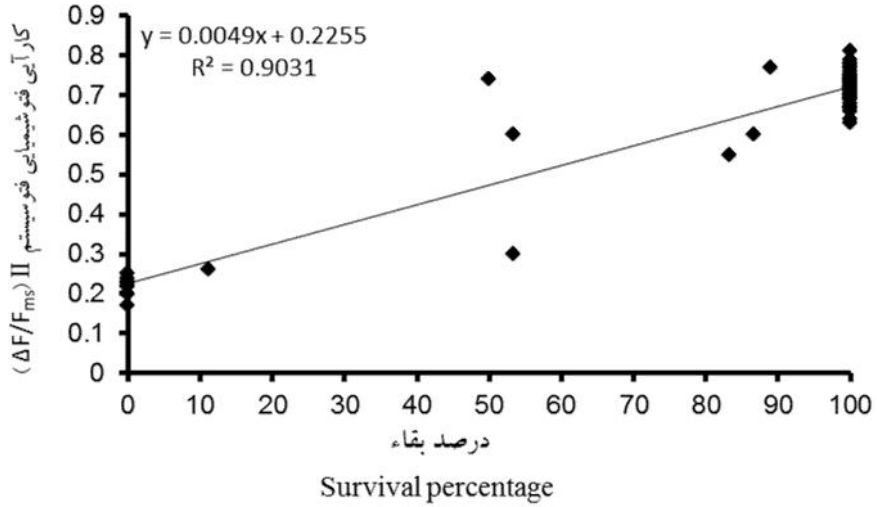
شکل ۳- میانگین کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در ارقام چغندرقند طی دوره‌های مختلف زمانی پس از اعمال تنش یخزدگی در شرایط کنترل شده (هر نقطه میانگین ۷۰ عدد است).

Figure 3- Trend of fluctuations of $\Delta F/F_{ms}$ parameter of sugar beet in various times after freezing stress (each point is average of 70 values).



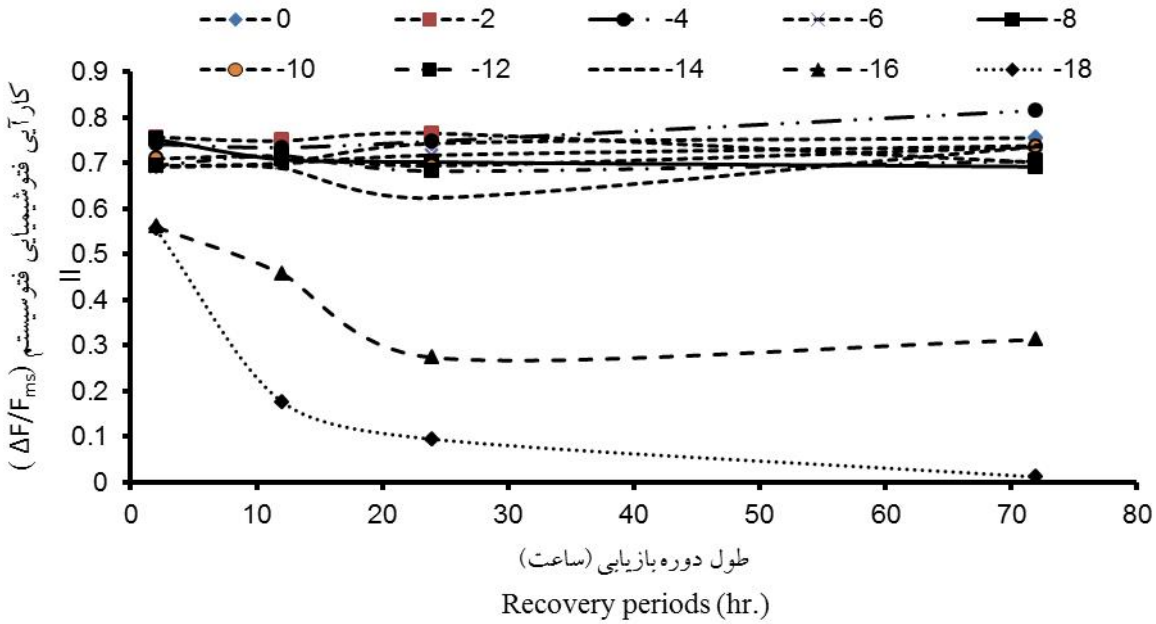
شکل ٤- روند تغییرات کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II ارقام چغندرقند پس از اعمال تنش یخ در شرایط کنترل شده
(هر نقطه میانگین ۱۲ عدد است).

Figure 4- Fluctuation trend of $\Delta F/F_{ms}$ parameter of each sugar beet cultivars after freezing stress in controlled conditions (each point is average of 12 values)



شکل ۵- رابطه بین کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II و درصد بقاء ارقام چغندرقند تحت تأثیر تنش یخزدگی در شرایط کنترل شده (هر نقطه میانگین ۱۲ عدد است)

Figure 5- Relationship between $\Delta F/F_{ms}$ parameter and survival percentage of sugar beet in controlled conditions (each point is average of 12 values).

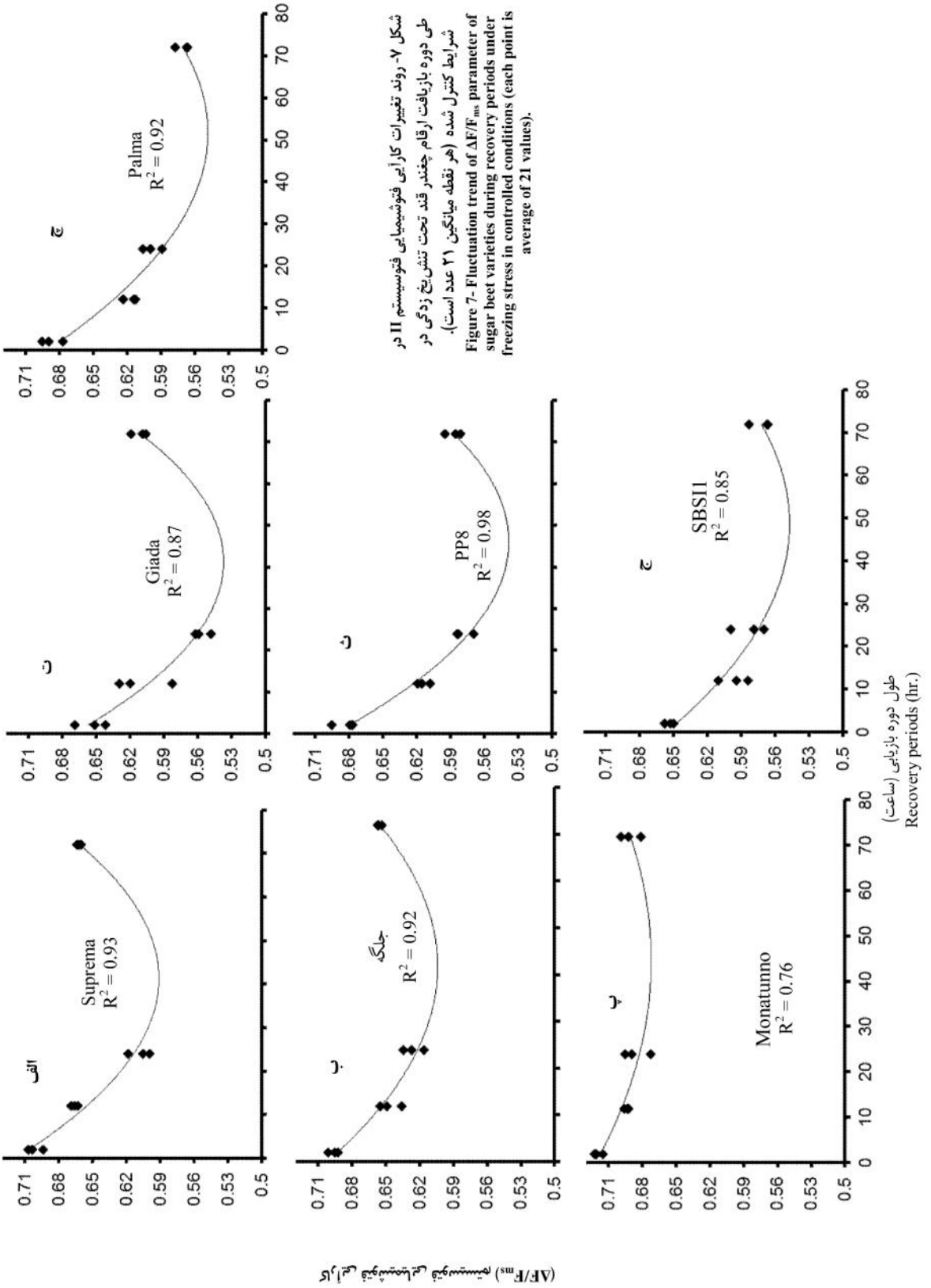


شکل ٦- روند تغییرات کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II در چغندر قند طی دوره بازیافت تحت تأثیر تنش یخزدگی در شرایط کنترل شده

Figure 6- Fluctuation trend of $\Delta F/F_{ms}$ parameter of sugar beet in different recovery periods under freezing treatments in controlled conditions

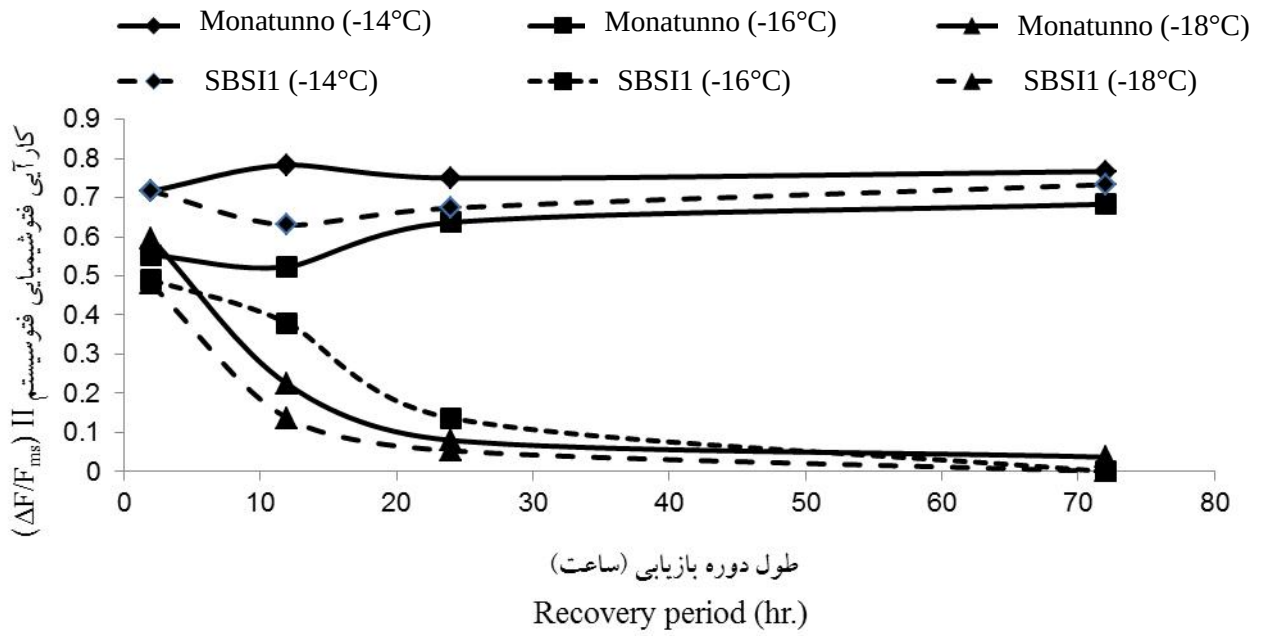
اثر متقابل ارقام چغندرقند و زمان پس از اعمال تنش یخزدگی بر میانگین کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۰۱) بود (جدول ۱). رقم Monatunno با دارا بودن کارآیی فتوشیمیایی بالاتر، دارای ثبات نسبی در مورد این صفت در طی دوره بازیابی بود (شکل ۷ پ)، ولی دو رقم SBSI1 و Palma ضمن داشتن روند نزولی شدید در کارآیی فتوشیمیایی طی دوره بازیافت، از کمترین کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در ۷۲ ساعت بعد از تنش برخوردار بودند (شکل ۷ ج و چ). در چهار رقم دیگر علی‌رغم روند کاهشی در کارآیی فتوشیمیایی در ۲۴ ساعت ابتدایی دوره بازیافت، این صفت در ۷۲ ساعت بعد از شروع بازیافت نسبتاً بهبود یافت (شکل ۷ الف، ب، ت، ث). در گیاه نوروزک، کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در شرایط تنش یخزدگی، ۲۴ ساعت پس از بازیابی به میزان ۴۰٪ در مقایسه با

شاهد کاهش یافت، اما با ادامه بازیابی تا ۷۲ ساعت افزایش نشان داد (Dashti, 2015).



شکل ۷- روند تغییرات کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در طی دوره بازیافت ارقام چغندر قند تحت تنش یخ زدگی در شرایط کنترل شده (هر نقطه میانگین ۲۱ عدد است).

Figure 7- Fluctuation trend of $\Delta F/F_{ms}$ parameter of sugar beet varieties during recovery periods under freezing stress in controlled conditions (each point is average of 21 values).



شکل ۸- روند تغییرات کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در دو رقم Monatunno (متحمل‌ترین) و SBSI1 (حساس‌ترین) طی دوره بازیافت پس از قرار گرفتن در معرض شدیدترین دماهای یخ‌زدگی (۱۴-، ۱۶- و ۱۸- درجه سانتی‌گراد) در شرایط کنترل شده

Figure 8- Fluctuation trend of $\Delta F/F_{ms}$ parameter of Monatunna (most tolerant) and Sbsi1 (most sensitive) cultivars during recovery period after severe freezing treatments in controlled conditions

در تحقیقی دیگر نیز کاهش دما باعث کاهش کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در ژنوتیپ‌های مختلف سویا شد، ولی این کاهش در ژنوتیپ‌های مقاوم بسیار کمتر بود (Strauss *et al.*, 2006). از این رو به نظر می‌رسد که براساس این شاخص نیز رقم Monatunno نسبت به سایر ارقام تحمل بهتری نسبت به تنش یخزدگی داشته باشد.

روند تغییرات کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II طی دوره بازیابی در دو رقم Monatunno و رقم SBSI1 پس از اعمال شدیدترین دماهای یخ زدگی بر روی آنها در شکل ۸ نشان داده شده است. بر این اساس بارزترین تفاوت بین این دو رقم در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد پدیدار شد، به‌طوری‌که بازیابی مناسب رقم Monatunno در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد سبب بازگشت نسبی کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II پس از ۲۴ ساعت به شرایط پیش از یخزدگی شد (شکل ۸). این امر نشان‌دهنده توانایی بالاتر رقم Monatunno در تحمل به تنش یخزدگی در شرایط کشت پاییزه نسبت به رقم SBSI1 می‌باشد. از سوی دیگر در رقم SBSI1 علاوه بر کاهشی بودن روند کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در طول زمان پس از اعمال دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد، مقدار این صفت در ۷۲ ساعت پس از یخزدگی به صفر رسید و لذا به نظر می‌رسد این رقم توانایی اندکی در بازیابی خود پس از بروز چنین تنشی داشته باشد. با وجود این هیچ‌کدام از ارقام قادر به تحمل دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نبودند و لذا پس از ۷۲ ساعت مقدار این صفت در هر دو رقم به حداقل رسید.

نتیجه‌گیری

نتایج این آزمایش نشان داد، بین کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II با درصد بقاء بوته پس از اعمال تنش یخزدگی در شرایط کنترل شده ارتباط بسیار معنی‌داری وجود دارد لذا به نظر می‌رسد که این صفت برای بررسی تحمل به تنش یخزدگی در چغندرقند پاییزه شاخص مناسبی باشد. در بین ارقام چغندرقند مورد مطالعه، رقم Monatunno دارای بیشترین کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II و رقم SBSI1 دارای کمترین مقدار بود. در بین تیمارهای دمایی مورد مطالعه، تا آستانه دمایی ۱۴- درجه سانتی‌گراد تفاوت محسوسی در کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II مشاهده نشد و شروع روند کاهشی این صفت از دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد بود، به‌طوری‌که در بیشتر ارقام مورد مطالعه در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد به کمترین میزان (صفر) رسید. بیشترین تفاوت‌های موجود در بین ارقام در طی دوره بازیابی مشاهده شد، به‌طوری‌که کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II، در رقم Monatunno در طی دوره بازیابی تقریباً به میزان قبل از تنش رسید ولی این بازیابی در مورد رقم SBSI1 مشاهده نشد.

References

1. Baker, N. R., and Rosenquist, E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. Journal of Experimental Botany 55: 1607-1621.
2. Clement, J. M. A. M., and Van Hasselt, P. R. 1996. Chlorophyll fluorescence as a parameter for frost hardiness in winter wheat: a comparison with other hardiness parameters. Phyton (Horn, Austria) 36 (1): 29-56.
3. Dai, F., Zhou, M., and Zhang, G. 2007. The change of chlorophyll fluorescence parameters in winter barley during recovery after freezing shock and as affected by cold acclimation and irradiance. Plant Physiology and Biochemistry 45: 915-921.
4. Dashti, M., Kafi, M., Tavakkoli, H., Mirza, M., and Nezami, A. 2015. Effects of freezing stress on Morpho-physiological indices and chlorophyll fluorescence of *Salvia leriifolia* Benth. Seedlings. Iranian Journal of Plant Research 28 (5): 962-973.
5. Dobrowski, S. Z., Pushnik, P. J., Tejada, J. C., and Ustin, S. L. 2005. Simple reflectance indices track heat and water stress-induced changes in steady-state chlorophyll fluorescence at the canopy scale. Remote Sensing Environment 97: 403-414.
6. Gray, G. R., Chauvin, L. P., Sarhan, F., and Huner, N. P. A. 1997. Cold acclimation and freezing tolerance: a complex interaction of light and temperature. Plant Physiology 114: 467-474.
7. Jalilian, A., Mazaheri, D., Tavakkol Afshari, R., Abdollahian-Noghabi, H., Rahimian, H., and Ahmadi, A. 2002. Effect of freezing damage at seedling stage in different sugar beet cultivars. Iranian Journal of Crop Science 10: 400-415. (in Persian with English abstract).
8. Majdi, M., Karimzadeh, G., and Mahfoozi, S. 2007. Effects of low temperature and exogenous calcium on the quantum efficiency of photosystem II (Fv/Fm) and relative content of chlorophyll in cold susceptible and tolerant wheat cultivars. Pajouhesh Sazandegi 77: 175-181. (in Persian with English abstract).
9. Nasiri Mahallati, M., Koocheki, A., Rezvani Moghadam, P., and Beheshti, A. 2007. Agroecology. Ferdowsi University of Mashhad press. (in Persian with English abstract).
10. Neuner, G., and Larcher, W. 1990. Determination of differences in chilling susceptibility of two soybean varieties by means of in vivo chlorophyll fluorescence measurement. Crop Science 167: 73-80.
11. Nezami, A., Borzooei, A., Jahani, M., Azizi, M., and Sharif, A. 2007. Electrolyte leakage as an indicator of freezing injury in colza (*Brassica napus* L.). Iranian Field Crop Research 1: 167-175. (in Persian with English abstract).
12. Oliveira, J. G., Alves, P. C. A., and Vitoria, A. P. 2009. Alterations in chlorophyll a fluorescence, pigment concentrations and lipid peroxidation to chilling temperature in coffee seedlings. Environmental and Experimental Botany 67: 71-76.
13. Petite, A. M., Rueda, A. M., and Lacuesta, M. 2005. Effect of cold storage treatments and transplanting stress on gas exchange, chlorophyll fluorescence and survival under water limiting conditions of *Pinus radiata* stock-types. European Journal of Forest Research 124: 73-82.
14. Rinaldi, M., and Vonella, A. V. 2006. The response of autumn and spring sown sugar beet (*Beta vulgaris*) to irrigation in Southern Italy: Water and radiation use efficiency. Field Crop Research 95: 103-114.
15. Scott, R. K., English, S. D., Wood, D. W., and Unsworth, M. H. 1973. The yield of sugar beet in relation to weather and length of growing season. The Journal of Agricultural Science 81: 339-347.
16. Strauss, A. J., Kruger, G. H. J., Strasser, R. J., and Heerden, P. D. R. 2006. Ranking of dark chilling tolerance in soybean genotypes probed by the chlorophyll a fluorescence transient O-J-I-P. Environment and Experimental Botany 56: 147-157.

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 15, No. 3, Fall. 2017, p. 615-626

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۵، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۶، ص. ۶۲۶-۶۱۵

Chlorophyll Fluorescence as an Index for Freezing Injury Evaluation in Sugar beet (*Beta vulgaris*)

A. Nezami[1]- H. R. Khazaei[1]- M. Dashti[2*]- E. Eyshi Rezaei[3]- A. H. Saeidnejad[4]

Received: 10-11-2015
Accepted: 30-08-2016

Introduction

A sustainable cropping system can be designed by choosing crops that can use the solar radiation and water more efficiently. Sugar beet (*Beta vulgaris* L.) is a highly productive crop which is widely under cultivation in different regions in Iran. Sugar beet production in Iran, scarcely limited by the solar radiation, but heavily relies on limited available water in such arid and semi-arid regions which makes the spring cultivation of it very expensive. Autumn cultivation of sugar beet is considered as an alternative to avoid water stress in Khorasan province, which is the main producing land of this crop in Iran. Variation of chlorophyll florescence parameter is an important criterion as well as suitable and nondestructive method which has been employed to determine the differences between plant species on resistance to environmental stresses such as freezing stress**,** and has been widely used as an important index to quantify the response of cold resistant varieties of corn and rice and heat resistance of sunflower cultivars.

Materials and Methods

In order to study the possibility of using the chlorophyll fluorescence parameters for evaluation freezing tolerance of sugar beet varieties, an experiment was performed by using a factorial based on randomized complete block design with three replications at agricultural faculty of Ferdowsi University of Mashhad. Seven sugar beet varieties (Jolge, Giada,Monatunno,SBSI1, Palma, Suprema,andPP8), exposed to ten freezing temperature levels (Zero, -2, -4, -6, -8, -10, -12, -14, -16 and -18), and their yield of quantum efficiency ($\Delta F/F_{ms}$) were measured in four levels of recovery periods (2, 12, 24 and 72 hours). Chlorophyll fluorescence was measured on control plants along with plants which were under 2, 12, 24, 72 hr. recovery after freezing. Measurements were carried out by using a portable fluorometer in the marginal region of the youngest fully expanded leaves.

Results and Discussion

Photochemical efficiency of photosystem II had strong regression with plant survival percentage ($R^2=0.90^{**}$). Monatunno variety had the highest and SBSI1 had the lowest photochemical efficiency of photosystem II. There were no differences between sugar beet varieties on photochemical efficiency of photosystem II until -14^{o}C, but lower temperatures severely declined that parameter. There was a reduction on efficiency of photosystem II in the first 24 hr. duration of recovery, but after 72 hr. increased up to the before freezing conditions. Monatunno cultivar had the suitable recovery where exposed to the -16^{o}C, but the efficiency of photosystem II on SBSI1 cultivar was decreased dramatically at the same temperature. Fluctuation trends of $\Delta F/F_{ms}$between freezing treatments and recovery periods showed sensible decrease trend until -14^{o}C, but negative trend started at -16^{o}C and reached to lowest values at -18^{o}C in recovery period. Hasselt (1996) showed significant decrease in ($\Delta F/F_{ms}$) between wheat varieties started at temperatures lower than -8^{o}C. Fluctuation trend of $\Delta F/F_{ms}$ parameter of

1- Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
2- Assistant Professor, Khorasan-e-Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad, Iran
3- Senior Researcher, Center for Development Research, University of Bonn, Germany
4- Assistant Professor, Department of Agriculture, Payame Noor University (PNU),Tehran, Iran
(*- Corresponding Author Email: Majiddashti46@gmail.com)

Monatunna and Sbsi1 varieties as resistant and sensitive varieties with respectively highest and lowest survival percentage under severe freezing treatments (-14, -16 and -18^{o}C) indicated clear difference between Monatunna and Sbsi1 at -16^{o}C.

Conclusions

Yield of quantum efficiency of sugar beet varieties showed highest differences in recovery period, this parameter quantity in Monatunna as a resistant genotype recovered near to before stress conditions during recovery period (except -18^{o}C freezing treatment) but Sbsi1 as a sensitive variety did not show recovery especially in severe freezing levels. Based on this study, we can determine Monatunna variety as high resistant to freezing stress with quick recovery period compared to other study varieties in early growth period which is almost the most important part of growth cycle of sugar beet varieties.

Keywords: Efficiency of photosystem II**,** Recovery period, Sugar beet, Survival