

تأثیر تنش کم‌آبی بر صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های چغندر قند (*Beta vulgaris* L.)

Effects of water deficit stress on physiological and biochemical traits of sugar beet genotypes (*Beta vulgaris* L.)

شاهپور علانی مقدم^۱، محمدعلی اسماعیلی^۲، اباندر رجیبی^{۳*} و حمید نجفی^۲

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۳/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۲۰

ش. علانی مقدم، م.ع. اسماعیلی، ا. رجیبی و ح. نجفی. ۱۳۹۷. تأثیر تنش کم‌آبی بر صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های چغندر قند (*Beta vulgaris* L.). چغندر قند، ۳۴(۲): ۱۳۱-۱۴۶. DOI: 10.22092/jsb.2019.109072.1139.۱۴۶

چکیده

به منظور ارزیابی جنبه‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی تنش کم‌آبی برشش ژنوتیپ چغندر قند، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با هشت تکرار در سال ۱۳۹۴ در گلخانه ستاد مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند انجام گرفت. آبیاری شامل دو سطح (تیمار شاهد و تنش کم‌آبی) بود. از زمان کشت تا استقرار کامل گیاه، آبیاری برای هر دو تیمار مشابه بود و از این مرحله به بعد، در شرایط تنش بر اساس شروع علائم تنش انجام شد. نتایج نشان داد که تنش کم‌آبی موجب کاهش معنی‌دار میزان آب نسبی برگ، وزن خشک ریشه و کارایی مصرف آب و افزایش معنی‌دار وزن ویژه برگ، نشت الکتروولت، میزان کلروفیل برگ (قرائت کلروفیل متر)، میزان پرولین و بتائین گردید. اثر ژنوتیپ برای میزان کلروفیل، پرولین، وزن خشک ریشه و کارایی مصرف آب معنی‌دار گردید. اثر متقابل آبیاری و ژنوتیپ فقط برای میزان پرولین و وزن خشک ریشه معنی‌دار شد. نشت الکتروولت به عنوان معیاری از پایداری غشای سلولی از ۵۴۲/۵۸ در شرایط آبیاری نرمال به ۹۴۱/۲۱ میکروزیمنس بر متر در تنش افزایش یافت. بیشترین میزان کلروفیل برگ در رقم IR7 و کمترین میزان آن در ژنوتیپ PB13-S2-52.HSF-977 مشاهده گردید. در شرایط تنش، بیشترین میزان پرولین در ژنوتیپ PB13-S2-52.HSF-987 و کمترین میزان آن در ژنوتیپ PB13-S2-37.153.80.HSF-1007 و رقم IR7 بود. به نظر می‌رسد برای غربال اولیه ژنوتیپ‌ها از نظر تحمل به تنش کم‌آبی می‌توان از وزن خشک ریشه، کارایی مصرف آب بر اساس وزن خشک ریشه و میزان کلروفیل برگ و بتائین استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: بتائین، پرولین، تنش، چغندر قند، ژنوتیپ

۱- دانشجوی سابق دکترای زراعت دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

۲- دانشیار دانشکده علوم زراعی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

۳- دانشیار مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران. *- نویسنده مسئول a.rajabi@areeo.ac.ir

مقدمه

تنش کم‌آبی مهمترین عامل محدود کننده تولید در مناطق کشاورزی ایران و جهان به شمار می‌رود. ایران با قرار گرفتن در عرض جغرافیایی ۲۵ تا ۳۸ درجه جزء مناطق خشک و نیمه‌خشک به حساب می‌آید (Peymaneh *et al.* 2013). از این رو کاهش منابع آب، ذخیره و استفاده بهینه از آب را برای زمان خشکسالی ضروری می‌کند (Zarei *et al.* 2013). با توجه به وضعیت بحران آب در ایران و مصرف عمده آب در بخش کشاورزی، تجدید نظر در نوع کشت گیاهان و استفاده از روش‌های نوین آبیاری ضروری به نظر می‌رسد. از این رو، کم‌آبیاری یک راهکار بهینه برای تولید محصولات تحت شرایط کمبود آب است. کم‌آبیاری اگرچه موجب کاهش عملکرد می‌گردد، اما کاهش عملکرد بستگی به زمان اعمال تنش کم‌آبیاری دارد و همچنین گیاهان زراعی مختلف ممکن است واکنش‌های متفاوتی در مقابل کم‌آبیاری از خود نشان دهند (Ilikaei *et al.* 2012). از سویی، جایگزینی گیاهان دارای نیاز آبی پایین و کم توقع به جای گیاهان دارای نیاز آبی بالا می‌تواند یکی از استراتژی‌های مهم در زمینه تولید محصولات کشاورزی تحت شرایط تنش خشکی باشد (Masoumi *et al.* 2012).

بهبود عملکرد گیاهان زراعی تحت شرایط تنش خشکی یکی از مهمترین اهداف اصلاح گیاهان است (Cattivelli *et al.* 2008). تحمل به خشکی معمولاً با عملکرد گیاه تحت تنش کم‌آبی مورد ارزیابی قرار می‌گیرد اما به علت تأثیرپذیری سایر صفات در شرایط تنش، این صفت به تنهایی نمی‌تواند نشان‌دهنده تحمل به خشکی ژنوتیپ‌ها باشد. بنابراین، بهتر است در برنامه‌های اصلاحی، صفات تحمل به خشکی ژنوتیپ‌ها شناسایی گردیده و هدایت برنامه‌ها براساس عملکرد و سایر صفات مهم فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی انجام پذیرد. براین اساس، بررسی این ویژگی‌ها در شرایط اعمال تنش

خشکی ضروری می‌باشد (Ilikaei *et al.* 2012; Hashemi *et al.* 2014). در صورتی که به توان با بهره‌گیری از برنامه‌های اصلاحی، ارقامی از چغندر قند را که از تحمل بیشتری نسبت به خشکی در مراحل رشد برخوردار باشند، شناسایی و معرفی نمود، ضمن صرفه‌جویی در مصرف آب می‌توان به توسعه و بهبود کشاورزی در کشور امیدوار بود چرا که یکی از گیاهان زراعی مهم متحمل به کم‌آبی، چغندر قند می‌باشد و شکر به عنوان یکی از منابع تأمین انرژی در سبذ کالاهای اساسی کشور جای دارد (Taleghani *et al.* 2014). هنگامی که گیاهان در معرض تنش‌های مختلف قرار می‌گیرند، برخی از گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species) از قبیل رادیکال سوپراکسید، هیدروژن پراکسید و رادیکال هیدروکسید تولید می‌گردند. این گونه‌های فعال ممکن است شروع به فرایندهای تخریبی نمایند. مکانیسم‌های سمیت‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن در تمام گیاهان وجود دارد و شامل فعال‌سازی سیستم دفاع آنتی‌می می‌باشد (Meloni *et al.* 2003). فعالیت آنتی‌می‌اکسیدانت و مقادیر افزایش یافته‌ی آنها در شرایط خشکی در بین گونه‌های گیاهی بسیار متغیر بوده و حتی در بین دو رقم شناخته شده‌ی یک گونه نیز تفاوت بسیاری وجود دارد. با این حال، میزان زیادی از خسارت به گیاهان در اثر تنش خشکی به آسیب اکسیداتیو در سطح سلولی گیاه بستگی دارد (Farooq *et al.* 2009). اگر تفاوت زیادی بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن و دفاع آنتی‌اکسیدانی در هر سلول وجود داشته باشد، تنش و خسارت اکسیداتیو رخ می‌دهد. از این رو به منظور مقابله با آسیب اکسیداتیو به وجود آمده در شرایط تنش خشکی، بایستی گیاهان دارای سیستم آنتی‌اکسیدانی کارآمدی باشند. با توجه به گیاه زراعی، دوره‌ی تنش خشکی و نوع آنتی‌اکسیدان، آنتی‌اکسیدان‌ها ممکن است افزایش یا کاهش یافته و یا بقای آنها غیرقابل تغییر باشد (Sayfzadeh and Rashidi 2011).

مواد و روش‌ها

مشخصات محل اجرا و تیمارهای آزمایش

به منظور ارزیابی دقیق‌تر تأثیر تنش کم‌آبی بر میزان فعالیت آنزیم‌ها و آنتی‌اکسیدانت‌ها و نقش آنها در تعیین میزان تحمل به تنش کم‌آبی ژنوتیپ‌های مختلف چغندرقد، آزمایشی به صورت فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی در هشت تکرار در گلخانه ستاد مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقد، کرج در سال ۱۳۹۴ اجرا شد. ژنوتیپ‌ها شامل پنج فامیل نیمه‌خواهری دیپلوئید (فامیل‌هایی که دارای یک والد مشترک هستند) و یک رقم متحمل خارجی (IR7) بود (جدول ۱). سطوح آبیاری نیز شامل دو سطح آبیاری نرمال و تنش کم‌آبی بود که از طریق توزین روزانه گلدان‌ها به منظور حفظ رطوبت گلدان‌های بدون تنش در حد ظرفیت زراعی در طول دوره رشد، و آبیاری تا زمان شروع علائم تنش (پژمردگی و لوله‌ای شدن برگ‌ها) برای گلدان‌های تحت تیمار تنش اعمال گردید. آبیاری از زمان کشت تا استقرار کامل گیاه (یک ماه بعد از کاشت) برای هر دو تیمار مشابه بود و از این مرحله به بعد بر اساس شروع علائم تنش انجام شد.

علاوه بر تغییرات بیوشیمیایی رخ داده در گیاهان در اثر تنش خشکی، گیاهان از طریق تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و متابولیکی در تمام اندام‌های خود به تنش پاسخ می‌دهند. چنین مکانیسم‌هایی دامنه وسیعی از سطح سلولی تا واکنش کلی گیاه را شامل می‌شود. درمقیاس سلولی، گیاه آثار مضر تنش را با افزایش متابولیسم و تنظیم پتانسیل اسمزی از طریق تجمع مواد آلی و معدنی در سلول‌های خود کاهش می‌دهد و فشار تورژسانس سلول خود را منظم می‌کند. پتانسیل کل آب گیاه در طی دوره تنش خشکی ملایم نیز توسط تنظیم اسمزی حفظ می‌شود. در این روش، گیاه از طریق جذب یون‌های معدنی از محیط خارجی مانند افزایش میزان پتاسیم در اندام‌های هوایی و یا از طریق سنتز زیاد مواد حل‌شونده سازگار که به عنوان اسمولیت عمل می‌کنند، تنظیم اسمزی را انجام می‌دهند. اغلب آمینواسیدها مثل پرولین ممکن است نقش محافظت‌کننده برای تیلاکوئیدهای کلروپلاست و دیگر سیستم‌های غشایی تحت شرایط تنش داشته باشند. محافظت‌کننده‌های اسمزی نظیر گلاسیسین-بتائین، پرولین و قندهای محلول بیشتر به سینتوپلاسم محدود می‌شوند و تقریباً در واکوئل حضور ندارند (Layegh Khodyeki *et al.* 2010). پژوهش حاضر با هدف بررسی اثرات تنش کم‌آبی بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های چغندرقد در شرایط گلخانه انجام گردید.

جدول ۱ مشخصات ژنوتیپ‌های مورد استفاده در آزمایش

شماره	ژنوتیپ	نام اختصاری ژنوتیپ	سطح پلوئیدی	ژرمیته	منشاء
۱	IR7 (Tolerant check)	IR7 (Tolerant check)	دیپلوئید	منوژرم	آلمان
۲	SB13-S2-151.HSF – 903	HSF – 903	دیپلوئید	مولتی ژرم	ایران
۳	SB13-S2-37.153.80.HSF–1007	HSF–1007	دیپلوئید	مولتی ژرم	ایران
۴	SB13-S2-37.153.80.HSF–1014	HSF–1014	دیپلوئید	مولتی ژرم	ایران
۵	SB13-S2-52.HSF – 977	HSF – 977	دیپلوئید	مولتی ژرم	ایران
۶	SB13-S2-52.HSF – 987	HSF – 987	دیپلوئید	مولتی ژرم	ایران

وزن ویژه برگ

وزن ویژه برگ (وزن واحد سطح برگ) نیز در همان سه عدد برگی که برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل برگ مورد استفاده قرار گرفت، اندازه‌گیری شد. ابتدا مجموع وزن تر سه برگ هر کرت با ترازو تعیین و جمع مساحت آنها با دستگاه سطح برگ‌سنج (مدل Delta T, Cambridge, UK) بر حسب گرم بر سانتی متر مربع اندازه‌گیری شد. سپس برگ‌های هر کرت را داخل پاکت قرار داده و در آون در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک گردید. وزن خشک برگ‌ها با ترازوی ۰/۰۰۱ بر حسب گرم اندازه‌گیری شد. از تقسیم وزن خشک برگ بر مساحت برگ، وزن ویژه برگ بر حسب گرم بر سانتی‌متر مربع به دست آمد (Rajabi *et al.* 2013).

میزان آب نسبی برگ

به منظور اندازه‌گیری میزان آب نسبی برگ، نمونه‌گیری از برگ در سه بوته از هر گلدان در دو تیمار نرمال و تنش صورت گرفت. ابتدا ۱۲ قرص تقریباً به قطر دو سانتی‌متر از هر برگ تهیه و توزین گردید (وزن تر). سپس قرص برگ‌ها را در داخل یک بشر قرار داده و به اندازه کافی آب مقطر ریخته و به مدت چهار ساعت در دمای چهار درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار داده شد. بعد از این مرحله، قرص برگ‌ها از بشر خارج و جهت آب‌گیری جزئی در داخل آبکش قرار داده شد و بعد از آن توزین گردید (وزن آماس شده). سپس جهت تعیین وزن خشک، نمونه‌ها داخل آون در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده و بعد از آن توزین گردید. میزان آب نسبی برگ از طریق رابطه (۱) محاسبه شد (Ober *et al.* 2005).

آزمایش در ۲۵ بهمن ۱۳۹۳ شروع و در خردادماه سال ۱۳۹۴ پایان یافت. زمان اعمال تنش ۲۱ فروردین ۱۳۹۴ (۵۰ روز بعد از کاشت) بود. در هر گلدان با ظرفیت هشت کیلوگرم با ترکیب ۵۰ درصد رس و ۵۰ درصد کمپوست، پنج عدد بذر ضد عفونی شده با قارچ‌کش مورد کشت قرار گرفت. گلدان‌ها به طور روزانه توزین گردید تا رطوبت آنها در تیمار شاهد در کل دوره رشد در حد ظرفیت زراعی باشد. به منظور اعمال تنش نیز گیاهان تا زمان شروع علائم پژمردگی مورد آبیاری قرار نگرفتند. صفات مورد اندازه‌گیری شامل میزان آب نسبی برگ، وزن ویژه برگ، میزان کلروفیل برگ، نشت الکترولیت، پرولین، گلاسیسین-بتائین، پراکسید هیدروژن، مالون‌دی‌آلدئید، سوپراکسیددیسموتاز، وزن خشک ریشه و کارایی مصرف آب بر اساس وزن خشک ریشه بود. اندازه‌گیری دو صفت اخیر در زمان برداشت (۶ خرداد) و نمونه‌برداری برای اندازه‌گیری مابقی صفات قبل از برداشت (۳۱ فروردین) انجام شد.

کلروفیل برگ (قرائت SPAD)

برای اندازه‌گیری مقدار کلروفیل برگ (قرائت کلروفیل‌متر) از دستگاه کلروفیل متر دستی SPAD (مدل Minolta, Japan) استفاده شد. این صفت در سه برگ توسعه یافته (برگ دوازدهم از مرکز به سمت بیرون) از سه بوته در هر گلدان و در نقطه میانی هر برگ در دو تیمار آبیاری نرمال و تنش اندازه‌گیری شد (Ober and Luterbacher 2002). نتایج حاصل از اندازه‌گیری کلروفیل به روش SPAD می‌تواند با برآورد مقدار کلروفیل به روش عصاره‌گیری مرتبط باشد به طوری که بین نتایج قرائت SPAD و تعیین کلروفیل به روش عصاره‌گیری همبستگی مثبت و معنی‌دار ($R^2=0.95$) گزارش شده است (Yadava 1989).

گلاسیسین - بتائین

استخراج گلاسیسین بتائین در ریشه خشک شده چغندرقد به روش شاو و همکاران (Shaw *et al.* 2002) انجام گردید. بدین ترتیب که ۰/۵ گرم از بافت خشک شده آسیاب شده با ۲۰ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد شیکر شد. سپس نمونه‌ها از صافی رد گردید. نمونه ذوب شده با اسید سولفوریک دو نرمال به نسبت ۱:۱ مخلوط شد و ۰/۵ میلی لیتر از ترکیب به دست آمده به مدت یک ساعت در حمام یخ قرار گرفت و ۰/۲ میلی لیتر یدید پتاسیم به آن اضافه شد و ورتکس گردید. نمونه‌های حاصل در دمای ۴- ۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۶ ساعت نگهداری و سپس در ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و پس از جدا کردن مایع رویی، رسوب با ۹ میلی لیتر ۱ و ۲ دی کلرواتان مخلوط و ورتکس شد. پس از ۲/۵ - ۲ ساعت، گلاسیسین بتائین استخراج شده قابل تشخیص شد. با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۳۶۵ نانومتر، مقدار گلاسیسین بتائین استخراج شده اندازه گیری شد.

پراکسید هیدروژن

برای اندازه گیری هیدروژن پراکسید به حدود ۰/۵ گرم از نمونه پودر شده برگ در نیتروژن مایع مقدار ۵ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید ۰/۱ درصد اضافه شد. سپس نمونه هموژنیزه شده به مدت ۳۰ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. به یک میلی لیتر از محلول رویی سانتریفیوژ شده، یک میلی لیتر از محلول بافر فسفات پتاسیم (pH=7) و ۲ میلی لیتر بافر یدید پتاسیم یک مولار اضافه گردید. نمونه‌های استاندارد نیز به همین طریق تهیه و میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۹۰ نانومتر اندازه گیری و مقدار غلظت هیدروژن پراکسید برگ‌های چغندرقد بر اساس منحنی استاندارد به دست آمد (Loreto and Velikova 2001).

{وزن خشک برگ - وزن تر برگ} = میزان آب نسبی برگ
(۱) $100 \times$ {وزن خشک برگ - وزن آماس شده برگ}

پرولین

میزان پرولین برگی با روش تغییر یافته بیس و همکاران (Bates *et al.* 1973) تعیین گردید. مقدار ۰/۵ گرم نمونه برگی که پس از نمونه گیری در کاغذ آلومینیومی پیچیده و درون نیتروژن مایع قرار گرفته و در فریزر ۸۰- نگهداری شده بود، درون هاون ساییده و با ۱۰ میلی لیتر اسید سولفوسالیسیلیک (۳ درصد) هموژنیزه شد. محلول‌های هموژن در دمای چهار درجه سانتی گراد با دور ۵۰۰۰ rpm و به مدت ۲۰ دقیقه توسط سانتریفیوژ یخچال دار (مدل KUBOTA 6900, Japan) سانتریفیوژ شد و سپس جهت صاف کردن نمونه سانتریفیوژ شده از کاغذ صافی واتمن شماره دو استفاده گردید. به حدود ۲ میلی لیتر از سوپرناتانت حاصل ۲ میلی لیتر گلاسیال استیک اسید و ۲ میلی لیتر معرف نین هیدرین اضافه شد. مخلوط واکنش در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد (حمام آب گرم) به مدت یک ساعت جوشانده و بلافاصله به مدت ۳۰ دقیقه در ظرف یخ قرار داده شد و سپس ۴ میلی لیتر تولوئن به آن اضافه و به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس گردید. در خلال اختلاط، کروموفر محتوی تولوئن جدا شد و جذب در ۵۲۰ نانومتر در اسپکتروفتومتر در مقایسه با شاهد محتوی تولوئن ثبت گردید. غلظت پرولین با استفاده از رسم منحنی استاندارد تعیین شد. برای صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر از نمونه شاهد که حاوی تمام مواد غیر از نمونه برگی بود استفاده شد و با کمک استانداردهای پرولین که به همان روش تهیه می‌شوند، منحنی استاندارد به دست آمد. در نهایت، مقدار پرولین برگی بر اساس درجه رقت و وزن نمونه مورد آزمایش بر اساس میکروگرم بر گرم وزن تر نمونه محاسبه شد.

مالون‌دی‌آلدئید

حذف منبع نوری به اتمام رسید. فرآورده واکنش با جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر قرائت گردید. حجم مواد شناور مشابه با ۵۰ درصد واکنش ابتدایی برابر با ۱ واحد آنزیم طراحی گردید (Shaw et al. 2002).

نشت الکترولیت

برای اندازه‌گیری نشت الکترولیت، ۱۰ عدد قرص از هر برگ درون ظرف شیشه‌ای درب‌دار حاوی ۱۵ میلی لیتر محلول مانیتول با فشار اسمزی ۲- بار قرار داده و به مدت ۲۴ ساعت در آزمایشگاه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و سپس هدایت الکتریکی (EC) محلول نمونه با EC متر اندازه‌گیری گردید (Shiferaw and Baker 1996).

وزن خشک و کارایی مصرف آب

در زمان برداشت، اندام هوایی و ریشه به‌طور جداگانه برداشت شد. ابتدا وزن تر و سپس وزن خشک اندام‌هوائی و ریشه در آن در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت اندازه‌گیری شد. از تقسیم مقدار ماده خشک ریشه یا اندام‌هوائی بر مقدار آب مصرفی در طول دوره رشد، کارایی مصرف آب بر حسب گرم بر کیلوگرم محاسبه گردید.

برای تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها از نرم‌افزارهای SAS و SPSS و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج حاصل از اندازه‌گیری صفات ژنوتیپ‌های چغندر قند (جدول ۲)، اثر سطوح آبیاری بر همه صفات مورد مطالعه به‌جز پراکسید هیدروژن، مالون‌دی‌آلدئید و سوپراکسید دیسموتاز معنی‌داری گردید. اثر ژنوتیپ تنها بر مقدار کلروفیل برگ (قرائت کلروفیل متر)، پرولین، وزن خشک

جهت اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید به یک میلی‌لیتر از محلول هموژنیزه شده در روش پراکسید هیدروژن یک میلی‌لیتر محلول ۰/۵ درصد وزنی حجمی تیوباربتوریک اسید اضافه گردید نمونه حاصل در حمام آب داغ در درجه حرارت ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد. به منظور توقف واکنش، ظرف محتوی محلول به سرعت به مدت ۳۰ دقیقه در درون حمام یخ قرار گرفت. مخلوط سرد شده با دور ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. میزان جذب مخلوط به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر در دو طول موج ۵۳۳ و ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید (جذب در طول موج دوم غیرخاص برای مالون‌دی‌آلدئید است که باید از جذب در طول موج اول کم شود و در محاسبه مقدار مالون‌دی‌آلدئید ضریب خاموشی برابر ۱۵۵ میلی مولار بر سانتی‌متر در نظر گرفته شد) (Stewart et al. 1983). مقدار غلظت بر اساس مول در لیتر از تقسیم میزان جذب بر ضریب خاموشی به‌دست آمد (Ojani et al. 2012).

سوپراکسید دیسموتاز

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر اساس مقدار توانایی آن در جلوگیری از کاهش واکنش فتوشیمیایی نیتروبلوترازولیوم مورد ارزیابی قرار گرفت. نیم گرم از نمونه‌های برگ در ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مول (pH=۷) که حاوی یک میلی‌مول تریتون ۰/۰۵ درصد (v/v)، یک میلی‌مول پلی‌وینیل پلی‌پیرولیدون (PVPP) ۲ درصد (w/v) و یک میلی‌مول آسکوربیک اسید بود، همگن گردید. در سنجش اسپکتروفوتومتری، یک میلی‌مول از مخلوط واکنش محتوی ۵۰ میلی‌مول بافر فسفات (pH=۷/۵)، ۰/۱ EDTA، ۱۳ میلی‌مول متیونین، ۷۵ میکرومول NBT، ۲ میکرومول ریپوفلاوین و ۵۰ میکرومول عصاره گیاهی استفاده شد. ریپوفلاوین در انتها اضافه گردید و واکنش با قرارگیری در لوله‌هایی تحت شرایط نور فلورسنت سفید آغاز گردید. واکنش بعد از ۱۰ دقیقه توسط

(Iqbal 2009, ذرت (Moussa 2006) و سورگوم (Ambika Rajendran 2011) بهره گرفته شده است. در بررسی اثر تنش خشکی بر ژنوتیپ‌های مختلف نخود نیز مشاهده گردید که با افزایش شدت تنش خشکی، به طور معنی‌داری بر میزان نشت الکترولیت افزوده شد (Zare Mehrjerdi 2012). بیات و همکاران (Baia et al. 2011) با بررسی اثر تنش خشکی بر گیاه خیار گزارش کردند که میزان نشت یونی تحت تأثیر تنش خشکی افزایش می‌یابد. دلیل افزایش نشت یونی در اثر خشکی، شروع یک تنش اکسیداتیو می‌باشد که طی آن چربی‌های غشا پراکسیده گردیده و پایداری غشاء سلول از بین می‌رود (Inze and Montagu 1995). پورموسی و همکاران (Pourmusaviet al. 2006) در بررسی تأثیر تنش خشکی بر گیاه سویا اعلام کردند که در شرایط تنش شدید، میزان نشت الکترولیت در مقایسه با تنش ملایم و عدم تنش خشکی بیشتر بود.

ریشه و کارایی مصرف آب معنی‌دار گردید. برهمکنش آبیاری و ژنوتیپ بر صفات مورد مطالعه به جز مقدار پرولین و وزن خشک ریشه اثر معنی‌داری نداشت.

نشت الکترولیت

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با کاهش آبیاری، مقدار نشت الکترولیت به طور چشمگیری افزایش می‌یابد. مقدار نشت الکترولیت از ۵۴۲/۵۸ میکروزیمنس بر متر در سطح آبیاری معمول به ۹۴۱/۲۱ میکروزیمنس بر متر در سطح تنش کاهش یافت (شکل ۱). بهره‌گیری از تعیین نشت الکترولیت یکی از پرکاربردترین نشانگرهایی است که برای تخمین میزان اثر فرآیندهای تخریب‌گر غشاء در بافت‌های گیاهی تحت تأثیر عوامل نامساعد محیطی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Azizpour et al. 2010). از این نشانگر برای ارزیابی مقدار تحمل به خشکی در گیاهان مختلف نظیر گندم (Bano and

جدول ۲ خلاصه تجزیه واریانس اثر آبیاری و ژنوتیپ و برهمکنش آنها بر صفات مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی، وزن خشک ریشه و کارایی مصرف آب چغندر قند

میانگین مربعات				درجه آزادی	منابع تغییر
پرولین	قرائت کلروفیل متر	وزن ویژه برگ	نشت الکترولیت		
۰/۰۱**	۷۷۳/۶۱**	۶/۲۹**	۲۱۷۲/۱۸**	۱۹۰۶۸۲۲/۶۹**	آبیاری
۰/۰۰۱**	۱۲۲/۹۶**	۰/۴۸	۶/۸۲	۷۶۷۴۴/۶۷	ژنوتیپ
۰/۰۰۰۶*	۸/۸۸	۰/۵۹	۴۵/۳۹	۶۶۲۸۴/۸۴	آبیاری×ژنوتیپ
۰/۰۰۰۲	۷/۹۰	۰/۲۵	۳۶/۷۹	۷۴۴۶۶/۲۸	اشتباه
۴۰/۹۶	۵/۶۲	۱۷/۴۴	۸/۶۰	۳۶/۷۸	ضریب تغییرات

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

ادامه جدول ۲

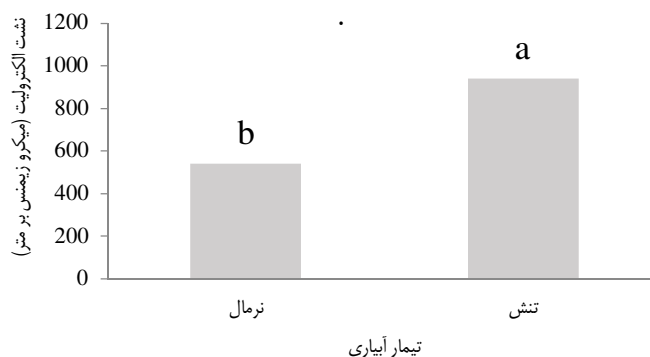
میانگین مربعات				درجه آزادی	منابع تغییر
سوپراکسید دیسموتاز	گلایسین-بتائین	مالون دی‌آلدئید	هیدروژن پراکسید		
۰/۳۳	۴۹۷۸/۲۲**	۱۷۵/۱۵	۱/۲۳	۱	آبیاری
۰/۱۶	۹۷/۲۴	۶۷/۳۶	۰/۳۰	۵	ژنوتیپ
۰/۱۶	۳۷/۵۸	۸۱/۱۳	۰/۵۶	۵	آبیاری×ژنوتیپ
۰/۱۹	۱۲۶/۸۷	۴۸/۳۷	۰/۵۲	۳۶	اشتباه
۳۶/۸۹	۶۶/۱۳	۲۷/۵۹	۲۴/۲۷		ضریب تغییرات

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

ادامه جدول ۲

میانگین مربعات		درجه آزادی	منابع تغییر
کارایی مصرف آب (براساس وزن خشک ریشه)	وزن خشک ریشه		
۰/۰۴*	۹۵۸/۷۴**	۱	آبیاری
۰/۱۷**	۱۹۲/۲۲**	۵	ژنوتیپ
۰/۰۱	۴۳/۵۰**	۵	آبیاری×ژنوتیپ
۰/۰۷	۱۰/۹۱**	۸۴	اشتباه

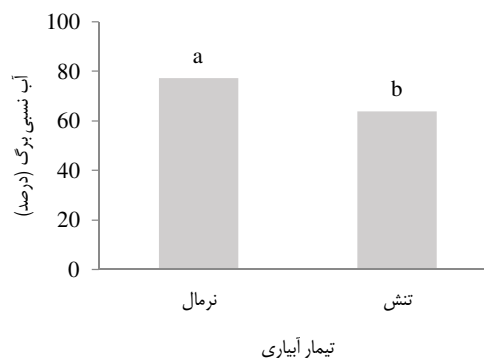
* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد



شکل ۱ مقایسه میانگین اثر تیمار آبیاری بر نشت الکتروولت (حروف a و b نشان دهنده گروه‌های آماری هستند).

میزان آب نسبی برگ

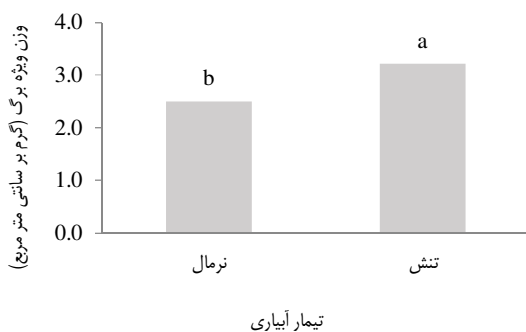
بر اساس نتایج مقایسه میانگین، میزان آب نسبی برگ در تیمار شاهد بسیار بیشتر از سطح تنش بود (به ترتیب برابر با ۷۷/۲۹ و ۶۳/۸۳ درصد) (شکل ۲).



شکل ۲ مقایسه میانگین اثر تیمار آبیاری بر میزان آب نسبی برگ (حروف a و b نشان دهنده گروه‌های آماری هستند)

وزن ویژه برگ

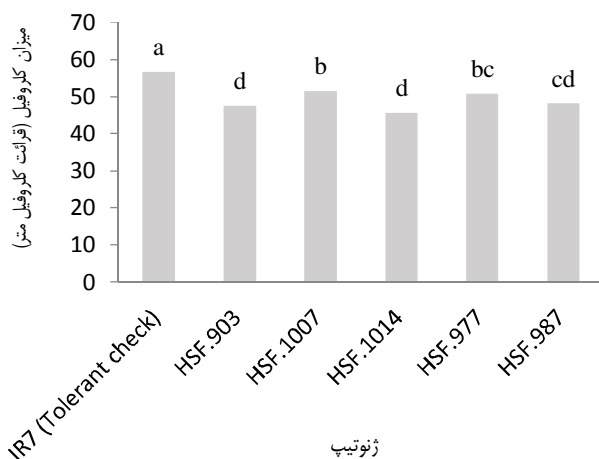
مقایسه میانگین اثر آبیاری بر وزن ویژه برگ نشان داد که با کاهش آبیاری، وزن ویژه برگ افزایش یافت به طوری که مقدار آن از ۲/۵۰ گرم بر سانتی‌متر مربع در سطح آبیاری نرمال به ۳/۲۳ گرم بر سانتی‌متر مربع در سطح تنش رسید (شکل ۳).



شکل ۳ مقایسه میانگین اثر تیمار آبیاری بر وزن ویژه برگ (حروف a و b نشان دهنده گروه‌های آماری هستند)

میزان کلروفیل

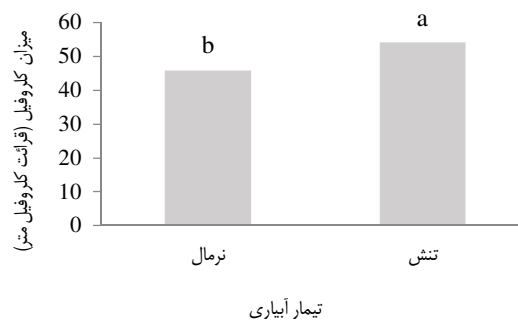
نسبت به شاهد به‌طور متوسط ۱۶ درصد افزایش در مقدار کلروفیل در تیمارهای تحت تنش نسبت به شاهد رخ داد. گزارش‌هایی وجود دارد که مقدار کلروفیل ارقام متحمل در شرایط تنش خشکی کمتر کاسته می‌شود. در برنج، افزایش مقدار کلروفیل در زمان تنش خشکی در ارقام متحمل به خشکی گزارش شده است. در جو نیز مقدار کاهش کلروفیل در شرایط تنش در ارقام مقاوم کمتر از ارقام حساس بود (Li et al. 2006). همچنین، نتایج این بررسی با مطالعه اومن و همکاران (Ommen et al. 1999) مطابقت دارد. ایشان بیان کردند که با افزایش شدت تنش خشکی از ۳۰ به ۱۵ درصد ظرفیت زراعی، میزان کلروفیل در برگ‌های گیاه گندم افزایش پیدا کرد.



شکل ۵ مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها از نظر مقدار کلروفیل (حروف a و b نشان دهنده گروه‌های آماری هستند).

تغییرات ارقام در تیمار تنش معنی‌دار بود به‌طوری که بیشترین میزان پروکلین در رقم ۶ حاصل شد که با رقم ۴ اختلاف آماری معنی‌داری نداشت (به ترتیب ۰/۰۸ و ۰/۰۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر). کمترین میزان پروکلین مربوط به رقم ۳ (۰/۰۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود که با رقم ۱ (۰/۰۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)

مقدار کلروفیل با کاهش آبیاری به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت، به‌طوری که مقدار آن در تیمارهای آبیاری نرمال و تنش به ترتیب برابر با ۴۶/۰۱ و ۵۴/۰۴ بود (شکل ۴). بیشترین مقدار کلروفیل (۵۶/۶۹) در بین ژنوتیپ‌ها مربوط به ژنوتیپ ۱ بود که نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها در سطح آماری بالاتری قرار گرفت و کمترین میزان آن در ژنوتیپ ۵ به میزان ۴۵/۵۸ مشاهده شد که با ژنوتیپ ۶ اختلاف آماری معنی‌داری نداشت (شکل ۵). بر همین اساس، در مطالعه زارع مهرجردی و همکاران (Zare Mehrjerdi 2012) بین ژنوتیپ‌های مختلف نخود تحت شرایط تنش خشکی، از نظر مقدار کلروفیل اختلاف معنی‌دار وجود داشت. ایشان مشاهده کردند که در ژنوتیپ MCC760 با وجود کاهش مقدار کلروفیل a در تیمار ۶- بار

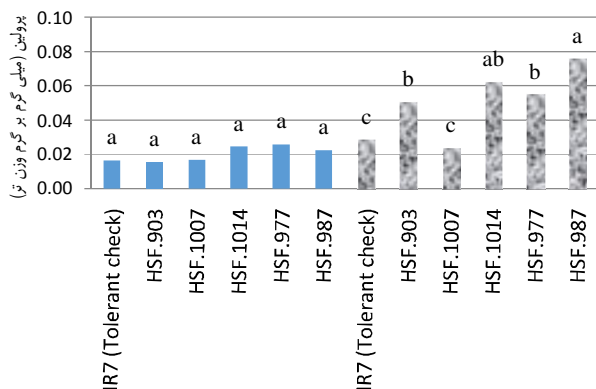


شکل ۴ مقایسه میانگین اثر سطوح آبیاری بر مقدار کلروفیل (حروف a و b نشان دهنده گروه‌های آماری هستند).

پروکلین

با توجه به معنی‌دار شدن برهمکنش آبیاری و رقم برای مقدار پروکلین، برای مقایسه میانگین‌ها از برش‌دهی فیزیکی استفاده شد (شکل ۶). بر این اساس، در آبیاری نرمال اختلاف معنی‌داری بین شش رقم مورد مطالعه مشاهده نشد در حالی که

در طی دو سال متوالی تکرار آزمایش وجود داشت به طوری که تجمع پرولین در شرایط تنش و عدم تنش با هم تفاوت معنی‌داری داشتند. همچنین، در این مطالعه ژنوتیپ‌های تحت تنش تفاوت معنی‌داری نشان دادند، در حالی که برهمکنش ژنوتیپ و سطح تنش بر خلاف نتایج پژوهش حاضر معنی‌دار نگردید که می‌تواند ناشی از شرایط انجام آزمایش و زمان اعمال تنش باشد.



شکل ۶ مقایسه میانگین برهمکنش اثر ژنوتیپ و آبیاری بر میزان پرولین

پراکسید هیدروژن، مالون دی‌آلدئید و سوپراکسید دیسموتاز

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس، اثر آبیاری، ژنوتیپ و برهمکنش آنها بر میزان پراکسید هیدروژن، مالون-دی‌آلدئید و سوپراکسید دیسموتاز معنی‌دار نبود (جدول ۲). لذا مقایسه میانگین برای این صفات انجام نشد. به نظر می‌رسد سطح تنش اعمال شده در حدی نبوده است که فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها برای مقابله با رادیکال‌های آزاد اکسیژن را القاء کند و به عبارت دیگر، تنش اکسیداتیو رخ نداده است.

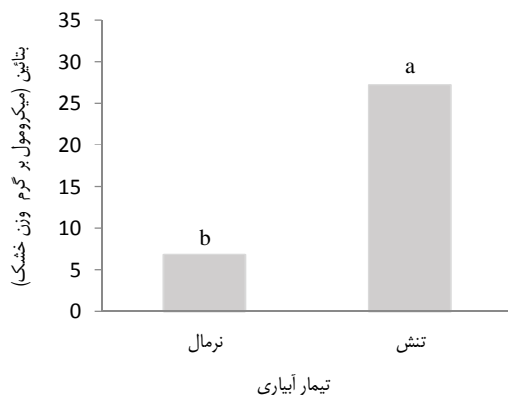
گلایسین-بتائین

مقایسه میانگین اثر آبیاری بر بتائین نشان داد که در تیمار شاهد، میزان بتائین برابر با ۶/۸۵ میکرومول بر گرم وزن خشک است که با کاهش آبیاری به شدت بر میزان بتائین

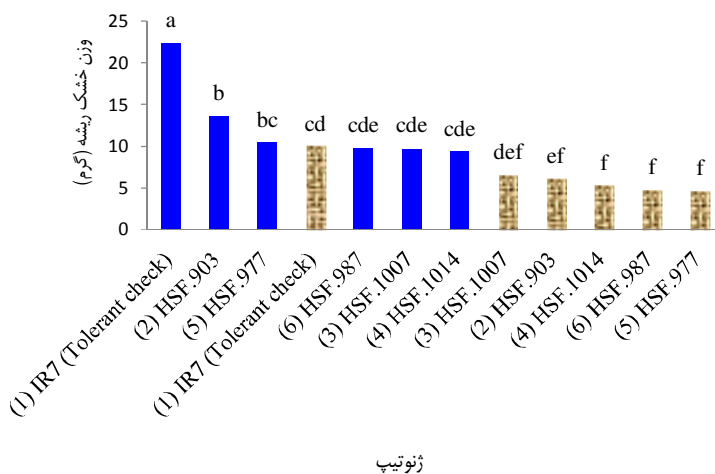
در یک سطح آماری قرار گرفت. به نظر می‌رسد که در شرایط تنش، میزان تجمع پرولین در ژنوتیپ‌های حساس بیشتر از ژنوتیپ‌های متحمل می‌باشد. در مطالعه محمدیان و همکاران (Mohammadian et al. 2001) نیز بیشترین میزان پرولین در ژنوتیپ PC9597 (حساس به خشکی) و کمترین میزان آن در ژنوتیپ 7233.P3 (متحمل به خشکی) مشاهده گردید.

تجمع پرولین آزاد یک پاسخ متداول به تنش در گیاهان عالی می‌باشد (Cecile et al. 1994). سودایی‌زاده و همکاران (Sodaeizadeh et al. 2016) با بررسی تأثیر تنش خشکی بر گیاه مرزه گزارش کردند که بیشترین میزان پرولین مربوط به تیمار ۲۵ درصد و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت. در واقع تجمع پرولین در اثر تنش خشکی یک واکنش عمومی است که به علت ساخت پرولین در بافت‌ها (Schonfeld et al. 1988)، ممانعت از اکسیداتیو پرولین و بازداری از شرکت پرولین در ساخت پروتئین‌ها صورت می‌گیرد (Pedrol et al. 2000). ممنوعی و سیدشرفی (Mamnoui and Seyedsharifi 2010) در مطالعه بررسی تنش خشکی بر شش ژنوتیپ جو نشان دادند که با افزایش سطوح تنش، مقدار پرولین افزایش یافت، به طوری که ارقامی که در تیمار آبیاری کافی قرار گرفتند، با میانگین ۴۳/۵۷ میکروگرم بر گرم وزن تر، کمترین مقدار پرولین را داشتند، در حالی که در تیمار تنش شدید با میانگین ۱۵۲ میکروگرم بر گرم وزن تر، بیشترین مقدار را نشان دادند. تجمع پرولین در بافت‌های گیاهی تحت شرایط تنش آبی به‌عنوان مکانیسمی در جهت حفظ فشار تورگر سلول، جذب آب و تحمل به خشکی در بسیاری از گیاهان زراعی گزارش شده است (Blum and Ebercon 1976; Heuer 1993). در مطالعه محمدیان و همکاران (Mohammadian et al. 2001) در بررسی تنش خشکی بر ژنوتیپ‌های چغندر قند مشاهده گردید که ۳۰ و ۳۶ درصد افزایش در غلظت پرولین برگ در شرایط تنش به ترتیب

صفت (۴/۶۵ گرم) متعلق به ژنوتیپ ۵ بود. وزن خشک ریشه در این ژنوتیپ با ژنوتیپ‌های ۲، ۳، ۴ و ۶ اختلاف معنی‌دار نداشت (شکل ۸).



شکل ۷ مقایسه میانگین اثر آبیاری بر میزان بتائین. (حروف a و b نشان دهنده گروه‌های آماری هستند.)



شکل ۸ مقایسه میانگین وزن خشک ریشه ژنوتیپ‌ها (حروف بالای ستون‌ها نشان دهنده گروه‌های آماری هستند. ستون‌های توپر و هاشور خورده به ترتیب شرایط نرمال و تنش را نشان می‌دهند).

کارایی مصرف آب

کارایی مصرف آب (براساس وزن خشک ریشه) در سطح آبیاری نرمال بسیار بیشتر از سطح تنش بود و از ۰/۹۴ به ۰/۸۱ گرم بر کیلوگرم کاهش یافت (شکل ۹). بیشترین کارایی مصرف آب ریشه (۱/۴۹ گرم بر کیلوگرم) در ژنوتیپ

افزوده شد به طوری که به ۲۷/۲۲ میکرومول بر گرم وزن خشک رسید (شکل ۷). گیاهان در مواجهه با تنش خشکی، واکنش‌های متفاوتی از خود بروز می‌دهند. یکی از رایج‌ترین این واکنش‌ها سنتز و تجمع ترکیب‌هایی با وزن مولکولی کم به نام حفاظت‌کننده‌های اسمزی است. این ترکیبات، پتانسیل اسمزی درون سلول‌ها را کاهش می‌دهند و به حفظ تورژسانس سلولی کمک می‌کنند. یون‌های غیرآلی، یون‌های آلی، کربوهیدرات‌های محلول شامل پلی‌ئول‌ها (قندها و الکل)، اسیدهای آمینه (پرولین) و ترکیبات آمونیم چهارگانه نظیر گلايسين-بتائين از جمله حفاظت‌کننده‌های اسمزی هستند که در شرایط تنش رطوبتی، در سلول‌های گیاهی تجمع می‌یابند (Soltani Gardfaramarzi et al. 2011). گلايسين-بتائين به‌طور کلی در کلروپلاست و به فراوانی یافت شده و نقش حیاتی در تنظیم و حفاظت از تیلاکوئید و حفظ راندمان فتوسنتز در گیاهان عالی دارد. این ماده به عنوان یک اسمولیت سیتوپلاسم، آنزیم‌ها و غشاها را از آثار پساییدگی حفظ می‌کند. تجمع گلايسين-بتائين در پاسخ به تنش، در بسیاری از گیاهان، از جمله چغندر قند، اسفناج، جو، گندم و سورگوم ثابت شده است. مطالعات آزمایشگاهی نشان داده است که گلايسين-بتائين منجر به افزایش پایداری دیواره سلولی در مقابل آثار سوء تنش‌های محیطی مانند تنش شوری، سرما و گرما می‌شود (Gorham et al. 2000; Teimoori et al. 2011). نتایج آزمایش خیرخواه و همکاران (Kheirkhah et al. 2016) نشان داد که ماده‌ی گلايسين-بتائين در شرایط تنش خشکی دارای اثرات مثبت ضد تنش برای چغندر قند می‌باشد.

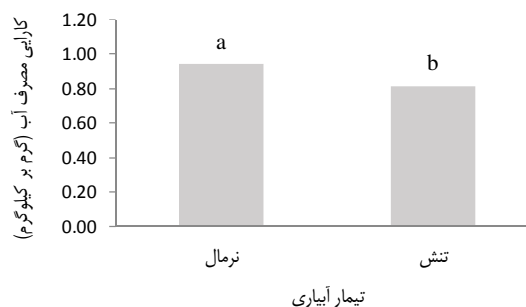
وزن خشک ریشه

میانگین وزن خشک ریشه از ۱۲/۵۱ گرم در آبیاری نرمال به ۶/۲۰ گرم در تیمار تنش کاهش یافت. بیشترین وزن خشک ریشه (۲۲/۳۲ گرم) در ژنوتیپ ۱ مشاهده شد که با همه ژنوتیپ‌ها اختلاف بسیار معنی‌داری داشت. کمترین میزان این

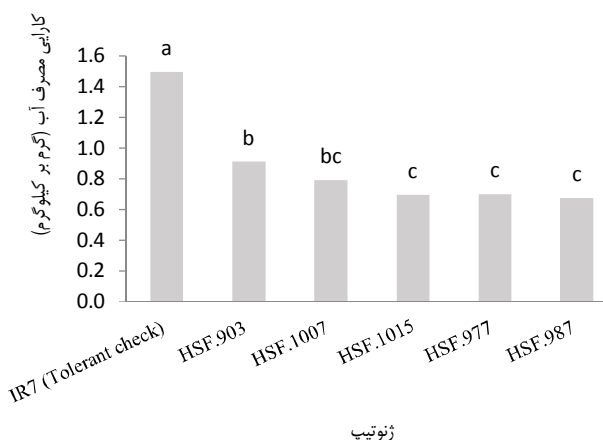
بین ژنوتیپ‌ها از نظر وزن خشک ریشه، کارایی مصرف آب، میزان کلروفیل و میزان پرولین برگ تنوع ژنتیکی وجود داشت. رقم IR7 توانست تحت شرایط تنش بیشترین وزن خشک ریشه را به خود اختصاص دهد. گیاه در مواجهه با تنش با افزایش وزن ویژه برگ، میزان کلروفیل، پرولین و بتائین با خشکی مقابله نمود. بیشترین میزان کلروفیل در ژنوتیپ ۱ و بیشترین مقدار پرولین در ژنوتیپ ۶ مشاهده گردید. از این رو به نظر می‌رسد که در شرایط تنش، ژنوتیپ ۱ از طریق تغییرات فیزیولوژیکی و ژنوتیپ ۶ از طریق تجمع اسمولیت‌ها به تنش کم‌آبی واکنش نشان می‌دهند. از میان آنتی‌اکسیدان‌ها، بتائین بیش از بقیه در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه توانست در جهت مهار رادیکال‌های مخرب نقش ایفا نماید.

با توجه به نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر در ارتباط با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ژنوتیپ‌ها تحت شرایط تنشبه نظر می‌رسد با کاهش مقدار آب نسبی برگ در شرایط تنش، بر ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد در برگ‌ها افزوده می‌شود. در این شرایط، به دلیل وجود این همبستگی منفی، نمی‌توان برآورد مناسبی از تأثیر مثبت تولید آنتی‌اکسیدان‌ها بر تحمل به تنش ارائه داد زیرا گیاهانی که در شرایط تنش خشکی از مکانیسم‌های اجتناب مناسب برخوردار می‌باشند، با تنش کمتری مواجه شده و در نتیجه از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کمتری نیز برخوردار می‌باشند. برای بررسی تأثیر تولید آنتی‌اکسیدان‌ها در تحمل به خشکی ژنوتیپ‌ها باید شرایط تنش خشکی یکنواخت و یکسانی را در برگ‌های تمام ژنوتیپ‌ها به‌وجود آورد.

IR7 (شاهد متحمل) مشاهده شد که با همه ژنوتیپ‌ها اختلاف بسیار معنی‌داری داشت. کمترین میزان این صفت متعلق به ژنوتیپ ۶ (HSF-987) بود که برابر ۰/۶۷ گرم بر کیلوگرم بود (شکل ۱۰).



شکل ۹ مقایسه میانگین کارایی مصرف آب (براساس وزن خشک ریشه) در دو تیمار آبیاری (حروف بالای ستون‌ها نشان دهنده گروه‌های آماری هستند).



شکل ۱۰ مقایسه میانگین کارایی مصرف آب ژنوتیپ‌ها برای وزن خشک ریشه (حروف بالای ستون‌ها نشان دهنده گروه‌های آماری هستند)

نتیجه‌گیری

در این تحقیق، تنش خشکی منجر به کاهش معنی‌دار وزن خشک ریشه، کارایی مصرف آب ریشه، آب نسبی برگ و افزایش معنی‌دار وزن ویژه برگ، نشت الکترولیت، میزان کلروفیل برگ (قرائت کلروفیل متر)، میزان پرولین و بتائین شد.

References:**منابع مورد استفاده:**

- Ambika Rajendran R, Muthiah AR, Manickam A, Shanmugasundaram P, Joel AJ. Indices of drought tolerance in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) genotypes at early stages of plant growth. Res. J. Agric. Biol. Sci. 2011; 7: 42-46.
- Azizpour K, Shakiba MR, KhoshKholgSima NA, Alyari H, Mogaddam M, Esfandiari E, Pessaraki M. Physiological response of spring durum wheat genotypes to salinity. J. Plant Nutr. 2010; 33: 859-873.
- Baiat H, Mardani H, Arooei H, Selahvarzi Y. Effect of Salisilic acid on morphophysiological traits of seedlings of cucumber (*Cucumis sativus* cv. Super Dominus) under drought stress condition. Journal of Plant Production Research. 2011; 18(3): 63-67.
- Bates LS, Waldren RP, Teare ID. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 1973; 39: 205-207.
- Blum A, Ebercon A. Genotypic response in Sorghum to drought stress, free proline accumulation and drought resistance, Crop Science. 1976; 16: 428-431.
- Cattivelli L, Rizza F, Badeck FW, Mazzucotelli E, Mastrangelo AM, Francia E, Mare C, Tondelli A, Stanca AM. Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. Field Crops Res. 2008. 105: 1-14.
- Cecile B, Patrick C, Chavargieff P. Light stress and oxidative cell damage in photoautotrophic cell suspension of *Euphorbia characias*. Plant Physiology. 1994; 106: 941-946.
- Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA. Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. Agron. Sustain. Dev. 2009; 29: 185-212.
- Gorham J, Jokinen K, Malik MNA, Khan IA. Glycine betaine treatment improves cotton yields in field trials in Pakistan. Proceedings of the World Cotton Research Conference II, Athens, Greece. 2000.
- Hashemi GR, Farnia A, Rahnamaeian M, Shaban M. Changes in carbohydrates and sugar yield in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) under different biofertilizers and irrigation closed time, International Journal of Advanced and Biomedical Research. 2014; 2 (8), 2350-2355.
- Heuer B. Osmoregulatory role of proline in water and salt stressed plants. In: Pessaraki M, editor. Handbook of plant and crop stress. Marcel Dekker Inc, USA. 1993; 363-379.
- Ilikaei MN, Habibi D, Foroozesh P, Taleghani DF, Rajabi A, Orojnia S, Davoodifar M. Study on quantitative and qualitative traits of different sugar beet genotypes under drought stress condition. Journal of Agronomy and Plant Breeding. 2012; 8(4): 127-144.
- Inze D, Van Montagu M. Oxidative stress in plants. Curr. Opin. Biotechnol. 1995; 6: 153-158.
- Iqbal S, Bano A. Water stress induced changes in antioxidant enzymes, membrane stability and seed protein profile of different wheat accessions. Afr. J. Biotechnol. 2009; 8: 6576-6587.

- Kheirkhah M, Farazi M, Dadkhah ER, Khoshnood Yazdi A. Use of Glycine, Tiofol and Salycilic acid in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) under water deficit conditions. *Journal of Crop Ecophysiology*. 2016; 10(1): 167-182.
- Layegh Khodyeki SHE, Lahooti M, Abbassi F. Comparative study on effect of drought stress on the rate of proline changes in *Salvia leritifolia* in soil culture medium and *In-vitro*. *Journal of Biosciences*. 2010; 12(4): 105-115.
- Li RH, Guo PG, Michael B, Stefania G, Salvatore C. Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley. *Agric. Sci. China*. 2006; 5: 751-757.
- Loreto F, Velikova V. Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. *Plant Physiology*. 2001; 127:1781-1787.
- Mamnoui A, Seyedsharifi R. Study on effect of water deficit on chlorophyll fluorescence and proline content in six barley genotypes and its relation with canopy temperature and yield. *Plant Biology*. 2010; 2(5): 51-62.
- Masoumi E, Kafi M, Nabati J, Khazaei HR, Davari K, Zare Mehrjerdi M. Effect of drought stress on leaf water status and electrolyte leakage, photosynthesis and chlorophyll fluorescence at different growth stages of two *Kochia* (*Kochia scoparia*) populations under salt stress condition *Iranian Journal of Field Crops Research*. 2012; 10(3): 476-484.
- Meloni DA, Oliva MA, Martinez CA, Cambraia J. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Environ. Exp. Bot*. 2003; 49: 69-76.
- Mohammadian R, Khoyi FR, Rahimian H, Moghaddam M, Ghassemi-Golezani K, Sadeghian SY. The effect of early season drought on stomatal conductance, leaf-air temperature difference and proline accumulation in sugar beet genotypes. *J. Agri. Sci. Techno*. 2001; 3: 181-193.
- Moussa HR. Influence of exogenous application of silicon on physiological response of salt stressed Maize (*Zea mays* L.). *International Journal of Agriculture and Biology*. 2006; 8 (2): 293-297.
- Ober ES, Luterbacher MC. Genotypic variation for drought tolerance in *Beta vulgaris*. *Annals of Botany*. 2002; 89: 917-924.
- Ober ES, Bloa, ML, Clark CJA, Royal A, Jaggard KW, Pidgeon JD. Evaluation of physiological traits as indirect selection criteria for drought tolerance in sugar beet. *Field Crops Research*. 2005; 91:231-249.
- Ojani S, Habibi D, Taleghani DF, Safari Dolatabadi SA, Pazooki S, Moazeni M, Rahimi R, Farshidi M. Evaluation of yield and yield components of sugar beet genotypes under drought stress condition. *Journal of Agronomy and Plant Breeding*. 2012; 8(1): 127-144.
- Ommen OE, Donnelly A, Vanhoutvin S, Vanouijen M, Manderscheid R. Chlorophyll content of spring wheat flag leaves grown under elevated CO₂ concentration and other environmental stress within `ESPACE-Wheat` project. *Euro. J. Agron*. 1999; 10: 197-203.

- Pedrol N, Ramos P, Riegosa MJ. Phenotypic plasticity and acclimation to water deficits in velvet-grass: a long-term greenhouse experiment. Changes in leaf morphology, photosynthesis and stress-induced metabolites. *Plant Physiology*. 2000; 157: 383-393.
- Peymaneh Z, Zarei M, Ronaghi A.H. Effect of *Glomus musei* fungus on root dry matter yield, proline, protein and nitrogen uptake in the root of Raflemon and sour orange under drought stress condition. First National Conference on Approaches to Achieve Sustainable Development in Agriculture, Natural Resources and Environment. 2013; 1-5.
- Pourmusavi SM, Galvi M, Daneshian J. Effect of manure on cell membrane stability and chlorophyll content of soybean in drought stress condition. 2006. Proceedings of the 9th Iranian Agronomy and Breeding Sciences Congress, Aboureihan Campus, University of Tehran.
- Rajabi A, Ranji Z, Ahmadi M, Khorshid, AM. Management of drought stress in sugar beet. In: Taleghani DF, Sadeghzadeh Hemayati S, Mesbah M, editors. Strategic Framework for Sugar Beet Research. 2013; 127-134.
- Sayfzadeh S, Rashidi M. Response of antioxidant enzymes activities of Sugar Beet to drought stress. *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*. 2011; 6(4):27-33.
- Schonfeld MA, Johnson RC, Carver BF, Mornhinweg DW. Water relation in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Science*. 1988; 28:526-531.
- Shaw B, Thomas TH, Cooke DT. Responses of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) to drought and nutrient deficiency stress, *Plant Growth Regulation*. 2002; 37:77-83.
- Shiferaw B, Baker DA. An evaluation of drought screening techniques for *Eragrostis tef*. *Tropical Science*. 1996; 36: 74-85.
- Sodaeizadeh H, Shamasaei M, Tajamolian M, Mirmohammadi Meibodi SEM, Hakimzadeh ME. Study on effect of drought stress on some morphophysiological traits of savory (*Satureja hortensis*). *Journal of Plant Process and Function*. 2016; 5(15): 1-12.
- Soltani Gardfaramarzi MK, Omidi H, Habibi H, Lebschi MH, Zarezadeh E. Study on effects of different rates of glycine-betaine on morphological traits and yield of chamomile varieties (*Matricaria chamomila* L.) under drought stress in Yazd, Iran. *Journal of Iranian Aromatic and Medicinal Plants Research*. 2011; 27(2); 289-297.
- Stewart BA, Musick JT, Dusek DA. Yield and water use efficiency of grain Sorghum in a limited irrigation_dryland farming system. *Agronomy Journal*. 1983; 75: 629-634.
- Taleghani DF, Mohammadian R, Sadeghzadeh Hemayati S. Autumn sugar beet, Guidelines for sowing, husbandry and harvest. Agriculture Research, Education and Extension Organization, Sugar Beet Seed Institute, Karaj, Iran. 2014; 89 pp.
- Teimoori M, Abdollahi Maivan M, Nezhadhasan B, Geraei P. Study of drought index pattern in Iran. First National Conference of Drought and Climate Change. Research Center for Water Shortage and Drought in Agriculture and Natural Resources, Iran. 2011; 883-888.

Yadava U. A rapid and nondestructive method to determine chlorophyll in intact leaves. *Horticulture Science*. 1989; 21: 1449-1450.

Zare Mehrjerdi M, Bagheri EA, Bahrami AR, Nabati J, Masoumi E. Effect of Drought stress on photosynthetic characters, phenolic compounds and capacity of suppression of reactive radicals in different chickpea genotypes (*Cicerarietinum*L.) in hydroponic culture. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Cultures*. 2012; 3(12): 59-76.

Zarei M, Peymaneh Z, Ronaghi EH, Kamgar Hghighi EA, Shahsavari ER. Effect of Mycoriza arbuscular fungus on growth and physiological parameters of Raflemon root-stock under water stress condition. *Journal of Water and Soil (Agricultural Sciences and Industries)*. 2013; 27(3): 485-494.