مجله زارعت و اصلاح نباتات
جلد ۸، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۱
صفحات ۹۹-۸۷

بررسی خصوصیات بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های مختلف چغندرقند تحت شرایط خشکی

Evaluation of biochemical traits of different sugar beet genotypes under drought stress

محمد نبی ایلکایی[۱]، پیمان فروزش[۱]، داود حبیبی[۱]، داریوش فتح الله طالقانی[۲]، اباذر رجبی[۲]، سهیل عروج نیا[۳]، مهدی داودی فرد[۳]

چکیده

به منظور بررسی جنبه‌های فیزیولوژیکی تنش کم آبی بر صفات مهم کمی ۱۴ ژنوتیپ چغندرقند آزمایش دوساله در سال‌های ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ به صورت کرت‌های خردشده (Split plot) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار انجام گرفت. آزمایش در مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند کمال شهر کرج (با عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۵۹ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۷۵ دقیقه شرقی به ارتفاع ۱۳۱۳ متر بالاتر از سطح دریا)، اجرا شد. سطوح آبیاری در این آزمایش شامل دو سطح (S1: آبیاری نرمال بصورت تبخیر پس از ۸۰ میلی لیتراز طشتک کلاس A و S2: تنش کم آبی به صورت تبخیر پس از ۱۸۰ میلی لیتراز طشتک کلاس A) بودند که از طریق تغییر در دور آبیاری اعمال شدند. آبیاری از زمان کشت تا استقرار کامل گیاه (مرحله شش تا هشت برگی) برای کلیه تیمارها مشابه و از این مرحله به بعد بر اساس میزان تبخیر از طشتک تبخیر کلاس A برای هر تیمار انجام شد. بین تیمارهای آبیاری از لحاظ میزان فعالیت SOD در سطح آماری ۱ % اختلاف معنی‌دار وجود داشت به طوری که بیشترین میزان فعالیت آنزیم در تیمار تنش خشکی به میزان ۱۴۷۹/۷۴ (میلی گرم پروتئین/واحد) و کمترین میزان آن در تیمار آبیاری نرمال به مقدار ۱۳۳۴/۴۴ (میلی گرم پروتئین/واحد) دیده شد. بین ارقام مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری از لحاظ میزان فعالیت آنزیم در سطح آماری ۵ % دیده شد. بین تیمارهای آبیاری از لحاظ تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح آماری ۱ % تفاوت معنی‌دار وجود داشت. بیشترین میزان فعالیت آنزیم در تیمار تنش خشکی به میزان ۱۱۸/۵۸ (میلی گرم پروتئین/واحد) و کمترین مقدار فعالیت آن در تیمار آبیاری نرمال به میزان ۹۸/۳۳ (میلی گرم پروتئین/واحد) بدست آمد. فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بین تیمارهای آبیاری تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ % دیده شد. به طوری که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در تیمار تنش خشکی به میزان ۶۷/۹۵ (میلی گرم پروتئین/واحد) و کمترین میزان این آنزیم در تیمار نرمال آبیاری به میزان ۵۵/۱۷ (میلی گرم پروتئین/واحد) دیده شد. بین تیمارهای آبیاری از لحاظ میزان مالون دی‌آلدئید تولید شده تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ % وجود داشت به طوری که بیشترین میزان مالون دی‌آلدئید به مقدار ۷۲/۹۴ (میلی گرم پروتئین/نانومول) و کمترین میزان آن به مقدار ۶۴/۴۴ (میلی گرم پروتئین/نانومول) بدست آمد. بین ارقام مورد مطالعه برای تغییرات این صفت تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ % دیده شد. بین ارقام مختلف و همچنین تیمارهای آبیاری تفاوت معنی داری در عملکرد ریشه مشاهده نشد. بیشترین میزان عملکرد ریشه در ارقام ۵ و ۹ و ۱۴ و هم چنین کمترین میزان آن در رقم ۲ مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: چغندرقند، تنش خشکی، ژنوتیپ، عملکرد ریشه، فعالیت آنتی اکسیدانت، مالون دی آلدئید.

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، گروه زراعت، کرج، البرز، ایران
۲- موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند
۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رودهن، گروه زراعت، رودهن، ایران

مقدمه

نیاز شدید به تأمین مواد غذایی برای جمعیت رو به رشد و ایجاد امنیت غذایی ایجاب می‌کند که در حد امکان میزان تولیدات کشاورزی در کشور افزایش یابد، لذا نیاز به برنامه ریزی دقیق تر برای استفاده بهینه از منابع آب موجود بویژه در مصرف کشاورزی که قسمت عمده مصرف منابع آب کشور را تشکیل می‌دهد احساس می‌گردد (فرشی و همکاران، ۱۳۷۶). کم آبیاری یک راهکار بهینه برای به عمل آوردن محصولات تحت شرایط کمبود آب است. کم آبیاری اگرچه موجب کاهش عملکرد می‌گردد، اما بایستی در نظر داشت که کاهش عملکرد بستگی به زمان اعمال تنش کم آبیاری دارد. کم آبیاری ممکن است علاوه بر صرفه‌جویی در مصرف آب، دارای منافعی برای محصول باشد. بطور مثال باعث کاهش بیماری‌ها و آفات می‌گردد. همچنین آبشویی کودها از منطقه ریشه را به حداقل رسانده و تهویه خاک را بهبود می‌بخشد (خیرابی و همکاران، ۱۳۷۵). گیاهان زراعی مختلف ممکن است عکس العمل‌های متفاوتی در مقابل کم آبیاری و در نتیجه تنش کم آبی از خود نشان دهند (خیرابی و همکاران، ۱۳۷۵). اگر به توان با بهره گیری از برنامه‌های اصلاحی ارقامی از چغندرقند را که از مقاومت 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. یکی از گیاهان زراعی مهم مقاوم به کم آبی، چغندر قند می‌باشد (Scott and Jaggard, 1993; Hills et al,1990).

اثرات تنش آب بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت

تجمع اکسیژن ویژه فعال (Aos) بعنوان یک اعلام خطر جهت پاسخ دفاعی سلول گیاهی در برابر شرایط تنش‌های محیطی مطرح می‌باشد. مرگ سلولی در بافت‌های گیاهی به درجه شدت اکسیداتیو حاصل از تنش‌های محیطی مختلف وابسته است. کاتالاز (CAT) یکی از مهمترین آنزیم‌هایی است که در تجزیه پرواکسیدهای سلولی (در شرایط تنش محیطی) نقش دارد. آنزیم کاتالاز در اندامک‌های سلولی چون میتوکندری، پراکسی زوم و گلی اکسی زوم وجود دارند (Sinclair, 1985). طبق گزارش کندال و همکاران (Kendall et al., 1989) ارقام جو زراعی موتانت (جهش یافته) در شرایط تنش در اثر ایجاد تنفس نوری شدید و افزایش پراکسید نتوانستند مقاومت خوبی از خود نشان دهند. افزایش فعالیت کاتالاز جهت کاهش پراکسیداز در هنگام تنش‌های مختلف گیاهان زراعی گندم، جو سویا، نخود، در مقاومت گیاه به شرایط تنش نقش مهمی ایفا نموده است (کافی و مهدوی دامغانی، ۱۳۷۹). ایجاد پاسخ فیزیولوژی در گیاهان و شناسایی آنها منجر به ایجاد فنوتیپ‌های مناسب می‌گردد. دانش ما در فرایندهای سازگاری در سطح مولکولی هنوز ناقص است. تحقیقات انجام شده در بافت‌های گیاهان که سریعاً تحت تنش قرار گرفته‌اند و همچنین گیاهانی که سازگاری تدریجی نسبت به خشکی داشته اند، اندک است. طبق نتایج برخی از پژوهشگران افزایش سطوح گلوتاتیون ردوکتاز در گیاهان ترانس ژنیک ممکن است برای کاهش حساسیت به برخی از تنش‌های محیطی سودمند باشد (Fridovich, 1995). گیاهان در شرایط تنش آبی بر حسب گونه، واکنش‌های متفاوتی را از خود نشان می‌دهند. اخیرا تکنیک‌های مولکولی پیشرفته و قابل اطمینان جهت جداسازی ارقام متحمل به تنش آبی به دست آمده که یکی از این روش‌ها تعیین میزان فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز می‌باشد. برخی از آنتی اکسیدان‌ها در مقابل تنش سرمایی عکس العمل نشان داده و تغییراتی در میزان فعالیت آنها صورت گرفته است. همچنین برخی از ارقام بتدریج طی دوره‌های تنش سرمایی با شرایط محیط سازگار شده و بر اساس تغییرات ژنی عکس العمل بهتری در مقابل افزایش میزان آنتی اکسیدان تحت شرایط تنش محیطی از خود نشان داده است.

(Foyer and Harbinson, 1994)

طبق گزارش‌های برخی از پژوهشگران، آنتی اکسیدان افزایش یافته در تنش سرمایی بر گندم مانع افزایش میزان H_2O_2 گردیده و از خطر تخریب سلولی جلوگیری کرده

است (Foyer and Harbinson, 1994). برخی از محققین گزارش نمودند که میزان فعالیت سوپر اکسیددیسموتاز به انتقال بوته‌های برنج از دمای ۵ به ۲۵ درجه سانتی گراد افزایش نشان داده که این پدیده نیز در گیاهانی چون نخود، ذرت، چاودار و گندم مشابه بود. (Fridovich ,1995)

سوپر اکسیددیسموتاز[1] (SOD)

گیاهان گروهی از سازش‌های مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی را در پاسخ به تنش آب نشان می‌دهند که از آن جمله می‌توان به تغییرات برخی آنزیم‌ها مانند پراکسیدازها اشاره نمود (قوژدی، ۱۳۸۴) آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در گیاهان نقش حفاظتی به عهده دارد. SOD یک آنزیم ضد اکساینده می‌باشد که آنیون‌های سوپراکسید بسیار فعال را کاتالیز نموده و تبدیل آن به اکسیژن و انواع کم فعالیت پراکسید ئیدروژناز را بر عهده دارد SOD. (Jose et al., 1999) باعث پایداری غشاء سلول‌های گیاهان در شرایط خشکی می‌شود و در تنش سرما افزایش سطح سوپر اکسیددیسموتاز و کاتالاز در گیاهان مقاوم شده به سرما به جلوگیری از آسیب‌های فتودینامیکی کمک می‌کند زیرا ممکن است سطوح سوپراکسید و مواد اکسید شده تک اکسیژنه در بافت سرمازده افزایش یابد (Jose et al., 1999). برخی از محققین گزارش نمودند که میزان فعالیت سوپراکسیددیسموتاز با انتقال بوته‌های برنج از دمای ۵ به ۲۵ درجه سانتی گراد افزایش نشان داده که این پدیده نیز در گیاهانی چون نخود، ذرت، چاودار و گندم مشابه بود (کافی و مهدوی دامغانی، ۱۳۷۹). بولر و همکاران (Bowler et al., 1992) نشان دادند که برخی از آنتی اکسیدانت‌ها در مقابل تنش سرمایی عکس العمل نشان داده و تغییراتی در میزان فعالیت آنها صورت گرفت سوپراکسیددیسموتاز می‌تواند با انواع رادیکال‌های هیدروکسیل خطرناک و H_2O_2 که فسفولیپیدها را نابود می‌کنند به طور غیر آنزیماتیک مقابله نماید. فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در گیاه با بکار بردن علفکش‌هایی نظیر پاراکوآت، افزایش غلظت دی اکسید گوگرد در اتمسفر، تنش خشکی و یا قرار گرفتن در غلظت بالایی از عناصر روی و منیزیم افزایش می‌یابد (Fridovich, 1995).

کاتالاز[2] (CAT)

آنزیم کاتالاز از سلول‌ها در برابر پراکسید هیدروژن محافظت می‌کند. کاتالاز برای برخی انواع سلول‌ها تحت شرایط طبیعی الزامی بوده و نقش مهمی در کسب مقاومت در برابر تنش اکسایشی در واکنش‌های تطبیقی سلولها بازی می‌کند. یافته‌های بیوشیمیایی نشان می‌دهد که کاتالاز در سلول‌های گیاهی تنها در پراکسی زوم و گلی اکسی زوم مستقر می‌باشد. احتمالاً کاتالاز در این دو اندامک، تخریب H_2O_2 تولید شده از فعالیت اکسیدازهای فلاوین را کاتالیز می‌کند. کاتالاز آنزیمی است که از یون‌های فلزی به عنوان کوفاکتور استفاده می‌نماید (ساعی، ۱۳۸۳).

تحقیقات انجام شده نشان داد افزایش فعالیت کاتالاز جهت کاهش اثرات پراکسیداز در هنگام تنش‌های مختلف گیاهان زراعی گندم، جو، سویا و نخود در مقاومت گیاه به تنش نقش مهمی ایفا نموده است (کافی و مهدوی دامغانی، ۱۳۷۹). نتایج تحقیقات انجام شده بر پنج ژنوتیپ توت تحت شرایط تنش خشکی نشان می‌دهد که کلیهٔ آنتی اکسیدانت‌های کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون ردوکتاز تحت شرایط تنش خشکی افزایش می‌یابد. نتایج مقایسه ارقام فوق با فعالیت تک تک آنزیم‌ها از نظر میزان فعالیت یکسان بوده است یعنی ژنوتیپی که بیشترین فعالیت آنزیم SOD را داشت فعالیت سایر آنزیم‌ها نیز در بالاترین سطح بود (Ramachandra et al, 2004).

متابولیسم‌های دفاعی گیاهان در برابر تنش‌های اکسیداتیو

گیاهان برای مقابله با تنش‌های اکسیداتیو از دو نوع مکانیسم

1- Super Oxide Dismutase (SOD)

2- Catalase (CAT)

استفاده می کنند:

۱- Scavenging: که گیاه گونه‌های فعال اکسیژن را با استفاده از آنتی اکسیدانت‌های آنزیمی و غیر آنزیمی جاروب می کند.

۲- Avoidance: اجتناب از تولید گونه‌های فعال اکسیژن.

طبقه بندی آنتی اکسیدانتها

به طور کلی آنتی اکسیدانت‌ها در دو گروه اصلی قرار می گیرند:

۱- لیپوفیل (چربی دوست)

۲- هیدروفیل (آبدوست).

آنتی اکسیدانت‌ها یا طبیعی هستند و یا مصنوعی. در سال‌های اخیر بنا به توجه ویژه به مسائل سلامتی، توجه زیادی به آنتی اکسیدانت‌های طبیعی معطوف شده است و تحقیقات گسترده‌ای به منظور بکارگیری این ترکیبات در مواد غذایی به جای آنتی اکسیدانت‌های غیر طبیعی در دست اجرا قرار گرفته است (حبیبی، ۱۳۸۱).

آنتی اکسیدانت‌های طبیعی شامل سه دسته می‌باشند:

۱- گونه‌های مولکولی مانند فلاون‌ها، ایزوفلاون‌ها، کومارین‌ها، لیپیدها، آلکالوئیدها، ترکیبات فنلی، کارتنوئیدها و غیره که در بین آنها ترکیبات فنلی از اهمیت بیشتری برخوردارند.

۲- سیستم‌های ضد اکسایشی آنزیمی: فعالترین آنزیم‌های این دسته از آنتی اکسیدانت‌ها، پروتئینهای حاوی فلز هستند که از جملهٔ آنها می‌توان به SOD اشاره کرد.

۳- ویتامین‌ها: جزء آنتی اکسیدانت‌های طبیعی اند. توانایی به دام انداختن رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول‌های گیاهی و حیوانی به وسیلهٔ ویتامین‌های A , E , C , K مورد تأیید قرار گرفته است که در بین آنها ویتامین E و به ویژه آلفاتوکوفرول مؤثرترین نوع آنتی اکسیدانت طبیعی ویتامینی شناخته شده است. ثابت شده اگر ویتامینهای C و E به صورت ترکیب با یکدیگر به کار برده شوند اثر بخشی بیشتری از خود نشان می‌دهند. ویتامین E به دلیل محلول بودن در چربی‌ها و ویتامین C به دلیل محلول بودن در آب هر یک به طور جداگانه رادیکال‌های آزاد را حذف خواهند کرد.

بنابر اهمیت فعالیت برخی از آنتی اکسیدانت‌های مهم سلولی در شرایط تنش خشکی در بهبود تحمل گیاه، ما در این آزمایش به تغییرات فعالیت‌های آنزیمی برخی از آنتی اکسیدانت‌های مهم و اثرات آن‌ها بر عملکرد ریشه چهارده ژنوتیپ چغندر قند تحت شرایط آبیاری نرمال و شرایط تنش خشکی پرداخته ایم.

مواد و روش‌ها

مشخصات محل اجرای آزمایش

این تحقیق در طی سال‌های ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ در ایستگاه تحقیقاتی ۴۰۰ هکتاری مهندس مطهری مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند در کمال شهر کرج با عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۵۹ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۷۵ دقیقه شرقی و به ارتفاع ۱۳۱۳ متر بالاتر از سطح دریا اجرا شد.

این منطقه با داشتن ۱۸۰ - ۱۵۰ روز و گاهی تا ۲۰۰ روز خشک در طول سال و زمستان سرد و مرطوب و تابستان گرم و خشک، جزء مناطق آب و هوایی مدیترانه‌ای گرم با رژیم رطوبتی خشک و با داشتن زمستان سرد و مرطوب و تابستان گرم و خشک جزو مناطق نیمه خشک محسوب می‌شود. متوسط ۳۵ ساله بارندگی در منطقه برابر ۲۴۸ میلیمتر و حداقل و حداکثر میزان بارندگی سالیانه طی این دوره به ترتیب ۲۴۰ و ۳۰۰ میلیمتر گزارش شده، بیشترین میزان ریزش باران در اواخر پاییز و اوایل بهار صورت می گیرد. اطلاعات مربوط به میزان بارندگی ماهانه در طول فصل کاشت تا برداشت تحقیق در جدول -۱ درج شده است. حداکثر مطلق، حداقل مطلق و متوسط درجه حرارت منطقه بر اساس آمار ۳۰ ساله ایستگاه هواشناسی کرج به ترتیب ۴۰+، ۱۸- و ۱۳/۵+ درجه سانتیگراد است. خاک محل اجرای طرح، خاک با بافت خیلی سنگین و وجود لایه‌ای سخت و فشرده در زیر لایه سطحی و جزء خاک‌های قهوه‌ای آهکی می‌باشد. پس از آماده شدن زمین و قبل از اجرای آزمایش و افزودن هر گونه کودی به خاک، از دو عمق ۳۰-۰ و ۶۰ -۳۰ سانتیمتر به روش تصادفی از چند نقطه مزرعه نمونه خاک تهیه و با مخلوط کردن نمونه‌های هر

عمق نمونه‌ای مرکب برای هر عمق تهیه و جهت تجزیه کامل به آزمایشگاه شیمی خاک مؤسسه تحقیقات چغندرقند ارسال شد.

جدول ۱- مقدار بارندگی ماهانه در طول دوره رشد (بر حسب میلی متر)
Table 1- Rate of month rainfall in during growth stage (mm)

(کرج ۱۳۸۸)

فروردین	اردیبهشت	خرداد	تیر	مرداد	شهریور	مهر	آبان
۴۲/۲	۴۳/۵	۲/۵	۳/۵	۰	۲۹/۷	۵۲/۲	۳۵/۸

مأخذ: ایستگاه هواشناسی کرج

تیمارهای مورد آزمایش

تیمارهای آزمایش به عنوان کرت‌های اصلی شامل دو سطح آبیاری S1: آبیاری نرمال بصورت تبخیر پس از ۸۰ میلی لیتراز طشتک کلاس A و S2: تنش کم آبی به صورت تبخیر پس از ۱۸۰ میلی لیتراز طشتک کلاس A بودند که از طریق تغییر در دور آبیاری اعمال شدند. آبیاری از زمان کشت تا استقرار کامل گیاه (مرحله شش تا هشت برگی) برای کلیه تیمارها مشابه و از این مرحله به بعد بر اساس میزان تبخیر از طشتک تبخیر کلاس A برای هر تیمار انجام شد. تیمار بعدی شامل چهارده ژنوتیپ چغندر قند بودند که در کرت‌های فرعی قرار گرفتند.

جدول ۲- کد گذاری ۱۴ ژنوتیپ چغندر قند
Table 2- Coding of 14 sugar beet cultivars

No.	Genotypes ژنوتیپ ها	No.	Genotypesژنوتیپ ها
1	BP Mashad	8	(7112*261)*BPM-S2 Sucep.
2	(7112*261)*BP Mashad	9	IR7
3	BPM-S2 Res.	10	Jolge
4	(7112*261)*BPM-S2 Res.	11	SBSIDRI-HSF-14.P 32
5	BPM-S2 Semires.	12	(436*231)*SBSIDRI-HSF-14.P 32
6	(7112*261)*BPM-S2 Semires.	13	BP Karaj
7	BPM-S2 Sucep.	14	IR01MSFD1*BP karaj

نمونه گیری و روش آن

عملیات نمونه گیری جهت تعیین عملکرد ریشه، عملکرد قند خالص، عیار قند، درصد پتاسیم و سدیم جهت تعیین اختلافات موجود بین تیمارهای مختلف آزمایش انجام شد. از ۴ ردیف کشت شده هر کرت فرعی دو ردیف طرفین به عنوان حاشیه کرت، در نظر گرفته شد.

تیمار آبیاری

اعمال تیمارهای آبیاری با استفاده از میزان اندازه‌گیری میزان تبخیر از سطح تشتک تبخیر اعمال شد. هر کرت آزمایشی به طور مستقل از دیگر کرت‌ها به صورت نشتی و کرت بسته آبیاری می‌شد. تیمارهای آبیاری نیز با دو سطح شامل آبیاری

نرمال و آبیاری پس از ۱۸۰ میلیمتر تبخیر از سطح تشتک تبخیر کلاس A انجام شد. میزان آب وارد شده به کرت در هر نوبت آبیاری نیز با استفاده از پارشال فلوم اندازه‌گیری می‌گردید.

اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی اکسیدانت

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز[1] (SOD)

جهت محاسبهٔ میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز ۳ عدد برگ از هر برگ فرعی در هنگام صبح قبل از گرم شدن هوا از مزرعه برداشت شد. سعی بر آن بود که برگ‌ها کاملاً جوان و گسترده باشند. برگها داخل نایلون اتیکت گذاری شده قرار گرفت و در یخدانی که کف آن از یخ پوشیده شده بود قرار داده شد و به آزمایشگاه منتقل گردید. سپس توسط با استفاده از روش (Misra and Fridovich ,1972)میزان فعالیت آنزیم تعیین شد. ابتدا محلول بافر تریس (حاوی فسفات، دی سدیک، pH = ۷/۲) به همراه ۱/۳ میلی مول EDTA و ۰/۱ میلی مول کربنات منو سدیک تهیه شد و سپس از اپی نفرین با غلظت ۰/۲۵ میلی مول به عنوان سوبسترا استفاده شد. آنگاه محلول تهیه شده را به آن اضافه کردیم، حال تغییرات جذب نوری حاصله از اکسیداسیون اپی نفرین، به عنوان فعالیت آنزیمی ارزیابی شده و از آنزیم استاندارد و خالص جهت استاندارد نمودن نتایج استفاده گردید به طوری که واحد آن قادر به اکسیداسیون ۰/۵ میلی مول اپی نفرین در یک دقیقه باشد.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز[2] (GPX)

در ابتدا برگ‌های منتقل شده به آزمایشگاه با آب مقطر شستشو داده شدند. بلا فاصله در بافر فسفات تریس ۰/۱۶ مولار با pH = ۷/۵ وارد شده سپس خرد و هموژن شدند. آنگاه اجازه داده شد در حضور حجم مشابه از همان بافر حاوی دیجیتونین و آنزیم هضم کننده، دیواره، فرآیند هضم غشاء و دیوارهٔ سلول انجام شود. در پایان مقدار ۰/۵ میلی لیتر از محلول هموژن برای سنجش پروتئین برداشت شد و مقدار پروتئین آن بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر تعیین گردید. سپس طبق روش (۱۹۹۷) Paglia در باقیمانده محلول استخراجی مقدار آنزیم گلوتاتیون اندازه گیری شد. عصارهٔ استخراجی به محلول بافر حاوی فسفات منو پتاسیک ۰/۵۶ مول (pH = ۷/۵)، همراه ۱/۲ میلی مول EDTA و یک میلی مول NaNo3 و ۰/۲ میلی مول NADPH وارد شد. سپس به آن ۰/۲ میلی لیتر گلوتاتیون احیاء به همراه ۰/۱ میلی مول از آب اکسیژنه اضافه گردید. در این مرحله بلافاصله میزان اکسیداسیون NADPH، از طریق تعیین مقدار تغییر جذب در ۳۴۰ نانو متر در ۳۰ درجه سانتی گراد توسط دستگاه اسپکترو فتومتر (مدل:Shimadzu – u100) اندازه گیری گردید. همزمان یک محلول بلانک حاوی تمام مواد فوق بدون حضور عصاره استخراجی برای تصحیح و حذف خطاهای احتمالی مورد استفاده قرار گرفت. یک واحد از فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسید از معادل مقدار آنزیمی که بتواند یک میکرومول از سوبسترا NADPH در یک دقیقه کاتالیز کند در نظر گرفته شده است. برای استاندارد شدن از نمونه آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز استاندارد استفاده شد.

اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز[3] (CAT)

جهت محاسبهٔ این فاکتور از برگ‌های جوان و توسعه یافته استفاده شد و سپس توسط روش (۱۹۹۷) Paglia میزان تغییرات آنزیم تعیین گردید. نمونه برگ‌ها پس از شستشو با آب مقطر بلافاصله در محلول بافرفسفات _ تریس ۰/۱۶ مول (pH = ۷/۵) وارد و خرد و هموژن شد. سپس حجم مشابه بافر حاوی دیجیتونین آنزیم هضم کنندهٔ دیواره اضافه نموده تا فرآیند هضم غشاء و دیواره‌های سلولی صورت گیرد. در آخر میزان ۰/۵ میلی لیتر از محلول هموژن برای سنجش پروتئین توسط روش، Lowry et al., 1951 برداشته شد و مقدار

1- Super Oxide Dismutase (SOD)

2- Gelotatione Peroxidse (GPX)

3- Catalase (CAT)

پروتئین آن بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر تعیین گردید. در باقیماندهٔ محلول استخراجی فوق مقدار هر یک از آنزیم‌ها به روش خاصی تعیین گردید. در این روش شدت حذف آب اکسیژنه به عنوان سوبسترا ارزیابی شد. بافر زمینه برای انجام کار حاوی ۰/۱۷ میلی مول فسفات دی سدیک (pH= ۷/۵) به همراه ۰/۱۵ مول EDTA، ۰/۱۱ میلی مول کلرید منیزیم در نظر گرفته شد. واحد فعالیت آنزیم کاتالاز معادل نسبت تبدیل آب اکسیژنه در مدت ۱ دقیقه به هنگام پیشرفت واکنش درجه اول در نظر گرفته شد.

سنجش مالون دی آلدئید[1] (MDA)

برای این منظور از روش کرو ماتو گرافی HPLC بر اساس روش (۱۹۷۸) Steven and Joseph استفاده می‌گردد. عصاره‌ای که برای سنجش 8-OH-dg مصرف می‌شود بر اساس روش تیو باربتوریک اسید با MDA مورد استفاده قرار می‌گیرد. محصول این واکنش پس از عاری شدن از پروتئین بوسیله تری کلرواستیک اسید ۱۲ مول به ستون سیلکاژل اکتادسیل منتقل می‌شود. پس از به تعادل رسیدن ستون، این ستون با فاز متحرک شامل فسفات بافر خاصی متانول شستشو می‌شود و پیک MAD دراسپکتروفتومتر با دتکتور مرئی در طول موج ۵۳۲ نانو متر شناسائی و بر اساس سطح زیر منحنی پیک اندازه گیری می‌گردد. جهت استاندارد شدن مالون دی آلدئید خالص با نسبت‌های مختلف در بافر شستشو و منحنی استاندارد رسم می‌گردد.

اندازه‌گیری عملکر ریشه

پس از جدا شدن اندام هوایی از ریشه چغندرقند، وزن تر ریشه اندازه‌گیری شد. نحوه نمونه برداری به طور تصادفی مربوط به هر تیمار بوده و جهت تعیین درصد رطوبت به مدت ۲۴ ساعت درون آون با دمای ۶۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت و بدین شکل درصد رطوبت آن محاسبه و وزن خشک توده در واحد سطح برداشت (یک مترمربع) تعیین شد.

نتایج و بحث

آنزیم سوپر اکسید دیسمو تاز

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول-۳) نشان داد بین تیمارهای آبیاری در سطح آماری ۱ % اختلاف معنی‌دار وجود دارد، به طوری که بیشترین میزان SOD در تیمار تنش خشکی به میزان ۱۴۷۹/۷۴ (میلی‌گرم پروتئین/واحد) و کمترین میزان آنزیم در تیمار نرمال آبیاری به مقدار ۱۳۳۴/۴۴ (میلی‌گرم پروتئین/ واحد) دیده شد. بین ارقام مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری در سطح آماری ۵ % دیده شد. بیشترین مقدار آنزیم در رقم شماره (۲)، (۴) و (۵) و کمترین مقدار آنزیم در رقم شماره (۳) و (۱۴) دیده شد (جدول-۴). بین اثرات متقابل آبیاری و رقم تفاوت معنی‌دار دیده نشد (جدول-۳). تنش خشکی موجب تنش اکسیداتیو در گیاهان شده این امر موجب تخریب پروتئین‌ها شده در نتیجه میزان دی تیروزین در سلول افزایش می‌یابد. در این صورت چغندرقند برای جلوگیری از تخریب پروتئین‌ها میزان آنزیم SOD را در سلول افزایش می‌دهد. یکی دیگر از اثرات تنش خشکی لیپید پراکسیداسیون غشاهای سلول می‌باشد. در این صورت محصول تخریب غشاها مالون دی آلدهید می‌باشد که در این آزمایش ملاحظه می‌گردد در شرایط تنش خشکی این بیومارکر افزایش یافته و لذا گیاه چغندرقند برای جلوگیری از این پدیده میزان آنزیم SOD را افزایش داده است. آزمایش‌های صورت گرفته توسط عطایی (۱۳۸۴)، بر نخود، ساعی (۱۳۸۴) بر سورگوم علوفه ای، رفیعی (۱۳۸۴) بر آفتابگردان روغنی و شکروی (۱۳۸۴) بر آفتابگردان آجیلی نشان داد که فعالیت این آنزیم در شرایط تنش خشکی نسبت به شرایط نرمال بیشتر بود. پس از این آنزیم می‌توان جهت تعیین گونه‌های مقاوم به خشکی استفاده نمود. نتایج آزمایش سیمونوروف (۱۹۹۸) در دو رقم حساس و مقاوم نیز در شرایط تنش مبنی بر افزایش فعالیت این آنزیم در رقم مقاوم تر مطابقت داشت (Semironff et al, 1998).

1- Malondialdehyde (MDA)

آنزیم کاتالاز:

با توجه به نتایج بدست آمده (جدول-۳) بین تیمارهای آبیاری از لحاظ تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح آماری ۱ % تفاوت معنی‌دار وجود داشت. بیشترین میزان فعالیت آنزیم در تیمار تنش خشکی به میزان ۱۱۸/۵۸ (میلی‌گرم پروتئین/واحد) و کمترین مقدار فعالیت آن در تیمار آبیاری نرمال به میزان ۹۸/۳۳ (میلی‌گرم پروتئین/واحد) بدست آمد (جدول-۴). بین ارقام از لحاظ فعالیت این آنزیم، تفاوت معنی‌داری دیده نشد (جدول-۳). با این حال بیشترین مقدار فعالیت آنزیم در رقم ۲ به میزان ۱۵۸/۹۵ (میلی‌گرم پروتئین/واحد) و مقدار فعالیت آنزیم در سایر ارقام در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول-۴). بین اثرات متقابل از لحاظ این آنزیم تفاوت معنی‌داری دیده نشد (جدول-۳). کندال (Kendall, 1989)، کافی و مهدوی دامغانی (۱۳۷۹) گزارش کردند که افزایش فعالیت کاتالاز جهت کاهش اثرات پراکسیداز در هنگام تنش‌های محیطی در گیاهانی چون گندم، جو، سویا و نخود نقش مهمی داشته است. نتایج ساعی (۱۳۸۴) در سورگوم علوفه‌ای نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر تنش خشکی نسبت به شاهد به طرز معنی داری افزایش یافت به طوری که با نتایج حاصل مطابقت داشت. بنابراین می‌توان با تعیین سطح فعالیت‌های این آنزیم در جهت تعیین گونه‌های مقاوم به خشکی در گیاهان مختلف اقدام نمود.

آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز

همانگونه که ملاحظه می‌شود فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بین تیمارهای آبیاری تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ % دیده شد (جدول-۳). به طوری‌که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در تیمار تنش خشکی به میزان ۶۷/۹۵ (میلی‌گرم پروتئین/واحد) و کمترین میزان این آنزیم در تیمار نرمال آبیاری به میزان ۵۵/۱۷ (میلی‌گرم پروتئین/واحد) دیده شد (جدول-۴). بین ارقام از لحاظ میزان فعالیت این آنزیم تفاوت معنی‌داری دیده نشد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم GPX در رقم ۱۰ و کمترین میزان آنزیم در رقم ۵ ملاحظه شد (جدول-۴). بین اثرات متقابل ارقام و آبیاری از لحاظ میزان فعالیت این آنزیم تفاوت معنی‌داری دیده نشد. در حقیقت تنش خشکی موجب تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود و در نتیجه آن غشا سلولی تخریب شده و بیو مارکر مالون دی آلدهید افزایش می‌یابد. لذا آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در سلول افزایش می‌یابد تا با از بین بردن اکسیژن‌های رادیکال آزاد جلو این تخریب را بگیرد (قوژدی، ۱۳۸۴).

مالون دی‌آلدئید

مطابق جدول تجزیه واریانس (جدول-۳) بین تیمارهای آبیاری از لحاظ میزان مالون دی‌آلدئید تولید شده تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ % وجود داشت. به طوری‌که بیشترین میزان مالون دی‌آلدئید به مقدار ۷۲/۹۴ (میلی‌گرم پروتئین/نانومول) و کمترین میزان آن به مقدار ۶۴/۴۴ (میلی‌گرم پروتئین/نانومول) بدست آمد (جدول-۳). بین ارقام مورد مطالعه برای تغییرات این صفت تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ % دیده شد (جدول-۳). بیشترین صدمه سلولی به رقم ۲ تعلق داشت به طوری که بیشترین مقدار مالون دی‌آلدئید تولید شده را نشان داد (۷۶/۷) همچنین کمترین میزان آسیب رسانی به رقم ۱۳ با کمترین میزان مالون دی‌آلدئید تولیدی (۶۱/۷) تعلق داشت (جدول-۴). با بروز تنش خشکی لیپیدپراکسیداسیون غشاء منجر به تولید مالون دی‌آلدئید می‌نماید که این خسارت باعث کاهش عملکرد سلول می‌گردد (قوژدی، ۱۳۸۴). آنزیم‌های آنتی اکسیدانت به عنوان نخستین صد دفاعی جهت مبارزه با تنش‌های اکسیداتیو در گیاهان عمل می‌نمایند. زمانی که دفاع آنتی اکسیدانتی کاهش می‌یابد یا تشکیل رادیکالهای آزاد افزایش می‌یابد، در این گونه موارد حالتی موسوم به تنش اکسیداتیو پدید می‌آید. تنش اکسیداتیو منجر به آسیب بافتی می‌شود. هنگامی که تنش اکسیداتیو رخ می‌دهد پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع، لیپیدها افزایش می‌یابد و در اثر حملهٔ رادیکال‌های آزاد به لیپیدها، آلدئیدهای گوناگونی از جمله

مالون دی آلدئید ایجاد می‌شود (Jose et al., 1999)، (قوژدی، ۱۳۸۴). این نتایج با گزارش‌های عطایی و همکاران (۱۳۸۴) در نخود و دادنیا (۱۳۸۴) بر آفتابگردان مطابقت داشت. همچنین جوز و همکاران (۱۹۹۹) نیز در گزارشاتی مبنی بر افزایش میزان مالون دی آلدئید در شرایط تنش خشکی اظهار نموده‌اند (Jose et al., 1999). بررسی‌آزمایشات پوراسماعیل (۱۳۸۵) نشان می‌دهد که در هر سه رقم لوبیای مورد آزمایش با کاهش میزان آب و تنش خشکی میزان این ماده افزایش پیدا کرده که نشانهٔ تخریب لیپیدها می‌باشد و در رقم ناز نسبت به دو رقم دیگر میزان این ماده بیشتر می‌باشد. دراین گزارش بین مالون دی آلدئید با هدایت الکتریکی و آنزیم‌های آنتی اکسیدانت یک همبستگی مثبت و معنی دار مشاهده شد به طوریکه با افزایش تنش خشکی، میزان تخریب لیپیدها بیشتر شده و تولید MDA نیز افزایش می‌یابد و در نتیجه با تنش ایجاد شده میزان آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسید از هم افزایش می‌یابد تا از میزان تخریبات بکاهد. همچنین با افزایش تنش خشکی میزان پایداری غشاء سیتوپلاسمی نیز کاهش می‌یابد (پوراسماعیل ,۱۳۸۵)

عملکرد ریشه

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۳) بین سطوح مختلف آبیاری (تنش و نرمال) بین عملکرد ریشه تفاوت معنی داری مشاهده نشد به طوری که طبق نتایج مقایسه میانگین (جدول ۴) در شرایط نرمال و تنش عملکرد ریشه معادل ۴۹/۶۷ تن در هکتارمشاهده شد. طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول۳) بین ارقام مختلف تفاوت معنی داری برای عملکرد ریشه مشاهده نشد. با اینحال طبق نتایج مقایسه میانگین (جدول۴) بیشترین عملکرد در ریشه در ارقام ۵ و ۹ و ۱۴ و هم چنین کمترین عملکرد در ریشه در رقم ۲ مشاهده شد. بین بیشترین عملکرد ریشه از نظر عددی (رقم ۵) و کمترین عملکرد در ریشه (رقم ۲) اختلاف عملکردی معادل ۱۲/۸۲ درصد مشاهده می‌شود. میانگین عملکرد در ریشه در ارقام مختلف ۴۹/۶۵ می‌باشد.

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) بین اثر متقابل آبیاری و رقم نسبت به عملکرد تفاوت معنی دار مشاهده نگردید. با مراجعه به مقایسه میانگین (جدول ۴) مربوطه مشخص گردید که بیشترین عملکرد ریشه مابین ارقام، در شرایط نرمال و در رقم ۱۴,۹ مشاهده شد و کمترین آن در شرایط تنش و در رقم ۲ مشاهده گردید. همچنین در شرایط تنش بیشترین عملکرد در رقم ۵,۱۴ و کمترین آن در رقم ۲ مشاهده گردید. اختلاف عملکرد ریشه بین بیشترین ۵ و کمترین ۲ عملکرد ریشه تولیدی در شرایط تنش معادل ۱۹/۸۲ % می‌باشد. یکی از شاخص‌های مهم در زراعت چغندرقند عملکرد ریشه می‌باشد و بدست آوردن ریشه ی خوش فرم با وزن و درصد قند مناسب از مهمترین اهداف تولید به شمار می‌آید. بین عملکرد ریشه و درصد قند یک همبستگی منفی وجود دارد و برای بدست آوردن عملکرد خوب بایستی تعادلی بین این دو صفت ایجاد کرد (خواجه پور، ۱۳۷۷). یک تنش متعادل عملکرد را کاهش نخواهد داد ولی تنش شدید به خصوص اگر پس از آن آبیاری انجام شود دارای اثرات نامطلوب خواهد بود. اگر رطوبت به اندازه کافی در اختیار گیاه نباشد، عملکرد محدود شده، درصد قند و درجه خلوص کاهش می‌یابد (کوچکی، ۱۳۷۶). تنش خشکی در اوایل فصل رشد چغندرقند موجب کاهش شدید عملکرد ریشه می‌شود، ولی تنش خشکی در اواخر فصل رشد نه تنها عملکرد ریشه را بطور معنی داری کاهش نداده بلکه باعث افزایش محسوس درصد قند نیز گردیده است (Caro and Cucci ,1986).

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس عملکرد ریشه و صفات بیوشیمیایی

Table 3- Results of variance analysis of root yield and biochemical traits

S.O.V	df	عملکرد ریشه Root Yield	سوپراکسید دیسموتاز SOD	گلوتاتیون پراکسیداز GPX	کاتالاز CAT	مالون دی آلدئید MDA
Yearسال	1	1459.5**	13054.01	114.09	5690.01	332.47
Year*Repسال*تکرار	6	885.0**	58756.15	103.72	2710.00	400.24*
Irrigationآبیاری	1	0.019	1182141.33**	9138.37**	22968.23**	4050.24**
Year*Irrigationآبیاری*سال	1	46.7	862710.21**	4168.17**	70274.91**	8676.41**
Year*Irrigation*Repآبیاری*سال* تکرار	6	3714.5**	37528.50	30.72	2683.52	263.23
Genotypesژنوتیپ ها	13	53.7	75024.92*	130.51	4026.20	404.68**
Genotypes*Irrigationژنوتیپ ها*آبیاری	13	47.8	50806.43	236.79	3468.15	374.24*
Genotypes*Yearژنوتیپ ها* سال	13	110.2	58146.91	73.37	3182.15	231.34
Genotypes*Irrigation*Year ژنوتیپ ها* آبیاری *سال	13	159.5	72865.30*	133.52	4258.13	343.72*
ضریب تغییرات CV%		20.23	14.67	20.49	21.32	18.16

Ns فاقد اختلاف معنی دار * و** به ترتیب اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ % و ۰/۰۱ %

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

جدول ۴- مقایسه میانگین عملکرد ریشه و صفات بیوشیمیایی

Table 4- Mean comparison of root yield and biochemical traits

صفات / تیمار	عملکرد ریشه Root Yield (Ton/ha)	سوپراکسید دیسموتاز SOD u/mg protein	گلوتاتیون پراکسیداز GPX u/mg protein	کاتالاز CAT u/mg protein	مالون دی آلدئید MDA nm/mg protein
آبیاری					
نرمال	49.67 a	1334.44 b	55.17 b	98.33 b	64.44 b
تنش	49.67 a	1479.74 a	67.95 a	118.58 a	72.94 a
ارقام					
۱	48.46	1419.3abc	62.7 a	100.2 b	75.7 ab
۲	46.34a	1482.5a	60.4 a	158.95a	76.7 a
۳	49.43a	1310.1c	60.8 a	101.9 b	63.8 cd
۴	49.92a	1488.0a	60.3 a	115.1 b	64.2 bcd
۵	52.28a	1493.6 a	58.3 a	113.9 b	72.1 abcd
۶	50.29a	1362.7abc	58.4 a	95.5 b	65.7 abcd
۷	50.46a	1452.0 ab	60.5 a	100.0 b	74.6 abc
۸	50.63a	1346.1abc	65.2 a	100.5 b	65.4 abcd
۹	51.96a	1420.8abc	60.4 a	114.9 b	66.1 abcd
۱۰	47.15a	1380.1abc	66.2 a	107.7 b	72.6 abcd
۱۱	47.33a	1441.4abc	59.9 a	103.9 b	67.5 abcd
۱۲	50.95a	1369.0abc	62.4 a	101.3 b	63.5 cd
۱۳	48.44a	1459.0ab	58.6 a	97.5 b	61.7 d
۱۴	51.50a	1273.8 c	62.7 a	106.3 b	71.4 abcd

اختلاف میانگین‌های هر ستون که دارای حرف مشترک هستند از لحاظ آماری در سطح ۵ درصد معنی دار نمی باشد.

Means followed by similar letters in each column are not significantly different 5% level.

منابع References

پور اسماعیل، پ. ۱۳۸۵. تاثیرات پلیمر سوپر جاذب بر کارایی مصرف آب و عملکرد در لوبیای قرمز پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.

حبیبی، د. ۱۳۸۱. مطالعه اثر برخی از پارامترهای اقلیمی بر عملکرد ریشه و عیارقند، رساله دکتری (ph.D). دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات.

خواجه پور، م. ر. ۱۳۷۷. تولید نباتات صنعتی. انتشارات جهاد دانشگاهی. دانشگاه صنعتی اصفهان.

خیرابی، ج. توکلی، ع. اقتصادی، م. ر. و سلامت. ع. ۱۳۷۵. دستورالعمل‌های کم آبیاری. کمیته ملی آبیاری و زهکشی ایران، صفحات ۱۷۳-۱۱۱.

دادنیا، م. ۱۳۸۴. بررسی اثر کمبود آب بر روی خصوصیات فیزیولوژیکی و زراعی ارقام مختلف آفتابگردان. پایان نامه دکتری زراعت. دانشکده کشاورزی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز.

رفیعی، ح، حبیبی، د. خدابنده، ن. دانشیان، ج. مشهدی اکبر بوجار، م. و م، شکروی. ۱۳۸۴.آنزیم‌های آنتی اکسیدانت معیاری جهت گزینش ارقام مقاوم به خشکی در آفتابگردان روغنی. چکیده مقالات اولین همایش علوم زیستی ایران.

ساعی، مصطفی (۱۳۸۳). بررسی ارتباط برخی صفات مورفولوژیکی با تحمل به خشکی ارقام مختلف سورگوم علوفه ای. پایان نامهٔ کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.

ساعی، م. حبیبی، د. مشهدی اکبر بوجار، م. محمودی، ع و م، ر. اردکانی. ۱۳۸۴. تعیین سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت به عنوان یک پارامتر در تعیین گونه‌های مقاوم سورگوم علوفه‌ای به تنش خشکی. چکیده مقالات اولین همایش بین المللی علوم زیستی ایران.

شکروی، م. ۱۳۸۳. بررسی اثر تنش کم آبی بر روی عملکرد و اجزاء عملکرد مختلف آفتابگردان آجیلی. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی ساوه.

عطائی شیخ، ا. ۱۳۸۳. بررسی تنش خشکی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و سطح فعالیتهای آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در ارقام مختلف نخود. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.

فرشی. ع. ا. شریعتی، م. ر. جارالهی، ر. قائمی، م. ر. شهابی فر، م. و تولایی، م. م. ۱۳۷۶. برآورد آب مورد نیاز گیاهان عمده زراعی و باغی کشور. نشر آموزش کشاورزی، صفحه ۱.

قربانی قوژدی، ح. ۱۳۸۴. مقدمه‌ای بر تنش اکسایشی و کرنش‌های گیاهی.

کافی، م. و ا، مهدوی دامغانی. ۱۳۷۹. مکانیسم‌های مقاومت گیاهان به تنش خشکی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

کوچکی. ع. ۱۳۷۶. رابطه ی آب خاک در گیاهان زراعی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

Bowler, C.et al. 1992. Super Oxide dismutase and Strees tolerance. Anhu.Rev. Plant physiol. Plant mol.Biol. 43:83-116

Caro, A.D., and Cucci, G., 1986. Four year experiment on spring-seeded sugar beet irrigation and harvest time in southern Italy. Irrigation, 33 (3): 21-25.

Foyer CH, Harbinson J (1994). Oxygen metabolism and the regulation of Photosynthetic electron transport. In: Foyer CH, Mullineaux PM (EDS) Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defence systems in Plants.

CRC press, Boca Raton , PP1-41.

Fridovich (1995) Superoxide radical and superoxide dismutases. Ann Rev Biochem 64:97-112.

Hills, F. J., Winter, S. R., and Henderson, D.W. 1990. Sugar beet. In:B. A. Srewart and D. R. Nielsen (eds.). Irrigation of Agricultur Crops. Madison, Wisconsin, USA, pp. 795-810.

Jose.M , Mates eristina perez. Gomez. 1999. Antioxidant Enzymes and Human Disease chemical Biochemistry. Vol: 32.No.8: 595 – 603

Kendall, E.J. and B.D.McKersie. 1989. Free radical and freezing injury to cell membrance of winter physiol. Plant 76: 86-140.

FAO.http://WWW.FAO.org/docrep/004/Y3655E/Y3655E00.htm.

Lowry, O. and R., Radall (1951). Protein measurement with folin phenol reajent.Journal biologhcal chemistry.193: 680-685.

Mirsa, H. P and IF and I., Fridorich (1979). The generation of superoxide radical during photo taxidatio.J. bhol. Chem. 247: 6960-6966.

Paglia, D. E and W. N., Valentine (1997). Studies on the qualitative characterization of Glutation peroxidase. J. Lab. Med. 70: 158-168.

Ramachandra. R., K.V.chaitanya , P.P Jutur, K. Sumithra.2004. Differential antioxidative response to weather Stress among five mulberry Cultivars. Environement and Experimental Botany.

Scott, R.K., and Jaggard, K.W. 1993. Crop physiology and agronomy. In: D.A. Cooke and R. K. Scott (eds.). The sugar beet crop. PP. 179-237. Londan, Champan & Hall.

Semironff etal, F.N. 1998. Drought influence the activity of enzymes of the chloroplast hydrogen proxide system. J. Exp. Bot: 39: 1097-1108.

Sinclair, T. 1985. Water relations of field grown soybean under drought stress. Crop Sci. 26:993-998.