

بررسی خصوصیات بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های مختلف چغندر قند 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 رجیبی^۲، سهیل عروج نیا^۲،
مهدی داودی فرد^۳

چکیده

به منظور بررسی جنبه‌های فیزیولوژیکی تنش کم آبی بر صفات مهم کمی ۱۴ ژنوتیپ چغندر قند آزمایش دوساله در سال‌های ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ به صورت کرت‌های خرد شده (Split plot) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار انجام گرفت. آزمایش در مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند 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 لیتر از طشتک کلاس A و S2: تنش کم آبی به صورت تبخیر پس از ۱۸۰ میلی لیتر از 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 برگگی) 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 معنی دار 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 معنی داری 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 معنی دار 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 گلوکاتایون پراکسیداز در بین تیمارهای آبیاری تفاوت معنی دار 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 دی آلدئید تولید شده تفاوت معنی دار در سطح ۱٪ وجود داشت به طوری که بیشترین میزان مالون دی آلدئید 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 معنی داری 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: چغندر قند، تنش خشکی، ژنوتیپ، عملکرد ریشه، فعالیت آنتی اکسیدانت، مالون دی آلدئید.

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، گروه زراعت، کرج، البرز، ایران

۲- مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند

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 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 منفی 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 بهره‌گیری از برنامه‌های اصلاحی ارقامی از چغندر قند 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 میتو کندری، 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 داشته‌اند، اندک است. طبق نتایج برخی از پژوهشگران افزایش سطوح گلوکوتایون 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. اخیراً 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

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاه با بکار بردن علفکش هایی نظیر پاراکوات، افزایش غلظت دی اکسید گوگرد در اتمسفر، تنش خشکی و یا قرار گرفتن در غلظت بالایی از عناصر روی و منیزیم افزایش می یابد (Fridovich, 1995).

کاتالاز^۲ (CAT)

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

تحقیقات انجام شده نشان داد افزایش فعالیت کاتالاز جهت کاهش اثرات پراکسیداز در هنگام تنش های 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 می دهد که کلیه آنتی اکسیدانت های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون ردوکتاز تحت شرایط تنش خشکی افزایش می یابد. نتایج مقایسه ارقام فوق با فعالیت 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).

متابولیسم های دفاعی گیاهان در برابر تنش های اکسیداتیو

گیاهان برای مقابله با تنش های اکسیداتیو از دو نوع مکانیسم

است (Foyer and Harbinson, 1994). برخی از محققین گزارش نمودند که میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به انتقال بوته های 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)

سوپراکسید دیسموتاز^۱ (SOD)

گیاهان گروهی از سازش های مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی را در پاسخ به تنش آب نشان می دهند که از آن جمله می توان به تغییرات برخی آنزیمها مانند پراکسیدازها اشاره نمود (قوژدی، ۱۳۸۴). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاهان نقش حفاظتی به عهده دارد. SOD یک آنزیم ضد اکساینده می باشد که آنیون های سوپراکسید بسیار فعال را کاتالیز نموده و تبدیل آن به اکسیژن و انواع کم فعالیت پراکسید تیدروژناز را بر عهده دارد (Jose et al., 1999). باعث پایداری غشاء سلول های گیاهان در شرایط خشکی می شود و در تنش سرما افزایش سطح سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در گیاهان مقاوم شده به سرما به جلوگیری از آسیب های فتودینامیکی کمک می کند 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 سوپراکسید دیسموتاز با انتقال بوته های 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 سوپراکسید دیسموتاز می تواند با انواع رادیکال های هیدروکسیل خطرناک و H_2O_2 که فسفولیپیدها را نابود می کنند به طور غیر آنزیماتیک مقابله نماید. فعالیت

استفاده می کنند:

- 1- Scavenging: که گیاه گونه های فعال اکسیژن را با استفاده از آنتی اکسیدانت های آنزیمی و غیر آنزیمی جاروب می کند.
- 2- Avoidance: اجتناب از تولید گونه های فعال اکسیژن.

طبقه بندی آنتی اکسیدانتها

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

- 1- لیوفیل (چربی دوست)
- 2- هیدروفیل (آب دوست).

آنتی اکسیدانت ها یا طبیعی هستند و یا مصنوعی. در سال های اخیر بنا به توجه ویژه به مسائل سلامتی، توجه زیادی به آنتی اکسیدانت های طبیعی معطوف شده است و تحقیقات گسترده ای به منظور بکارگیری این ترکیبات در مواد غذایی به جای آنتی اکسیدانت های غیر طبیعی در دست اجرا قرار گرفته است (حبیبی، ۱۳۸۱).

آنتی اکسیدانت های طبیعی شامل سه دسته می باشند:

- 1- گونه های مولکولی مانند فلاون ها، ایزوفلاون ها، کومارین ها، لیپیدها، آلكالوئیدها، ترکیبات فنلی، کارتنوئیدها و غیره که در بین آنها ترکیبات فنلی از اهمیت بیشتری برخوردارند.
- 2- سیستم های ضد اکسایشی آنزیمی: فعالترین آنزیم های این دسته از آنتی اکسیدانت ها، پروتئین های حاوی فلز هستند که از جمله آنها می توان به SOD اشاره کرد.

3- ویتامین ها: جزء آنتی اکسیدانت های طبیعی اند. توانایی به دام انداختن رادیکال های آزاد اکسیژن در سلول های گیاهی و حیوانی به وسیله ویتامین های A, E, C, K مورد تأیید قرار گرفته است که در بین آنها ویتامین E و به ویژه آلفا توکوفرول مؤثرترین نوع آنتی اکسیدانت طبیعی ویتامینی شناخته شده است. ثابت شده اگر ویتامین های C و E به صورت ترکیب با یکدیگر به کار برده شوند اثر بخشی بیشتری از خود نشان می دهند. ویتامین E به دلیل محلول بودن در چربی ها و ویتامین C به دلیل محلول بودن در آب هر یک به طور جداگانه رادیکال های آزاد را حذف خواهند کرد.

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

مواد و روش ها

مشخصات محل اجرای آزمایش

این تحقیق در طی سال های ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ در ایستگاه تحقیقاتی ۴۰۰ هکتاری مهندس مطهری مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند 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 مدیترانه ای گرم با رژیم رطوبتی خشک و با داشتن زمستان سرد و مرطوب و تابستان گرم و خشک جزو مناطق نیمه خشک محسوب می شود. 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 لایه ای سخت و فشرده در زیر لایه سطحی و جزء خاک های قهوه ای آهکی می باشد. پس از آماده شدن زمین و قبل از اجرای آزمایش و افزودن هر گونه کودی به خاک، از دو عمق ۰-۳۰ و ۳۰-۶۰ سانتیمتر به روش تصادفی از چند نقطه مزرعه نمونه خاک تهیه و با مخلوط کردن نمونه های هر

بررسی خصوصیات بیوشیمیایی ژنوتیپ های مختلف چغندر قند تحت شرایط خشکی

عمق نمونه‌ای مرکب برای هر عمق تهیه و جهت تجزیه کامل به آزمایشگاه شیمی خاک مؤسسه تحقیقات چغندر قند 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

کامل گیاه (مرحله شش تا هشت برگگی) 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.

تیمارهای آزمایش به عنوان کرت‌های اصلی شامل دو سطح آبیاری S1: آبیاری نرمال بصورت تبخیر پس از ۸۰ میلی لیتر از طشتک کلاس A و S2: تنش کم آبی به صورت تبخیر پس از ۱۸۰ میلی لیتر از طشتک کلاس A بودند که از طریق تغییر در دور آبیاری اعمال شدند. آبیاری از زمان کشت تا استقرار

جدول ۲- کد گذاری ۱۴ ژنوتیپ چغندر قند

Table 2- Coding of 14 sugar beet cultivars

No.	ژنوتیپ ها Genotypes	No.	ژنوتیپ ها Genotypes
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.

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 اندازه گیری میزان تبخیر از سطح طشتک 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

غشاء و دیواره سلول انجام شود. در پایان مقدار ۰/۵ میلی لیتر از محلول هموزن برای سنجش پروتئین برداشت شد و مقدار پروتئین آن بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر تعیین گردید. سپس طبق روش (Paglia (۱۹۹۷) در باقیمانده محلول استخراجی مقدار آنزیم گلوکاتایون اندازه گیری شد. عصاره استخراجی به محلول بافر حاوی فسفات منو پتاسیک ۰/۵۶ مول (pH = ۷/۵)، همراه ۱/۲ میلی مول EDTA و یک میلی مول NaNO_3 و ۰/۲ میلی مول NADPH وارد شد. سپس به آن ۰/۲ میلی لیتر گلوکاتایون 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 فوتمتر (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 گلوکاتایون پراکسیداز معادل مقدار آنزیمی که بتواند یک میکرومول از سوپسترا NADPH در یک دقیقه کاتالیز کند در نظر گرفته شده است. برای استاندارد شدن از نمونه آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز استاندارد استفاده شد.

اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز^۳ (CAT)

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

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 اندازه گیری می گردید.

اندازه گیری آنزیم‌های آنتی اکسیدانت اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز^۱ (SOD)

جهت محاسبه 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 سوپسترا 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.

اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز^۲ (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 هموزن شدند. آنگاه اجازه داده شد در حضور حجم مشابه از همان بافر حاوی دیجیتونین و آنزیم هضم کننده، دیواره، فرآیند هضم

1- Super Oxide Dismutase (SOD)

2- Gelotatione Peroxidase (GPX)

3- Catalase (CAT)

سطح برداشت (یک متر مربع) 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 معنی دار وجود دارد، به طوری که بیشترین میزان SOD در تیمار تنش خشکی به میزان ۱۴۷۹/۷۴ (میلی گرم پروتئین/واحد) و کمترین میزان آنزیم در تیمار نرمال آبیاری به مقدار ۱۳۳۴/۴۴ (میلی گرم پروتئین/واحد) دیده شد. بین ارقام مورد مطالعه تفاوت معنی داری 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 معنی دار دیده نشد (جدول-۳). تنش خشکی موجب تنش اکسیداتیو در گیاهان شده این امر موجب تخریب پروتئین ها شده در نتیجه میزان دی تیروزین در سلول افزایش می یابد. در این صورت چغندر قند برای جلوگیری از تخریب پروتئین ها میزان آنزیم SOD را در سلول افزایش می دهد. یکی دیگر از اثرات تنش خشکی لیپید پراکسیداسیون غشاهای سلول می باشد. در این صورت محصول تخریب غشاها مالون دی آلدئید می باشد که در این آزمایش ملاحظه می گردد در شرایط تنش خشکی این بیومارکر افزایش یافته و لذا گیاه چغندر قند برای جلوگیری از این پدیده میزان آنزیم SOD را افزایش داده است. آزمایش های 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 می توان جهت تعیین گونه های مقاوم به خشکی استفاده نمود. نتایج آزمایش سیمونروف (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).

پروتئین آن بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر تعیین گردید. در باقیمانده محلول استخراجی فوق مقدار هر یک از آنزیم ها 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 (MDA)

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

اندازه گیری عملکرد ریشه

پس از جدا شدن اندام هوایی از ریشه چغندر قند، وزن تر ریشه اندازه گیری 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

آنزیم کاتالاز:

با توجه به نتایج بدست آمده (جدول-۳) بین تیمارهای آبیاری از لحاظ تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح آماری ۱٪ تفاوت معنی دار 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 (جدول-۴). بین ارقام از لحاظ فعالیت این آنزیم، تفاوت معنی داری دیده نشد (جدول-۳). با این حال بیشترین مقدار فعالیت آنزیم در رقم ۲ به میزان ۱۵۸/۹۵ (میلی گرم 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 معنی داری 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 گلوکاتایون پراکسیداز

همانگونه که ملاحظه می‌شود فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز در بین تیمارهای آبیاری تفاوت معنی دار در سطح ۱٪ دیده شد (جدول-۳). 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 (جدول-۴). بین ارقام از لحاظ میزان فعالیت این آنزیم تفاوت معنی داری 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 معنی داری 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 آلدئید افزایش می‌یابد. لذا آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز در سلول افزایش می‌یابد تا با از بین بردن اکسیژن‌های رادیکال آزاد جلوی این تخریب را بگیرد (قوژدی، ۱۳۸۴).

مالون دی آلدئید

مطابق جدول تجزیه واریانس (جدول-۳) بین تیمارهای آبیاری از لحاظ میزان مالون دی آلدئید تولید شده تفاوت معنی دار در سطح ۱٪ وجود داشت. به طوری که بیشترین میزان مالون دی آلدئید به مقدار ۷۲/۹۴ (میلی گرم پروتئین/نانومول) و کمترین میزان آن به مقدار ۶۴/۴۴ (میلی گرم پروتئین/نانومول) بدست آمد (جدول-۳). بین ارقام مورد مطالعه برای تغییرات این صفت تفاوت معنی داری در سطح ۱٪ دیده شد (جدول-۳). بیشترین صدمه سلولی به رقم ۲ تعلق داشت به طوری که بیشترین مقدار مالون دی آلدئید تولید شده را نشان داد (۷۶/۷) همچنین کمترین میزان آسیب رسانی به رقم ۱۳ با کمترین میزان مالون دی آلدئید تولیدی (۶۱/۷) تعلق داشت (جدول-۴). با بروز تنش خشکی لیپیدپراکسیداسیون غشاء منجر به تولید مالون دی آلدئید می‌نماید که این خسارت باعث کاهش عملکرد سلول می‌گردد (قوژدی، ۱۳۸۴). آنزیم‌های آنتی اکسیدانت به عنوان نخستین سد 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 حمله رادیکال‌های آزاد به لیپیدها، آلدئیدهای گوناگونی از جمله

بررسی خصوصیات بیوشیمیایی ژنوتیپ های مختلف چغندر قند تحت شرایط خشکی

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 ۹، ۱۴ مشاهده شد و کمترین آن در شرایط تنش و در رقم ۲ مشاهده گردید. همچنین در شرایط تنش بیشترین عملکرد در رقم ۱۴، ۵ 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 % می باشد. یکی از شاخص های مهم در زراعت چغندر قند عملکرد ریشه می باشد و بدست آوردن ریشه ی خوش فرم با وزن و درصد قند مناسب از مهمترین اهداف تولید به شمار می آید. 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 می یابد (کوچکی، ۱۳۷۶). تنش خشکی در اوایل فصل رشد چغندر قند موجب کاهش شدید عملکرد ریشه می شود، 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).

مالون دی آلدئید ایجاد می شود (Jose et al., 1999)، (قوژدی، ۱۳۸۴). این نتایج با گزارش های 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 نموده اند (Jose et al., 1999). بررسی آزمایشات پوراسماعیل (۱۳۸۵) نشان می دهد که در هر سه رقم لوییای مورد آزمایش با کاهش میزان آب و تنش خشکی میزان این ماده افزایش پیدا کرده که نشانه تخریب لیپیدها می باشد و در رقم ناز نسبت به دو رقم دیگر میزان این ماده بیشتر می باشد. در این گزارش بین مالون دی آلدئید با هدایت الکتریکی و آنزیم های 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 می یابد و در نتیجه با تنش ایجاد شده میزان آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلو تاتیون پراکسیداز هم افزایش می یابد تا از میزان تخریبات بکاهد. همچنین با افزایش تنش خشکی میزان پایداری غشاء سیتوپلاسمی نیز کاهش می یابد (پوراسماعیل، ۱۳۸۵)

عملکرد ریشه

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) 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 هکتار مشاهده شد. طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) بین ارقام مختلف تفاوت معنی داری برای عملکرد ریشه مشاهده نشد. با اینحال طبق نتایج مقایسه میانگین (جدول ۴) 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 می شود. میانگین عملکرد در ریشه در ارقام مختلف ۴۹/۶۵ می باشد.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس عملکرد ریشه و صفات بیوشیمیایی
Table 3- Results of variance analysis of root yield and biochemical traits

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

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

بررسی خصوصیات بیوشیمیایی ژنوتیپ های مختلف چغندر قند تحت شرایط خشکی

جدول ۴- مقایسه میانگین عملکرد ریشه و صفات بیوشیمیایی
Table 4- Mean comparison of root yield and biochemical traits

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

اختلاف میانگین های 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.

References

منابع

- پور اسماعیل، پ. ۱۳۸۵. تاثیرات پلیمر سوپر جاذب بر کارایی مصرف آب و عملکرد در لویبای 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.
- خیرایی، 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. مهدی 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 نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.
- ساعی، م. حبیبی، د. مهدی 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. Stewart and D. R. Nielsen (eds.). Irrigation of Agricultural 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 membrane 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 reagent. Journal biological chemistry. 193: 680-685.

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

Paglia, D. E and W. N., Valentine (1997). Studies on the qualitative characterization of Glutathione 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. Environment 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. London, Chapman & Hall.

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

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