تغییرات مقدار و فلورسانس کلروفیل و قندهای محلول کل در ارقام کلزا در شرایط تنش اسمزی

معصومه نعمتی [1] و علی اصغری [2]

تاریخ دریافت: 90/8/15 تاریخ پذیرش: 91/9/13

1-دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات دانشگاه محقق اردبیلی

2-عضو هیئت علمی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

*مسئول مکاتبه E-mail: ali_asgharii@yahoo.com

چکیده

به منظور ارزیابی اثر تنش اسمزی بر میزان قندهای محلول کل، فلورسانس کلروفیل و میزان کلروفیل بر اساس واحد SPAD در مرحله گیاهچه کلزا، آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در 4 تکرار اجرا گردید. سطوح تنش اسمزی (شاهد، 3/5- بار و 7- بار) به عنوان عامل اصلی و 12 رقم کلزا به عنوان عامل فرعی بود. نتایج نشان داد که تنش اسمزی موجب کاهش قندهای محلول کل، فلورسانس اولیه، حداکثر و متغیر می‌شود، اما میزان کلروفیل و عملکرد فتوشیمیایی فتوسیستم (Fv/Fm) را افزایش می‌دهد. به نظر می‌رسد که افزایش میزان کلروفیل باعث کاهش بازدارندگی نوری و افزایش عملکرد فتوشیمیایی فتوسیستم شده است. از عملکرد فتوشیمیایی می‌توان به عنوان شاخص فیزیولوژیکی برای گزینش ارقام متحمل به تنش اسمزی استفاده کرد. در شرایط تنش اسمزی 7- بار ارقام لیکورد، زرفام و اورینت بیشترین مقدار عملکرد فتوشیمیایی فتوسیستم را داشتند. هم‌چنین، رقم لیکورد عملکرد زیست‌شناختی بالا در هر دو شرایط بدون تنش و دارای تنش داشت. مقدار شاخص تحمل تنش (STI) آن نیز بیشتر از ارقام دیگر بود. در تجزیه به عامل‌ها چهار عامل اول 92/04 درصد از تغییرات صفات را توجیه کردند. عامل اول دارای ضرایب مثبت و بزرگ برای عملکرد و شاخص تحمل تنش و عامل دوم دارای ضرایب مثبت و بزرگ برای فلورسانس کلروفیل بودند. گروه‌بندی ارقام با استفاده از دو عامل اول نشان داد که رقم لیکورد متحمل به تنش اسمزی بوده و از ارقام دیگر متمایز شد.

واژه‌های کلیدی: تنش اسمزی، شاخص تحمل تنش، فلورسانس کلروفیل، قندهای محلول کل، کلزا

Changes in Chlorophyll Content and Fluorescence and Total Soluble Sugars Rapeseed Cultivars under Osmotic Stress

M Nemati [1] and A Asghari [2*]

Received: November 6, 2011 Accepted: December 3, 2012
[1]Graduate Student of Plant Breeding, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
[2]Assist Prof, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
Corresponding Author: Email: ali_asgharii@yahoo.com

Abstract

In order to evaluate the effect of osmotic stress on total soluble sugars, chlorophyll fluorescence and chlorophyll content (SPAD) in the seedling stage of rapeseed, an experiment was conducted as split plot based on randomized complete block design with four replications. The levels of osmotic stress (control, -3.5 and -7 bar) as main factor and 12 rapeseed cultivars as sub factor were used. Results showed that osmotic stress decreased total soluble sugars, Fo, Fv and Fm, but increased SPAD and Fv/Fm. It seemed that increasing of Chlorophyll content caused decreasing of light repression and increasing of Fv/Fm. The Fv/Fm can be used as a physiological index for selection osmotic stress tolerant cultivars. In osmotic stress condition (-7 bar) The Licord, Zarfam and Orient cultivars had the highest Fv/Fm. Also, the Licord cultivar had high biological yield in stress and non stress condition. The amount of stress Tolerant Index (STI) in this cultivar was higher than others. In factor analysis, the four first factors explained 92.04 present of trait variance. The first factor had positive and high coefficients for biological yield and STI and the second factor had positive and high coefficients for chlorophyll fluorescence. Grouping of cultivars using tow first factor showed that Licord cultivar was osmotic stress tolerant and separated from other cultivars.

Keywords: Osmotic stress, Stress tolerance indices, Chlorophyll fluorescence, Total soluble sugars, Rapeseed

مقدمه

دانه‌های روغنی بعد از غلات دومین منبع مهم تامین انرژی مورد نیاز است. در حال حاضر مصرف سرانه روغن در ایران حدود 17 کیلوگرم می‌باشد. بنابراین، نیاز به تولید سالانه 1200000 تن روغن در کشور می‌باشد که از این مقدار تنها 18 درصد آن در داخل تولید شده و بقیه از خارج وارد می‌شود (آمارنامه کشاورزی، 1388). این امر باعث وابستگی شدید به واردات روغن و مستلزم خروج سالیانه میلیون‌ها دلار ارز از کشور می‌شود. به همین خاطر، در سال‌های اخیر واردات آن زیاد شده و بویژه تحقیقات متعددی روی آن در زمینه اصلاح برای تحمل خشکی انجام شده است

(منجم و همکاران، 1390؛ مرادشاهی و همکاران 2004، کاوسر همکاران 2006، ما و همکاران 2006).

تنش‌های زنده و غیر زنده از مهمترین عواملی هستند که تولید گیاهان و امنیت غذایی را در جهان تحت تاثیر قرار می‌دهند. به طوری‌که، میانگین عملکرد گیاهان در شرایط تنش 10 تا 20 درصد کمتر از پتانسیل واقعی آنها گزارش شده است (ماهاجان و توتجا 2005). خشکی از جمله تنش‌های محیطی است که اثرات مخرب و زیان باری را بر روی رشد گیاهان و محصولات زراعی وارد می‌نماید (یوردانو و تسونو 2002). در سال‌های اخیر افزایش مقاومت در برابر خشکی و املاح اهمیت زیادی پیدا کرده است و در کلزا تنوع خوبی از نظر تحمل تنش خشکی وجود دارد. بطوری‌که، می‌توان دامنه تحمل ارقام را تا حد زیادی افزایش داد (ناصری 1375). البته بیشتر برنامه‌های اصلاح تحمل به خشکی بر اساس گزینش تجربی عملکرد بوده که به علت وراثت‌پذیری پایین و بر هم‌کنش ژنوتیپ در محیط، کارایی چندان بالایی ندارند. بنابراین، گزینش غیر مستقیم بر اساس شاخص‌های تحمل تنش و صفات مورفوفیزیولوژیک دیگر به عنوان مکملی برای گزینش عملکرد پیشنهاد شده است (رینودز و همکاران 1998). این موضوع، به ویژه در حالتی که گیاهان تحت تنش خشکی قرار دارند، موثرتر است. زیرا، تنش خشکی باعث کاهش بیشتر وراثت‌پذیری عملکرد می‌شود (چیمنتی و همکاران 2002).

از ویژگی‌های مرتبط با تاثیر یک شاخص یا صفت در بیان مقاومت به خشکی می‌توان به: تنوع ژنتیکی زیاد آن در جمعیت مورد مطالعه، همبستگی بیشتر با عملکرد و آسان، سریع و دقیق بودن اندازه‌گیری آن اشاره کرد (هارد 1976). یکی از شاخص‌های سودمند برای بررسی واکنش ژنوتیپ به تنش خشکی، شاخص STI می‌باشد (فرناندز 1992). بر اساس این شاخص عملکرد ژنوتیپ‌ها در شرایط بدون تنش و تنش‌دار می‌توان ژنوتیپ‌ها را به چهار گروه A (ژنوتیپ‌هایی که عملکرد خوبی در هر دو محیط تنش‌زا و عادی دارند)، B (ژنوتیپ‌هایی که فقط عملکرد خوبی در محیط عادی دارند)، C (ژنوتیپ‌هایی که عملکرد خوبی در محیط تنش‌زا دارند) و D (ژنوتیپ‌های که عملکرد پایین در هر دو محیط دارند)، دسته‌بندی کرد. با استفاده از این شاخص به آسانی می‌توان ژنوتیپ‌های گروه A را از بقیه گروه‌ها تفکیک کرد (فرناندز 1992).

از جمله صفات فیزیولوژیک، صفت فلورسانس کلروفیل است. اندازه‌گیری این شاخص اگرچه آسان است، ولی به دقت خاصی نیاز دارد. بعلاوه، باعث تخریب بافت گیاهی نمی‌شود. در این روش نسبت Fv/Fm تعیین شده و نشان‌دهنده بیشینه کارایی کوانتومی فتوسیستم II و معیاری از نحوه عملکرد سیستم نوری II می‌باشد. مقدار این پارامتر برای اکثر گونه‌های گیاهی در شرایط معمول محیطی 83 درصد می‌باشد. زمانی که گیاه با تنش روبرو می‌شود، این مقدار کاهش می‌یابد (فراچبود 2006). از اینرو، به عنوان معیاری برای گزینش ژنوتیپ‌های متحمل خشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد (عشقی‌زاده و احسان‌زاده 2009). بیشتر مطالعات نشان می‌دهد که تحت شرایط تنش خشکی، کاهش میزان فتوسنتز با اختلال در واکنش‌های بیوشیمیایی همراه می‌باشد (گرن و بویر 1990، هاواکس و همکاران 1998). وقتی که روزنه‌ها به علت تنش خشکی یا دمای زیاد بسته می‌شوند، دی اکسید کربن قابل دسترس کاهش می‌یابد و به دنبال کاهش تولید و ذخیره فرآورده‌های انتقال الکترون یعنی ATP و NADPH در واکنش‌های نوری فتوسنتز، عملکرد کوانتومی فتوسیستم II افت پیدا می‌کند، و از این طریق می‌توان عدم توازن بین فرآیند متابولیسم و تولید را ملاحظه نمود (فلاقئا و همکاران 1994)

در شرایط مزرعه تفاوت در وضعیت آبی خاک به دلیل اختلاف در میزان آب و موارد دیگر می‌تواند باعث تفاوت ژنوتیپ‌ها گردد. در نتیجه تفاوت‌های ژنوتیپی از لحاظ حساسیت معیارهای فیزیولوژیکی ممکن است تنها ناشی از اختلاف ژنتیکی نباشد، بلکه به علت تفاوت در سطوح مختلف آب خاک در گیاهان در معرض تنش نیز

باشد (ری و سینکلر 1997). از این‌رو، بسیاری از پژوهش‌گران از محیط‌های کنترل شده‌ای همانند گلخانه برای بررسی تاثیر تنش خشکی با بهره‌گیری از صفات فیزیولوژیکی استفاده می‌کنند (اللهوردیو و همکاران 2000، مراد شاهی و همکاران 2004 و کاسر و همکاران 2006).

یکی از مکانیسم‌های کارآمدی که گیاه در شرایط کمبود آب از آن بهره می‌برد، تنظیم اسمزی است (ما و همکاران، 2006). به نظر بلوم (1996) تنظیم اسمزی عبارت از کاهش در پتانسیل شیره سلولی به علت افزایش مواد محلول داخل سلول، و نه از طریق کاهش مقدار آب سلول می‌باشد. از مهمترین اسمولیت‌های سهیم در تنظیم اسمزی برای غالب شدن بر آثار سوء تنش کم‌آبی، تجمع اسمولیت‌های سازگار مانند پرولین (شارما و کوهاد 2006) و قندهای محلول است (شارما و کوهاد 2006، مستجرانی و رحیمی ایچی 2008). محتوی قندهای محلول ممکن است روشی مفید در انتخاب گونه‌های مقاوم به شوری و خشکی باشد (کرپسی 1998). با این وجود ما و همکاران (2006) اعلام داشتند که سهم ترکیبات آلی و غیر آلی در بین گونه‌های گیاهی برای تنظیم اسمزی فرق می‌کند، در سورگوم و سویا ترکیبات آلی و در آفتابگردان و کلزا یون‌های غیر آلی سهم مهمی در تنظیم فشار اسمزی دارند.

چنین به نظر می‌رسد که ارزیابی صفات فیزیولوژیکی و شاخص‌های مرتبط با مقاومت به خشکی برای فهم بیشتر مکانیسم‌های مقاومت به خشکی در گیاه و دستیابی به مواد ژنتیکی مقاوم در برنامه‌های اصلاحی ضروری است. لذا، این مطالعه با هدف ارزیابی تغییر مقدار و فلورسانس کلروفیل و قندهای محلول کل در ژنوتیپ‌های کلزا در تنش اسمزی انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش 12 رقم کلزا شامل ارقام پاییزه: اکاپی، اورینت، الویس، ادر، لیکورد، Slm043، Slm046، و ارقام بهاره: طلایه، کوانتوم، هیولا308، زرفام و Jewel از نظر تحمل تنش اسمزی مورد مطالعه قرار گرفتند. آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با 4 تکرار انجام گرفت. سطوح تنش به شرح زیر بود: تیمار شاهد (محلول یک دوم هوگلند (هیس و همکاران 1999))، تیمار فشار اسمزی 3/5- بار (محلول هوگلند یک دوم به علاوه 165 گرم در لیتر پلی‌اتیلن‌گلیکول 6000)، تیمار فشار اسمزی 7- بار (محلول هوگلند یک دوم به علاوه 245 گرم در لیتر پلی‌اتیلن‌گلیکول 6000). میزان پلی‌اتیلن‌گلیکول 6000 مورد نیاز با استفاده از فرمول میچل و کافمن (1973) محاسبه گردید. بذر ارقام ابتدا با هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت 15 دقیقه ضد عفونی شدند و پس از شستشو در آب مقطر، درون پتری دیش‌های استریل شده که کف آن با کاغذ صافی استریل پوشانده شده بود، قرار گرفتند. از دستگاه ژرميناتور به منظور فراهم کردن شرایط مطلوب جوانه‌زنی یعنی دمای 25 درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت 60 درصد استفاده شد. پس از جوانه‌زنی بذور، گیاهچه‌های یکنواخت در لوله‌های اپندروفی که در پوش و انتهای آن قیچی شده بود، به وسیله توری تثبیت شدند. لوله‌های اپندورف، در یک صفحه از جنس یونولیت روی ظروف محیط کشت تعبیه شد. گیاهچه‌ها تا مرحله یادداشت‌بردای در گلدان‌های پلاستیکی 7 لیتری (به ابعاد 40×30×10 سانتی‌متر) محتوی محیط غذایی هوگلند یک دوم با کمی تغییرات (جدول 1) در گلخانه مجهز به سیستم گرمایش و روشنایی رشد یافتند. هر گلدان به 6 رقم اختصاص یافت و هر 2 گلدان به عنوان یک سطح تنش در نظر گرفته شد. محلول‌های غذایی گلدان‌ها هر هفته تعویض می‌شد. تنظیمات گلخانه شامل رطوبت نسبی 40 درصد، دمای دوره روشنایی 3±20 درجه سانتی‌گراد و دمای دوره تاریکی 3±16 درجه سانتی‌گراد و طول روز و شب به ترتیب 16 و 8 ساعت بود. دو هفته پس از رشد، زمانی که گیاهچه‌ها به مرحله 3 برگی رسیدند، تنش آبی با استفاده از

پلی‌اتیلن‌گلیکول 6000 اعمال شد. برای جلوگیری از شوک اسمزی هر 3 روز یک بار پلی‌اتیلن‌گلیکول 6000 به ظروف حاوی محلول‌های غذایی افزوده شد تا در نهایت فشار اسمزی مورد نظر در محیط کشت به دست آید. دو هفته پس از اعمال تنش اسمزی، نمونه‌برداری و یادداشت برداری صفات انجام شد. وزن خشک ریشه و اندام هوایی (پس از جدا کردن ریشه و اندام هوایی، به مدت 48 ساعت در آونی با دمای 70 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند) با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت 0/0001 گرم اندازه‌گیری شد. عملکرد بیولوژیک از مجموع وزن خشک ریشه و اندام هوایی (توکل و پاک نیت، 2007) به دست آمد. سپس با استفاده از عملکرد بیولوژیک ارقام در شرایط بدون تنش (Yp) و دارای تنش (Ys) شاخص تحمل به تنش (STI) به شرح زیر برآورد گردید.

$$STI = (Y_P \times Y_S)/(\overline{Y_P})^2$$

که در آن Yp عملکرد زیست‌شناختی هر ژنوتیپ در محیط بدون تنش، Ys عملکرد زیست‌شناختی هر ژنوتیپ در محیط دارای تنش و $\overline{Y}_P$ میانگین عملکرد زیست‌شناختی کلیه ژنوتیپ‌ها در محیط بدون تنش است.

برای اندازه‌گیری میزان فلورسانس کلروفیل از دستگاه OSI 30 (کمپانی ADC Bioscietific) استفاده شد. تمام اندازه‌گیری‌ها در ساعات 10 تا 13 به منظور به حداقل رساندن تغییرات روزانه انجام شد. در ابتدا گیره مخصوص دستگاه پس از اطمینان از بسته بودن دریچه آن در جوانترین برگ کامل نصب گردید. باید گیره از رگبرگ اصلی فاصله داشته باشد، تا برگ در تاریکی قرار گرفته و واکنش نوری فتوسنتز متوقف گردد. برای این منظور برگ به مدت 15 دقیقه در خاموشی قرار گرفت. پس از سپری شدن این مدت گیره به فیبر نوری دستگاه متصل شد و دریچه گیره باز شد. و پارامترهای فلورسانس اولیه (Fo)، فلورسانس بیشینه (Fm)، پتانسیل عملکرد کوانتوم (Fv/Fm) و نیز فلورسانس متغیر (Fv=Fm-Fo) به دست آمد. در این دستگاه یک دیود نوری، نور فلورسانس را که از یک فیلتر 695nm عبور می‌کند، اندازه می‌گیرد.

استخراج کل کربوهیدارت‌ها با استفاده از روش فنول سولفوریک (باردلف و همکاران، 2001) با کمی تغییرات صورت گرفت. مقدار 0/02 گرم از نمونه‌های خشک برگ پودر شده با 2 میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات (pH = 7) ساییده و با سرعت 10000 rpm به مدت 20 دقیقه در دمای 4°C سانتریفیوژ شدند. از محلول رویی 10 میکرولیتر برداشته و به آن 990 میکرولیتر آب مقطر افزوده شد. به 0/5 میلی‌لیتر از محلول حاصل، 0/5 میلی‌لیتر فنول 5% (محلول آبی) و 2/5 میلی‌لیتر اسید سولفوریک (98%) اضافه گردید. پس از تثبیت رنگ به مدت 10 تا 15 دقیقه در دمای 27-30°C قرار گرفت و جذب نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتری در طول موج 490 نانومتر صورت پذیرفت. میزان کلروفیل با استفاده از دستگاه کلروفیل متر مدل SPAD-502 از کمپانی Konica Minolta از جوانترین برگ کامل اندازه‌گیری شد.

داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزارهای SPSS16 و MSTATC تجزیه و تحلیل شدند. برای مقاسیه میانگین داده‌ها از روش LSD در سطح احتمال 5% استفاده شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده گردید.

جدول 1- ترکیبات محلول غذایی هوگلند (هیس و همکاران، 1999).

شماره	نام ماده شیمیایی	غلظت نهایی µM
1	$Ca(NO_3)_2$	2500
2	KNO_3	300
3	$MgSO_4$	1500
4	KH_2PO_4	1700
5	$FeSO_4$	50
6	H_3BO_3	23
7	$MnSO_4$	5
8	$ZnSO_4$	0/4
9	$CuSO_4$	0/2
10	H_2MoO_4	0/1

نتایج و بحث

تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک و شاخص‌های تحمل نشان داد که بر هم‌کنش تکرار و تنش (خطای اول) برای صفات فلورسانس متغیر، پتانسیل عملکرد کوانتوم و قندهای محلول معنی‌دار بود. از اینرو، تجزیه واریانس این صفات به صوت کرت‌های خرد شده و بقیه صفات بصورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد. (جداول 2 و 3). سطوح تنش اسمزی در همه صفات به غیر از صفت پتانسیل عملکرد کوانتوم، اختلاف معنی‌دار داشتند. بر هم‌کنش ژنوتیپ×تنش نیز برای صفت پتانسیل عملکرد کوانتوم معنی‌دار شد (جدول 2). کمترین ضریب تغییرات (1/7) مربوط به پتانسیل عملکرد کوانتوم و بیشترین مقدار آن (39) مربوط به شاخص تحمل STI بود. ارقام مورد مطالعه نیز در صفات محتوای کلروفیل، Ys و STI اختلاف معنی‌دار داشتند. اثر سطوح تنش اسمزی بر محتوی کلروفیل در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار شد (جدول 3)، بطوریکه با افزایش سطوح تنش اسمزی میزان کلروفیل برگ افزایش یافت و بیشترین مقدار مربوط به تنش اسمزی 7- بار و کمترین میزان مربوط به شاهد بود (جدول 5).

به طور کلی، تاثیر تنش خشکی بر کلروفیل بسیار متنوع و متغیر است و بستگی به شرایط محیطی و ژنوتیپی گیاه دارد. در بعضی از گونه‌ها تنش خشکی باعث کاهش و در برخی باعث افزایش محتوی کلروفیل (با توجه به شرایط تنش) می‌گردد. افزایش کلروفیل در شرایط تنش احتمالا به علت کاهش سطح برگ و تجمع کلروفیل در سطح برگ‌ها باشد. باراکلوف و کیت (2001) گزارش کردند که تحت تنش خشکی میزان کلروفیل در گندم افزایش می‌یابد. آنجام و همکاران (2003) گزارش کردند که تنش خشکی باعث افزایش مقدار کل کلروفیل در جو می‌شود. آنها بیان کردند که در گیاه جو، تنش خشکی منجر به کاهش میزان کلروفیل b می‌شود، اما بر پایداری کلروفیل a می‌افزاید. این موضوع باعث افزایش مقدار کل کلروفیل می‌گردد. کافی و همکاران (1380) بیان کردند، به احتمال فراوان در شرایط تنش ملایم با کاهش سطح برگ غلظت کلروفیل در واحد سطح برگ افزایش می‌یابد. وارد و همکاران (1992) اشاره نمودند که از دست رفتن سریع رطوبت، می‌تواند موجب بالاتر بودن مقدار کلروفیل شود. در صورتی که وقتی سرعت افت رطوبت کند است، مقدار کلروفیل کمتر خواهد بود.

در این آزمایش با افزایش سطوح تنش اسمزی مقدار فلورسانس اولیه (Fo) کاهش یافت (جدول 5) که علت این موضوع احتمالا افزایش غلظت کلروفیل در سطح تنش نسبت به شاهد باشد. در Fo توان استفاده فتوشیمیایی از انرژی برانگیخته حداکثر است. بنابراین، کاهش فتوشیمیایی فلورسانس نیز حداکثر می‌باشد، ولی F_0 در شرایط افزایش سطوح تنش خشکی بیشترین مقدار را نسبت به شرایط بدون تنش دارد که نشان دهنده انهدام و تخریب مراکز واکنش فتوسیستم Π در شرایط تنش خشکی است (هاواکس و همکاران، 1998). قابل توجه است که مقدار مطلق Fo تا حدود زیادی به مقدار کلروفیل در واحد سطح برگ بستگی دارد. کاهش یا وجود غلظت پایین کلروفیل، میزان Fo و Fm را افزایش می‌دهد. زیرا، جذب مجدد فلورسانس توسط کلروفیل‌های باقیمانده کم است. به این دلیل مقدار Fo و Fm به طور مطلق اعتباری ندارد، مگر آنکه مقدار کلروفیل نیز اندازه‌گیری شود. بین سطوح تنش اسمزی و شاهد در پارامتر فلورسانس بیشینه (Fm) اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 5 درصد دیده شد (جدول 5). کاهش در فلورسانس بیشینه در شرایط تنش خشکی می‌تواند نشان دهنده اکسیداسیون کمتر پذیرنده الکترون (QA) تحت شرایط تنش خشکی باشد. بنابراین، واکنش‌های فتوشیمیایی در سطح تنش خشکی کاهش داشته است (هاواکس و همکاران، 1998).

جدول 2- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در ارقام بهاره و پاییزه کلزا در شرایط تنش اسمزی به صورت کرت‌های خرد شده.

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		فلورسانس متغیر (Fv)	پتانسیل عملکرد کوانتوم (Fv/Fm)	قندهای محلول
تکرار	3	12829/14*	0/00015ns	162/81*
تنش	2	190645/18**	0/00041ns	1935/84**
خطای اول	6	11999/74	0/00098	385/01
رقم	11	5481/33ns	0/00036ns	69/14ns
تنش*رقم	22	5796/1ns	0/00049**	81/5ns
خطای دوم	99	5972/48	0/00023	53/99
ضریب تغییرات		17/88	1/7	23/8

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال 5 و1 درصد.

جدول 3- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در ارقام بهاره و پاییزه کلزا در شرایط تنش اسمزی به صورت فاکتوریل.

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				میانگین مربعات	
		فلورسانس اولیه (F_0)	فلورسانس بیشینه (Fm)	محتوای کلروفیل	درجه آزادی	Ys	STI
تکرار	3	1914/81**	57235/73**	17/62ns	3	0/046*	0/018ns
تنش	2	7837/84**	32208/57**	557/12**	1	0/42**	0/66**
رقم	11	383/26ns	8462/56ns	140/34**	11	0/067**	0/53**
تنش*رقم	22	733/37ns	2389/49ns	34/1ns	11	0/04**	0/057ns
خطا	105	50189/92	12195/01	25/38	69	0/015	0/034
ضریب تغییرات		21/8	21/04	15/28		29	39

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال 5 و1 درصد

در صفت فلورسانس متغیر (Fv) نیز اختلاف معنی‌دار بین شاهد و سطوح تنش اسمزی مشاهده شد. تنش‌های محیطی مقدار فلورسانس متغیر را به علت ممانعت از فتواکسیداسیون فتوسیستم Π کاهش می‌دهند. از آنجایی که فلورسانس متغیر (Fv) نشانگر احیای کامل پذیرنده الکترون (QA) می‌باشد. بنابراین، می‌توان استنباط نمود که تنش خشکی در انتقال الکترون به فتوسیستم I اختلال ایجاد کرده است (آروس و همکاران 1998 و یوردانو و تسونو 2002). به عبارت دیگر تنش خشکی با تاثیر سوئی که بر همانند سازی کربن می‌گذارد، ظرفیت پذیرش و انتقال الکترون را کاهش داده، در نتیجه سیستم به سرعت به Fm می‌رسد، که نتیجه آن کاهش فلورسانس متغیر (Fv) خواهد بود. تنش خشکی باعث کاهش Fv می‌گردد (هاک و همکاران، 1993). بر هم‌کنش تنش در رقم از نظر پتانسیل عملکرد کوانتوم معنی‌دار بود و ارقام لیکورد و زرفام بیشترین پتانسیل عملکرد کوانتوم را در شرایط بدون تنش داشتند. این دو رقم و رقم اورینت در شرایط تنش 7-

بار نیز بیشترین مقدار عملکرد کوانتوم را داشتند. کمترین مقدار این شاخص مربوط به ارقام Slm043 و Jewel در شرایط تنش بود (شکل 1). برخی از پژوهش‌گران گزارش کردند که ارقام متحمل به شوری و خشکی نسبت Fv/Fm بالاتری نسبت به ارقام حساس دارند، به عبارت دیگر کارآیی سیستم نوری Π در رقم مقاوم بیشتر بوده است. (رمزی و همکاران، 1994).

در این آزمایش در شرایط شرایط تنش، میزان قندها کاهش یافت (جدول 5). کاهش میزان قندهای محلول در تیمارهای تنش کم‌آبی احتمالاً به دلیل مصرف قندها در سنتز متابولیت‌هایی چون پرولین در اندامهای هوایی باشد (ایریگون و همکاران 1992). همچنین این کاهش احتکال دارد بر اثر کاهش فعالیت ریشه و تقلیل متابولیسم کربوهیدرات‌ها در اثر تنش کم‌آبی و در نتیجه کاهش نقل و انتقال قندها در آوندهای آبکشی باشد (ایستگیت 1992). مهمترین منبع مواد محلول، ترکیبات فتوسنتزی است که یا به طور مستقیم تولید می‌شوند و یا از هیدرولیز ذخایر کربنی مثل فروکتان تولید می‌گردند. از آن جایی که فتوسنتز و رشد هر دو تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد، بنابراین تجمع مواد محلول نیز تحت تأثیر تعادل آن‌هاست (کرایدیمن 1980).

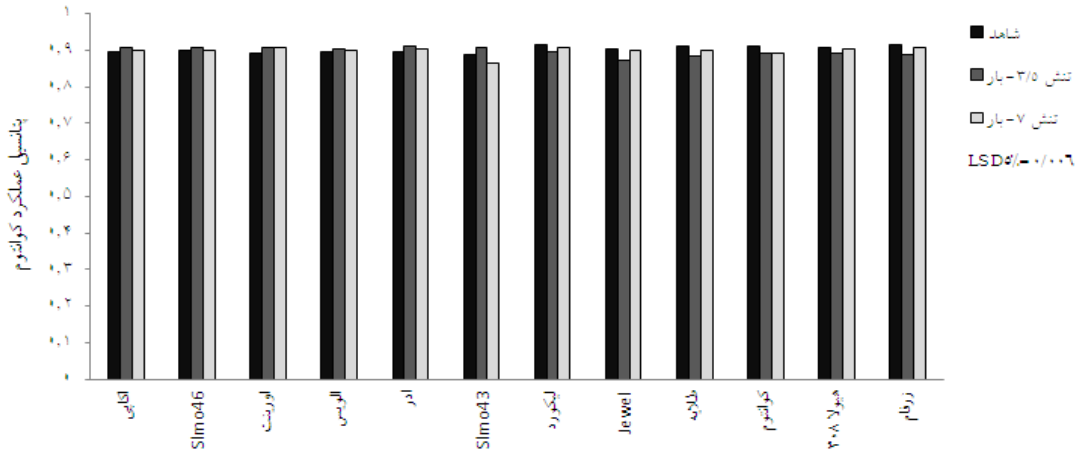
بیشترین عملکرد زیست‌شناختی در شرایط تنش 3/5- بار مربوط به ارقام لیکورد، Slm043، اورینت و الویس و کمترین مقدار آن مربوط به رقم طلاییه بود (شکل 2). در تنش 7- بار زرفام کمترین و ارقام، Slm043، Slm046، jewel، لیکورد و هیولا 308 بیشترین مقدار را داشتند. در مجموع با افزایش سطوح تنش اسمزی میانگین عملکرد زیست‌شناختی در ارقام مورد بررسی به غیر از ارقام طلاییه و هیولا 308 روند کاهشی داشت. باید توجه داشت رقمی را می‌توان به عنوان رقم مقاوم به خشکی معرفی کرد که در هر دو شرایط تنش و بدون تنش بیشترین تولید را داشته باشد (فرناندز، 1992). در این آزمایش رقم لیکورد با میانگین 1/61، 0/627 و 0/542 گرم به ترتیب در سطح شاهد و دو سطح تنش بیشترین عملکرد زیست‌شناختی را داشت.

در این پژوهش ارقام ادر و لیکورد بیشترین میزان کلروفیل برگ را داشتند. این نتیجه در مورد رقم لیکورد با پتانسیل عملکرد کوانتوم همخوانی داشت. شهریاری و کریمی (1380) بیان کرد که پس از اعمال تنش، محتوای کلروفیل در برگ‌های رقم حساس کاهش، اما در ارقام مقاوم افزایش نشان می‌دهد و برگ‌های ارقام مقاوم نسبت به ارقام حساس رنگ سبز تیره‌تری را نشان می‌دهند.

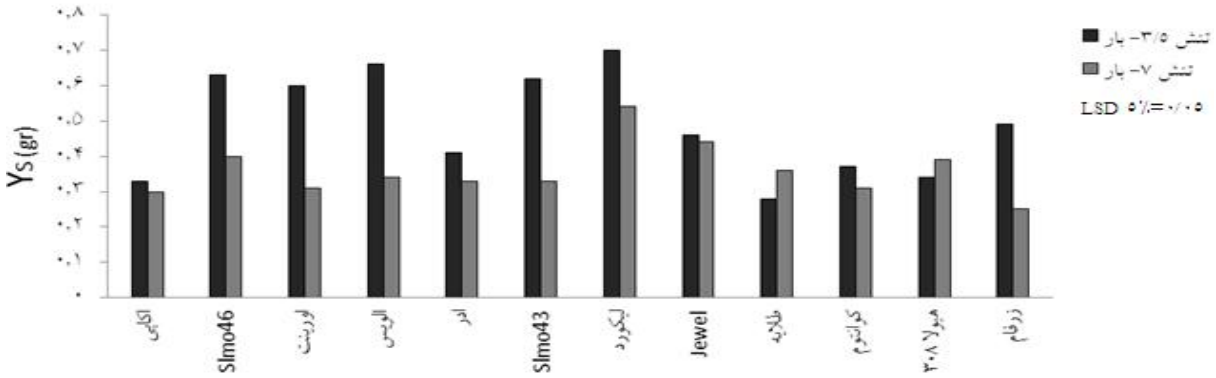
جدول 5- مقایسه میانگین سطوح تنش اسمزی

	محتوی کلروفیل SPAD	فلورسانس اولیه ms	فلورسانس بیشینه ms	فلورسانس متغیر ms	قندهای محلول g
شاهد	29/96[c]	114/21[a]	618/45[a]	504/43[a]	36/43[a]
تنش اسمزی 3/5- بار	32/27[b]	98/08[b]	495/57[b]	402/47[b]	32/21[b]
تنش اسمزی 7- بار	39/66[a]	88/75[c]	459/85[b]	389/27[b]	23/94[c]

اعدادی که با حروف مشترک نشان داده شدند با هم اختلاف معنی‌دار ندارند.



شکل 1- میانگین پتانسیل عملکرد کوانتوم ارقام مختلف کلزا در سطح شاهد و سطوح تنش اسمزی.



شکل 2- میانگین Ys ارقام مختلف کلزا در دو سطح تنش اسمزی

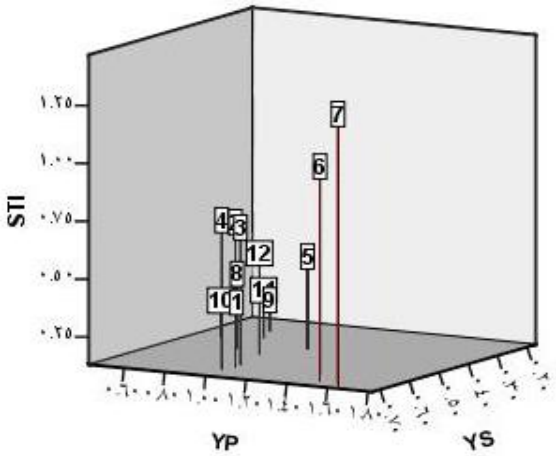
جدول 4- مقایسه میانگین ارقام کلزا از نظر صفات مورفوفیزیولوژیک مورد بررسی

شماره	رقم	Yp (گرم)	STI	محتوی کلروفیل
1	اکاپی	0/58	0/201	30/79
2	Slm046	1/01	0/59	32/7
3	اورینت	1	0/49	31/25
4	الویس	0/99	0/54	30/31
5	ادر	1/047	0/42	42/63
6	Slm043	1/41	0/75	31/27
7	لیکورد	1/61	1/107	34/58
8	Jewel	0/78	0/39	35/5
9	طلایه	0/677	0/24	31/68
10	کوانتوم	0/57	0/21	32/04
11	هیولا 308	0/74	0/302	32/17
12	زرفام	0/935	0/39	30/65
	LSD%5	0/27	0/18	4/07

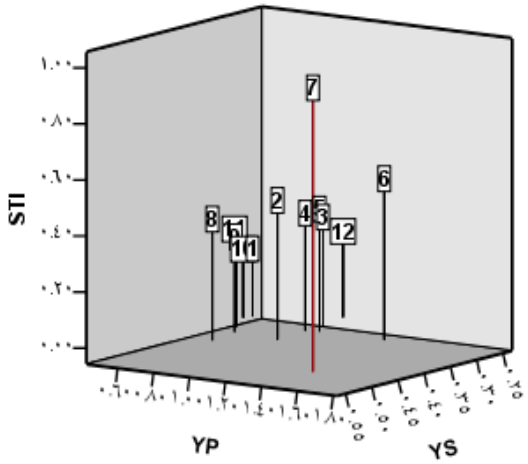
همچنین، از دست دادن سریع کلروفیل در ارقام حساس به تنش باعث کاهش فعالیت فتوسنتز می‌شود.

برای تعیین ارقام متحمل به تنش اسمزی در شرایط تنش و بدون تنش از نمودار سه بعدی عملکرد در شرایط تنش و بدون تنش و شاخص تحمل به تنش (شکل 3 و 4) استفاده گردید. در این گروه‌بندی رقم‌های لیکورد و Slm043 در نمودار مربوط به تنش 3/5- بار و رقم لیکورد در نمودار مربوط به تنش 7- بار در ناحیه A قرار گرفتند. این ارقام دارای STI متوسط تا بالایی بودند که این مسئله سودمندی این شاخص را در جدا نمودن ارقام گروه A از گروه‌های دیگر (B، C و D) نشان می‌دهد.

ارقام لیکورد و Slm043 بیشترین عملکرد بیولوژیک را در شرایط بدون تنش داشتند، ولی رقم لیکورد به ترتیب با میانگین عملکرد بیولوژیک 0/7 و 1/61 گرم در شرایط تنش و بدون تنش به عنوان متحمل‌ترین رقم تعیین شد. بهمرام و همکاران، (2006) و زبرجدی، (1387) شاخص STI را بهترین شاخص برای معرفی ارقام متحمل به خشکی کلزا معرفی نمودند.



شکل 3- نمودار سه بعدی جهت تعیین ارقام متحمل به اسمزی بر اساس شاخص **STI** در تنش 3/5-0بار (1- اکاپی، 2- **Slm046**، 3- اورینت، 4- الویس، 5- ادر، 6- **Slm043**، 7- لیکورد، 8- **Jewel**، 9- طلایه، 10- کوانتوم، 11- هیولا308 و 12- زرفام).



شکل 4- نمودار سه بعدی جهت تعیین ارقام متحمل به تنش اسمزی بر اساس شاخص **STI** در تنش 7- بار (1- اکاپی، 2- **Slm046**، 3- اورینت، 4- الویس، 5- ادر، 6- **Slm043**، 7- لیکورد، 8- **Jewel**، 9- طلایه، 10- کوانتوم، 11- هیولا308 و 12- زرفام).

چون این شاخص قادر است ارقامی را که در هر دو شرایط عملکرد بالقوه بالایی دارند (گروه A) از سه گروه دیگر تفکیک نماید

تجزیه به عامل‌ها نیز در سطوح مختلف تنش برای گروه‌بندی صفات و ارقام مورد مطالعه بطور جداگانه انجام شد. نتایج نشان داد که ساختار ضرایب عامل‌ها برای صفات مورد بررسی در دو سطح تنش و شاهد به طور تقریبی مشابه بود. از اینرو، از کلیه داده‌ها صرف نظر از سطوح تنش، در تجزیه عاملی استفاده شد (جدول 6). بر مبنای مقادیر ویژه بزرگتر از یک، 4 عامل برای تفسیر داده‌ها انتخاب شدند. این عامل‌ها 92/04 درصد از کل تغییرات داده‌ها را توجیه کردند. مقدار کفایت نمونه‌گیری یا ضریب KMO و معنی‌دار بودن آزمون کروی بودن بارتلت بیانگر کافی بودن مقادیر همبستگی متغیرهای اولیه برای انجام تجزیه به عامل‌ها بود. اختصاص صفات به عوامل مختلف بر اساس مقادیر ضرایب عاملی بعد از انجام چرخش عامل‌ها صورت گرفت. به این ترتیب که ضرایب عاملی بزرگتر از نیم صرف‌نظر از علامت مربوطه به عنوان ضرایب معنی‌دار در نظر گرفته شدند (مقدم و همکاران، 1373).

عامل اول بیشترین سهم (40/36 درصد) از تغییرات داده‌ها را توجیه کرد و دارای ضریب بزرگ و مثبت برای عملکرد زیست‌شناختی، میانگین عملکرد زیست‌شناختی در شرایط بدون تنش (Yp)، میانگین عملکرد زیست‌شناختی در شرایط تنش اسمزی (Ys) و شاخص تحمل (STI) بود. لذا، عامل اول را می‌توان به عنوان عامل عملکرد و تحمل به تنش اسمزی نام گذاری کرد. به عبارت دیگر انتخاب بر اساس عامل اول، موجب گزینش ارقام متحمل‌تر به تنش اسمزی با عملکرد بالا در هر دو محیط تنش و بدون تنش می‌شود. دی و کار (1995) گزارش کردند که در شرایط تنش، تجمع ماده خشک در بافت‌های ریشه و اندام هوایی ارقام متحمل بیشتر از ارقام حساس است.

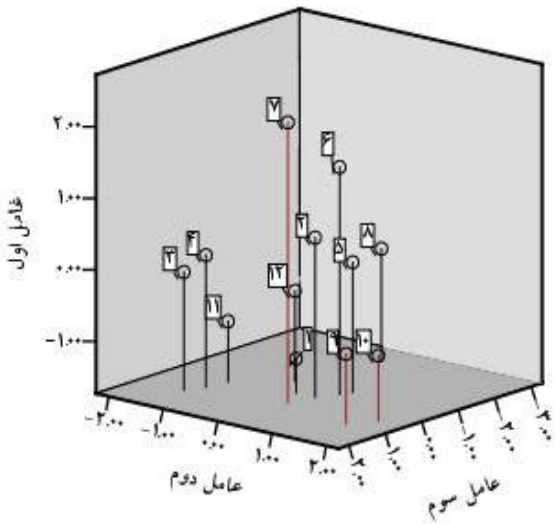
عامل دوم ضرایب بزرگ و مثبت برای صفات فلورسانس متغیر، اولیه و حداکثر داشت. لذا، می‌توان این عامل را تحت عنوان عامل بازدارنده تولید در نظر گرفت. مطالعات نشان داده که تحت شرایط تنش خشکی، کاهش میزان فتوسنتز با اختلال در واکنش‌های بیوشیمیایی همراه می‌باشد (هاواکس و همکاران، 1998).

عامل سوم ضریب مثبت و بزرگ برای صفت قند احیایی داشت. این عامل را می‌توان به عنوان عامل موثر بر سازگاری گیاه معرفی کرد. معمولا قندهای محلول در شرایط تنش تجمع می‌یابند که به عنوان عامل یا محافظ اسمزی عمل می‌نمایند.

عامل چهارم ضرایب مثبت و بزرگ برای صفات محتوای کلروفیل و پتانسیل عملکرد کوانتوم داشت. این عامل را می‌توان عامل فیزیولوژیکی تحمل تنش اسمزی معرفی کرد. تنش خشکی موجب کاهش عملکرد کوانتوم می‌شود، ولی حفظ غلظت کلروفیل تحت شرایط تنش اسمزی به ثبات فتوسنتز در این شرایط کمک می‌کند (کاستریلو و تروجیلو، 1994). (آروس و همکاران، 1998)بیان می‌دارد، دوام فتوسنتز و حفظ غلظت کلروفیل تحت شرایط تنش خشکی از جمله شاخص‌های فیزیولوژیکی تحمل خشکی است. در صورتی که گزینش بر اساس این عامل صورت گیرد منجر به انتخاب ارقامی می‌شود که توانسته‌اند با حفظ غلظت کلروفیل به دوام فتوسنتز کمک کرده و در برابر تنش ثبات عملکرد داشته باشند.

در این تجزیه از سه عامل اول که بیشترین سهم (78/82%) را در توجیه تغییرات داده‌ها داشتند، برای گروهبندی ارقام استفاده شد. نتایج نشان داد که ارقام لیکورد و Slm043 از نظر عامل اول نسبت به ارقام دیگر در سطح بالاتری قرار گرفته و متحمل به تنش اسمزی هستند.

در کل، نتایج مقایسه میانگین برای صفت پتانسیل عملکرد کوانتوم نشان داد که رقم لیکورد در سطح شاهد بیشترین مقدار را داشت و در دو سطح تنش اسمزی کاهش چندانی نشان نداد. این رقم در هر دو سطح تنش اسمزی شاخص‌های تحمل به تنش بالاتری نسبت به دیگر ارقام داشت. در گروه‌بندی با استفاده از روش تجزیه به عامل‌ها نیز رقم لیکورد به عنوان رقم متحمل به تنش اسمزی شناخته شد.



شکل 5- نمودار سه بعدی پراکنش ژنوتیپ‌ها بر اساس سه عامل اول. (1- اکاپی، 2- Slm046، 3- اورینت، 4- الویس، 5- ادر، 6- Slm043، 7- لیکورد، 8- Jewel، 9- طلایه، 10- کوانتوم، 11- هیولا308 12و زرفام).

جدول 6- ماتریس ضرایب عاملها بعد از چرخش واریماکس.

صفت	عامل 1	عامل 2	عامل 3	عامل 4
عملکرد بیولوژیک	0/977	-0/198	0/042	0/029
Yp	0/966	-0/138	0/05	0/054
Ys	0/886	-0/279	0/024	0/017
STI	0/977	-0/137	0/083	0/019
محتوای کلروفیل	0/198	0/218	-0/419	0/793
فلورسانس متغییر	-0/093	0/965	-0/069	0/03
فلورسانس اولیه	-0/46	0/691	-0/38	-0/267
فلورسانس بیشینه	-0/33	0/882	0/029	0/093
پتانسیل عملکرد کوانتوم	-0/123	-0/157	0/429	0/779
قندهای محلول	0/134	-0/057	0/953	0/007
درصد واریانس توجیه شده	40/36	24/16	14/29	13/22
جمع کل واریانس توجیح شده	40/36	64/52	78/82	92/04
مقادیر ویژه	4/03	2/41	1/42	1/32

منابع مورد استفاده

آمارنامه کشاورزی. 1388. وزارت جهاد کشاورزی، معاونت امور برنامه‌ریزی، اقتصادی و بین‌المللی دفتر آمار و فناوری اطلاعات.

زبرجدی ار، 1387. مطالعه اثر تنش خشکی روی عملکرد و اجزای عملکرد برخی از ژنوتیپ‌های پاییزه کلزا. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی شماره542، دانشگاه رازی.

شهریاری، را، کریمی، 1380. ارزیابی مقاومت به سرما در ژرم پلاسم‌های گندم با اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و رنگ برگ‌ها. چکیده مقالات هفتمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران ، صفحه 507.

کافی م، لاهوتی م، زند ا، شریفی ح ر، گلدانی م، 1384. فیزیولوژی گیاهی (ترجمه). انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

مقدم م، محمدی شوطی ا ق و آقایی سر برزه م، 1373. آشنایی با روش‌های آماری چند متغیره (ترجمه). انتشارات پیشتاز علم.

منجم س، محمدی و ا، احمدی ع، 1390. ارزیابی تحمل به خشکی در برخی از ارقام زراعی کلزا با استفاده از شاخص‌های ارزیابی تنش. مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی، جلد جهارم، شماره اول، صفحه 151 تا 169.

ناصری ف، 1375. دانه های روغنی(ترجمه). انتشارات آستان قدس رضوی.

Allahverdiev SI, Sakamoto A, Nishiyama Y and Murata N, 2000. Inactivation of photosystems I and II in response to osmotic stress in Synechococcus. Contribution of water channels. Plant Physiol, 122:1201–1208.

Anjum F, Yaseen M, Rasool E, Wahid A and Anjum S, 2003. Water stress in barley (*Hordeum vulgare* L.) II. Effect on chemical composition and chlorophyll contents. Pak J Agri Sci 40(1-2): 41-49.

Araus JL, Amaro T, Voltas J, Nakkoul H and Nachit MM, 1998. Chlorophyll fluorescence as a selection criterion for grain yield in durum wheat under Mediterranean condition. Fild Crop Res 55: 209-223.

Barraclough PB and Kate J, 2001. Effect of water stress on chlorophyll meter reading in wheat. Plant Nutrition, 5: 722-723.

Behmaram RA, Faraji AF and Amiari-Oghan H, 2006. Evaluation of drought tolerance in spring rapeseed cultivars (*Brassica napus* L.). The 9th Iranian crop science congress. Aboureyhan Campus- University of Tehran. Pp:496.

Blum A. 1996. Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. Plant Growth regulators 20: 135-148.

Bordloff D Etchebfr H and Buscall R, 2001. Improved procedures for extraction of water-extractable carbohydrates from particulate organic matter. Oceanologica Acta 24: 343-347.

Castrillo M and Trujillo I, 1994. Ribulose-1-5, biphosphate caboxylase activity & chlorophyll & protein content in two cultivars of French bean plants under water stress & rewatering. Photosyn 30: 175-181.

Chiementi CA, Pearson J and Hal AJ, 2002. Osmotic adjustment and yield maintenance under drought in sunflower. Field Crops Res. 75: 235-246.

De R, Kar RK, 1995. Seed germination and seedling growth of mange bean (*vigana radiata*) under water stress induced by PEG 6000. Seed Sci Technol 23: 301-308.

Eshghizade HR and Ehsanzadeh P, 2009. Maize hybrids performance under differing irrigation regimes: 1- chlorophyll fluorescence, growth and grain yield. Iranian J Agr Sci (In press).

Fernandez GC, 1992. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. In: Kuo CC (Ed) proceeding of the international symposium on adaptation of vegetable and other food crops to temperature water stress. Taiwan, 13-18, august.

Flageaa Z, Pastore B, Campanile RG.and Di Fonzo N, 1994. Photochemical quenching of chlorophyll fluorescence and drough tolerance in different durum wheat (*Triticum durum*) cultivars. 1. Agric Sci Cambridge 122(2): 183-192.

Fracheboud Y, 2006. Using chlorophyll fluorescence to study photosynthesis. Institute of Plant Sciences ETH, Universitatstrass, CH-8092 Zurich.

GraanT, and Boyer JS. 1990. Very high CO_2 partially restores photosynthesis in sunflower at low water potentials. Planta 181: 378-384.

Hak R, Rinderle-Zimmer U, Linchtenthaler HK and Natr L, 1993. Chlorophyll a fluorescence signatures of nitrogen deficient barley leaves. Photosynthetic 28:151-159.

Havaux M, Emez M and Lannoye R, 1998. Selection de varieties de bale dur (*Triticum durum* Desf.) etde ble tender (*Triticum aestivum* L.) adapted a la secberesse par I measure de I extinction de la et de bale tender (*Triticum aestivum* L.) adapted a la secberesse par I measure de I extinction de la fluorescence dela chlorophyll in viva. Agron 8(3): 193-199.

Heiss S, Schafer HJ, Haag-Kerwer A and Rausch T, 1999. Cloning sulfur assimilation affects the expression of a putative low-affinity sulfate transporter and isoforms of ATP sulfurylase and APS reductase. Plant Mol Biol, 39: 847-857.

Hurd EA, 1976. Breeding for drought resistance in water deficit and plant growth. Vol. 4. Soil water management and plant responses. Academic Press.

Irrigoyen JH, Emerich DW. and sanchez Diaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentration of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*medicago sative*) plants. Physiologia plantarum 84: 55-66.

Kauser R, Ahar HR and Ashraf M, 2006. Chlorophyll fluorescence: A potential indicator for rapid assessment of water stress tolerance in canola (*Brassica napus* L.). Pak J Bot 38(5): 1501-1509.

Kerepesi I. 1998. Osmotic and salt stresses induced differential alternation in water-soluble carbohydrate content in wheat seedling. Journal Agric Food chem 5347-5354.

Kriedemann PE. 1980. Stomatal and photosynthetic limitations to leaf growth. Plant Physiol,13,15-31.

Ma Q, Niknam R and Turner DW. 2006. Response of osmotic adjustment and seed yield of *Brassica napus* and *Brassica jounce* to soil water deficit at different growth stages. Aust. J. Agric. Res. 57: 221-226.

Mahajan S and Tuteja N, 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview. Biochemistry and Biophysics, 444: 139-158.

Michel BE. and Kaufmann RK, 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant Physiol 51: 914-916.

Moradshahi A, Salehi eskandari B and Kholdebarin B, 2004. Some physiological responses of canola (*Brassica napus* L.) to water deficit stress under laboratory conditions. Iranian J Sci Technol 28: 43-50.

Mostajerani A and Rahimi-Eichi V. 2008. Drought stress effects on root anatomical characteristics of rice cultivars (*Oryza sativa* L.). Pak. J. Biol. Sci. 11: 2173-2183.

Ramzi B, Morales F, Abadia A, Gomeza J and Abadia J, 1994. Chlorophyll fluorescence as a possible tool for salinity tolerance screening in barley (*Hordeum vulgare* L.). Plant Physiol 104: 667-673.

Rey JD, and Sinclair TR, 1997. Stomata closure of maize hybrids in response to drying soil. Crop Sci 37: 803-807.

Reynolds MP, Singh RP, Ibrahim A, Ageeb OAA, Larque-Saavedra A and Quick JS, 1998. Evaluating physiological traits to compliment empirical selection for wheat in warm environments. Euphytica 100:85-94.

Sharma KD and Kuhad MSMS. 2006. Influence of Potassium level and soil moisture regime on biochemical metabolites of Brassica Species. Brassica J. 8:71-74.

Tavakol E and Pakniyat H, 2007. Evaluation of some drought criteria seedling stage in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. Pakistan J Biol Sci 10(7): 1113-1117.

Ward K, Scarth R, Daun J. and Mcvetty PBE, 1992. Effects of genotype and environment on seed chlorophyll degradation during ripening in four cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). Canadian J Plant Sci 72: 643-649.

Westgate ME. 1992. Flower and pod development in water deficit soybeans (*Glycine max* L. Merr). Dept. of Botany and Microbiology, Auburn University, Auburn, Al.U.S.A.

Yordanov V and Tsonev T, 2002. Plant responses to drought, acclimation and stress tolerance. Photosynthica 38(1): 171-186.