SBSI

Journal of Sugar Beet

Journal Home Page: https://jsb.areeo.ac.ir

ISCPBS
انجمن علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران

The combined foliar application of zinc oxide nanoparticles, chitosan, and proline enhances physiological traits and yield in drought-stressed sugar beet (*Beta vulgaris L.*)

Shahnaz Nikzad,[1] Soran Sharafi[2]*, Tooraj Mir Mahmoudi[1], Saman Yazdan Seta[1], Hamze,Hamze[3]

(Received: 16 Sep. 2025 ; Accepted: 3 Nov. 2025)

How to cite this article:
Nikzad SH, Sharafi S, Mir Mahmoudi T, Yazdan Seta S, Hamze H. The combined foliar application of zinc oxide nanoparticles, chitosan, and proline enhances physiological traits and yield in drought-stressed sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Journal of Sugar Beet. 2025: (41)1. 91-112. (In Persian with English abstract). DOI: 10.22092/jsb.2025.370717.1395.

Extended Abstract

Introduction

Sugar beet is a crucial crop for global sugar production, but its yield is significantly hampered by drought stress, which can lead to a reduction of up to 30% by interfering with physiological and biochemical functions. The use of nano-fertilizers such as zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) and plant biostimulants like chitosan and proline offers a promising strategy to improve drought resistance in crops. ZnO-NPs can enhance nutrient absorption and boost antioxidant defenses, whereas chitosan serves as an elicitor to reinforce plant defense systems, and proline acts as an essential osmolyte for osmotic balance. We hypothesized that the combined foliar application of ZnO-NPs, chitosan, and proline would synergistically enhance the physiological performance, yield, and sugar concentration of sugar beet under conditions of limited irrigation more effectively than when applied individually.

Materials and Methods

A two-year field study (2021-2022 and 2022-2023) was conducted using a split-split plot design arranged in Randomized Complete Blocks with three replications. The main plots were assigned to two irrigation regimes: normal (irrigation after 90 mm evaporation) and deficit irrigation (irrigation after 180 mm evaporation). Sub-plots received foliar applications of ZnO-NPs at three concentrations (0, 2, and 4 mg L^{-1}). The sub-sub plots received four biostimulant combinations: control (water), chitosan (200 mg L^{-1}), proline (150 ppm), and a combination of chitosan + proline. Key parameters assessed included leaf relative water content (RWC), stomatal conductance, leaf proline content, root yield, sugar content, and white sugar yield. Data analysis was performed using SAS software (v. 9.1), and mean comparisons were conducted with the LSD test at a 5% significance level.

Results

The experimental findings demonstrated that the imposition of deficit irrigation significantly impaired key physiological and agronomic parameters, leading to a substantial reduction in leaf relative water content (RWC), stomatal conductance, and ultimately, root yield. However, the foliar application of the various treatments, particularly the combined formulations, effectively mitigated these adverse effects. Under drought stress conditions, an analysis of physiological traits revealed that the application of 4 mg L^{-1} ZnO-NPs alone resulted in the highest recorded leaf proline content (0.46 mg g^{-1} FW). Furthermore, the binary combination of chitosan and proline under the same stress conditions provided a significant boost, increasing proline content by 4.76% and enhancing stomatal conductance by 13.32% compared to the stressed control plants, indicating an improved osmotic adjustment and gas exchange capacity. Regarding yield and quality parameters, the most effective single treatment under normal irrigation was 2 mg L^{-1} ZnO-NPs, which increased root yield by 11.07%. Under the constraint of deficit irrigation, the chitosan and proline combination emerged as particularly potent, significantly elevating root yield by 11.76%, sugar

1. Agriculture, Water, Food, and Nutraceuticals Institute, Mahabad Branch, Islamic Azad University, Mahabad, Iran.
2. Agronomy and Plant Breeding Department, Mahabad Branch, Islamic Azad University, Mahabad, Iran.
*Corresponding author: sharafi1352@yahoo.com
3. Sugar Beet Seed Department, Agricultural and Natural Resources Research Center of Hamedan, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Hamedan, Iran.

content by 15.67%, and white sugar yield by a remarkable 32.71% compared to the non-treated stressed control. The most compelling evidence of an interactive effect was observed with the triple-combination treatment. The synergistic application of 2 mg L^{-1} ZnO-NPs+ Chitosan+ Proline was the most effective overall strategy. It produced the highest values across multiple critical metrics: stomatal conductance (16.51 mol m^{-2} s^{-1}), root yield (68.77 t ha^{-1}), sugar content (16.34%), and white sugar yield (9.65 t ha^{-1}). This superior performance across the board clearly demonstrates a powerful synergistic interaction among the components, where their combined effect surpasses the sum of their individual contributions, establishing this integrated approach as a highly effective strategy for enhancing sugar beet productivity and resilience under water-deficit conditions.

Discussion

The findings of this study robustly confirm our initial hypothesis that the combined foliar application of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs), chitosan, and proline confers a greater advantage in mitigating drought stress in sugar beet than the application of any single component. The observed synergy suggests that each element contributes a unique, complementary mechanism to a comprehensive defense strategy, leading to the significant improvements in physiological resilience and yield parameters. The enhanced physiological performance can be attributed to a multi-faceted mechanism of action. Firstly, zinc oxide nanoparticles are instrumental in bolstering the plant's biochemical defenses. They are known to enhance the activity of key antioxidant enzymes, thereby reducing the oxidative damage inflicted by reactive oxygen species (ROS) under drought conditions. Concurrently, ZnO-NPs contribute to improved photosynthetic efficiency, potentially by protecting the photosynthetic apparatus and facilitating better light utilization. Secondly, chitosan functions primarily as a potent elicitor, priming the plant's innate defense systems. This priming effect leads to a more robust and rapid response to water scarcity, including improved stomatal regulation. By optimizing stomatal aperture, chitosan helps maintain a critical balance between CO_2 uptake for photosynthesis and water conservation through transpiration. Thirdly, the role of proline is fundamental to osmotic adjustment. As a highly soluble osmolyte, proline accumulates in the cytoplasm, lowering the osmotic potential and helping to maintain turgor pressure within cells. This process is vital for sustaining cell expansion and metabolic activity under dehydrating conditions. Furthermore, proline acts as a molecular chaperone, stabilizing proteins and membranes, and as a potent antioxidant, directly scavenging free radicals to protect cellular structures from oxidative damage. The powerful synergy among these components creates a cascade of benefits. The elicitor activity of chitosan primes the plant's stress response pathways, potentially making it more receptive to the benefits of ZnO-NPs and proline. The ROS-scavenging and photosynthetic support from ZnO-NPs, combined with the osmotic and protective functions of proline, collectively lead to superior plant water status, a more robust antioxidant defense system, and ultimately, a more efficient partitioning of photo-assimilates. This redirected flow of carbohydrates towards the roots as a primary sink is the direct cause of the observed enhancements in both root yield and sugar quality under drought stress. This integrated approach, which leverages multiple physiological pathways, aligns with the growing body of literature advocating for integrated nutrient and biostimulant strategies as a cornerstone of sustainable and climate-resilient agriculture.

Conclusion

This study concludes that the combined foliar application of zinc oxide nanoparticles (2 mg L^{-1}), chitosan, and proline is a highly effective agronomic strategy for alleviating the detrimental impacts of drought stress on sugar beet. This treatment combination synergistically improves the plant's physiological resilience, leading to significantly higher root yield and sugar productivity. It is therefore recommended as a practical and sustainable approach for cultivating sugar beet in water-limited environments to ensure economic stability for farmers.

Keywords: Physiological traits, proline, sugar content, water deficit.

References

Molavi M, Nabizadeh E, Hamze H, Sharafi S. Investigating the effect of priming with UV-B and foliar application of micronutrient elements in modulating the adverse effect of water deficit stress in sugar beet (*Beta vulgaris*). Agricultural Research. 2025; Doi:https://doi.org/10.1007/s40003-025-00851-w

Gholizadeh F, Gohari G, Pál M, Szalai G, Khan I, Janda T. Enhancing wheat resilience to salt stress through an integrative nanotechnology approach with chitosan proline and chitosan glycine. Scientific Reports.2025;15(1):11126. Doi:https://doi.org/10.1038/s41598-025-12345-4.

Agurla S, Gayatri G, Raghavendra AS. Nitric oxide as a secondary messenger during stomatal closure as a part of plant immunity response against pathogens. Nitric Oxide. 2014;43:89-96. Doi:https://doi.org /10.1016/j.niox.2014.07.004.

نشریه چغندرقند
Journal Home Page: https://jsb.areeo.ac.ir

بررسی اثر محلول‌پاشی نانوذره‌ی روی و ترکیبات محرک رشد بر صفات فیزیولوژیکی و عملکرد چغندرقند تحت شرایط کم‌آبی†

شهناز نیکزاد[۱]، سوران شرفی[۲*]، تورج میرمحمودی[۳]، سامان یزدان‌ستا[۳]، حمزه حمزه[۴]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۶/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۸/۱۲
نوع مقاله: پژوهشی
DOI: 10.22092/jsb.2025.370717.1395
ش. نیکزاد، س. شرفی، ت. میرمحمودی، س. یزدان‌ستا و حمزه حمزه، ۱۴۰۴. بررسی اثر محلول‌پاشی نانو ذره روی و ترکیبات محرک رشد بر صفات فیزیولوژیکی و عملکرد چغندرقند تحت شرایط کم‌آبی، چغندرقند **۴۱(۱): ۹۱- ۱۱۲**

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی اثرات نانوذرات اکسید روی و محرک‌های رشد (کیتوزان و پرولین) بر صفات فیزیولوژیک و عملکرد چغندرقند تحت شرایط آبیاری نرمال و تنش کم‌آبی انجام شد. آزمایش به‌صورت کرت‌های دو بار خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال‌های ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ اجرا گردید. تیمارها شامل دو سطح آبیاری نرمال (آبیاری بعد از ۹۰ میلی‌متر تبخیر و تنش کم‌آبی (آبیاری بعد از ۱۸۰ میلی‌متر تبخیر) در کرت‌های اصلی و سه سطح نانوذرات اکسید روی (صفر، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر) و چهار سطح محرک رشد (شاهد، کیتوزان (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، پرولین (۱۵۰ppm) و ترکیب آن‌ها) در کرت‌های فرعی بودند. نتایج نشان داد کاربرد ۴ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید روی تحت شرایط تنش کم‌آبی محتوی پرولین (۱۷/۹۴ درصد)، ضریب هدایت روزنه‌ای (۳۲/۱۳ درصد)، عملکرد ریشه (۱۰/۴۸ درصد)، عیار قند (۱۱/۴۶ درصد) و عملکرد شکر (۲۶/۸۹ درصد) را در مقایسه با شاهد به‌صورت معنی‌داری افزایش داد. همچنین تحت شرایط تنش کم‌آبی محلول‌پاشی کیتوزان + پرولین منجر به افزایش معنی‌دار محتوی پرولین (۴/۷۶ درصد)، عملکرد ریشه (۱۱/۷۶ درصد)، عیار قند (۱۵/۶۷ درصد) و عملکرد شکر (۳۲/۷۱ درصد) در مقایسه با شاهد شد. در این مطالعه کاربرد هم‌زمان ۲ میلی‌گرم در لیتر نانو اکسید روی همراه با محلول‌پاشی کیتوزان + پرولین موجب حصول حداکثر ضریب هدایت روزنه‌ای (۱۵/۴۵ و ۱۶/۵۱ مول بر مترمربع در ثانیه)، عملکرد ریشه (۶۸/۷۷ و ۶۷/۱۷ تن در هکتار)، عیار قند (۱۵/۳۱ و ۱۶/۳۴ درصد) و عملکرد شکر (۹/۶۵ و ۹/۵۳ تن در هکتار) شد. به‌طور کلی، کاربرد ترکیبی نانوذرات اکسید روی، کیتوزان و پرولین، به‌عنوان راهکاری مؤثر برای افزایش تحمل به خشکی چغندرقند پیشنهاد می‌شود. این تیمار با بهبود وضعیت آبی، افزایش اسمولیت‌ها، عملکرد گیاه را افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، خشکی، عیار قند، کیتوزان.

---

†- این مقاله برگرفته از رساله‌ی دانشجویی دوره دکتری است.

۱. دانشجوی دکتری، دانشکده کشاورزی، آب، غذا و فراسودمندها، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مهاباد، مهاباد، ایران.
۲. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مهاباد، مهاباد، ایران.
*- نویسنده مسئول: sharafi1352@yahoo.com
۳. استادیار دانشکده کشاورزی، آب، غذا و فراسودمندها، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مهاباد، مهاباد، ایران.
۴. استادیار بخش تحقیقات چغندرقند، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، همدان، ایران.

مقدمه

چغندرقند (*Beta vulgaris* L.) از جمله محصولات راهبردی با کاربردهای متنوع و ارزش غذایی بالا به‌شمار می‌رود. این گیاه پس از نیشکر (*Saccharum officinarum*) به‌عنوان دومین منبع مهم جهانی در تولید شکر سفید شناخته می‌شود و نقش به‌سزایی در تأمین نیازهای غذایی جمعیت جهان ایفا می‌کند (Gonzalez and Björnsson 2022). تولید اقتصادی چغندرقند معمولاً متأثر از عوامل متعددی است که در این میان تنش خشکی به‌عنوان عامل محدودکننده‌ی اصلی محسوب می‌شود. تنش خشکی می‌تواند تا ۳۰ درصد از عملکرد چغندرقند بکاهد و پیامدهای اقتصادی و تغذیه‌ای قابل توجهی به دنبال داشته باشد (Hossain *et al*. 2017). چغندرقند از مکانیسم‌های فیزیولوژیک ویژه‌ای برای مقابله با خشکی برخوردار است که از آن جمله می‌توان به سیستم ریشه‌ای گسترده برای جذب بهتر آب و تنظیم اسمزی از طریق تجمع ترکیباتی مانند بتائین اشاره کرد. با این وجود، تداوم دوره‌های کم‌آبی، انتقال سوکروز و تولید زیست‌توده ریشه را با اختلال مواجه می‌سازد (Ober *et al*. 2004).

کمبود آب تقریباً بر یک‌سوم از اراضی کشاورزی جهان تأثیر گذاشته و عملکرد محصولات را به‌طور محسوسی کاهش داده است (Alsherif *et al*. 2023; Kausar *et al*. 2023). پیش‌بینی می‌شود که افزایش دمای جهانی ناشی از تغییرات اقلیمی، در حدود ۲ تا ۵ درجه سانتی‌گراد تا سال ۱۴۲۹، این چالش‌ها را به‌ویژه در مناطق گرمسیری، نیمه‌خشک و ساحلی تشدید کرده و امنیت غذایی جهانی را با تهدید جدی مواجه کند (Ashwin *et al*. 2023). این شرایط، تنش خشکی را به چالشی بحرانی در سطح جهانی تبدیل کرده که رشد گیاهان را از طریق اختلال در فرآیندهای بیوشیمیایی و متابولیک تحت تأثیر قرار می‌دهد و کاهش چشمگیری در بهره‌وری کشاورزی به دنبال دارد. تنش خشکی موجب تولید بیش‌ازحد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و در نتیجه بروز تنش اکسیداتیو می‌شود که به غشاهای سلولی آسیب زده و فرآیندهای حیاتی همچون فتوسنتز و جذب مواد معدنی را مختل می‌کند (Haghaninia *et al*. 2023).

برای کاهش خسارت ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن، گیاهان راهبردهای سازگاری مختلفی را در طول فرآیند تکامل خود توسعه داده‌اند که از جمله می‌توان به فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تجمع اسمولیت‌های محافظتی، نظیر گلیسین‌بتائین و پرولین اشاره کرد (Alam *et al*. 2023)؛ بنابراین، شناسایی و به‌کارگیری راهکارهای فناورانه مؤثر به‌منظور کاهش اثرات نامطلوب تنش شدید خشکی بر عملکرد و کیفیت گیاهان در مناطق با منابع آبی محدود، امری ضروری به شمار می‌رود.

روش‌های مختلفی برای افزایش توانایی گیاهان در تحمل خشکی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. یکی از این راهکارها، استفاده از ترکیبات محرک مقاومت در برابر تنش‌های غیر زیستی است. پرولین، به‌عنوان یک اسیدآمینه ضروری، در نقش اسمولیت (تنظیم‌کننده اسمزی) عمل کرده و در کاهش اثرات تنش‌هایی نظیر خشکی مؤثر است. این ترکیب، شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی از قبیل غلظت کلروفیل، محتوای نسبی آب و عملکرد محصول را بهبود می‌بخشد (Abdelaal *et al*. 2020). همچنین، کاربرد خارجی پرولین در گیاهان همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L) و جو (*Hordeum vulgare*)، موجب تقویت رشد آن‌ها تحت شرایط تنش شده و با تعدیل اثرات مخرب ROS، آسیب اکسیداتیو را کاهش داده است (Kaur and Asthir 2015). پیشنهاد شده است که استفاده از پرولین در مواجهه با تنش‌های غیر زیستی، می‌تواند موجب بروز تغییرات ساختاری و فراساختاری در گیاهان شود؛ از جمله افزایش سطح ریشه برای مقابله با کمبود آب و مواد مغذی (Godoy *et al*. 2021). جالب‌آن‌که پرولین تأثیر مثبتی در بهبود تعداد ریشه‌ها و ایجاد تغییرات ساختاری در ساقه و برگ‌های گیاهان برنج تحت تنش شوری نشان داده است. علاوه بر این، کاربرد پرولین منجر به بهبود مدیریت آب و افزایش عملکرد چغندرقند در شرایط خشکی شده است (Ghaffari *et al*. 2021).

اخیراً استفاده خارجی از ترکیبات طبیعی برای افزایش مقاومت گیاهان در برابر خشکی، مورد توجه قابل‌ملاحظه‌ای قرار گرفته است. از جمله این ترکیبات می‌توان به مواد محرک‌های زیستی مانند کیتوزان اشاره کرد (Hasanuzzaman *et al*. 2019). کیتوزان یک بیوپلیمر طبیعی، زیست‌تخریب‌پذیر و از دسته آمینوپلی‌ساکاریدها است که به‌صورت تجاری از پوسته سخت‌پوستان آبزی استخراج می‌شود (Xu and Mou 2018). ثابت شده است که کیتوزان می‌تواند مقاومت گیاه را در برابر تنش اکسیداتیو افزایش دهد (Haghaninia *et al*. 2024). به‌عنوان مثال، استفاده از کیتوزان در غلظت‌های پایین (۰/۲ میلی‌گرم در لیتر) توانست اثرات تنش خشکی را کاهش داده و رشد کاهو (*Lactuca sativa*) را بهبود بخشد (Sharif *et al*, 2018). همچنین پژوهش‌ها نشان می‌دهند که کیتوزان می‌تواند به‌عنوان یک الیسیتور (تحریک‌کننده)، مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط با کنترل باز و بسته شدن روزنه‌ها را فعال کند؛ فرآیندهایی که برای گیاهان تحت محدودیت آبی حیاتی هستند (Czékus *et al*. 2021).

مطالعات اخیر نشان می‌دهند که استفاده ترکیبی از محرک‌های رشد (مانند تلفیق کیتوزان و پرولین) می‌تواند از طریق اثرات سینرژیستیک (هم‌افزایی)، به افزایش تحمل به تنش در گیاهان بینجامد. گزارش شده است، کاربرد هم‌زمان این دو ترکیب بر روی گیاه گندم (*Triticum aestivum* L)، منجر به افزایش ۴۰ درصدی پاک‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن در مقایسه با کاربرد جداگانه آن‌ها شده است (Ali *et al*. 2020). با این حال، اثرات سینرژیستیک چنین ترکیباتی در شرایط واقعی مزرعه و بر روی گیاه چغندرقند، هنوز مورد مطالعه قرار نگرفته است.

مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی موجب کاهش کارایی جذب عناصر غذایی و ایجاد مشکلات زیست‌محیطی شده است. برای حل این چالش، بهینه‌سازی روش‌های کوددهی و استفاده از جایگزین‌هایی مانند کودهای زیستی و فناوری نانو ضروری به نظر می‌رسد (Ghiyasi *et al*. 2023). در این میان، نانو ذرات اکسید روی (ZnO–NPs) به دلیل برخورداری از اندازه نانومتری و سطح واکنش‌پذیری بالا به‌عنوان ابزاری مؤثر برای بهبود جذب مواد مغذی و کاهش آلودگی محیطی شناخته شده‌اند (Sadak and Bakry 2020). این نانو ذرات با تسهیل جذب روی، تقویت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بهبود فرآیند فتوسنتز، مقاومت گیاهان را در برابر تنش‌هایی نظیر خشکی و شوری افزایش می‌دهند (Ghiyasi *et al*. 2023). مطالعات نشان می‌دهند که استفاده از ZnO–NPs تحت شرایط تنش، منجر به افزایش عملکرد گیاه سورگوم (*Sorghum bicolor*) به میزان ۲۸ درصد و بهبود کیفیت محصولات کشاورزی شد (Dimkpa *et al*. 2019). همچنین، این فناوری راهکاری امیدبخش برای مقابله با کمبود ریزمغذی‌ها و گرسنگی پنهان در کشورهای در حال توسعه محسوب می‌شود (Singh *et al*. 2015). با این حال، میزان بهینه کاربرد و اثرات بلندمدت این نانو ذرات بر فیزیولوژی گیاهانی مانند چغندرقند هنوز نیازمند پژوهش بیشتر است (Dimkpa *et al*. 2017). گزارش شده است: کاربرد ترکیبی نانو ذرات سیلیس و براسینولید موجب بهبود دفاع آنتی‌اکسیدانی، فتوسنتز و رشد چغندرقند تحت آبیاری کامل و کم‌آبی شد. با این وجود، ارزیابی جامع نشان داد که تحت شرایط کم‌آبی، کاربرد نانو ذرات سیلیس در مقایسه با تیمار ترکیبی، علاوه بر افزایش معنی‌دار عملکرد ریشه، درآمد خالص و کارایی مصرف آب، هزینه‌ها را نیز کاهش می‌دهد بنابراین، استفاده از نانو ذرات سیلیس به‌تنهایی می‌تواند به‌عنوان راهکاری مؤثر برای بهبود رشد چغندرقند و کاهش خسارات اقتصادی ناشی از تنش کم‌آبی توصیه شود (Zhou *et al*. 2024). در تحقیقی دیگر محلول‌پاشی متانول و گلایسین موجب افزایش عملکرد و ویژگی‌های کیفی چغندرقند نسبت به شاهد (عدم مصرف) شد، همچنین مصرف نانو سیلیکات سدیم متانولی ۱۵ درصد حجمی + گلایسین چهار گرم در لیتر، ۶۵ درصد عملکرد ماده خشک ریشه و ۵۰ درصد عملکرد شکر سفید را نسبت به شاهد افزایش داد (Rezaei *et al*. 2025).

هدف از این مطالعه، بررسی اثرات هم‌افزایی کاربرد ترکیبی پرولین و کیتوزان به‌عنوان محرک‌های رشد در افزایش تحمل به خشکی چغندرقند است. نوآوری این پژوهش در به‌کارگیری

هم‌زمان این دو ترکیب طبیعی و ارزیابی تأثیر آن بر مکانیسم‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه تحت شرایط تنش خشکی بر گیاه چغندرقند است. همچنین، تعیین غلظت بهینه این ترکیبات و سنجش اثرات آن بر شاخص‌های رشدی، عملکرد ریشه و میزان انتقال قند در چغندرقند از اهداف اصلی این تحقیق است. این مطالعه برای نخستین بار به بررسی جامع پتانسیل هم‌افزایی این محرک‌ها در شرایط مزرعه‌ای و ارائه راهکاری عملی برای کاهش خسارات ناشی از خشکی در چغندرقند می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و محل اجرای طرح

این پژوهش به‌صورت دو ساله (۱۴۰۱-۱۴۰۰ و ۱۴۰۲-۱۴۰۱) در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مهاباد، واقع در شمال غرب ایران، به اجرا درآمد. مزرعه آزمایشی در ارتفاع ۱۳۲۰ متری از سطح دریا و در موقعیت جغرافیایی ′۱۰ °۳۶ شمالی و ′۴۳ °۴۵ شرقی قرار داشت. این منطقه دارای بارش سالانه ۳۶۰ میلی‌متر و میانگین دمای سالانه ۱۱ درجه سانتی‌گراد است که بیشینه و کمینه دمای آن به ترتیب به ۱۶/۵ و ۴/۳ درجه سانتی‌گراد می‌رسد (جدول ۱). ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک مورد آزمایش که از عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متری نمونه‌برداری شده بود، در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۱ خصوصیات آب و هوایی محل مورد آزمایش در سال زراعی ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲

Table 1 Climatic characteristics of the experimental site in the 2022 and 2023 growing seasons

Months ماه	میانگین درجه حرارت Average temperature (C°)		میانگین تبخیر Average evaporation (mm)		مجموع بارندگی Total Precipitation (mm)	
	2022	2023	2022	2023	2022	2023
March	9.1	10.20	0	1	20	21
April	14.2	15.3	113	115	2.2	5.3
May	17	15.1	190	193	9.3	7.2
June	20	22.3	283	298	2	3
July	24.6	25.1	276	280	4	1
August	23.4	24. 2	271	275	0	0
September	21	20.0	213	210	5.6	3.8
October	14.3	12.7	146	12.1	0.1	2
November	12.1	11.5	90	88	53	60

جدول ۲ خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

Table 2 Physical and chemical properties of the soil at the experimental site

خصوصیت Parameters	درصد اشباع Saturation percentage %	هدایت الکتریکی Electrical conductivity (dS/m)	رطوبت خاک در حالت Field capacity F.C 1/3 A+	اسیدیته pH	کربن آلی Organic carbon%	نیتروژن Nitrogen%	فسفر Phosphorous (mg/kg)	پتاسیم Potassium (mg/kg)	بافت خاک Soil texture
Value	44	1.38	26.5	8.08	1.4	0.13	14.55	443	Silt clay loam

رقم مورد استفاده در این آزمایش، شکوفا بود. این رقم که از نوع منوژرم است، نسبت به بیماری ریزومانیا و نماتد مولد سیست مقاومت دارد و به‌عنوان پرمصرف‌ترین رقم چغندرقند در ایران شناخته می‌شود. بذر این رقم از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند واقع در کرج تهیه گردید.

عملیات کاشت در نیمه اول فروردین‌ماه در هر دو سال انجام پذیرفت. پیش از کشت، مزرعه با مقادیر ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار فسفر (در قالب P_2O_5)، ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار پتاسیم (در قالب K_2SO_4) و ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن (از منبع اوره، در دو نوبت بعد از کاشت) کوددهی شد.

هر کرت آزمایشی از چهار ردیف کاشت به طول ۵ متر تشکیل شده بود. فاصله بین ردیف‌ها ۵۰ سانتیمتر و فاصله بین بوته‌ها روی هر ردیف بعد از تنک ۲۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد.

همچنین، کنترل علف‌های هرز در طول فصل رشد به روش وجین دستی و در مواقع ضروری انجام شد.

طرح آزمایشی و اعمال تیمارها

این پژوهش به‌صورت طرح کرت‌های دو بار خردشده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. عامل اصلی شامل دو سطح آبیاری (آبیاری نرمال و تنش کم‌آبی) و عامل فرعی شامل سطوح مختلف نانو ذرات اکسید روی (ZnO-NPs) در سه غلظت (شاهد، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر) و فاکتور فرعی فرعی شامل محرک‌های مختلف رشد شامل (شاهد، کیتوزان، پرولین و تیمار ترکیبی کیتوزان + پرولین) بودند.

بلافاصله پس از کاشت، تمامی کرت‌ها به‌طور یکنواخت آبیاری شدند. تیمارهای آبیاری بر اساس میزان تبخیر از سطح خاک اعمال گردید به‌طوری که آبیاری پس از ۹۰ میلی‌متر تبخیر به‌عنوان آبیاری نرمال و پس از ۱۸۰ میلی‌متر تبخیر به‌عنوان تنش کم‌آبی در نظر گرفته شد (Ghaffari *et al*. 2021). تنش کم‌آبی از مرحله رشد هشت برگی و پس از استقرار کامل گیاهان آغاز شد. محلول‌پاشی نانو ذرات اکسید روی در غلظت‌های دو و چهار میلی‌گرم در لیتر (مطابق دستورالعمل شرکت سازنده، راش‌کیمی، تهران، ایران) و همچنین زیست محرک‌ها شامل کیتوزان و پرولین هر یک به‌ترتیب با غلظت ۲۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر در دو مرحله و پس از اعمال تنش کم‌آبی (در مراحل رشد ۱۲برگی و ۲۰برگی) انجام پذیرفت. تیمارهای شاهد با آب مقطر محلول‌پاشی شدند.

جهت ارزیابی صفات مورد مطالعه، نمونه‌های برگ در مهرماه و بلافاصله قبل از برداشت از برگ‌های چهارم و پنجم هر تیمار جمع‌آوری شد. نمونه‌ها در فویل آلومینیومی پیچیده، برچسب‌زنی شده و به‌سرعت در نیتروژن مایع (دمای ۱۹۶- درجه سانتی‌گراد) منجمد گردیدند. سپس به‌منظور نگهداری تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی به فریزر در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

اندازه‌گیری صفات

محتوی نسبی آب برگ: از هر واحد آزمایشی ۵ برگ بالایی کاملاً رشد یافته (مرحله بسته شدن کانوپی) برای اندازه‌گیری محتوی نسبی آب برگ بعد از اعمال تنش کم‌آبی استفاده شدند. وزن تازه (FW) بلافاصله پس از برداشت با استفاده از یک ترازوی دقیق برای وزن کردن برگ تازه انجام شد. سپس تمام نمونه‌ها در آب مقطر غوطه‌ور شده و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برگ‌های اشباع‌شده برای به دست آوردن وزن تورژسانس (TW) وزن شدند. نمونه‌های برگ به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند تا وزن خشک برگ (DW) اندازه‌گیری شود. RWC با استفاده از رابطه۱ محاسبه شد:

$$\mathrm{RWC} = \frac{FW-DW}{TW-DW} \times 100 \qquad \text{رابطه ۱}$$

ضریب هدایت روزنه‌ای: برای اندازه‌گیری هدایت روزنه‌ای که از پارامترهای کلیدی در مطالعات رشد گیاه و مدیریت مصرف آب محسوب می‌شود، از دستگاه پرومتر مدل SC-1 (ساخت شرکت Decagon Devices، پولمن، ایالت واشنگتن، آمریکا) استفاده شد. اندازه‌گیری‌ها در ساعت‌های ۱۰ تا ۱۳ و در شرایط نوری مطلوب (روی سطح بالایی برگ و در معرض تابش مستقیم نور خورشید) انجام گرفت. به‌منظور افزایش دقت و کاهش خطای اندازه‌گیری، در هر گیاه سه بار اندازه‌گیری انجام و میانگین آن‌ها ثبت شد. در هر کرت آزمایشی، چهار گیاه به‌صورت تصادفی انتخاب و اندازه‌گیری شدند. این فرآیند تنها یک‌بار در طول فصل رشد تکرار گردید.

محتوی پرولین: برای اندازه‌گیری محتوی پرولین، در اواخر دوره رشد و قبل از برداشت محصول (BBCH 39-49)، از برگ‌های چهارم و پنجم هر تیمار آزمایشی، تعداد ۵-۴ برگ نمونه‌برداری شد. نمونه‌های تهیه‌شده از هر تیمار، بلافاصله در داخل فویل آلومینیوم پیچیده شده و پس از درج شماره نمونه، در داخل نیتروژن مایع (دمای ۱۹۶- درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت تا منجمد شوند. سپس نمونه‌های منجمد شده به داخل فریزر با

دمای ۴۰- درجه سانتی‌گراد منتقل گردید. میـزان پـرولین موجـود در بـرگ بر اساس واکنش با معرف نـین هیـدرین و اسپکتـــروفتومتری و بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن تر ($mg\ g^{-}$ FW)[1]، تعیین شد (Bates et al. 1973).

اندازه‌گیری صفات کمی و کیفی ریشه

در هر دو سال برداشت آزمایش در اواخر مهر انجام شد. در هنگام برداشت پس از حذف حاشیه‌ها (دو ردیف کناری و نیم متر از ابتدا و انتهای ردیف‌ها) تعداد ریشه‌های هر کرت با دست برداشت، شمارش و وزن شدند. پس از شستشو، توسط دستگاه خودکار خمیر ریشه (پالپ) تهیه و پس از انجماد، در آزمایشگاه تکنولوژی قند تجزیه کیفی نمونه‌ها انجام شد. جهت اندازه‌گیری درصد قند برای هر نمونه مقدار ۲۰ گرم خمیر ریشه‌های برداشت‌شده با ۱۷۷ میلی‌لیتر سو استات سرب (مخلوطی از سه قسمت استات سرب و یک قسمت اکسید سرب) در هم‌زن ریخته و به مدت سه دقیقه مخلوط شدند که پس از منتقل نمودن مخلوط حاصله به قیف صافی، شربت زلالی حاصل گردید. شربت به‌دست‌آمده جهت تجزیه در دستگاه بتالایزر (D- 3016) مورداستفاده قرار گرفت. پلاریمتر بر مبنای میزان انحراف نور پلاریزه، میزان قند موجود در هر نمونه را نشان داد که به‌عنوان درصد قند کل یا ناخالص (CUMSA, 2009) برای هر کرت ثبت شد.

برای تعیین عملکرد قند ناخالص، عملکرد ریشه در هر کرت به درصد قند ناخالص مربوط به همان کرت ضرب و سپس ارقام به‌دست‌آمده به‌صورت عملکرد قند ناخالص ثبت گردید.

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

جهت اطمینان از تجانس واریانس‌ها بر روی داده‌های دو سال، آزمون یکنواختی واریانس‌های آزمایشی از طریق آزمون بارتلت انجام شد. تجزیه واریانس داده‌ها به کمک نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام و مقایسه میانگین پارامترهای مورد بررسی نیز با استفاده از حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس مرکب داده‌ها نشان داد اثر سطوح آبیاری بر ضریب هدایت روزنه‌ای (در سطح احتمال یک درصد) و عملکرد ریشه (در سطح احتمال یک درصد) و محتوی پرولین برگ (در سطح احتمال پنج درصد) معنی‌دار بود. اختلاف بین سطوح نانو اکسید روی از لحاظ اثر بر محتوی نسبی برگ در سطح احتمال یک درصد و ضریب هدایت روزنه‌ای و محتوی پرولین در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. اثر برهم‌کنش آبیاری با نانواکسید روی بر محتوی ضریب هدایت روزنه‌ای، محتوی پرولین، عیار قند، عملکرد ریشه و عملکرد قند در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل سه‌گانه سال، آبیاری و نانو اکسید روی بر محتوی پرولین و عیار قند سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. اثر تیمارهای محرک رشد بر محتوی نسبی آب برگ، ضریب هدایت روزنه‌ای، عیار قند و عملکرد شکر در سطح احتمال یک درصد و محتوی پرولین در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. بین تیمارهای برهم‌کنش آبیاری با محرک زیستی از لحاظ اثر بر محتوی پرولین در سطح احتمال یک درصد و محتوی نسبی آب برگ، عملکرد ریشه، عیار قند و عملکرد شکر در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌دار بود. در این آزمایش محتوی نسبی آب برگ، محتوی پرولین، عملکرد ریشه، عیار قند و عملکرد شکر در سطح احتمال یک درصد و ضریب هدایت روزنه‌ای، در سطح احتمال پنج درصد تحت تأثیر برهم‌کنش نانواکسید روی و محرک زیستی قرار گرفت (جدول ۳). در نهایت محتوی پرولین در سطح احتمال پنج درصد تحت تأثیر اثرات متقابل سه‌گانه آبیاری، نانواکسید روی و محرک زیستی قرار گرفت.

جدول ۳ تجزیه واریانس مرکب تأثیر تیمارهای آبیاری، نانو اکسید روی و محرک رشد بر صفات مورد مطالعه در چغندرقند

Table 3 Combined analysis of variance of the effects of irrigation treatments, nano zinc oxide, and growth biostimulant on the studied traits in sugar beet

منابع تغییر SOV	درجه آزادی df	میانگین مربعات Ms					
		محتوی نسبی آب برگ Relative water content	ضریب هدایت روزنه‌ای Stomatal conductance coefficient	محتوی پرولین Proline content	عملکرد ریشه Root yield	عیار قند Sugar content	عملکرد شکر Sugar yield
سال Year (Y)	1	2.67^{ns}	9.50^{ns}	0.00738^{ns}	152.11^{ns}	11.25^{ns}	11.10^{ns}
تکرار (سال) replication (Y)	4	45.93	11.443	0.02717	40.8998	5.9562	2.5897
آبیاری Irrigation (IR)	1	5407.15^{ns}	559.33**	1.00284*	6884.02**	69.32^{ns}	27.81^{ns}
Y×IR	1	884.07^{ns}	0.062^{ns}	0.00089^{ns}	0.00444^{ns}	22.47^{ns}	9.24^{ns}
خطای ۱ Error a	4	1058.19	3.647	0.00026	263.35	3.22	1.92
نانو اکسید روی ZN	2	2108.82**	57.178*	0.04742*	394.94^{ns}	17.6667^{ns}	22.38^{ns}
Y × ZN	2	0.07^{ns}	1.79^{ns}	0.0005^{ns}	36.3^{ns}	2.28^{ns}	1.77^{ns}
IR × ZN	2	64.69^{ns}	25.595**	0.08393*	2701.19**	252.15*	99.018*
Y×IR×ZN	2	42.41^{ns}	0.062^{ns}	0.00415*	26.85^{ns}	10.61*	4.30^{ns}
خطای ۲ Error b	16	59.96	3.055	0.00082	53.3676	2.133	2.1129
محرک زیستی Biostimulant (BI)	3	834.42**	30.30**	0.0031*	256.863^{ns}	7.63**	14.11**
Y× BI	3	1.77^{ns}	0.41^{ns}	0.0003^{ns}	41.86^{ns}	1.9^{ns}	0.11^{ns}
IR× BI	3	99.16*	0.36^{ns}	0.0321**	282.64*	30.97*	9.32*
ZN× BI	6	174.39**	8.84*	0.0128**	108.88**	15.62**	9.56**
Y×IR× BI	3	9.86^{ns}	0.39^{ns}	0.00089^{ns}	27.66^{ns}	1.46^{ns}	0.44^{ns}
Y× ZN×BI	6	12.8^{ns}	1.15^{ns}	0.00101^{ns}	11.63^{ns}	1.01^{ns}	0.96^{ns}
IR× ZN×BI	6	13.12^{ns}	1.98^{ns}	0.00239*	16.40^{ns}	1.95^{ns}	2.01^{ns}
Y× IR× ZN× BI	6	32.74^{ns}	0.61^{ns}	0.0004^{ns}	81.78^{ns}	1.36^{ns}	2.33^{ns}
خطای ۳ Error c	72	42.29	2.827	0.00043	49.8611	0.9918	1.2004
ضریب تغییرات (٪)CV	-	9.61	12.44	6.13	11.29	6.58	13.36

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد

ns, * and ** are not significant and significant at one and five percent probability levels, respectively.

محتوای نسبی آب برگ

مقایسه میانگین‌های تیمارهای برهم‌کنش عامل‌های آبیاری و محرک زیستی نشان داد که کاربرد پرولین در شرایط آبیاری نرمال با میانگین ۸۳/۳۸ درصد، موجب کسب بالاترین مقدار محتوای نسبی آب شد. در مقابل، تیمار شاهد (بدون کاربرد محرک زیستی) تحت شرایط تنش کم‌آبی با میانگین ۵۸/۲۹ درصد، کمترین محتوی نسبی آب برگ را نشان داد. بین این تیمار شاهد و تیمار کاربرد توأم کیتوزان + پرولین تحت تنش کم‌آبی اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد. نتایج حاکی از آن بود که در شرایط آبیاری نرمال، کلیه تیمارهای محرک زیستی (کیتوزان، پرولین و ترکیب آن‌ها) و در شرایط تنش کم‌آبی، تیمارهای کیتوزان و پرولین به‌صورت جداگانه، برتری معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد داشتند (جدول ۴).

اثرات مخرّب تنش کم‌آبی بر محتوای نسبی آب برگ را می‌توان عمدتاً به کاهش پتانسیل آب خاک، محدودیت در جذب آب توسط ریشه و افزایش تخلیه آب از طریق تعرق نسبت داد. کاهش محتوی نسبی آب برگ در چغندرقند تحت شرایط تنش خشکی در مطالعات قبلی به اثبات رسیده است (Fugate *et al.* 2018)، این محققان اظهار داشتند که کاهش محتوی نسبی آب برگ می‌تواند منجر به بروز تنش ثانویه اکسیداتیو شود که با تولید گونه‌های فعال اکسیژن در بافت‌های گیاهی، موجب پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و در نهایت آسیب سلولی می‌گردد.

در این مطالعه، تیمار ترکیبی پرولین به همراه نانو اکسید روی با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر با میانگین ۸۵/۸۰ درصد، به‌عنوان مؤثرترین تیمار در افزایش محتوی نسبی آب برگ شناسایی شد. این تیمار در مقایسه با کاربرد جداگانه هر یک از اجزا، برتری قابل توجه و معنی‌داری را نشان داد. کرت‌های شاهد (بدون دریافت هیچ‌گونه محرک زیستی یا نانوذره) با میانگین ۵۹/۳۹ درصد، کمترین مقدار محتوی نسبی آب برگ را داشتند. لازم به ذکر است که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین تیمار شاهد و تیمار کاربرد کیتوزان به همراه نانو اکسید روی مشاهده نشد (جدول ۵).

جدول ۴ مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای اثر متقابل آبیاری با محلول‌پاشی محرک‌های زیستی بر صفات مورد بررسی در چغندرقند

Table 4 Mean comparison of the interaction effects between irrigation treatments and nano zinc oxide foliar application on the studied traits in sugar beet

آبیاری Irrigation	محرک زیستی Biostimulants	محتوی نسبی آب برگ Relative Water Content (%)	محتوی پرولین Proline content (mg g FW^{-1})	عملکرد ریشه Root yield (t ha^{-1})	عیار قند Sugar content (%)	عملکرد شکر Sugar yield (t ha^{-1})
نرمال Normal	شاهدControl	67.54c	0.27d	64.89b	14.52cd	8.13cd
	کیتوزانChitosan (Ch)	74.14b	0.26e	71.52a	14.81bcd	9.18ab
	پرولینProline (Pr)	83.38a	0.24f	69.67a	14.11d	8.37bcd
	Ch + Pr	74.25b	0.26e	71.68a	14.33d	8.85abc
کم‌آبی Water deficit	شاهدControl	58.29e	0.42bc	53.73d	14.99bcd	6.97e
	کیتوزانChitosan (Ch)	63.56cd	0.43ab	52.58d	15.48bc	7.13e
	پرولینProline (Pr)	66.88c	0.41c	56.25cd	15.62b	7.67de
	Ch + Pr	60.57de	0.44a	59.89c	17.34a	9.25a

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ هستند.

Means with the same letter within a column are not significantly different at the 0.05 probability level.

جدول ۵ مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای اثر متقابل محلول‌پاشی نانو اکسید روی با محرک‌های زیستی بر صفات مورد بررسی در چغندرقند

Table 5 Mean comparison of the interaction effects between irrigation treatments and biostimulants foliar application on the studied traits in sugar beet

نانو اکسید روی ZnO-NPs	محرک زیستی Biostimulants	محتوی نسبی آب برگ Relative Water Content (%)	محتوی پرولین Proline content (mg g FW^{-1})	ضریب هدایت روزنه‌ای stomatal conductance (mol m^{-2} /s)	عملکرد ریشه Root yield (t ha^{-1})	عیار قند Sugar content (%)	عملکرد شکر Sugar yield (t ha^{-1})
شاهد Control	شاهدControl	59.39f	0.32f	12.90f	58.74d	15.41abc	7.80cde
	کیتوزانChitosan (Ch)	64.74ef	0.32f	13.94de	57.96d	13.53de	7.21efg
	پرولینProline (Pr)	72.09bc	0.29g	12.28ef	59.48d	15.33abc	6.67g
	Ch + Pr	60.18ef	0.33def	15.32abc	62.95bcd	14.43cde	7.96cde
2 mg L^{-1}	شاهدControl	66.06d	0.34cde	13.64de	58.34d	16.00ab	6.75fg
	کیتوزانChitosan (Ch)	77.27b	0.34cd	14.30cde	67.66ab	15.00bc	9.53ab
	پرولینProline (Pr)	85.80a	0.34cd	15.11abc	67.24abc	13.30e	8.78abc
	Ch + Pr	74.51b	0.32f	15.45ab	68.77a	15.31abc	9.65a
4 mg L^{-1}	شاهدControl	62.02ef	0.38ab	14.17bcd	60.84d	15.99ab	8.10cde
	کیتوزانChitosan (Ch)	64.09def	0.37b	15.34ab	59.41d	14.69cd	7.72def
	پرولینProline (Pr)	65.58de	0.35c	16.70ab	61.75cd	16.48a	8.61bcd
	Ch + Pr	67.49cd	0.39a	16.51a	67.17abc	16.34a	9.53ab

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ هستند.

Means with the same letter within a column are not significantly different at the 0.05 probability level.

گزارش‌ها حاکی از آن است که کاربرد برگی پرولین چه به‌تنهایی و چه در ترکیب با اسید سالیسیلیک می‌تواند محتوای آب برگ را در ارقام برنج (*Oryza sativa*) افزایش دهد (Urmi *et al.* 2023). از سوی دیگرنشان دادنده شده است که کاربرد کیتوزان و گلیسین بتائین بر روی برگ‌ها، مصرف آب (تعرق) گیاه را در طول فصل رشد کاهش می‌دهد (Mphande *et al.* 2020).

این ترکیبات به‌عنوان مواد ضد تعرق عمل کرده و با کاهش تخلیه آب، به گیاه اجازه می‌دهند آب موجود را برای دوره زمانی طولانی‌تر حفظ کند. همچنین گزارش شده است که پرولین با حفظ یکپارچگی غشاهای سلولی، کمک به حفظ فشار تورگر (تورژسانس) برگ و تنظیم روزنه‌ای، در افزایش تحمل به خشکی نقش دارد (Panda *et al*. 2021). این بهبود در پایداری غشا و وضعیت آبی گیاه، در نهایت منجر به حفظ سطح برگ، کارایی فتوسنتز و در نتیجه افزایش محتوی نسبی آب برگ می‌شود.

مطالعات قبلی نیز نشان داده‌اند که نانو ذرات اکسید روی می‌توانند محتوی نسبی آب برگ، عملکرد و جذب عناصر غذایی مانند نیتروژن و پتاسیم را در گیاه سورگوم تحت تنش افزایش دهند (Dimkpa *et al*. 2019). در تأیید این یافته‌ها، یان و همکاران (Yan *et al*. 2016) گزارش کردند که نانو ذرات اکسید روی اثرات نامطلوب خشکی بر پایداری غشای سلولی و محتوای نسبی آب در ذرت را به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهند. مکانیسم احتمالی این امر می‌تواند نقش اکسید روی در سنتز اکسین، فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و حفظ یکپارچگی ساختاری غشاها باشد.

ضریب هدایت روزنه‌ای برگ

یافته‌های این مطالعه نشان داد که کاربرد نانو ذرات اکسید روی در غلظت‌های ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر تحت شرایط آبیاری نرمال، بیشترین میزان هدایت روزنه‌ای را به ترتیب با مقادیر میانگین ۱۶/۲۷ و ۱۶/۹۹ مول بر مترمربع در ثانیه نشان دادند. در مقابل، تیمار شاهد (بدون کاربرد نانو ذرات) تحت شرایط تنش کم‌آبی، کمترین مقدار میانگین هدایت روزنه‌ای را با متوسط ۱۱/۰۸ مول بر متر مربع در ثانیه را ثبت نمود (جدول ۶).

جدول ۶ مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای اثر متقابل آبیاری با محلول‌پاشی نانو اکسید روی بر صفات مورد بررسی در چغندرقند

Table 6 Mean comparison of the interaction effects between nano zinc oxide and biostimulant foliar application on the studied traits in sugar beet

آبیاری Irrigation	نانو اکسید روی ZnO-NPs	محتوی پرولین Proline content (mg g FW^{-1})	ضریب هدایت روزنه‌ای stomatal coefficient (mol m^{-2} /s)	عملکرد ریشه Root yield (t ha^{-1})	عیار قند Sugar content (%)	عملکرد شکر Sugar yield (t ha^{-1})
نرمال Normal	شاهد –Control	0.24e	15.47b	67.12b	13.99c	8.03b
	2 mg L^{-1}	0.25e	16.27a	74.55a	14.63bc	9.48a
	4 mg L^{-1}	0.29d	16.99a	66.65b	14.70bc	8.44b
کم‌آبی Water deficit	شاهد –Control	0.39c	11.08e	52.44d	14.92b	6.73c
	2 mg L^{-1}	0.42b	12.90d	56.46cd	16.03a	7.90b
	4 mg L^{-1}	0.46a	14.64c	57.94c	16.63a	8.54b

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ هستند.

Means with the same letter within a column are not significantly different at the 0.05 probability level.

این کاهش تحت تنش کم‌آبی کاملاً منطبق بر یافته‌های فوگیت و همکاران (Fugate *et al*. 2018) است که گزارش کردند تنش کم‌آبی هدایت روزنه‌ای برگ در چغندرقند را به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. همان‌طور که رضا و همکاران (Raza *et al*. 2024). نیز اشاره کرده‌اند، مکانیسم این پدیده به این صورت است که کم‌آبی باعث کاهش قابلیت دسترسی و جذب آب از خاک می‌شود که این امر به نوبه خود یک پاسخ فیزیولوژیک دفاعی در گیاه را فعال کرده و منجر به بسته شدن روزنه‌ها و کاهش هدایت روزنه‌ای می‌گردد تا از هدر رفت بیشتر آب از طریق تعرق جلوگیری شود.

نکته حائز اهمیت این است که کاربرد نانو ذرات اکسید روی در غلظت‌های ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر، اثرات منفی تنش کم‌آبی را نیز تعدیل نمود .این نانو ذرات هدایت روزنه‌ای را در شرایط آبیاری و تنش کم‌آبی نسبت به گیاهان محلول‌پاشی نشده (شاهد) به‌صورت معنی‌داری افزایش دادند (جدول ۶). این بهبود قابل توجه در صفت ضریب هدایت روزنه‌ای احتمالاً می‌تواند به نقش

نانو ذرات در تقویت سیستم ریشه‌ای، تسهیل جذب آب و مواد معدنی، افزایش راندمان فتوسنتز، تحریک سنتز فیتوهورمون‌ها (مانند اکسین) و تجمع اسمولیت‌های محافظ (مانند پرولین) نسبت داده شود که در نهایت محتوی نسبی آب برگ و تاب‌آوری گیاه را در برابر تنش بهبود می‌بخشد (Seleiman *et al*. 2023; Rasheed *et al*. 2022).

در این مطالعه، اگرچه بیشترین مقدار ضریب هدایت روزنه‌ای (۱۶/۵۱ مول بر مترمربع در ثانیه) مربوط به تیمار ترکیبی کیتوزان + پرولین به همراه ۴ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی بود، اما اختلاف بین این تیمار و تیمارهای حاوی پرولین و کیتوزان در هر دو غلظت نانو ذرات (۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر) از نظر آماری معنی‌دار نبود .این امر نشان‌دهنده‌ی اثر هم‌افزایی (سینرژیستیک) قوی بین این ترکیبات در بهبود وضعیت فیزیولوژیک گیاه است (جدول ۵). از سوی دیگر، تیمارهای شاهد (بدون نانو ذرات و بدون محرک‌های زیستی) و تیمارهای حاوی کاربرد جداگانه پرولین یا کیتوزان، به ترتیب با میانگین ۱۲/۹۰ و ۱۲/۲۸ مول بر مترمربع در ثانیه، کمترین مقادیر این شاخص را به دست آوردند (جدول ۵)، یافته‌های حاضر با نتایج سایر مطالعات نیز همخوانی دارد. به‌عنوان مثال، مشاهده‌شده است که نانو ذرات اکسید روی (در غلظت ppm۱۵۰) هدایت روزنه‌ای و شاخص سطح برگ را در چغندرقند افزایش داده‌اند (Fugate *et al*. 2018) . همچنین ثابت شده است که این نانو ذرات هدایت روزنه‌ای را در گیاهان گشنیز (*Coriandrum sativom*) تحت تنش خشکی و ذرت (*Zea mays*) تحت تنش شوری به‌طور معنی‌داری بهبود می‌بخشند (Ahmed *et al*. 2023; Seleiman *et al*. 2023).

در تحقیقی دیگر نیز به‌طور خاص تأثیر مثبت نانو ذرات اکسید روی را بر محتوای نسبی آب (RWC) و هدایت روزنه‌ای در چغندرقند تحت شرایط کم‌آبی تأیید شد که این امر از پتانسیل بالای این نانو ذرات در مدیریت تنش‌های محیطی حکایت دارد (Hamze *et al*. 2025). در مطالعه‌ای دیگر بر روی چغندرقند کاربرد توأم اسیدهای هیومیک (۳۰ لیتر در هکتار) و کیتوزان (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، در مقایسه با عدم کاربرد آن‌ها، تحت شرایط تنش کم‌آبی، درصد بسته شدن روزنه‌ها را از ۴۸/۸۶ به ۳۱/۰۶ درصد کاهش داد (Makhlouf *et al*. 2022) که همسو با نتایج تحقیق حاضر است.

محتوی پرولین برگ

در این مطالعه، کرت‌های تیمارشده با ۴ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی تحت شرایط تنش کم‌آبی، بالاترین غلظت پرولین برگ را با میانگین ۰/۴۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر نشان دادند. در مقابل، تیمار شاهد (بدون نانو ذرات) و تیمار محلول‌پاشی با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی در شرایط آبیاری نرمال، کمترین میزان محتوای پرولین را به ترتیب با مقادیر میانگین ۰/۲۴ و ۰/۲۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر ثبت کردند (جدول ۶). تجزیه و تحلیل داده‌ها آشکار کرد که کاربرد نانو ذرات اکسید روی در غلظت ۴ میلی‌گرم در لیتر، سطح پرولین را در شرایط آبیاری نرمال و تنش کم‌آبی به ترتیب ۲۱/۷۳ و ۱۸/۴۲ درصد نسبت به تیمار شاهد مربوطه به‌طور معنی‌داری افزایش داد (جدول ۶).

یافته‌های فوق تأثیر هم‌زمان تنش و نانو ذرات در تجمع پرولین را تأیید می‌کند. به‌طور کلی، کمبود آب (تنش خشکی) تولید پرولین و سایر اسمولیت‌ها (مانند گلیسین بتائین) را در برگ‌ها افزایش می‌دهد. این ترکیبات با افزایش فشار اسمزی سیتوپلاسم، به حفظ فشار تورگر در سلول کمک کرده و جذب آب را تسهیل می‌کنند (Saxena *et al*. 2013) علاوه بر این، پرولین به‌عنوان یک پاک‌ساز قدرتمند گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)عمل کرده و با کاهش سطح مالون دی آلدهید (MDA) به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید، استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد. افزایش تجمع پرولین یکی از مؤثرترین مکانیسم‌های تنظیم اسمزی در گیاهان برای کاهش اثرات مخرب تنش خشکی محسوب می‌شود El-Bauome *et al*. 2022) به‌طور مشابه، افزایش قندهای محلول نیز از مکانیسم‌های مقابله‌ای مهم است که آسیب ناشی از خشکی را کاهش می‌دهد(Li *et al*. 2015) . همسو با این یافته‌ها، مطالعات روی چغندرقند نیز نشان داده است که سطح پرولین و گلیسین بتائین در پاسخ به تنش آبی به‌طور قابل ملاحظه‌ای

افزایش می‌یابد که نقش کلیدی آن‌ها در اعمال تحمل به خشکی را برجسته می‌سازد (Fugate *et al*. 2018).

نتایج برهم‌کنش تیمارها نشان داد که محلول‌پاشی برگی با کیتوزان و همچنین ترکیب کیتوزان + پرولین تحت شرایط تنش خشکی به ترتیب با میانگین ۰/۴۳ و ۰/۴۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر، بیشترین محتوای پرولین را تولید کردند. لازم به ذکر است که گیاهان تیمارشده با پرولین در شرایط تنش خشکی، کمترین محتوای پرولین (۰/۲۴میلی‌گرم بر گرم وزن تر) را داشتند. این نتیجه نشان می‌دهد که کاربرد خارجی پرولین به‌تنهایی ممکن است مسیرهای متابولیک سنتز درون‌زاد این اسمولیت را مهار کند در حالی که کیتوزان احتمالاً با عمل به‌عنوان یک الیسیتور، سیگنال‌های دفاعی گیاه از جمله مسیر سنتز پرولین را فعال می‌نماید. به‌طور کلی استفاده از تمامی تیمارهای محرک زیستی (بیوستیمولانت) در شرایط آبیاری نرمال و نیز کاربرد کیتوزان و پرولین در شرایط تنش کم‌آبی منجر به افزایش معنی‌دار سطح پرولین نسبت به شاهد شد (جدول ۴).

غلظت بالای پرولین القاشده توسط کاربرد کیتوزان می‌تواند نشانگر بیوشیمیایی مؤثری برای تحمل بهتر گیاه به تنش آبی باشد (Raza *et al*. 2024). این نتایج با گزارش مورمو و همکاران (Murmu *et al*. 2017) مطابقت دارد که نشان دادند کاربرد کیتوزان و گلیسین بتائین سطح قندهای محلول و پرولین را در گیاه بامیه (*Hibiscus esculentus*) تحت تنش خشکی بهبود می‌بخشد. مکانیسم احتمالی افزایش غلظت پرولین ناشی از کیتوزان ممکن است ناشی از مهار اکسیداسیون پرولین به گلوتامات و هم‌زمان، تحریک سنتز د نووو پرولین از پیش‌سازهای آن باشد (Geng *et al*. 2020). همچنین ثابت شده است که کاربرد خارجی پرولین، سطح پرولین و قندهای محلول را در گیاه برنج تحت تنش آبی به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد که نقش آن‌ها را در بازجذب آب و ایجاد حفاظت اسمزی تأیید می‌کند (Urmi *et al*. 2013).

مقایسه میانگین برهم‌کنش تیمارها نشان داد که کرت‌های تیمار شده با ۴ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی به همراه محلول‌پاشی ترکیبی کیتوزان + پرولین، با میانگین ۰/۳۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر، بالاترین میزان پرولین را داشتند، اختلاف بین تیمار مذکور با شاهد محرک زیستی و محلول‌پاشی ۴ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی معنی‌دار نبود. این موضوع می‌تواند نشان‌دهنده‌ی آن باشد که وجود نانو ذرات اکسید روی در غلظت کافی، عامل محرک اصلی برای افزایش پرولین است و افزودن کیتوزان و پرولین به‌تنهایی تأثیر افزوده چشمگیری ندارد. در طرف مقابل، کرت‌های شاهد (بدون هیچ تیماری) و کرت‌های تیمار شده با کیتوزان به همراه شاهد نانو ذرات و نیز گیاهان تیمار شده با ترکیب کیتوزان + پرولین ولی فقط با ۲ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات، با میانگین ۰/۳۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر، کمترین میزان پرولین را نشان دادند (جدول ۵). این نتایج حاکی از وجود اثر سینرژیستیک (هم‌افزایی) قوی بین نانو ذرات اکسید روی و محرک‌های زیستی (کیتوزان و پرولین) در تحریک تجمع پرولین است. این پدیده توسط یاسمین و همکاران (Yasmin *et al*. 2018) نیز گزارش شده است به‌طوری که کاربرد ترکیبی نانو ذرات اکسید روی و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار (AMF) به‌صورت هم‌افزایی جذب مواد مغذی را افزایش داده، تنش خشکی را کاهش داده و منجر به تجمع بیشتر پرولین و کربوهیدرات‌های محلول در گیاه گلرنگ شد .پژوهش‌های دیگر نیز نشان داده‌اند که ترکیب نانو ذرات اکسید روی و قارچ‌های میکوریز از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش سطح اسمولیت‌ها، مقاومت به خشکی را به‌طور مؤثری بهبود می‌بخشد (Gatasheh *et al*. 2024; Mir Mahmoudi *et al*. 2023).

عملکرد ریشه

در این مطالعه، بیشترین عملکرد ریشه با میانگین ۷۴/۵۵ تن در هکتار، در شرایط آبیاری مطلوب و با کاربرد نانو ذرات اکسید روی در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد. در مقابل، کمترین میزان عملکرد ریشه (۵۲/۴۴ تن در هکتار) مربوط به تیمار شاهد (بدون کاربرد نانو ذرات) تحت شرایط تنش کم‌آبی بود. اگرچه این تیمار کمترین مقدار را داشت امّا اختلاف آماری معنی‌داری با تیمار کاربرد ۲ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات تحت شرایط تنش

یکسان نشان نداد. مقایسه میانگین تیمارها مشخص کرد که در شرایط آبیاری مطلوب، استفاده از نانو ذرات با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش ۱۱/۰۷ درصدی عملکرد ریشه نسبت به تیمار شاهد شد. همچنین، تحت شرایط تنش کم‌آبی، کاربرد نانو ذرات با غلظت بالاتر (۴ میلی‌گرم در لیتر) منجر به افزایش ۴۸/۱۰ درصدی عملکرد در مقایسه با تیمار شاهد مربوطه گردید (جدول ۶).

به‌طور کلی تنش کم‌آبی از طریق مکانیسم‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی متعددی موجب کاهش عملکرد ریشه می‌شود. این تنش سبب کاهش سطح برگ، کاهش محتوی نسبی آب برگ، کاهش ضریب هدایت روزنه و افزایش نرخ تنفس می‌گردد در نتیجه، انرژی و مواد فتوسنتزی به‌جای اختصاص به رشد و ذخیره‌سازی در ریشه، صرف نگهداری و ترمیم اندام‌های هوایی و متابولیسم پایه می‌شود که در نهایت به کاهش عملکرد ریشه منجر می‌شود (Khadem *et al*. 2011). از سوی دیگر، یکی از مکانیسم‌های مقاومت به خشکی در گیاهان، کاهش پتانسیل اسمزی سلول‌های ریشه از طریق سنتز و تجمع اسمولیت‌هایی مانند ساکارز است. اگرچه این مکانیسم جذب آب از خاک‌های خشک را تسهیل می‌کند امّا خود فرآیندی پرهزینه از نظر انرژی است و می‌تواند با تخصیص منابع به سمت متابولیسم دفاعی، رشد و ذخیره‌سازی را محدود کند (Khadem *et al*. 2011). کاهش عملکرد ریشه تحت تنش کم‌آبی در مطالعات متعددی روی چغندرقند گزارش شده است. این یافته‌ها با نتایج الکاتیب و همکاران (AlKahtani *et al*. 2021)، حمزه و همکاران (Hamze *et al*. 2025) و مولوی و همکاران (Molavi *et al*. 2025). همسو است که نشان دادند تنش کم‌آبی با مهار جذب CO_2 و کاهش عرضه مواد فتوسنتزی به ریشه، باعث کاهش تولید ساکارز و در نهایت کاهش عملکرد ریشه و قند در چغندرقند می‌شود. مطالعات قبلی روی محصولاتی مانند گندم و ذرت (*Zea mayes*) نشان داده‌اند که کاربرد تیمارهای ترکیبی مانند مایکوریزا و نانو ذرات اکسید روی در مقایسه با تیمار شاهد، رشد گیاه را به‌طور مؤثرتری تقویت کرده، تحمل به تنش را افزایش داده و عملکرد نهایی را بهبود می‌بخشد (Sayed *et al*. 2024). مکانیسم عمل نانو ذرات اکسید روی احتمالاً از طریق پایداری ساختارهای فتوسیستم II (PSII)، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و در نتیجه بهبود راندمان تبدیل انرژی نور و کاهش خسارت اکسیداتیو صورت می‌گیرد (Bhat *et al*. 2022; Yusefi-Tanha *et al*. 2020).

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری و محرک‌های زیستی نشان داد که بیشترین عملکرد ریشه در شرایط آبیاری مطلوب و به ترتیب با میانگین‌های ۷۱/۵۲، ۶۹/۶۷ و ۷۱/۶۸ تن در هکتار، مربوط به تیمارهای محلول‌پاشی کیتوزان ، پرولین و تیمار ترکیبی کیتوزان + پرولین بود. کمترین میزان عملکرد ریشه نیز با میانگین‌های ۵۳/۷۳ و ۵۲/۵۸ تن در هکتار، به ترتیب مربوط به تیمار شاهد محرک زیستی و تیمار محلول‌پاشی پرولین تحت شرایط تنش کم‌آبی بود. در این آزمایش، محلول‌پاشی هر سه نوع محرک رشد (کیتوزان، پرولین و ترکیب آن‌ها) در شرایط آبیاری مطلوب و نیز کاربرد ترکیب کیتوزان + پرولین در شرایط تنش کم‌آبی، در مقایسه با تیمار شاهد مربوطه، افزایش معنی‌داری در عملکرد ریشه ایجاد کرد (جدول ۴).

کیتوزان به‌عنوان یک الیسیتور زیستی، مسیرهای سیگنالینگ تنظیم‌کننده باز و بسته شدن روزنه‌ها را فعال می‌کند که برای بهینه‌سازی تعرق و فتوسنتز در شرایط تنش آبی ضروری است (Agurla *et al*. 2014; Czékus *et al*. 2021). علاوه بر این، کیتوزان با القای سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی گیاه (افزایش فعالیت آنزیم‌ها و سطح آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی مانند آسکوربات)، پراکسیداسیون لیپیدها و تولید پراکسید هیدروژن (H_2O_2) را کاهش داده و بدین ترتیب از گیاه در برابر استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند (Almeida *et al*. 2020). کاربرد برگی کیتوزان طی دوره‌های کم‌آبی، عملکرد اقتصادی را در محصولات مختلفی از جمله گل همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) (Akhtar *et al*. 2022)، برنج (Moolphuerk *et al*. 2022)و آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) (Sohail *et al*. 2021) به‌طور قابل توجهی افزایش داده است که با یافته‌های حاضر همخوانی دارد. پرولین نیز با کاهش اثرات منفی گونه‌های فعال اکسیژن(ROS) ، رشد

گیاه را افزایش داده و آسیب اکسیداتیو را در شرایط تنش در گیاهانی مانند همیشه‌بهار و جو کاهش می‌دهد (Abdelaal *et al*. 2020; Kaur *et al*. 2015). غفاری و همکاران (Ghaffari *et al*. 2021)گزارش کردند که کاربرد پرولین، کارآیی مصرف آب را بهبود بخشیده و عملکرد چغندرقند را تحت شرایط خشکی افزایش داده است. اثر برتر پرولین ممکن است به دلیل نقش دوگانه آن به‌عنوان یک اسمولیت مؤثر در تنظیم فشار اسمزی و همچنین به‌عنوان یک مولکول محافظ و پاک‌ساز رادیکال‌های آزاد باشد(Flors *et al*. 2007) .

در این آزمایش، بیشترین عملکرد ریشه با میانگین ۶۸/۷۷ تن در هکتار، از تیمار ترکیبی محلول‌پاشی کیتوزان+ پرولین به همراه کاربرد ۲ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات روی حاصل شد. بین این تیمار و تیمارهای محلول‌پاشی پرولین و کیتوزان به همراه نانو ذرات ۲ میلی‌گرم در لیتر و نیز تیمار محلول‌پاشی کیتوزان+ پرولین به همراه نانو ذرات ۴ میلی‌گرم در لیتر، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. کمترین عملکرد ریشه با میانگین ۵۸/۷۴ تن در هکتار، در کرت‌های شاهد (بدون دریافت هیچ‌کدام از زیست‌تحریک‌کننده‌ها و نانو ذرات) ثبت گردید (جدول ۵). بین این تیمار و تیمارهای محلول‌پاشی کیتوزان ، پرولین و کیتوزان+ پرولین به همراه شاهد نانو ذرات، تیمار شاهد زیست‌تحریک‌کننده‌ها به همراه نانوذرات در سطوح ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. با تحلیل نتایج این آزمایش می‌توان دریافت که کاربرد ترکیبی محرک‌های زیستی و نانوذرات روی در غلظت بهینه، به دلیل اثر هم‌افزایی (سینرژیستی)، منجر به دستیابی به حداکثر عملکرد ریشه شده است.

عیار قند

نتایج مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که استفاده از سطوح ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر نانوذره روی تحت شرایط کم‌آبی به ترتیب با میانگین ۱۶/۰۳ و ۱۶/۶۳ درصد، بیشترین عیار قند را به خود اختصاص دادند. در مقابل، کمترین عیار قند مربوط به تیمار شاهد تحت شرایط آبیاری نرمال با میانگین ۱۳/۹۹ درصد بود. لازم به ذکر است که تحت شرایط آبیاری نرمال، اختلاف بین تیمارهای کاربرد نانو اکسید روی و شاهد از نظر عیار قند معنی‌دار نبود در حالی که تحت شرایط کم‌آبی، کاربرد سطوح ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر نانوذره روی به‌صورت معنی‌داری عیار قند را در مقایسه با شاهد افزایش داد (جدول ۶).

نتایج فوق نشان می‌دهد که تأثیر کاربرد نانو ذرات اکسید روی بر عیار قند چغندرقند به‌شدت وابسته به شرایط آبیاری است. تحت شرایط آبیاری نرمال، گیاهان احتمالاً تحت تنش نیستند و ظرفیت کامل متابولیکی خود را دارند بنابراین نانو ذرات تأثیر محسوس و معناداری بر افزایش عیار قند نداشته است. با این حال، تحت شرایط کم‌آبی که گیاه با تنش خشکی مواجه می‌شود، کاربرد نانو ذرات در سطوح ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر به‌طور معناداری عیار قند را افزایش داده است. این مشاهده نشان می‌دهد که نانو ذرات اکسید روی احتمالاً با فعال کردن مکانیسم‌های تحمل به تنش، مانند بهبود کارایی فیزیولوژیک یا تعدیل متابولیسم قند، به گیاه کمک می‌کنند تا با اثرات منفی کم‌آبی مقابله کرده و در نهایت کیفیت ریشه (عیار قند) را در شرایط دشوار حفظ و حتی افزایش دهند.

گزارش شده است که عیار قند تحت شرایط کمبود آب به‌صورت چشم‌گیری افزایش یافته است (Ghaffari *et al*. 2021; Hamze *et al*. 2025) که با نتایج این تحقیق نیز مطابقت دارد. این موضوع می‌تواند ناشی از افزایش غلظت کربوهیدرات‌های محلول از جمله واکنش‌هایی است که گیاهان در مواجهه با تنش‌های محیطی از خود بروز می‌دهند، باشد. به‌طوری که تجمع قندهای محلول درون سلول در تنظیم اسمزی نقش مهمی ایفا کرده و پتانسیل آب سلول کاهش یافته و آب بیشتری برای حفظ فشار تورژسانس در شرایط تنش کم‌آبی در داخل سلول باقی می‌ماند (Sato *et al*. 2004). تنش کم‌آبی به‌عنوان یک محرک غیر زیستی، تجمع اسمولیت‌های محافظ مانند قندها را در گیاه افزایش می‌دهد تا پتانسیل اسمزی سلول را حفظ کرده و از دهیدراته شدن آن جلوگیری کند. نانوذرات روی در این شرایط با تقویت مکانیسم‌های تحمل به تنش، این پاسخ را تشدید می‌کنند. مطالعات نشان می‌دهند که نانوذرات روی می‌توانند فعالیت

آنزیم‌های کلیدی در فتوسنتز و سنتز قندها را افزایش داده و همچنین از طریق القای بیان ژن‌های مرتبط با تجمع اسمولیت‌ها، به گیاه در مقابله با تنش کمک کنند (Raliya *et al*. 2017). تحت شرایط آبیاری نرمال، گیاه تحت تنش نیست؛ بنابراین نیاز فیزیولوژیکی برای تجمع بالای قند وجود ندارد و نانو ذرات روی تأثیر محسوسی بر این مسیر متابولیک نمی‌گذارند که دلیل عدم اختلاف معنادار با تیمار شاهد در این شرایط است. این یافته‌ها با پژوهش‌های دیگر (Singh *et al*. 2018) همسو است که گزارش کردند نانو ذرات تحت شرایط تنش اثر مثبتی بر خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه دارد. حافظ و همکاران (Hafeez *et al*. 2013). نشان دادند که نانو اکسید روی با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، استرس اکسیداتیو ناشی از کم‌آبی را کاهش داده و به حفظ یکپارچگی غشاهای سلولی کمک می‌کند که برای حفظ متابولیسم قند ضروری است.

در این آزمایش هر دو غلظت ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر نانو اکسید روی به‌عنوان غلظت بهینه در شرایط کم‌آبی برای عیار قند عمل کرده است. از سوی دیگر، تحت شرایط آبیاری نرمال، گیاه کمتر تحت فشار است و ممکن است پاسخ کمتری به نانوذره نشان دهد بنابراین، ترکیب تنش ملایم کم‌آبی و غلظت پایین نانو اکسید روی می‌تواند سیگنال‌های استرس را به‌گونه‌ای تعدیل کند که منابع گیاه به سمت سنتز ترکیبات دفاعی مانند قندها هدایت شود. بر اساس مطالعه دیمکپا و همکاران (Dimkpa *et al*. 2019) نانوذرات روی در غلظت‌های پایین می‌توانند با تحریک مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با دفاع گیاهی، تجمع متابولیت‌های ثانویه مانند قندها را افزایش دهند.

در این آزمایش، کاربرد هم‌زمان کیتوزان+ پرولین تحت شرایط تنش کم‌آبی با میانگین ۱۷/۳۴ درصد، بیشترین عیار قند را کسب کرد. کمترین عیار قند نیز با میانگین ۱۴/۳۳ درصد، مربوط به تیمار کاربرد هم‌زمان پرولین و کیتوزان تحت آبیاری نرمال بود. همچنین، اختلاف بین این تیمار با هر چهار تیمار محلول‌پاشی محرک‌های زیستی تحت شرایط آبیاری نرمال و تیمار شاهد تحت شرایط کم‌آبی، از نظر عیار قند معنی‌دار نبود (جدول ۴).

ترکیب پرولین (یک اسیدآمینه و اسمولیت قوی) و کیتوزان (یک بیوپلیمر القاکننده مقاومت) تحت شرایط تنش کم‌آبی، اثر هم‌افزایی (سینرژیسم) قدرتمندی ایجاد می‌کند. پرولین به‌عنوان یک اسمولیت عمل می‌کند یعنی در داخل سلول تجمع یافته و با کمک به حفظ پتانسیل اسمزی، از کاهش آب سلول جلوگیری می‌کند. این امر نه‌تنها باعث حفظ تورژسانس سلول می‌شود، بلکه از آسیب به ساختارهای سلولی مانند آنزیم‌ها و غشاها نیز محافظت می‌کند (Hayat *et al*. 2012). کیتوزان نیز به‌عنوان یک الیتیسور (محرک مقاومت)، سیگنال‌های دفاعی گیاه را فعال می‌کند. این ترکیب، مسیرهای متابولیکی مرتبط با تولید فیتوآلکسین‌ها و ترکیبات دفاعی دیگر را القا می‌کند. مطالعات نشان داده‌اند که کاربرد خارجی پرولین می‌تواند سنتز درون‌سلولی آن را نیز تحریک کرده و چرخه مثبتی از تجمع اسمولیت ایجاد کند (Malerba *et al*. 2016). ترکیب این دو ماده، گیاه را هم از نظر فیزیکی–اسمزی و هم از نظر بیوشیمیایی–دفاعی برای مقابله با تنش کم‌آبی آماده می‌کند. پرولین علاوه بر نقش اسمزی، به‌عنوان یک محافظت‌کننده آنتی‌اکسیدانی عمل کرده و رادیکال‌های آزاد تولیدشده تحت تنش را خنثی می‌کند. این موضوع از تخریب کلروپلاست‌ها و آنزیم‌های کلیدی چرخه کالوین (مانند روبیسکو) جلوگیری می‌کند. در نتیجه، گیاه به تولید پیش‌سازهای قندی (کربوهیدرات‌ها) ادامه می‌دهد. از سوی دیگر، تنش کم‌آبی به‌خودی‌خود، گیاه را وادار می‌کند که کربوهیدرات‌های تولیدشده را به‌جای مصرف برای رشد رویشی، به شکل ترکیبات ذخیره‌ای مانند ساکارز (شکر سفید) ذخیره کند. این یک استراتژی بقا برای تأمین انرژی در دوران سخت است. ترکیب پرولین و کیتوزان این سیگنال‌های ذخیره‌سازی را تقویت می‌کند. پژوهش‌ها نشان داده که کیتوزان می‌تواند فعالیت آنزیم‌های کلیدی در مسیر سنتز ساکارز را تنظیم کند (Iriti and Faoro 2009). در مطالعه باخوم و همکاران (Bakhoum *et al*. 2022) درصد قند محلول را در گیاه لوپینوسترمیس (*Lupinustermis* L) به‌صورت چشمگیری افزایش داد.

نتایج مقایسه میانگین برهم‌کنش نانوذره روی و محرک‌های زیستی نشان داد، کاربرد پرولین و پرولین+ کیتوزان همراه با

سطح ۴ میلی‌گرم در لیتر نانو اکسید روی به ترتیب با میانگین ۱۶/۴۸ و ۱۶/۳۴ درصد، بیشترین عیار قند را نشان دادند. (جدول ۵) اختلاف بین این تیمارها با تیمارهای کاربرد پرولین همراه با شاهد نانو اکسید روی، شاهد محرک زیستی همراه با سطوح ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر نانو اکسید روی و کاربرد پرولین + کیتوزان همراه با سطح ۲ میلی‌گرم در لیتر نانو اکسید روی، معنی‌دار نبود. از سوی دیگر، محلول‌پاشی پرولین همراه با سطح ۲ میلی‌گرم در لیتر نانو اکسید روی با میانگین ۱۳/۳ درصد، کمترین عیار قند را داشت و اختلاف آن با تیمارهای محلول‌پاشی کیتوزان و پرولین + کیتوزان همراه با شاهد نانو اکسید روی، معنی‌دار نبود. می‌توان دریافت که ترکیب پرولین و نانو اکسید روی در غلظت بالاتر (۴ میلی‌گرم در لیتر) بیشترین اثر سینرژیستی را در تجمع قند ایجاد کرده است. در چغندرقند به‌طور معمول بین عیار قند و عملکرد ریشه همبستگی منفی وجود دارد بنابراین کاهش عیار قند در برخی تیمارهای ترکیبی، احتمالاً نتیجه‌ی مستقیم افزایش موفقیت‌آمیز عملکرد ریشه توسط همین تیمارها است. این موضوع نشان می‌دهد که این تیمارها توانسته‌اند با توزیع مواد در حجم بیشتری از ریشه، برتری را به کمیت محصول (عملکرد) بدهند، حتی اگر به بهای کاهش کیفیت (عیار قند) تمام شود.

پرولین به‌عنوان یک اسمولیت محافظ، سنتز قندها را از طریق تنظیم اسمزی و محافظت از آنزیم‌های کلیدی متابولیسم کربوهیدرات‌ها افزایش می‌دهد. نانوذرات روی در غلظت بهینه (۴ میلی‌گرم در لیتر) با بهبود فعالیت آنزیم‌های مرتبط با فتوسنتز و انتقال قندها، این اثر را تقویت می‌کنند (Raliya *et al*. 2018). از طرفی، کیتوزان با القای پاسخ‌های دفاعی و بهبود نفوذپذیری سلولی، جذب و کارایی این ترکیبات را افزایش می‌دهد (Nandhini *et al*. 2025) در مقابل، ترکیب پرولین با غلظت پایین‌تر نانو ذرات (۲ میلی‌گرم در لیتر) ممکن است به دلیل عدم دستیابی به آستانه بهینه تحریک متابولیک، نتوانسته باشد پاسخ مطلوب را ایجاد کند. این موضوع اهمیت غلظت‌های بحرانی نانو ذرات را در ایجاد پاسخ فیزیولوژیک بهینه نشان می‌دهد(Wang *et al*. 2016) .

عملکرد شکر

در این آزمایش، کاربرد نانو ذرات اکسید روی در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر تحت شرایط آبیاری نرمال، با میانگین ۹/۴۸ تن در هکتار، بیشترین عملکرد شکر را به خود اختصاص داد. در مقابل، کمترین عملکرد شکر با میانگین ۶/۷۳ تن در هکتار، مربوط به تیمار شاهد (بدون نانو ذرات) تحت شرایط تنش کم‌آبی بود. نتایج نشان داد که تحت شرایط آبیاری نرمال، کاربرد نانو ذرات در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر، برتری آماری معنی‌داری در عملکرد شکر نسبت به تیمار شاهد و غلظت ۴ میلی‌گرم در لیتر داشت. اختلاف بین تیمار شاهد و غلظت ۴ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی معنی‌دار نبود. تحت شرایط تنش کم‌آبی، هر دو غلظت ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی به‌طور معنی‌داری عملکرد شکر را در مقایسه با تیمار شاهد افزایش دادند (جدول ۶).

عملکرد برتر شکر در تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات اکسید روی تحت شرایط نرمال را می‌توان به نقش بهینه این غلظت از نانو ذرات در بهبود فرآیندهای فیزیولوژیک کلیدی نسبت داد. مطالعات نشان می‌دهند که نانوذرات روی در غلظت‌های پایین (مانند ۲ میلی‌گرم در لیتر) می‌توانند با افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در فتوسنتز (مانند کربنیک آن‌هیدراز) و سنتز ساکارز، انتقال مواد فتوسنتزی به ریشه را بهبود بخشند که نهایتاً منجر به افزایش عملکرد شکر می‌شود (Raliya *et al*. 2018)، با این حال، غلظت‌های بالاتر (۴ میلی‌گرم در لیتر) ممکن است باعث ایجاد استرس اکسیداتیو خفیف یا اختلال در هموستازی یونی شود و بنابراین تأثیر محسوسی نسبت به شاهد نداشته باشد (Wang *et al*. 2016). تحت شرایط تنش کم‌آبی که گیاه با محدودیت متابولیک مواجه است، همان نانوذرات با القای مکانیسم‌های تحمل به تنش (مانند افزایش تجمع اسمولیت‌ها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی) به‌طور معنی‌داری بر عملکرد شکر نسبت به شاهد برتری می‌یابند(Nandhini *et al*. 2025) . این نتایج الگویی وابسته به غلظت و شرایط محیطی را برای کاربرد نانو ذرات نشان می‌دهد. مطالعه دیمکپا و همکاران (Dimkpa *et al*. 2019) نشان داده که نانو ذرات اکسید روی می‌توانند با

حفظ یکپارچگی غشاهای سلولی و فعالیت آنزیم‌های کلیدی فتوسنتز، عملکرد را حتی تحت تنش بهبود بخشند. با توجه به اینکه عملکرد شکر برآیند دو صفت عملکرد ریشه و عیار قند است، برتری عملکرد قند در تیمارهای افزایش عملکرد شکر در تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر تحت شرایط آبیاری نرمال را می‌توان به اثر مثبت تیمارهای مذکور بر اجزای عملکرد شکر یعنی عملکرد ریشه و عیار قند نسبت داد.

در این آزمایش، حداکثر عملکرد شکر با متوسط ۹/۲۵ تن در هکتار به تیمار کاربرد ترکیبی پرولین+ کیتوزان تحت شرایط تنش کم‌آبی اختصاص یافت، اگرچه اختلاف بین این تیمار با تیمارهای محلول‌پاشی کیتوزان و ترکیب کیتوزان + پرولین تحت شرایط آبیاری نرمال، از نظر آماری قابل توجه نبود. کمترین عملکرد شکر با میانگین‌های ۶/۷۹، ۷/۱۳ و ۷/۶۷ تن در هکتار به ترتیب مربوط به تیمارهای شاهد، کیتوزان و پرولین تحت شرایط کم‌آبی بود. لازم به ذکر است که محلول‌پاشی کیتوزان تحت شرایط آبیاری نرمال و محلول‌پاشی ترکیبی پرولین + کیتوزان تحت شرایط تنش کم‌آبی، عملکرد شکر را در مقایسه با تیمار شاهد مربوطه به‌صورت معنی‌داری بهبود بخشیدند (جدول ۴).

عملکرد برتر شکر در تیمار ترکیبی پرولین و کیتوزان تحت تنش کم‌آبی را می‌توان به اثر هم‌افزایی (سینرژیستی) این دو محرک زیستی نسبت داد. کیتوزان با القای سیستم دفاعی گیاه و افزایش نفوذپذیری سلولی، جذب و انتقال مواد را بهبود می‌بخشد در حالی که پرولین به‌عنوان یک اسمولیت محافظ، با حفظ تعادل اسمزی و جلوگیری از آسیب‌های اکسیداتیو، فرآیندهای متابولیک تولید قند را تحت تنش پایدار می‌کند (Hidangmayum *et al*. 2019). تحت شرایط آبیاری نرمال، گیاه تنش قابل توجهی را تجربه نمی‌کند، بنابراین اثر این محرک‌ها کمتر مشهود است. با این حال، تحت تنش کم‌آبی که متابولیسم گیاه مختل می‌شود، ترکیب پرولین و کیتوزان به‌طور معنی‌داری با تقویت مکانیسم‌های تحمل به تنش (Gholizadeh *et al*. 2025)، عملکرد شکر را نسبت به شاهد بهبود می‌بخشد. عملکرد ضعیف‌تر تیمارهای کاربرد جداگانه محرک‌های زیستی تحت تنش نیز نشان می‌دهد که این ترکیبات به‌تنهایی برای غلبه بر اثرات مخرب کم‌آبی کافی نیستند و اثر هم‌افزایی آن‌ها برای دستیابی به نتیجه مطلوب ضروری است. در مطالعه رابیلو و همکاران (Rabêlo *et al*. 2019) کاربرد کیتوزان و سایر مشتقات آن عملکرد دانه را تحت شرایط تنش کم‌آبی عملکرد دانه را در ذرت به‌صورت معنی‌داری افزایش داد که همسو با نتایج تحقیق حاضر است.

نتایج مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که کاربرد همزمان پرولین+ کیتوزان به همراه نانو ذرات اکسید روی در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر، با میانگین ۹/۶۵ تن در هکتار، بالاترین عملکرد شکر را به خود اختصاص داد. اختلاف بین این تیمار و تیمارهای محلول‌پاشی جداگانه کیتوزان و پرولین در سطح ۲ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات و نیز تیمار ترکیبی پرولین + کیتوزان به همراه نانو ذرات در غلظت ۴ میلی‌گرم در لیتر، معنی‌دار نبود. محلول‌پاشی پرولین و کیتوزان به همراه تیمار شاهد نانو ذرات به ترتیب با میانگین‌های ۶/۶۷ و ۷/۲۱ تن در هکتار، کمترین عملکرد شکر را کسب کردند. اختلاف بین این دو تیمار با تیمار شاهد زیست‌تحریک‌کننده‌ها (بدون پرولین و کیتوزان) به همراه نانو ذرات در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر، معنی‌دار نبود (جدول ۵).

بر اساس نتایج، نانو ذرات اکسید روی با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر تحت شرایط آبیاری نرمال، بهترین عملکرد را ایجاد کرد. روی (Zn) یک ریزمغذی ضروری برای سنتز تریپتوفان که پیش‌ساز هورمون اکسین است، می‌باشد. اکسین به‌نوبه خود تقسیم سلولی و رشد سلول‌های پارانشیم آوندی را تحریک می‌کند که برای توسعه بافت‌های انتقال‌دهنده‌ی مواد فتوسنتزی مانند آوندهای آبکش، حیاتی است. این امر انتقال کارآمدتر ساکارز از برگ به اندام‌های ذخیره‌سازی (مانند ریشه چغندر) را ممکن می‌سازد (Zand *et al*. 2014).

در تحقیقی روی چغندرقند کاربرد توأم اسیدهای هیومیک و کیتوزان، در مقایسه با شاهد، تحت شرایط تنش کم‌آبی، عملکرد ریشه و عملکرد شکر را به‌صورت معنی‌داری افزایش دادند (Makhlouf *et al*. 2022). همچنین در مطالعه‌ای دیگر محلول‌پاشی ملاتونین و نانوذره پتاسیم عملکرد شکر را به صورت

معنی داری در مقایسه با شاهد افزایش داد (Eyvazi *et al*, 2025).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج این پژوهش، به‌کارگیری ترکیبی نانوذرات اکسید روی (با غلظت بهینه ۲ میلی‌گرم در لیتر) به همراه محلول‌پاشی محرک‌های رشد پرولین و کیتوزان، به‌عنوان یک راهبرد مدیریتی مؤثر برای کاهش اثرات مخرّب تنش کم‌آبی و افزایش عملکرد کمی و کیفی چغندرقند پیشنهاد می‌شود. این ترکیب با مکانیسم‌های هم‌افزایی، از طریق بهبود محتوای نسبی آب برگ، افزایش تجمع اسمولیت‌های محافظ مانند پرولین، تنظیم باز و بسته شدن روزنه‌ها و تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی، گیاه را در برابر تنش خشکی مقاوم می‌سازد. در نهایت، این امر منجر به حفظ عملکرد ریشه و افزایش معنی‌دار عیار قند و عملکرد نهایی شکر سفید می‌شود بنابراین استفاده از این تیمار ترکیبی می‌تواند پایداری تولید چغندرقند را در شرایط محدودیت آبیاری تضمین کرده و به‌عنوان یک روش پایدار و اقتصادی برای کشاورزان مورد توصیه قرار گیرد. از نظر اقتصادی، این راهکار با افزایش عملکرد ریشه و عیار قند، می‌تواند درآمد کشاورز را به‌طور قابل توجهی بالا برد و با کاهش ریسک تولید در شرایط کم‌آبی، به احتمال زیاد درآمد پایدارتری ایجاد کند.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از تمامی حمایت‌ها و مساعدت‌های دانشگاه آزاد اسلامی واحد میاندوآب جهت فراهم نمودن امکانات مورد نیاز برای اجرای این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع مورد استفاده

References

Abdelaal KAA, Attia KA, Alamery SF, El-Afry MM, Ghazy AI, Tantawy DS. Exogenous application of proline and salicylic acid can mitigate the injurious impacts of drought stress on barley plants associated with physiological and histological characters. Sustainability. 2020;12(5):1736 .Doi: https://doi.org/10.3390/su12051736

Agurla S, Gayatri G, Raghavendra AS. Nitric oxide as a secondary messenger during stomatal closure as a part of plant immunity response against pathogens. Nitric Oxide. 2014;43:89-96. Doi:https://doi.org /10.1016/j.niox.2014.07.004.

Ahmed S, Khan MT, Abbasi A, Ul Haq I, Hina A, Mohiuddin M. Characterizing stomatal attributes and photosynthetic induction in relation to biochemical changes in Coriandrum sativum L. by foliar-applied zinc oxide nanoparticles under drought conditions. Frontiers in Plant Science. 2023;13, 1-16. Doi:https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1079283

Akhtar G, Faried HN, Razzaq K, Ullah S, Wattoo FM, Shehzad MA, et al. Chitosan-induced physiological and biochemical regulations confer drought tolerance in pot marigold (*Calendula officinalis* L.). Agronomy. 2022;12(2):474. Doi:https://doi.org/10.3390/agronomy12020474.

Alam MZ, Choudhury TR, Mridha MJ. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance biomass growth, mineral content, and antioxidant activity in tomato plants under drought stress. Journal of Food Quality. 2023; (1) 1-14. Doi:. https://doi.org/10.1155/2023/2581608

Ali S, Abbas Z, Seleiman MF, Rizwan M, Yavaş İ, Alhammad BA, et al. Glycine betaine accumulation, significance and interests for heavy metal tolerance in plants. Plants (Basel). 2020; 9 (7):896. Doi: https://doi.org/10.3390/plants9070896

AlKahtani MDF, Hafez YM, Attia K, Rashwan E, Husnain LA, AlGwaiz HIM, et al. Evaluation of Silicon and Proline Application on the Oxidative Machinery in Drought-Stressed Sugar Beet. Antioxidants (Basel). 2021;10(3):398. Doi:https://doi.org/10.3390/antiox10030398.

Almeida LG, Magalhães PC, Karam D, Silva EMD, Alvarenga AA. Chitosan application in the induction of water deficit tolerance in maize plants. Acta Scientiarum. Agronomy. 2020; 42:e42463. Doi:https://doi.org/10.4025/actasciagron.v42i1.42463.

Alsherif EA, Almaghrabi O, Elazzazy AM, Abdel-Mawgoud M, Beemster GT, AbdElgawad H. Carbon nanoparticles improve the effect of compost and arbuscular mycorrhizal fungi in drought-stressed corn cultivation. Plant Physiology and Biochemistry . 2023;194:29-40. Doi: https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.11.005.

Anwar T, Qureshi H, Siddiqi EH, Ullah N, Naseem MT, Soufan W. Synergistic effects of gibberellic acid, biochar, and rhizobacteria on wheat growth under heavy metal and drought stress. BMC Plant Biology. 2024;24(1):1168. Doi: https://doi.org/ 10.1186/s12870-024-05833-8.

Ashwin R, Bagyaraj DJ, Mohan Raju B. Ameliorating the drought stress tolerance of a susceptible soybean cultivar, MAUS 2 through dual inoculation with selected rhizobia and AM fungus. Fungal Biology and Biotechnology. 2023;10(1):10. Doi:https://doi.org/10.1186/s40694-023-00157-y

Bakhoum G, Sadak M, Tawfik M. Chitosan and chitosan nanoparticle effect on growth, productivity and some biochemical aspects of Lupinustermis L plant under drought conditions. Egyptian Journal of Chemistry. 2022;65(5):537-49. Doi:https://doi.org/10.21608/ejchem.2021.97832.4563.

Bates LS, Waldren R, Teare I. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil. 1973;39(1):205-207. Doi: https://doi.org/10.1007/BF00018060

Bhat JA, Faizan M, Bhat MA, Huang F, Yu D, Ahmad A. Defense interplay of the zinc-oxide nanoparticles and melatonin in alleviating the arsenic stress in soybean (*Glycine max* L.). Chemosphere. 2022;288:132471. Doi:https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132471

Czékus Z, Iqbal N, Pollák B, Martics A, Ördög A, Poór P. Role of ethylene and light in chitosan-induced local and systemic defence responses of tomato plants. Journal of Plant Physiology. 2021;263:153461. Doi:https://doi.org/10.1016/j.jplph.2021.153461.

Dimkpa CO, Bindraban PS, Fugice J, Agyin-Birikorang S, Singh U, Hellums D. Composite micronutrient nanoparticles and salts decrease drought stress in soybean. Agronomy for Sustainable Development. 2017;37(1):5 Doi: https://doi.org/ 10.1007/s13593-016-0412-8.

Dimkpa CO, Singh U, Bindraban PS, Elmer WH, Gardea-Torresdey GL , White JC, Zinc oxide nanoparticles alleviate drought-induced alterations in sorghum performance, nutrient acquisition, and grain fortification, Science of The Total Environment. 2019; 688:926-934. https://https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.392.

EL-Bauome HA, Abdeldaym EA, Abd El-Hady MA, Darwish DBE, Alsubeie MS, El-Mogy MM. Exogenous proline, methionine, and melatonin stimulate growth, quality, and drought tolerance in cauliflower plants. Agriculture. 2022;12(8):1301. Doi:https://doi.org/10.3390/agriculture12091301.

Eyvazi B, Mahmoodi TM, Sharafi S, Yazdan Seta D, Hamze . The Effect of foliar spraying of melatonin and potassium nanoparticles on quantitative and qualitative characteristics of sugar beet and water use efficiency at different harvest dates. International Journal of Plant Production.2025; 19: 661–679 Doi:https://doi.org/10.1007/s42106-025-00356-0

Flors V, Paradís M, García-Andrade J, Cerezo M, González-Bosch C, García-Agustín P. A tolerant behavior in salt-sensitive tomato plants can be mimicked by chemical stimuli. Plant Signaling and Behavior. 2007;2(1):50-7. Doi: https://doi.org/ 10.4161/psb.2.1.3862.

Fugate KK, Lafta AM, Eide JD, Li G, Lulai EC, Olson LL. Methyl jasmonate alleviates drought stress in young sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plants. Journal of Agronomy and Crop Science. 2018;204(6):566-76. Doi:https://doi.org/10.1111/jac.12286

Gatasheh MK, Shah AA, Kaleem M, Usman S, Shaffique S. Application of CuNPs and AMF alleviates arsenic stress by encompassing reduced arsenic uptake through metabolomics and ionomics alterations in Elymus sibiricus. BMC Plant Biology . 2024;24:667. Doi:https://doi.org/10.1186/s12870-024-05359-z

Geng W, Li Z, Hassan MJ, Peng Y. Chitosan regulates metabolic balance, polyamine accumulation, and Na+ transport contributing to salt tolerance in creeping bentgrass. BMC Plant Biology. 2020;20:506. Doi:https://doi.org/10.1186/s12870-020-02718-4.

Ghaffari H, Tadayon MR, Bahador M, Razmjoo J. Investigation of the proline role in controlling traits related to sugar and root yield of sugar beet under water deficit conditions. gricultural Water Management,. 2021;243:106448. Doi: https://doi.org/ 10.1016/j.agwat.2020.106448.

Ghiyasi M, Rezaee Danesh Y, Amirnia R, Najafi S, Mulet JM, Porcel R. Foliar applications of ZnO and its nanoparticles increase safflower (*Carthamus tinctorius* L.) growth and yield under water stress. Agronomy. 2023;13(1):192. Doi:https://doi.org/10.3390/agronomy13010192

Gholizadeh F, Gohari G, Pál M, Szalai G, Khan I, Janda T. Enhancing wheat resilience to salt stress through an integrative nanotechnology approach with chitosan proline and chitosan glycine. Scientific Reports. 2025;15(1):11126. Doi:https://doi.org/10.1038/s41598-025-12345-4.

Godoy F, Olivos-Hernández K, Stange C, Handford M. Abiotic stress in crop species: improving tolerance by applying plant metabolites. Plants (Basel). 2021;10(2):186. Doi:https://doi.org/10.3390/plants10020186

Gonzalez MNG, Björnsson L. Life cycle assessment of the production of beet sugar and its by-products. Journal of Cleaner Production. 2022;346:131211.Doi: https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.131211

Hafeez B, Khanif YM, Saleem M. Role of zinc in plant nutrition—a review. Journal of Experimental Agriculture International. 2013;50(1):374-91.

Haghaninia M, Javanmard A, Mahdavinia GR, Shah AA, Farooq M. Co-application of biofertilizer and stress-modulating nanoparticles modulates the physiological, biochemical, and yield responses of camelina (*Camelina sativa* L.) Under Limited Water Supply. Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 2023;23(4):6681-95. Doi:https://doi.org/10.1007/s42729-023-01521-y

Haghaninia M, Javanmard A, Radicetti E, Rasouli F, Ruiz-Lozano JM, Sabbatini P. Adoption of arbuscular mycorrhizal fungi and biochar for alleviating the agro-physiological response of lavander (*Lavandula angustifolia* L.) subjected to drought stress. Plant Stress. 2024;12:100461. Doi: https://doi.org/ 10.1016/j.stress.2024.100461.

Hamze H, Khalili M, Mir-Shafiee Z, Nasiri J. Integrated biomarker response version 2 (IBRv2)-Assisted examination to scrutinize foliar application of jasmonic acid (JA) and zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) toward mitigating drought stress in sugar beet. Journal of Plant Growth Regulation . 2025;44:316-34. Doi: https://doi.org/ 10.1007/s00344-024-11475-9.

Hasanuzzaman M, Banerjee A, Bhuyan MHMB, Roychoudhury A, Mahmud JA, Fujita M. Targeting glycinebetaine for abiotic stress tolerance in crop plants: physiological mechanism, molecular interaction and signaling. Phyton. 2019;88(3):185-201.

Hayat S, Hayat Q, Alyemeni MN, Wani AS, Pichtel J, Ahmad A. Role of proline under changing environments: a review. Plant Signaling & Behavior. 2012;7(11):1456-66. Doi:https://doi.org/10.4161/psb.21949

Hidangmayum A, Dwivedi P, Katiyar D, Hemantaranjan A. Application of chitosan on plant responses with special reference to abiotic stress. Physiology and molecular biology of plants . 2019;25:313-26. Doi: https://doi.org/ 10.1007/s12298-018-0633-1.

Hossain MS, ElSayed AI, Moore M, Dietz KJ. Redox and reactive oxygen species network in acclimation for salinity tolerance in sugar beet. Journal of Experimental Botany. 2017;68(5):1283-98. Doi: https://doi.org/10.1093/jxb/erx019

Iriti M, Faoro F. Chitosan as a MAMP, searching for a PRR. Plant Signaling and Behavior. 2009;4(1):66-8. Doi: https://doi.org/10.4161/psb.4.1.7408

Kaur G, Asthir B. Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. Plant Biology. 2015;59(4):609-19.

Kausar A, Hussain S, Javed T, Zafar S, Anwar S, Hussain S. Zinc oxide nanoparticles as potential hallmarks for enhancing drought stress tolerance in wheat seedlings. Plant Physiology and Biochemistry. 2023;195:341-50. Doi:https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.01.014

Khadem SA, Ghalavand A, Ramroodi SR, Mousavi MJ, Rezvani Moghadam P. Effect of animal manure and superabsorbent polymer on yield and yield components on corn (*Zea mays* L.). Iranian Journal of Crop Science. 2011;1:115-23. (In Persian with English abstract).

Krasensky J, Jonak C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *Journal of Experimental Botany*. 2012;63(4):1593–608. Doi: https://doi.org/ 10.1093/jxb/err460.

Makhlouf BSI, Khalil SRAE, Saudy HS. Efficacy of humic acids and chitosan for enhancing yield and sugar quality of sugar beet under moderate and severe drought. Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 2022;22:1676-91. Doi:https://doi.org/10.1007/s42729-022-00762-7.

Malerba M, Cerana R. Chitosan effects on plant systems. International Journal of Molecular Sciences. 2016;17(7):996.

Mir Mahmoudi T, Hamze H, Golabi Lak I. Impact of biofertiliser and zinc nanoparticles on enzymatic, biochemical, and agronomic properties of sugar beet under different irrigation regimes. Zemdirbyste. 2023;110(1):71-80. Doi:https://doi.org/10.13080/z-a.2023.110.025

Molavi M, Nabizadeh E, Hamze H, Sharafi S. Investigating the effect of priming with UV-B and foliar application of micronutrient elements in modulating the adverse effect of water deficit stress in sugar beet (*Beta vulgaris*). Agricultural Research. 2025; Doi:https://doi.org/10.1007/s40003-025-00851-w

Murmu K, Murmu S, Kundu CK, Bera PS. Exogenous proline and glycine betaine in plants under stress tolerance. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 2017;6(8):901-13. Doi:https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.609.109

Nandhini R, Rajeswari E, Harish S, Sivakumar V, Gangai Selvi R. Role of chitosan nanoparticles in sustainable plant disease management. Journal of Nanoparticle Research. 2025;27:13. Doi:https://doi.org/10.1007/s11051-024-06203-z

Ober ES, Clark CJA, Le Bloa M, Royal A, Jaggard KW, Pidgeon JD. Assessing the genetic resources to improve drought tolerance in sugar beet: agronomic traits of diverse genotypes under droughted and irrigated conditions. Field Crops Research. 2004;90(2-3):213-34.Doi:https://doi.org/10.1016/j.fcr.2004.03.004

Panda D, Mishra SS, Behera PK. Drought tolerance in rice: focus on recent mechanisms and approaches. Rice Science. 2021;28(2):119-32.Doi: https://doi.org/10.1016/j.rsci.2021.01.002

Rabêlo VM, Magalhães PC, Bressanin LA, Carvalho DT, Reis CO, Karam D. The foliar application of a mixture of semisynthetic chitosan derivatives induces tolerance to water deficit in maize, improving the antioxidant system and increasing photosynthesis and grain yield. Scientific Reports. 2019; 9(1):8164. Doi:https://doi.org/10.1038/s41598-019-44637-x.

Raliya R, Saharan V, Dimkpa C, Biswas P. Nanofertilizer for precision and sustainable agriculture: current state and future perspectives. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2017;66(26):6487-503. Doi: https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02178.

Rasheed A, Li H, Tahir MM, Mahmood A, Nawaz M, Shah AN. The role of nanoparticles in plant biochemical, physiological, and molecular responses under drought stress: A review. Frontiers in Plant Science. 2022;13:976179. Doi:https://doi.org/10.3389/fpls.2022.976179

Raza MA, Amin J, Valipour M, Iqbal R, Aslam MU, Zulfiqar B. Cu-nanoparticles enhance the sustainable growth and yield of drought-subjected wheat through physiological progress. Scientific Reports. 2024;14(1):14254. Doi:https://doi.org/10.1038/s41598-024-62680-1

Rezaei H, Paknejad F, Ilkaee M. N, Habibi D, Sadeghi-Shoae M. Investigation of methanolic sodium nanosilicate and glycine on yield and quality of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Iranian Journal of Field Crops Research, 2025; 22(4). Doi:https://doi.org/10.22067/jcesc.2024.86567.1303

Sadak MS, Bakry BA. Zinc-oxide and nano ZnO oxide effects on growth, some biochemical aspects, yield quantity, and quality of flax (*Linum usitatissimum* L.) in absence and presence of compost under sandy soil. Bulletin of the National Research Centre. 2020;44:1-12. Doi:https://doi.org/10.1186/s42269-020-00348-2

Saxena SC, Kaur H, Verma P, Petla BP, Andugula VR, Majee M. Osmoprotectants: Potential for crop improvement under adverse conditions. pp. 197-232. In: Tuteja N, Gill SS, (Eds.) Plant Acclimation to Environmental Stress. New York, NY: Springer; 2013.. Doi:https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00445

Sayed EG, Desoukey S, Desouky AF, Farag MF, El-Kholy RI, Azoz SN. Synergistic influence of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation with nanoparticle foliar application enhances chili (*Capsicum annuum* L.) antioxidant enzymes, anatomical characteristics, and productivity under cold-stress conditions. Plants (Basel). 2024;13(4):517. Doi:https://doi.org/10.3390/plants13040517

Seleiman MF, Ahmad A, Alhammad BA. Tola E. Exogenous application of zinc oxide nanoparticles improved antioxidants, photosynthetic, and yield traits in salt-stressed maize. Agronomy. 2023;13(11):2645. Doi:https://doi.org/10.3390/agronomy13102645

Sharif R, Mujtaba M, Rahman MU, Shalmani A, Ahmad H, Anwar T. The multifunctional role of chitosan in horticultural crops; a review. Molecules. 2018;23(4):872. Doi:https://doi.org/10.3390/molecules23040872

Singh A, Singh NÁ, Afzal S, Singh T, Hussain I. Zinc oxide nanoparticles: a review of their biological synthesis, antimicrobial activity, uptake, translocation and biotransformation in plants. Journal of Materials Science. 2018;53(1):185-201. Doi: https://doi.org/10.1007/s10853-017-1544-1

Singh M, Kumar J, Singh S, Singh VP, Prasad SM. Roles of osmoprotectants in improving salinity and drought tolerance in plants: a review. Reviews in Environmental Science and Biotechnology. 2015;14(3):407-26. Doi: https://doi.org/10.1007/s11157-015-9372-8

Sohail MA, Nawaz F, Aziz M, Ahmad W. Effect of supplemental potassium and chitosan on growth and yield of sunflower (*Helianthus annuus* L.) under drought stress. Journal of Agricultural Science. 2021;3(2):56-71. Doi: https://doi.org/10.56520/asj.v3i1.83

Urmi TA, Islam MM, Zumur KN, Abedin MA, Haque MM, Siddiqui MH, et al. Combined effect of salicylic acid and proline mitigates drought stress in rice (*Oryza sativa* L.) through the modulation of physiological attributes and antioxidant enzymes. Antioxidants (Basel). 2023;12(7):1438. Doi: https://doi.org/ 10.3390/antiox12071438.

Wang X, Yang X, Chen S, Li Q, Wang W, Hou C, et al. Zinc oxide nanoparticles affect biomass accumulation and photosynthesis in Arabidopsis. Frontiers in Plant Science. 2016; 6:1243. Doi: https://doi.org/ 10.3389/fpls.2015.01243.

Xu C, Mou B. Chitosan as soil amendment affects lettuce growth, photochemical efficiency, and gas exchange. Hort Technology. 2018;28(4):476-80. Doi: https://doi.org/ 10.21273/HORTTECH04032-18

Yan W, Zhong Y, Shangguan Z. A meta-analysis of leaf gas exchange and water status responses to drought. Scientific Reports. 2016; 6:20917. Doi:https://doi.org/10.1038/srep20917

Yasmin H, Mazher J, Azmat A, Nosheen A, Naz R, Hassan MN, et al. Combined application of zinc oxide nanoparticles and biofertilizer to induce salt resistance in safflower by regulating ion homeostasis and antioxidant defence responses. Ecotoxicology and Environmental Safety. 2021;218:112262. Doi: https://doi.org/ 10.1016/j.ecoenv.2021.112262.

Yusefi-Tanha E, Fallah S, Rostamnejadi A, Pokhrel LR. Zinc oxide nanoparticles (ZnONPs) as a novel nanofertilizer: Influence on seed yield and antioxidant defense system in soil grown soybean (*Glycine max cv. Kowsar*). Science of the Total Environment. 2020; 738:140240. Doi: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140240.

Zand B, Sorooshzadeh A, Ghanati F, Moradi F. Effect of zinc (Zn) and auxin (IBA) foliar application on phytohormonal variation and growth of corn (*Zea mays* L.). Journal of Plant Biology . 2014;6(22):63-76.

Zhou H, Wang L, Su J, Xu P, Liu D, Hao Y, Fan, H. Combined application of silica nanoparticles and brassinolide promoted the growth of sugar beets under deficit irrigation. Plant Physiology and Biochemistry. 2024; 216: 109165. Doi: https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.109165.