

قياس حرارة المجموع الخضري لتقييم مستوى تحمل إجهاد الجفاف في طفرة *abf2* في نبات الارابيدوبسيس

أبويكر علي الحاج<sup>(\*)1</sup> إسراء صلاح سنوقة<sup>2</sup>  
1 - قسم البستنة- كلية الزراعة - جامعة طرابلس 2 - قسم البستنة - كلية الزراعة - جامعة طرابلس  
<sup>(\*)1</sup> البريد المرسل: [a.elhaj@uot.edu.ly](mailto:a.elhaj@uot.edu.ly) <sup>2</sup> [esannoga@gmail.com](mailto:esannoga@gmail.com)

## المخلص:

يعتبر نقص الماء عامل بيئي قاسي ويحد من نمو وانتاجية النباتات عموما والمحاصيل الزراعية خصوصا في مناطق مختلفة من العالم. عدد من هذه النباتات تمتلك القدرة على تحمل ظروف الجفاف وذلك بتغيير مستوى التعبير الجيني للجينات ذات العلاقة بينما نباتات أخرى تكون أقل مقاومة. إن استخدام نبات الارابيدوبسيس في دراسة وظائف وتنظيم الجينات له أهمية كبيرة في أبحاث التقنية الحيوية النباتية المتعلقة بالإجهادات الغير حيوية. التطورات الأخيرة في تشخيص حالات الاجهاد للنبات باستخدام وسائل الاستشعار عن بعد سهلت كثير إجراء مثل هذه الأبحاث المتعلقة بالإجهاد. يهدف هذا البحث الى قياس درجة حرارة النباتات المعرضة للجفاف لتحديد مدى تحمل الطفرة (*abf2*) للجين *ABF2* لنبات الارابيدوبسيس لإجهاد نقص الماء مقارنة بالنباتات العادية ( كولومبيا 0) حيث تم تعريض النباتات الى فترة جفاف 10 أيام بعد أقله لمدة 5 أيام متبوعة بري عادي. أظهرت نتائج التحليل الاحصائي انه لا توجد اختلافات معنوية بين نباتات الطفرة والنباتات كولومبيا 0 في درجة حرارة المجموع الخضري، التغيرات الظاهرية على النباتات ومعدل البقاء. غيره انه وبغض النظر عن نوع النمط الوراثي، وُجدت فروقات معنوية في كمية كلوروفيل أ وب والكلوروفيل الكلي؛ حيث احتوت أوراق النباتات المعرضة للجفاف على كلوروفيل أعلى من نباتات الري العادي عند نهاية فترة الاقلمة. مع عدم ظهور فروقات معنوية بين كلا نوعي النمط الوراثي، فإن تقصير فترة التعريض للجفاف من الممكن أن تبين الاختلافات بينهما، وخاصة أن الجين *ABF2* يحتوي على طفرة *T-DNA* داخل الجين والذي في هذه الحالة لا يمكن تعبيره، وذلك حتى يتم التأكيد على علاقته بإجهاد الجفاف.

الكلمات المفتاحية: التصوير الحراري، إجهاد الجفاف، الكلوروفيل، *T-DNA* والارابيدوبسيس.

## Abstract

Water deficiency is one of the harsh environmental factors that impact the growth and productivity of plants and agricultural crops in wide areas of the globe. A number of plant species possess the ability to overcome drought conditions by changing the gene expression of specific genes that have a role in drought resistance but other plants lose this characteristic. Arabidopsis model plant has been used extensively to study the response to different abiotic stress using T-DNA mutant lines. New techniques are used to diagnose the level of stress plant encounter. Thermal image has become one of the tools that are used to estimate the water needs and to determine the level of drought stress in plants. This research aims to measure the temperature of plant canopy of Abscisic acid responsive elements binding factor 2 (*ABF2/AREB1*) mutant *abf2* under drought stress for 10 days after an adaptation for 5 days, comparing to Columbia 0. The results showed that there were not significant differences between the two genotypes in the canopy temperature, morphological changes and plant survival. A part from genotypes, chlorophyll content was significantly higher in drought stressed plant than unstressed ones at the end of adaptations to drought. To confirm the involvement of the *ABF2* gene holding a T-DNA within the gene code which makes it unexpressed, shortening drought exposure period may be advantageous.

Keywords: Thermal imaging, drought stress, Chlorophyll, T-DNA, Arabidopsis.

## 1. المقدمة:

يعتبر إجهاد الجفاف من العوامل البيئية الفاسية التي تؤثر على نمو وانتشار النباتات بشكل عام وعلى المحاصيل الزراعية بشكل خاص في مناطق شاسعة من العالم. وزاد التغير المناخي وتراجع معدلات المطر السنوي من حدة هذه المشكلة مما نتج عنها تراجع كبير في المساحات المزروعة وبالتالي أدى ذلك الى انخفاض في إنتاجية المحاصيل الزراعية. ركز العلماء في العقدين الأخيرين على كيفية الحد من أثار الجفاف على المحاصيل الزراعية بعد التقدم الحاصل في مجال التقنيات الحيوية والتي تهدف الى إنتاج نباتات تتميز بمقدرة عالية على مقاومة نقص الماء. من أكثر النباتات التي أستخدمت في هذه الدراسات هو نبات الارابيدوبسيس Arabidopsis والذي تم تخريطه جينيا سنة 2002. حيث اتجه العلماء الى إنتاج أعداد كبيرة جدا من الطفرات باستخدام الـ T-DNA (Transferred DNA) لدراسة وظائف الجينات المختلفة وخاصة تلك ذات العلاقة بإستجابة النباتات للانواع المختلفة من الاجهادات الغير حيوية والتي منها الجفاف او نقص الماء. ويؤثر موقع الـ T-DNA بالنسبة الى الجين المستهدف على مستوى تعبيره حيث انه قد يتم تعطيل الجين اذا وقع هذا الـ T-DNA في داخل التعاقب النيوكليوتيدي للجين نفسه وربما يتم زيادة التعبير الجيني للجين المستهدف اذا وقع هذا الـ T-DNA قبل الجين (1). وعند دراسة الجينات ذات العلاقة بإجهاد الجفاف وُجد ان مجموعة عوامل النسخ ABFs والتي منها ABF2 يتم تنشيطها بواسطة حمض الابسيسيك تحت ظروف الاجهاد الاسموزي مشتملا على الجفاف والملوحة العالية (2). وفي دراسة قام بها Fujita وآخرون (3) اتضح ان هذا الجين ينظم عدد من عوامل النسخ الأخرى المعتمدة على إشارة حمض الابسيسيك تحت ظروف الاجهاد الغير حيوي وخاصة الجفاف والملوحة.

شهدت مجالات زراعية عديدة في السنوات الأخيرة تحولا ذكيا لدراسة جميع أنواع التغيرات التي تطرأ على الحالة الحيوية بشكل عام لكل أنواع النباتات وهذا ما أسطُح على تسميته بالزراعة الرقمية أو الزراعة الالكترونية (الذكية). أستخدمت في هذا الشأن تقنيات رقمية تشتمل على وسائل التصوير الحراري والوميض لتشخيص الاحتياجات المائية للنباتات (4) وبالتالي القيام بعملية الري، وكذلك تحديد مستوى استجابة النباتات للإجهادات الغير حيوية مثل الجفاف والملوحة (5) و (6)، والتي أثبتت فعاليتها في تقييم حالة النبات في مراحل نموه المختلفة (7) والاكتشافات المبكرة لحالات إجهاد الجفاف (5). وتم التركيز بشكل خاص على مراقبة التغيرات التي تحدث للنباتات وخاصة الزراعية منها تحت ظروف الاجهاد الغير حيوي والتي منها الجفاف عن طريق قياس درجة حرارة المجموع الخضري (8) و (9). وقد تم الاعتماد على درجة حرارة النبات كمؤشر لاكتشاف الطفرات ذات العلاقة بالاستجابة لحمض الابسيسيك في التأثير على حركة الثغور و بالتالي معدل النتج باعتباره يسبب تبريد للورقة وذلك في نباتات الارابيدوبسيس، حيث تم تحديد النباتات المطفرة التي أظهرت مقدرة منخفضة لغلغ ثغورها وبالتالي كانت أبرد من النباتات العادية (10).

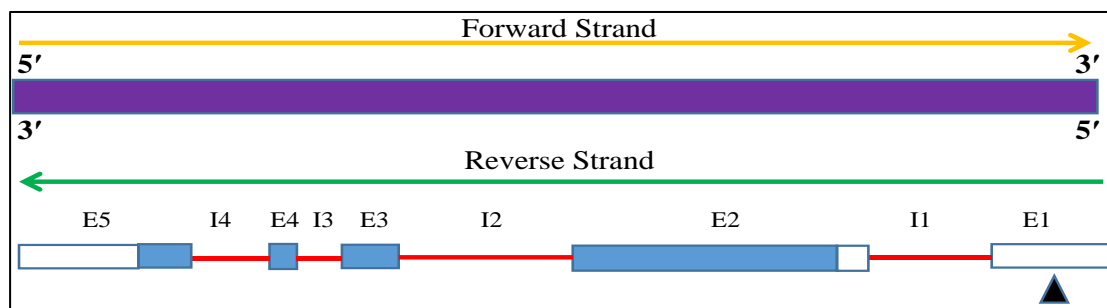
يؤثر إجهاد الجفاف على الخصائص الظاهرية للمجموع الخضري للنباتات بشكل عام بالإضافة الى تسببه في تغيرات فسيولوجية وكيميائية حيوية كبيرة والتي تنتهي بتدني الإنتاج مرور بضعف النمو والتزهير (11). ومن تأثيرات الجفاف ظهور أعراض الذبول والجفاف على الأوراق (12) وكذلك تتجه الأوراق الى اكتساب لونا داكنا كدليل على تراكم صبغة الانثوساينين (13).

من الدراسات السابقة اتضح بشكل جلي أن الاجهادات الغير الحيوية مثل الملوحة والجفاف تسبب انخفاض في محتوى النباتات من الكلوروفيل. حيث وُجد ان تعريض نباتات الحمص لاجهاد الجفاف أدى الى نقص كبير في محتوى النباتات من الكلوروفيل الكلي وكذلك كلوروفيل أ و ب (14). من ناحية أخرى، قد يؤدي تعريض النباتات الى إجهاد الجفاف الى زيادة محتواها من الكلوروفيل (15) و(16) ويعزى السبب الى زيادة ضرورة إزالة السموم المتعلقة بالاضطرابات الفسيولوجية الناتجة عن الإجهاد المائي.

## 2. المواد وطرق البحث:

أُجريت التجربة في غرفة النمو بقسم البستنة بهدف تشخيص مستوى الاستجابة لإجهاد الجفاف باستخدام الكاميرا الحرارية. حيث استخدمت في الدراسة نباتات الارابيدوسيس العادية (Wild Columbia 0) type ونباتات الطفرة N680346 (SALK\_138855) في جين "ABF2/AREB1" Abscisic acid responsive elements-binding factor 2 (Atlg45249) الذي يتكون من 5 اكسونات و4 انترونات والواقع في الكروموسوم رقم 1 على الشريط العكسي Reverse strand، والذي طوله 2799 زوج قاعدي واقعة ما بين الأزواج القاعدية 17165125...17167924 والذي يحتوي على طفرة الـ T-DNA في الاكسون رقم 1 (شكل 1).

وتم أخذ وزن موحد من البيتموس لكل المكررات تم وُضعه في أصص صغيرة. وتم ري البيتموس الى درجة التشبع ثم زُرعت عدة بذور سطحيا بكل أصيص باستخدام ملقط صغير بعد تعقيمه بالإيثانول 70%. تمت تغطية الأصيص بغلاف بلاستيكي شفاف Kling Film بعد زراعة البذور مباشرة وتم حفظ الأصيص عند درجة حرارة 4 م° وإضاءة مستمرة لمدة 4 أيام. بعد مرور أربعة أيام تم تعديل درجة حرارة الغرفة الى  $20 \pm 2$  وإضاءة لمدة 10 ساعات/14 ساعة ظلام وكانت شدة الإضاءة بغرفة النمو  $115 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  تقريبا. وتمت المحافظة على الرطوبة النسبية داخل الغرفة ما بين 50 الى 65%. بعد 5 أيام من الانبات، تم عمل فتحات في الغلاف الشفاف وُثرت لمدة أسبوع ثم أُزيل الغلاف نهائيا. تمت متابعة النباتات بالري بمعدل 50 مل من ماء الحنفية يوم بعد يوم. وقد تم انتخاب النباتات المتشابهة في الحجم حيث تم ترك نبات واحد في كل أصيص لكل المكررات. صُممت التجربة بنظام القطاعات العشوائية الكاملة حيث اشتملت على عاملين وهما مستوى الجفاف (بواقع معاملتين: ري عادي (المقارنة) وجفاف، والنمط الوراثي بواقع معاملتين: النباتات العادية ونباتات الطفرة (*abf2*) للجين ABF2. وبعد وصول النباتات الى الحجم المناسب؛ مرحلة النمو من 3-6 وفقا لـ (17)، تمت عملية تعطيش نباتات معاملة الجفاف فقط لمدة 5 أيام مع المحافظة على ري نباتات معاملة الري العادي بـ 50 مل من ماء الحنفية يوم بعد يوم. بعد مرور 5 أيام كاملة تم أخذ عينات مختلطة من أوراق النباتات لكل مكرر لتقدير الكلوروفيل وذلك لنباتات معاملة الجفاف ونباتات معاملة المقارنة. تم بعد ذلك ري كل النباتات في المعاملتين رية غزيرة وبكمية متساوية. ثم تُركت النباتات المخصصة لمعاملة الجفاف لمدة 10 أيام كاملة دون ري. تمت خلال هذه الفترة ملاحظة التغيرات المورفولوجية على النباتات مثل الذبول والتغير في اللون والجفاف. بعد انتهاء مدة الجفاف تم ري النباتات رية غزيرة وتم حساب النباتات المتبقية حية بعد 3 أيام من انتهاء فترة الجفاف.



شكل (1) تركيب الجين ABF2 في نبات الارابيدوسيسيس؛ الاكسونات (باللون الازرق)، الانترونات (الخط الاحمر)، التعاقب القاعدي الغير قابل للترجمة UTR عند طرفي الجين 3' و 5' (المستطيلات الفارغة)، المثلث الأسود يبين موقع ال T-DNA في الاكسون رقم 1. السهم الأخضر يبين اتجاه النسخ وموقع الجين في اتجاه الشريط العكسي Reverse strand، السهم البرتقالي يبين اتجاه الشريط الرئيسي (Forward strand) واللون البنفسجي يمثل المحور الوهمي لشريط ال DNA. الاكسون 1 وجزء صغير من الاكسون 2 وجزء كبير من الاكسون 5 غير قابلة للترجمة UTR. أُعيد تصميمه من المصدر (18).

### التصوير العادي والحراري:

تم خلال مراحل التجربة أخذ صور عادية بالهاتف النقال و صور حرارية باستخدام كاميرا خاصة نوع Testo 875 (شكل 2) بارتفاع من 30-40 سم فوق النباتات وبزاوية 45 درجة تقريبا. وقد تم تحليل درجات الحرارة من خلال الصور المأخوذة لكل النباتات تحت المعاملات المختلفة باستخدام السوفتوير الخاص بالكاميرا Version 3.3 Testo IRSOFT Software.



شكل (2) الكاميرا الحرارية نوع Testo 875 المستخدمة في قياس درجة حرارة النباتات تحت ظروف اجهاد الجفاف.

### تقدير الكلوروفيل:

تم جمع عينات الأوراق لتقدير الكلوروفيل أ، ب والكلوروفيل الكلي؛ حيث تم اخذ عدد معين من الأوراق حسب حالة النباتات وتم حفظها في درجة حرارة المبرد (4 م°). في اليوم التالي تم طحن العينات باستخدام 5 مل من الاسيتون بتركيز 80 % وبعد طحنها تمت إضافة 25 مل للحجم النهائي للعينة. تم ترشيح المستخلص في دوارق صغيرة وتم أخذ 5 مل من العينة المرشحة وتقدير محتواها من الكلوروفيل باستخدام جهاز التقدير الضوئي

نوع JENWAY 6300. وتم حساب كمية كلوروفيل أ و ب والكلوروفيل الكلي بالمليجرام / جرام وفقاً لـ (19) ، (20) و (21).

$$\text{كلوروفيل أ} = \frac{(A645 \times 2.69 - A663 \times 12.7)}{1000 \times \text{وزن العينة} \times \text{الحجم}}$$

$$\text{كلوروفيل ب} = \frac{(A663 \times 4.68 - A645 \times 22.9)}{1000 \times \text{وزن العينة} \times \text{الحجم}}$$

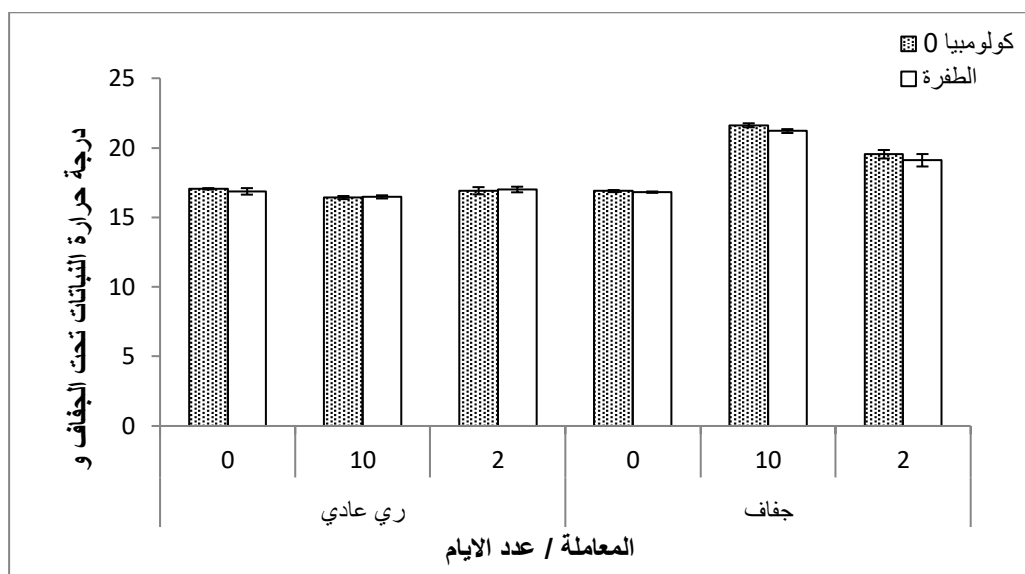
$$\text{الكلوروفيل الكلي} = \frac{(A645 \times 20.2 + A663 \times 8.02)}{1000 \times \text{وزن العينة} \times \text{الحجم}}$$

وقد تم إجراء التحليل الاحصائي باستخدام برنامج Minitab 15؛ General Linear Model حيث تم تحديد الاختلافات باستخدام تحليل التباين ANOVA كما تم استخدام برنامج EndNote 6 لإدخال وتنظيم المراجع وتم اختيار نمط الجمعية الامريكية لعلوم النفس (APA) لترتيب قائمة المراجع في نهاية البحث. ويهدف هذا البحث الى تحديد مستوى استجابة نباتات الارابيدوسيس العادية والطفرة ( $abf_2$ ) للجين ABF2 من خلال قياس درجة حرارة النباتات وكذلك التغيرات الظاهرية والفسولوجية تحت ظروف إجهاد الجفاف.

### 3. النتائج والمناقشة:

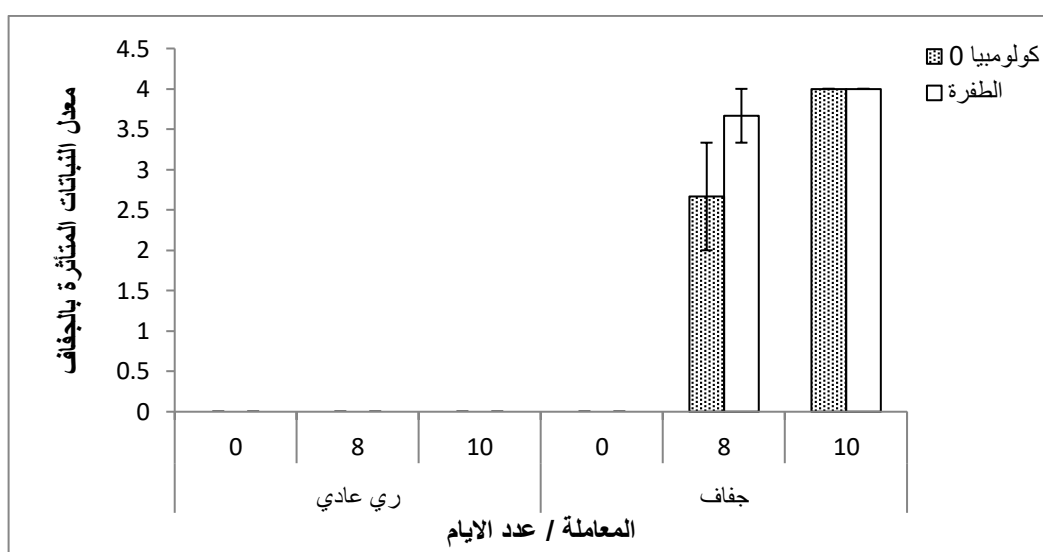
#### أ. قياس درجة حرارة النباتات:

يتضح من شكل (3) أن درجة حرارة النباتات تأثرت معنوياً بتعريض نباتات كولومبيا 0 والطفرة ( $abf_2$ ) للجين ABF2 للجفاف مقارنة بمعاملة الري العادي. وسُجلت أعلى درجة حرارة في كل من نوعي النمط الوراثي بعد تعريض النباتات للجفاف لمدة 10 أيام وانخفضت عند إعادة ري النباتات بيومين الا إنه لم تتضح اختلافات معنوية بين نوعي النمط الوراثي في درجة الأوراق. ويمكن ملاحظة ذلك بالنظر الى الصور الحرارية لنباتات التجربة المشار اليها كما هو في شكل (4.أ) وشكل (4.ب). حيث يعكس اللون الازرق الوضع الطبيعي للمحتوى المائي للأوراق بينما يشير اللون الأخضر الى أن مستوى الماء أقل من الطبيعي ويعبر اللون الأصفر على النقص ثم اللون الأحمر يدل على النقص الشديد للماء في الانسجة.



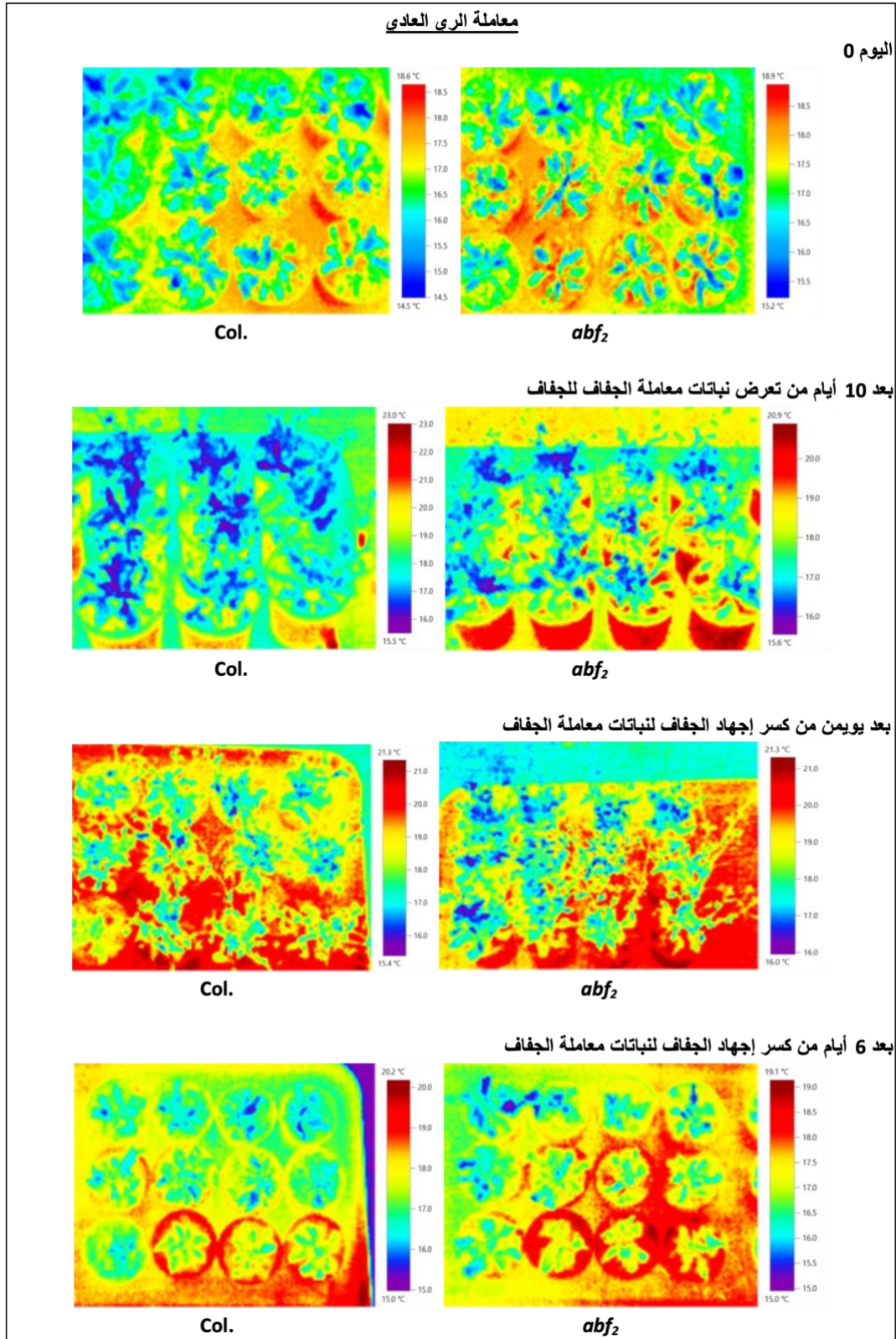
شكل (3) تأثير إجهاد الجفاف على حرارة النباتات (كولومبيا 0 والطفرة  $abf_2$ ) عند: اليوم 0 وهو اخر يوم من الاقلمة للجفاف، بعد 10 أيام من التعرض للجفاف وبعد يومين من كسر إجهاد الجفاف. يتضح عدم وجود اختلافات معنوية بين نباتات كولومبيا 0 والطفرة عند مستوى 5%، غيره أنه تظهر اختلافات معنوية بين الري العادي والتعرض للجفاف وكذلك بعد فترة كسر الجفاف.

ب. تأثير إجهاد الجفاف ظاهريا على النباتات وعلى معدل بقائها: نلاحظ من الشكل (5) أنه لا توجد فروقات معنوية بين النباتات العادية ونباتات الطفرة في متوسط النباتات المتأثرة بالجفاف (بالنظر الى أعراض الذبول، جفاف الأوراق وظهور اللون المميز الدال على تراكم صبغة الانثوسيانين) مقارنة بالنباتات المروية بشكل طبيعي والمعاملة عند اليوم 0 وهو موعد نهاية الاقلمة على الجفاف. ولم يتضح أيضا تأثيرا معنويا لإطالة فترة الجفاف الى 10 أيام مقارنة بـ 8 أيام. من خلال شكل (6) يمكن إجراء مقارنة بالنظر على نباتات التجربة.

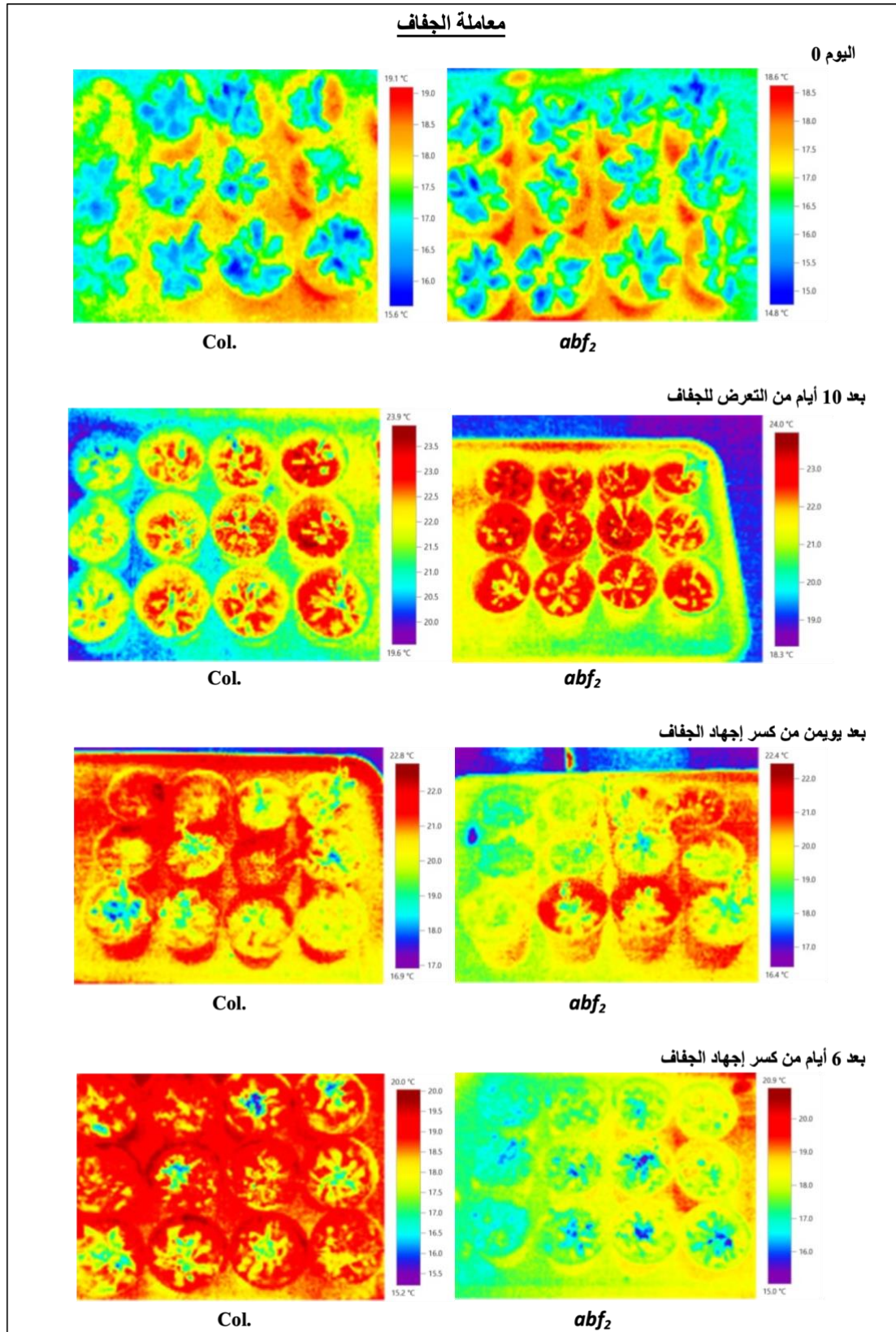


شكل (5) عدد النباتات (كولومبيا 0 والطفرة  $abf_2$ ) المتأثرة ظاهريا بالجفاف (اليوم 0= اخر يوم في الاقلمة للجفاف، اليوم 8 و 10 = بعد 8 و 10 أيام من التعرض للجفاف). يتضح عدم وجود اختلافات معنوية عند مستوى 5%.



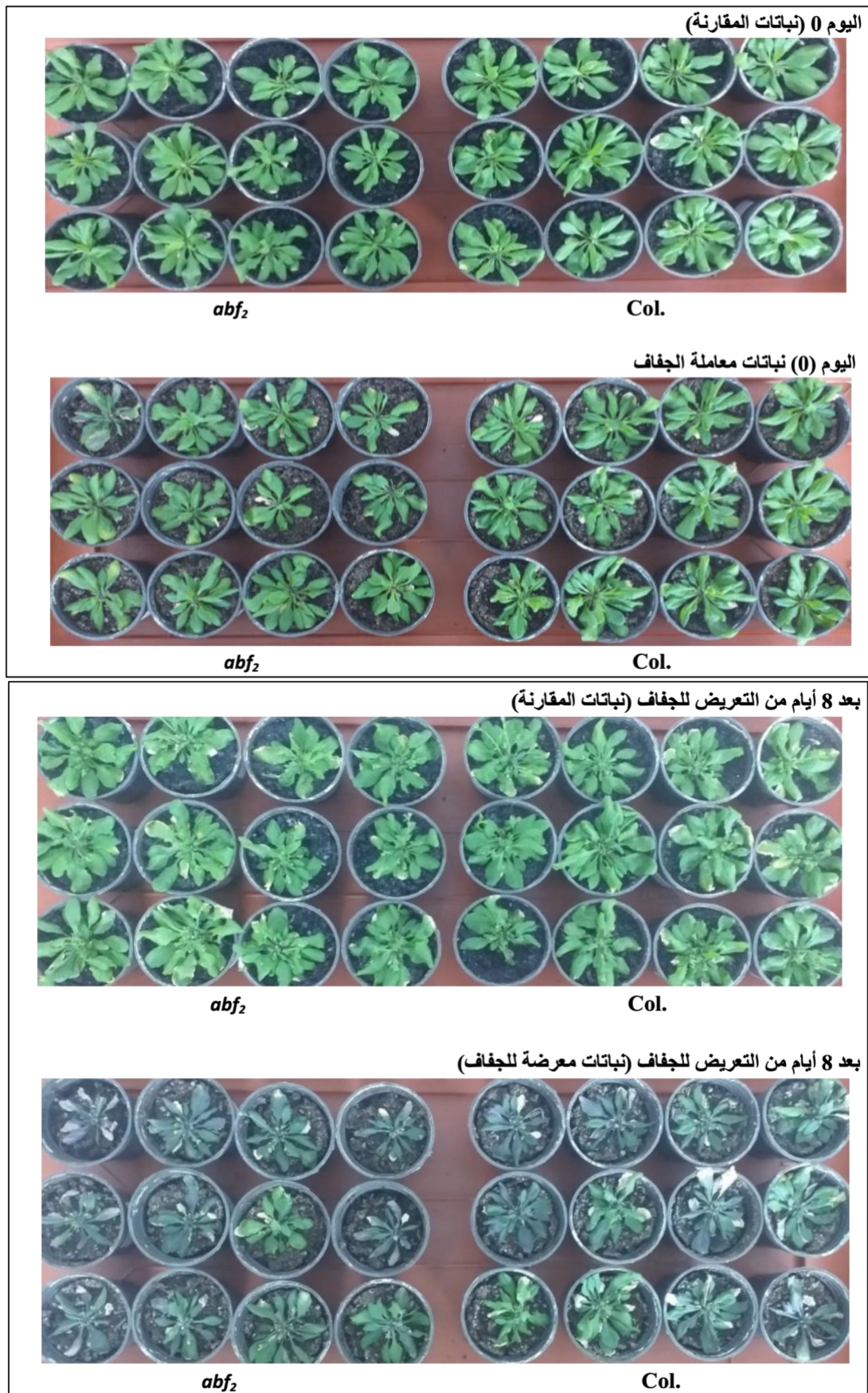


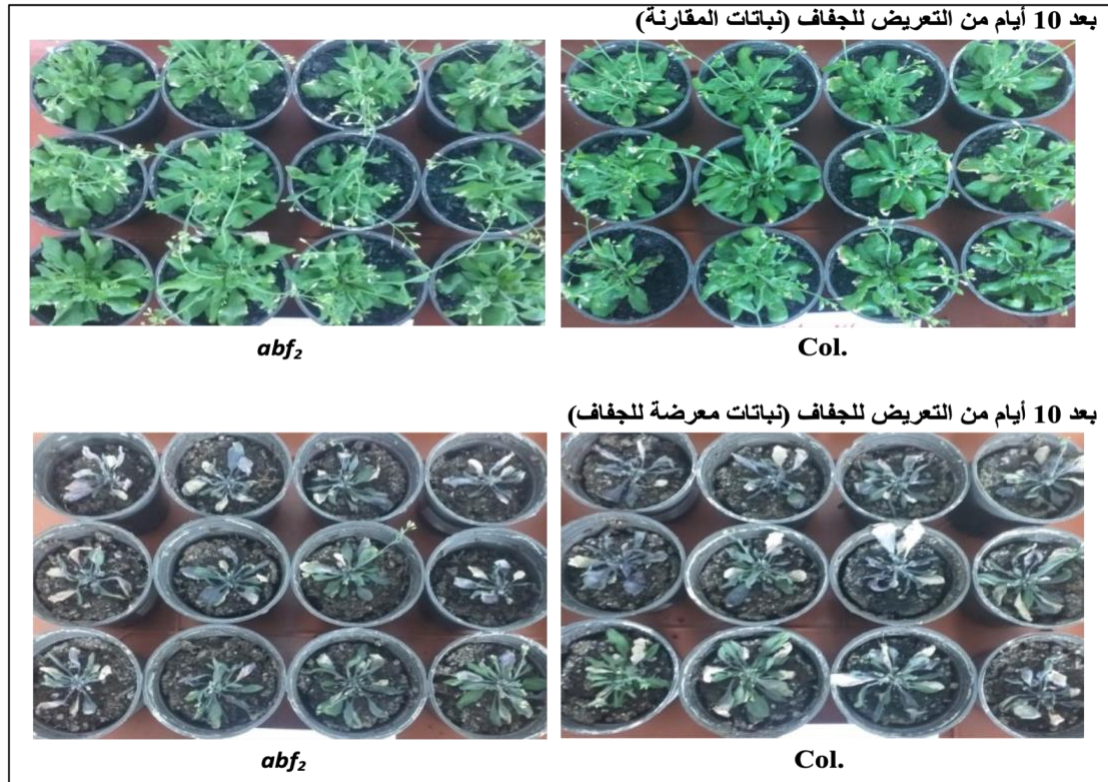
شكل (4. أ) صور حرارية تبين درجة حرارة نباتات كولومبيا 0 والطفرة  $abf_2$  للجنس ABF2 عند اليوم 0 (آخر يوم من الاقلمة للجفاف)، بعد 10 أيام من بدء معاملة الجفاف وبعد يومين وستة أيام من كسر إجهاد الجفاف. الصور لعينات المقارنة (الري العادي).



شكل (4. ب) تأثير إجهاد الجفاف على درجة حرارة نباتات كولومبيا 0 والطفرة  $abf_2$  للجين ABF2 عند اليوم 0 (آخر يوم من الاقلمة للجفاف)، بعد 10 أيام من التعرض للجفاف وبعد يومين وستة أيام من كسر إجهاد الجفاف.



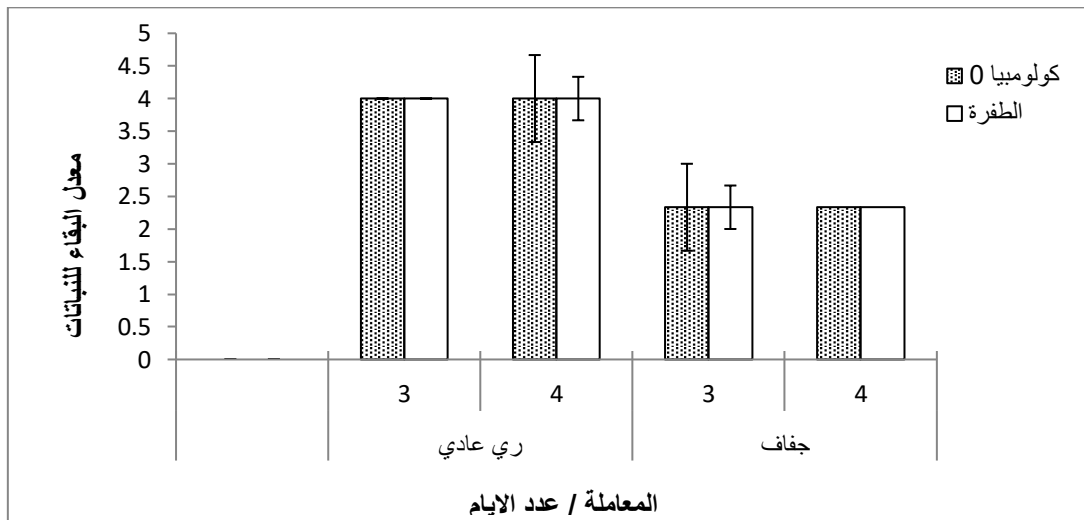




شكل (6) عدد النباتات (كولومبيا 0 والطفرة  $abf_2$ ) المتأثرة ظاهريا بالجفاف (اليوم 0= آخر يوم من الاقلمة للجفاف، اليوم 8 و 10 = بعد 8 و 10 أيام من التعريض للجفاف).

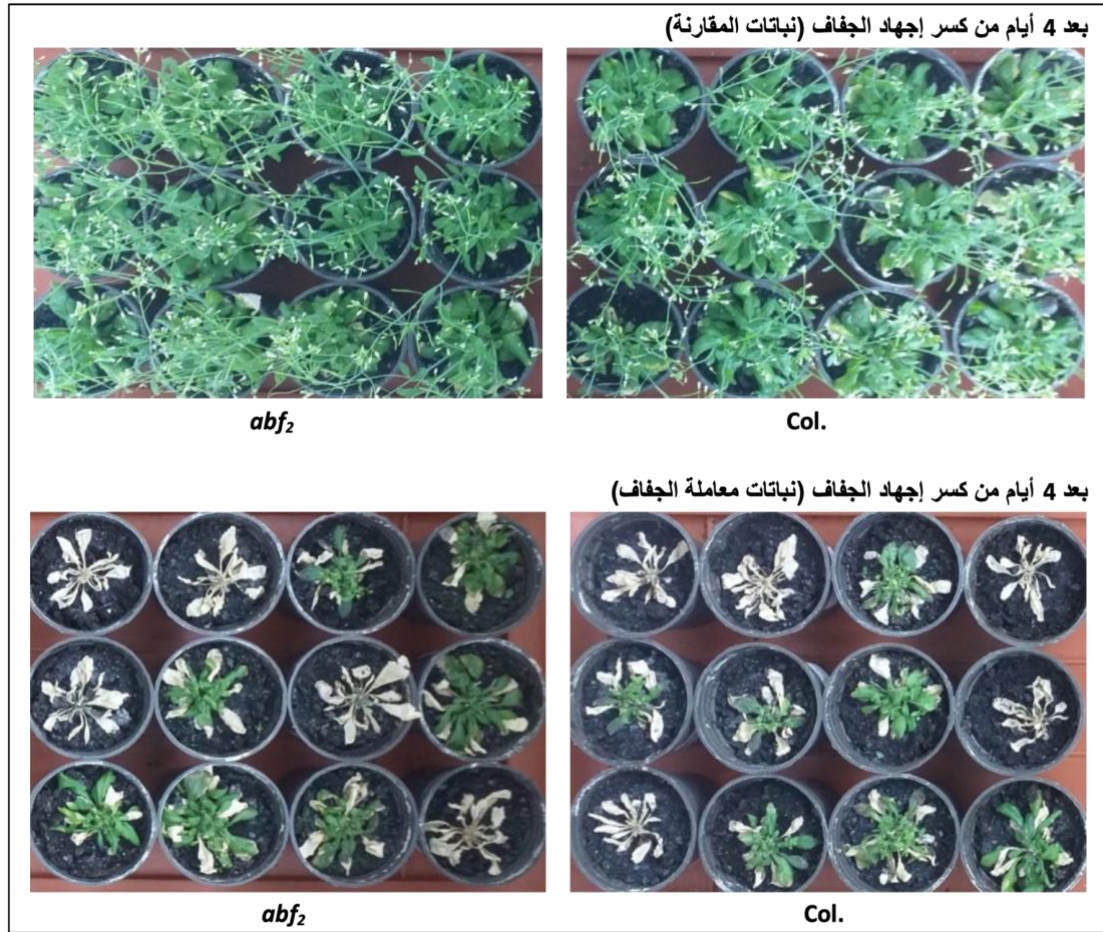
### ج. تأثير الجفاف على معدل البقاء للنباتات:

يبين الشكل (7) عدم وجود فروق معنوية بين نباتات كولومبيا 0 ونباتات الطفرة في معدل البقاء بعد 3 و 4 أيام من كسر إجهاد الجفاف. ويبين شكل (8) حالة النباتات تحت ظروف التجربة مقارنة للفترة الزمنية مع نوع النمط الوراثي للنباتات المدروسة.



شكل (7) تأثير الجفاف على عدد النباتات المتبقية حية بعد 3 و 4 أيام من كسر إجهاد الجفاف. يظهر عدم وجود اختلافات معنوية بين نباتات كولومبيا 0 ونباتات الطفرة  $abf_2$  عند مستوى 5%.

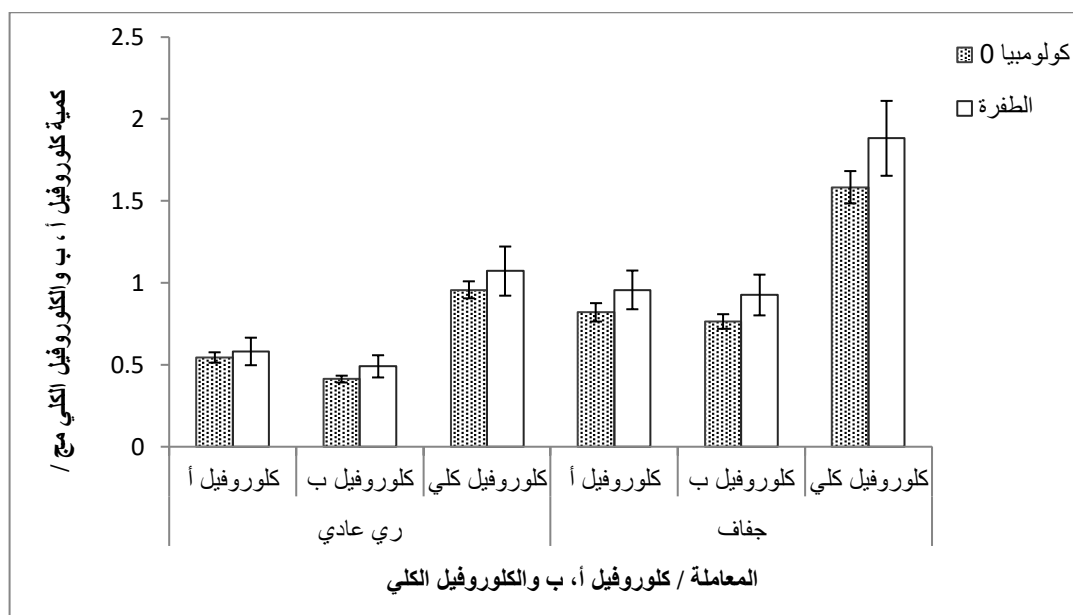




شكل (8) تأثير الجفاف على عدد النباتات المتبقية حية بعد 4 أيام من كسر إجهاد الجفاف. يظهر عدم وجود اختلافات بين نباتات كولومبيا 0 ونباتات الطفرة *abf<sub>2</sub>*

#### د. تأثير الجفاف على محتوى الأوراق من الكلوروفيل:

من خلال الشكل (9) يتبين انه لا توجد اختلافات معنوية بين نباتات كولومبيا 0 وطفرة الجين ABF2. من ناحية أخرى توجد فروقات معنوية بين أنواع الكلوروفيلات أ وب والكلوروفيل الكلي حيث ارتفع محتوى الأوراق تحت ظروف الجفاف مقارنة بالري العادي. نتائج مشابهة تم إحرازها بواسطة Hailemichael وآخرون (15) بعد تعريض نباتات العنب للجفاف. وقد يُعزى ذلك الى تسبب إجهاد الجفاف في إحداث بعض التغيرات التركيبية في الاوراق والتي أكسبت النباتات مقدرة أكبر على الاحتفاظ بالكلوروفيل وهذا ما أشار اليه بعض الباحث بالخصوص (22). أو بسبب إزالة السموم المتعلقة بالاضطرابات الفسيولوجية الناتجة عن الإجهاد المائي (16).



شكل (9) تأثير الجفاف على محتوى نباتات كولومبيا 0 والطفرة للجين ABF2 من كلوروفيل أ، كلوروفيل ب والكلوروفيل الكلي عند اليوم 0 (آخر يوم من الإقامة على الجفاف).

#### 4. المراجع:

1. Krysan PJ, Young JC, & Sussman MR (1999) T-DNA as an Insertional Mutagen in Arabidopsis. *The Plant Cell* 11(12):2283-2290.
2. Yoshida T, et al. (2015) Four Arabidopsis AREB/ABF transcription factors function predominantly in gene expression downstream of SnRK2 kinases in abscisic acid signalling in response to osmotic stress. *Plant Cell Environ* 38(1):35-49.
3. Fujita Y, et al. (2005) AREB1 is a transcription activator of novel ABRE-dependent ABA signaling that enhances drought stress tolerance in Arabidopsis. *Plant Cell* 17(12):3470-3488.
4. Jones H, et al. (2009) Thermal infrared imaging of crop canopies for remote diagnosis and quantification of plant responses to water stress in the field. *Functional Plant Biology* 36:978-989.
5. Yao J, et al. (2018) Phenotyping of Arabidopsis Drought Stress Response Using Kinetic Chlorophyll Fluorescence and Multicolor Fluorescence Imaging. *Frontiers in plant science* 9:603-603.
6. Stutsel B, Johansen K, Malbêteau YM, & McCabe MF (2021) Detecting Plant Stress Using Thermal and Optical Imagery From an Unoccupied Aerial Vehicle. *Frontiers in plant science* 12:734944.
7. Stoll M & Jones HG (2007) Thermal imaging as a viable tool for monitoring plant stress. *OENO One* 41(2):77-84.
8. Berger B, Parent B, & Tester M (2010) High-throughput shoot imaging to study drought responses. *Journal of Experimental Botany* 61(13):3519-3528.
9. Jones HG, et al. (2009) Thermal infrared imaging of crop canopies for the remote diagnosis and quantification of plant responses to water stress in the field. *Functional plant biology : FPB* 36(11):978-989.

10. Merlot S, *et al.* (2002) Use of infrared thermal imaging to isolate Arabidopsis mutants defective in stomatal regulation. *The Plant journal : for cell and molecular biology* 30(5):601-609.
11. Shahzad M, *et al.* (2016) Drought stress and morphophysiological responses in plants.), pp 452-467.
12. Bouzid M, *et al.* (2019) Arabidopsis species deploy distinct strategies to cope with drought stress. *Ann Bot* 124(1):27-40.
13. Li X, *et al.* (2018) Effects of abiotic stress on anthocyanin accumulation and grain weight in purple wheat. *Crop and Pasture Science* 69(12):1208-1214.
14. Mafakheri A, Siosemardeh A, Bahramnejad B, Struik P, & Sohrabi Y (2010) Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Australian Journal of Crop Science* 4 (2010) 8 4.
15. Hailemichael G, Catalina A, Gonzalez MR, & Martin P (2016) Relationships between water status, leaf chlorophyll content and photosynthetic performance in Tempranillo vineyards. *South African Journal of Enology and Viticulture* 37:149-156.
16. Rustioni L & Bianchi D (2021) Drought increases chlorophyll content in stems of Vitis interspecific hybrids. *Theoretical and Experimental Plant Physiology* 33(1):69-78.
17. Boyes DC, *et al.* (2001) Growth stage-based phenotypic analysis of Arabidopsis: a model for high throughput functional genomics in plants. *Plant Cell* 13(7):1499-1510.
18. TAIR (1999) The Arabidopsis Information Resuoces, <https://www.arabidopsis.org/Phoenix/Bioinformatics>.
19. Arnon DI (1949) Copper Enzymes in Isolated Chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta Vulgaris. *Plant Physiology* 24(1):1-15.
20. Porra RJ, Thompson WA, & Kriedemann PE (1989) Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 975(3):384-394.
21. Ozrecberoglu N & Kahramanoglu I (2020) Mathematical models for the estimation of leaf chlorophyll content based on RGB colours of contact imaging with smartphones: A pomegranate example. *Folia Horticulturae* 32.
22. Ruiz Carrasco K, Fornasiero R, Tassoni A, & Bagni N (2007) Identification of two phenotypes of Arabidopsis thaliana under in vitro salt stress conditions. *Biologia Plantarum* 51:436-442.