



The effect of 24-Epibrassinolide foliar application on the enzymatic and non-enzymatic defense system and yield of pinto beans (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Pinto) under Low irrigation stress

Sulmaz Samfar¹, Hojatolah Latifmanesh^{2*} , Ali Moradi³, Amin Mirshekari⁴, Hamid Alahdadi⁵

- 1- M.Sc. Student in Agrotechnology-Crop Physiology, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran.
- 2- Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran.
- 3- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran.
- 4- Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran.
- 5- M.Sc. Graduate in Agrotechnology-Crop Physiology, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran.

Citation: Samfar, S., Latifmanesh, H., Moradi, A., Mirshekari, A., Alahdadi, H. (2025). The effect of 24-Epibrassinolide foliar application on enzymatic and non-enzymatic defense system and yield of pinto beans (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Pinto) under low irrigation stress. *Plant Productions*, 47(4),543-560.

Abstract

Introduction

Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) are among the most valuable and strategic legumes globally and in Iran, primarily due to their high protein content and nutritional benefits. Growing global demand for protein-rich foods highlights the importance of enhancing bean production. However, water scarcity, exacerbated by Iran's location along the global desert belt and receiving less than one-third of the global average rainfall, poses significant challenges to sustainable agriculture and food security. Brassinosteroids, a class of plant growth regulators, have emerged as a promising solution to mitigate environmental stresses like drought while improving crop growth and yield. This study aims to evaluate the effects of foliar application of 24-epibrassinolide hormone on various physiological traits, enzymatic and non-enzymatic defense mechanisms, and gain yield of pinto beans under low irrigation stress.

* **Corresponding Author:** Hojatolah Latifmanesh
E-mail: h.latifmanesh@yu.ac.ir



Materials and Methods

A field experiment was conducted during the 2022 growing season on a farm in eastern Shiraz, using a split-plot design within a randomized complete block design with three replications. The irrigation regime was applied at three levels: full irrigation (100% of the moisture requirement) and low irrigation stress (80% and 60% of the moisture requirement), as the main factor. Four concentrations of 24-epibrassinolide, including control (distilled water), 0.05, 0.1, and 0.2 mg/L were applied as the subplot factor. The experiment aimed to assess physiological traits such as chlorophyll index, relative water content, antioxidant enzyme activity (catalase, peroxidase, and superoxide dismutase), grain yield under different irrigation and hormone treatments.

Results and Discussion

The results revealed that both low irrigation stress and 24-epibrassinolide application significantly influenced all measured traits. Foliar application of 0.2 mg/L 24-epibrassinolide increased the chlorophyll index and leaf relative water content by 7.42% and 11.77%, respectively, compared to the control. Significant interactions between irrigation regimes and hormone concentrations were observed. At 60% and 80% moisture levels, the 0.2 mg/L hormone treatment increased antioxidant enzyme activities as follows (compared to the control): catalase (172% (60%) and 131% (80%)), peroxidase (105% (60%) and 115% (80%)), and superoxide dismutase (0.35% (60%) and 0.45% (80%)). Similarly, seed yield improved significantly with 24-epibrassinolide application. Under 100%, 80%, and 60% irrigation levels, 0.2 mg/L application resulted in yield increases of 72.38%, 56.02%, and 44.35%, respectively, compared to the control.

Conclusion

The application of 24-epibrassinolide at a concentration of 0.2 mg/L effectively enhances the antioxidant defense system, reduces reactive oxygen species, prevents cell wall damage, and minimizes macromolecule degradation in pinto beans. These effects contribute to improved grain yield, under both full and low irrigation conditions. This approach offers a promising solution for mitigating water stress and promoting sustainable bean production in arid and semi-arid regions.

Keywords: 24-epibrassinolide, Antioxidant enzymes, Beans, Grain yield



تأثیر محلول پاشی ۲۴-اپی براسینولید بر سامانه دفاع آنزیمی و غیر آنزیمی و عملکرد دانه لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Pinto) تحت تنش کم آبیاری

سولماز سامفر^۱، حجت‌اله لطیف‌منش^{۲*}، علی مرادی^۳، امین میرشکاری^۴، حمید اله دادی^۵

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد آگروتکنولوژی-فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران
- ۲- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران
- ۳- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران
- ۴- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران
- ۵- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد آگروتکنولوژی-فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

چکیده

لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) به دلیل محتوای پروتئینی بالا، یکی از حبوبات باارزش است. بحران کمبود آب و خسارات اقتصادی ناشی از آن، به چالشی جدی برای تأمین نیازهای غذایی جهانی تبدیل شده است. براسینواستروئیدها به عنوان تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، می‌توانند با بهبود فعالیت‌های فیزیولوژیکی، مقاومت گیاهان را در برابر تنش‌های محیطی افزایش دهند. به منظور بررسی اثر ۲۴-اپی براسینولید بر پارامترهای فیزیولوژیکی و عملکرد دانه در لوبیا چیتی تحت شرایط کم آبی، پژوهشی در سال زراعی ۱۴۰۱ به صورت کرت‌های یکبار خردشده و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در شرق شیراز انجام شد. در این تحقیق، رژیم آبیاری در سه سطح: آبیاری کامل (۱۰۰ درصد نیاز رطوبتی) و تنش کم آبی در سطوح ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز رطوبتی به عنوان عامل اصلی و چهار غلظت ۲۴-اپی براسینولید (شامل شاهد با آب مقطر، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر) به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که تنش کم آبی و محلول پاشی ۲۴-اپی براسینولید تأثیر معنی‌داری بر تمامی صفات داشتند. کاربرد ۲۴-اپی براسینولید با غلظت ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر موجب افزایش شاخص کلروفیل و محتوای نسبی آب برگ‌ها به ترتیب به میزان ۷/۴۲ درصد و ۱۱/۷۷ درصد نسبت به تیمار شاهد (بدون کاربرد هورمون) شد. با معنی‌داری برهمکنش رژیم آبیاری و محلول‌پاشی هورمون، در سطوح ۶۰ و ۸۰ درصد نیاز آبی، کاربرد ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر ۲۴-اپی براسینولید آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز را در مقایسه با تیمار شاهد به ترتیب ۱۷۲، ۱۰۵، ۰/۳۵ و ۱۱۵ و ۰/۴۵ درصد افزایش داد. در همین راستا کاربرد بالاترین سطح هورمون در سطوح ۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی به ترتیب موجب افزایش ۷۲/۳۸، ۵۶/۰۲ و ۴۴/۳۵ درصدی

* نویسنده مسئول: حجت‌اله لطیف‌منش

سامفر و همکاران: تاثیر محلول پاشی ۲۴-پی براسینولید بر...

عملکرد دانه در مقایسه با تیمار شاهد شد. بنابراین کاربرد ۲۴-پی براسینولید (به میزان ۰/۲ میلی گرم بر لیتر) به جهت کاهش رادیکال‌های آزاد اکسیژن و جلوگیری از آسیب دیواره سلولی و تخریب درشت مولکول‌ها، به عنوان راهکاری برای افزایش عملکرد دانه لوبیا تحت شرایط آبیاری کامل و تنش کم آبیاری (۶۰ و ۸۰ درصد نیاز آبی) پیشنهاد می‌شود.

کلید واژه ها: ۲۴-پی براسینولید، آنتی اکسیدان‌های آنزیمی، لوبیا، عملکرد دانه

مقدمه

با توجه به اهمیت حضور منابع پروتئینی در رژیم غذایی و تلاش پژوهشگران در جهت تامین این منابع و ادغام آن با دیگر منابع غذایی، توجه ویژه‌ای به حبوبات به عنوان یکی از مهم‌ترین منابع غنی از پروتئین (۱۸ تا ۳۲ درصد) شده است (Zendedel_Sabet et al., 2018). لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) به علت وجود محتوای پروتئینی، فیبری و همچنین مواد کانی بالا، به عنوان یک غذای کامل معرفی شده است (Salehi et al., 2013).

تنش خشکی مهم‌ترین تنش غیرزنده است که موجب تغییرات عمده‌ای در ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاهان می‌شود. اعمال تنش خشکی با کاهش خصوصیات زراعی چون عملکرد دانه، عملکرد زیست‌توده و شاخص برداشت در لوبیا بوده است (Muñoz-Perea et al., 2006). همچنین تنش خشکی در مرحله گلدهی لوبیا چیتی باعث افت معنی‌دار وزن خشک و همین‌طور عملکرد دانه شده است (Zadehbagheri et al., 2012). موضوع بسیار حائز اهمیتی که در زمان شکل‌گیری عملکرد دانه باید مورد توجه قرار گیرد، فرآیند توزیع مواد فتوسنتزی به خصوص در هنگام بروز تنش خشکی می‌باشد. در این رابطه گزارش شده است که رابطه مستقیمی بین تجمع ماده خشک تولیدی و مقدار عملکرد دانه در هنگام وقوع تنش خشکی مشاهده شده است (Shenkut & Brick, 2003). در مطالعه‌ای گزارش شد که وقوع تنش خشکی در لوبیا موجب کاهش محتوای کلروفیل کل و سرعت فتوسنتز شد (Armand et al., 2016). از جمله عواملی که در زمان بروز تنش‌های محیطی، رشد و توانایی فتوسنتزی را کاهش می‌دهد، اختلال در تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و سازوکار دفاعی برطرف کننده این رادیکال‌ها است که به

تجمع گونه‌های فعال اکسیژن، القای تنش اکسیداتیو، آسیب دیدگی پروتئین‌ها، لیپیدهای غشا و دیگر اجزای سلولی منجر می‌شود (Mittler, 2002). در این رابطه عنوان شده است که تحمل گیاه به تنش خشکی با افزایش محتوای آنتی‌اکسیدان‌ها همبستگی مثبت و معنی‌داری دارد (Malik et al., 2010).

دسته‌ای از هورمون‌های استروئیدی را براسینواستروئیدها تشکیل می‌دهند که حضور موثری در بسیاری از رخداد‌های نمو گیاهان دارند و به واسطه تغییرات متابولیسمی و حفاظت از گیاه در زمان ظهور تنش‌های غیرزنده، می‌توانند بهبود عملکرد گیاهان زراعی را به دنبال داشته باشند (Talaat & Shawky, 2016). با این وجود اطلاعات گسترده‌ای بر چگونگی سازوکار براسینواستروئیدها در افزایش میزان تحمل به تنش‌ها وجود ندارد. یافته‌های کنونی حاکی از آن است که براسینواستروئیدها از طریق ایجاد توالی پیچیده‌ای از واکنش‌های بیوشیمیایی مثل فعال یا غیرفعال‌سازی واکنش‌های آنزیمی کلیدی، القای ساخت پروتئین‌ها و تولید ترکیبات شیمیایی دفاعی مختلف، سازوکار پاسخ به تنش را تنظیم می‌کنند (Bajguz & Hayat, 2009). گزارشات پژوهشگران نشان داده‌اند که کاربرد این هورمون‌ها با افزایش تحمل گیاه به تنش همراه بوده و عامل سازگاری مثبت تحت شرایط نامساعد محیطی شده است. در این راستا گزارش شده است کاربرد خارجی براسینواستروئیدها به دلیل افزایش محتوای نسبی آب برگ‌ها، محتوای پرولین، محتوای پروتئین‌های محلول و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پیامدهای منفی ناشی از تنش خشکی را در ذرت (*zea mays* L.) کاهش داد (Anjum et al., 2011) و موجب افزایش مقاومت به خشکی در برنج (*Oryza sativa* L.) شده است (Farooq

ابعاد ۲×۳ متر شد و هر کرت شامل ۵ ردیف به فاصله ۵۰ سانتی متر و فاصله‌ی هر بوته روی ردیف ۵ سانتی متر (۴۰ بوته در متر مربع) در نظر گرفته شد. فاصله بین بلوک‌ها و کرت‌های اصلی ۱/۵ متر و فاصله کرت‌های فرعی در هر بلوک ۰/۵ متر بود. با توجه به آزمون خاک، کود سوپرفسفات تریپل به میزان ۷۵ کیلوگرم در هکتار و کود نیتروژن (از منبع اوره) به میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار در دو مرحله، در زمان کاشت و مرحله شروع گلدهی مورد استفاده قرار گرفت.

ابتدا بذرهای لویا چیتی رقم تلاش با هیپوکلریت سدیم پنج درصد به مدت یک دقیقه ضدعفونی شدند و سپس روی ردیف‌های کاشت در عمق ۴-۳ سانتی متری با دست کشت شد. اولین آبیاری پس از کاشت انجام شد. محلول پاشی ۲۴-پی براسینولید (تهیه شده از شرکت شیمی دانش آزماي تهران) در دو مرحله رشد رویشی (۲۱ روز پس از کاشت) و رشد زایشی (۴۵ روز پس از کاشت، معادل BBCH 60) با غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ میلی گرم بر لیتر (Ghasemi et al., 2021) برای کرت‌های مربوطه انجام شد. به منظور جذب بهتر، از ماده توپین ۲۰ به عنوان سورفکتانت جهت بهتر خیس نمودن برگ‌ها استفاده گردید. در این آزمایش، جهت کنترل علف‌های هرز و جین دستی انجام گرفت. زمانی که گیاهان به مرحله‌ی ۴ تا ۶ برگي (۳۰ روز پس از کاشت) رسیدند، تیمارهای تنش به اجرا درآمدند. نمونه‌گیری برای اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک با رعایت اثر حاشیه‌ای از برگ‌های جوان و توسعه‌یافته گیاهان ردیف‌های میانی در هر بلوک در مرحله اواسط گلدهی (۶۰ روز پس از کاشت) انجام شد.

اندازه‌گیری شاخص کلروفیل با دستگاه کلروفیل متر

میزان سبزی‌نگی برگ که معیاری از کلروفیل کل برگ می‌باشد، در صبح زود از برگ‌های جوان و بالایی گیاه به کمک دستگاه SPAD-502 ساخت شرکت مینولتا کشور ژاپن برآورد شد. دستگاه کلروفیل متر میزان سبزی‌نگی را بر

(Merr et al., 2009). به علاوه در سویا (*Glycine max* (L.)) باعث افزایش محتوای غلظت پرولین، قندهای محلول کل و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز و کاهش غلظت بیومارکر مالون دی‌آلدهید و هدایت الکتریکی شد (Zhang et al., 2008). علی‌رغم مطالعات انجام شده، همچنان فرآیند اثرگذاری هورمون‌های براسینواستروئید در تنش خشکی ناشناخته است و نیازمند بررسی‌های عمیق‌تر در گیاهان زراعی است. لذا با در نظر گرفتن واکنش ارقام مختلف گیاهان به شرایط آب و هوایی متفاوت، این پژوهش با هدف ارزیابی محلول پاشی ۲۴-پی براسینولید بر برخی صفات فیزیولوژیک لویا چیتی رقم تلاش، در مزرعه‌ای واقع در شرق شیراز و تحت شرایط کم‌آبایی برای بررسی امکان افزایش عملکرد دانه با کاربرد این هورمون انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۴۰۱ به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه‌ای واقع در شرق استان فارس، با طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۳۳ دقیقه‌ی شرقی، عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۳۸ دقیقه‌ی شمالی و ارتفاع ۱۸۷۰ متری از سطح دریا اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل آبیاری، در سه سطح (بدون تنش (۱۰۰ درصد نیاز آبی)، تنش متوسط (۸۰ درصد نیاز آبی) و تنش شدید (۶۰ درصد نیاز آبی) با توجه به تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A) و محلول پاشی هورمون ۲۴-پی براسینولید در چهار سطح (شاهد (صفر)، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ میلی گرم بر لیتر) بود. بذر مورد استفاده در آزمایش، لویا چیتی (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Pinto) رقم تلاش بود.

قبل از اجرای آزمایش از عمق صفر تا ۳۰ سانتی متری خاک نمونه برداری برای تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک انجام شد (جدول ۱). با مناسب شدن شرایط اقلیمی عملیات آماده‌سازی بستر خاک به روش دستی صورت گرفت. پس از تسطیح زمین اقدام به کرت‌بندی با

پرویلین محاسبه گردید (Paquin and Lechasseur, 1979).

اندازه گیری محتوای قندهای محلول برگ

به عصاره الکلی برگ‌های جوان و توسعه یافته آنترون تازه تهیه شده اضافه گردید. سپس بعد از قرار گرفتن در بن ماری به نمونه‌ها به منظور خنک شدن استراحت داده شد. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید و غلظت قند محلول برگ بر اساس جذب استانداردهای گلوکز محاسبه گردید (Irigoyen et al., 1992).

سنجش فعالیت کاتالاز

محلول واکنش حاوی ۰/۵ میلی لیتر H_2O_2 ۱۰ میلی مولار، ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی مولار با $pH=6/8$ و ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی بود. با شروع تجزیه H_2O_2 در محیط، واکنش آغاز شد و میزان کاهش جذب در طول زمان در طول موج ۲۴۰ نانومتر و توسط اسپکتروفتومتر قرائت شد (Aebi, 1984).

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز

به ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره آنزیمی، ۲ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۶۰ میلی مولار با اسیدیته ۶/۱، ۰/۵ میلی لیتر گایاکول ۲۸ میلی مولار (به عنوان معرف) و ۰/۵ میلی لیتر H_2O_2 ۵ میلی مولار اضافه شد و جذب محلول در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید. واکنش در کووت آغاز و جذب بلافاصله در دمای ۲۵ درجه انجام سانتی گراد و به مدت یک دقیقه گرفت (MacAdam et al., 1992).

سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز

مخلوط واکنش شامل، ۳ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با $pH=7/5$ حاوی NaEDTA ۰/۱ میلی مولار، متیونین ۱۳ میلی مولار، نیتروبلوتترازولیوم ۷۵ میکرومولار، ریوفلاوین ۴ میکرومولار و ۵۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی به مدت ۱۵ دقیقه در شدت نور تقریباً ۸۰۰۰ لوکس قرار گرفت و پس از این مدت جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Beauchamp and Fridovich, 1971).

اساس میزان جذب و انتقال نور مادون قرمز برآورد می کند (Van Kooten and Snel, 1990).

اندازه گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC)

به منظور اندازه گیری محتوای نسبی آب برگ، قطعاتی تقریباً هم اندازه نمونه تازه برگ‌های جوان و توسعه یافته توزین گردید. سپس وزن آماس نمونه‌ها پس از قرار گرفتن در ظرف حوی آب مقطر در تاریکی به مدت ۲۴ ساعت و وزن خشک آن بعد از قرار گرفتن در آون (۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد) اندازه گرفته شد. در نهایت مقدار محتوای نسبی آب برگ‌ها بر اساس رابطه ۱ محاسبه شد (Mishra and Choudhuri, 1999).

$$RWC (\%) = \frac{(FW - DW)}{(TW - DW)} \times 100 \quad (1)$$

در این رابطه RWC = محتوای نسبی آب (درصد)، FW = وزن تر، DW = وزن خشک و TW = وزن آماس.

اندازه گیری محتوای مالون دی آلدئید برگ

نمونه برگ‌های جوان و توسعه یافته در TCA (تری کلرواستیک اسید) عصاره گیری و پس از سانتریفیوژ یک میلی لیتر از سوسپانسیون جدا شده و به آن TBA (تیوباربیئوریک اسید)، محلول در TCA ۲۰ درصد اضافه گشت. محلول سنجش را ۳۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد و بعد از آن ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد. میزان مالون دی آلدئید بر اساس جذب ماده رویی در طول ۵۳۲ نانومتر و ۶۰۰ نانومتر محاسبه شد (Heath and Packer, 1968).

اندازه گیری محتوای پرویلین برگ

به عصاره الکلی برگ‌های جوان و توسعه یافته، آب دوبار تقطیر، نین هیدرین و اسید استیک گلاسیال اضافه و سپس نمونه‌ها داخل حمام آب جوش قرار داده شد. در مرحله بعد نمونه‌ها در دمای محیط خنک گردیدند. بعد از آن به هر نمونه بنزن اضافه شد تا پرویلین وارد فاز بنزن شود. سپس بعد از استراحت میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت گردید. سپس بر اساس استاندارد ساخته شده با L-Proline غلظت

صفت در سطح ۰/۲ میلی گرم بر لیتر ۲۴-اپی براسینولید مشاهده شد که دارای اختلاف ۷/۴۲ درصدی نسبت به شاهد (محلول پاشی با آب مقطر) بود. کمترین میزان شاخص کلروفیل نیز در تیمار شاهد مشاهده شد، گرچه به همراه کاربرد ۰/۰۵ میلی گرم بر لیتر ۲۴-اپی براسینولید در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۳). بنابراین استفاده از هورمون ۲۴-اپی براسینولید در این آزمایش تحت شرایط کم آبی موجب افزایش شاخص کلروفیل نسبت به تیمار آبیاری نرمال شد. نتایج پژوهشگران در عدس (*Lens culinaris Medik*) (Ali, 2021) و ماش (*Vigna radiata L.*) (Choudhury, 2022) نشان می‌دهد که براسینولید با افزایش فعالیت آنزیم‌های مربوط به بیوسنتز کلروفیل و کاهش تجزیه آن، می‌تواند به گیاهان کمک کند تا در شرایط تنش خشکی با بهبود محتوای کلروفیل، کارایی فتوسنتز را افزایش دهند. تاثیر مثبت کاربرد براسینولید مطابق با یافته‌های این تحقیق در شرایط تنش کم آبیاری در مطالعات دیگری بر گندم (*Triticum aestivum L.*) (Talaat and Shawky, 2016) و توت فرنگی (*Fragaria × ananassa cv. Sabrosa*) (Asghari and Zahedipour, 2016) نیز اشاره شده است.

محتوای نسبی آب برگ (RWC)

اثر اصلی تنش کم آبیاری در سطح احتمال یک درصد و اثر محلول پاشی ۲۴-اپی براسینولید در سطح احتمال پنج درصد بر محتوای نسبی آب برگ معنی دار بود، اما برهم کنش تنش کم آبیاری × محلول پاشی ۲۴-اپی براسینولید تاثیر معنی داری نداشت (جدول ۲). تنش کم آبیاری در ۶۰ درصد نیاز آبی باعث کاهش ۱۵/۴۸ درصدی محتوای نسبی آب شد (جدول ۳). برهم خوردن تعادل بین میزان آب قابل دسترس و مقدار رطوبت مورد نیاز دلیل اصلی کاهش محتوای نسبی آب برگ تحت شرایط تنش است. به این معنی که در شرایط تنش خشکی، ریشه‌ها نمی‌توانند آب از دست رفته در طی تعرق را برآورد کنند و به همین علت محتوای پتانسیل آب برگ و محتوای نسبی

در زمان رسیدگی فیزیولوژیک (میزان رطوبت دانه بین ۶۵-۷۵ درصد) برای برداشت نهایی، دو مترمربع به صورت کف بر وسط کرت‌ها با رعایت حاشیه از ابتدا و انتهای هر ردیف برداشت شد. سپس با محاسبه اجزای عملکرد (شامل تعداد دانه در غلاف، تعداد غلاف در بوته و وزن هزار دانه)، عملکرد دانه محاسبه گردید. آنالیز و محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزارهای SAS 9.4 انجام گرفت. مقایسه میانگین اثرات اصلی به روش LSD در سطح ۵ درصد و در صورت معنی دار بودن برهم کنش، برش دهی انجام و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از رویه L.S.Means به دست آمدند.

نتایج و بحث

شاخص کلروفیل

اثرات اصلی تنش کم آبیاری و محلول پاشی ۲۴-اپی براسینولید در سطح احتمال خطای یک درصد بر شاخص کلروفیل معنی دار بود، اما برهم کنش دوگانه تنش کم آبیاری × محلول پاشی ۲۴-اپی براسینولید معنی دار نشد (جدول ۲). اعمال تنش کم آبیاری در سطح ۶۰ درصد نیاز آبی موجب کاهش ۱۷/۳۱ درصدی شاخص کلروفیل شد (جدول ۳). تحت تنش شدید به دلیل بسته شدن روزنه‌ها و افزایش خسارت وارده بر غشای سلولی و همچنین به واسطه کاهش سطح برگ، توانایی فتوسنتزی برگ کاهش یافت. در واقع کاهش شاخص کلروفیل در مواجهه با وضعیت کم آبی، می‌تواند به جهت آسیب وارد شده بر غشای تیلاکوئیدهای اندامک کلروپلاست و همین‌طور اکسیداسیون نوری رنگدانه کلروفیل به دنبال افزایش حضور گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز باشد (Alonso et al., 2001). کاهش محتوای کلروفیل در لوبیا (Armand et al., 2016)، نخود (*Cicer arietinum L.*) (Hosseinzadeh et al., 2016) و سویا (Zhang et al., 2008) تحت شرایط کم آبی در مطالعات پیشین گزارش شده است.

نتایج نشان داده است که کاربرد ۲۴-اپی براسینولید موجب افزایش شاخص کلروفیل شد و بیشترین میزان این

(L., 2012) (Hayat et al.) و برنج (Thussagunpanit et al., 2015) مطرح شده است.

محتوای پرولین برگ

اثرات اصلی تنش کم آبیاری و محلول پاشی ۲۴-اپی براسینولید در سطح احتمال یک درصد و برهم کنش تنش کم آبیاری \times محلول پاشی ۲۴-اپی براسینولید در سطح پنج درصد بر محتوای پرولین برگ معنی دار بود (جدول ۲). تنش ۶۰ درصد نیاز آبی به نسبت تیمار آبیاری معمول باعث افزایش ۴۱/۹۴ درصدی محتوای پرولین گردید (جدول ۴).

افزایش غلظت میزان اسمولیت های سازگار همچون پرولین، سازوکاری محافظتی در برابر تنش خشکی است که حضور موثری در تنظیم اسمزی و بهبود تحمل گیاه به تنش خواهد داشت. در زمان وقوع تنش خشکی، گلوتامین که پیش ماده بیوستز کلروفیل و پرولین است، به مقدار بیشتری در مسیر ساخت پرولین مورد استفاده قرار می گیرد. افزایش محتوای پرولین طی شرایط تنش، از طریق حفاظت از غشای یاخته ای موجب حفظ آنزیم های سیتوپلاسمی و درشت مولکول هایی چون پروتئین ها می شود، همین طور کاهش معنی دار گونه های فعال اکسیژن را سبب می گردد (Liang et al., 2013). مقدار محتوای غلظت پرولین در نخود (Najaphy et al., 2010) و باقلا (*Vicia faba* L.) (Siddiqui et al., 2015) و عدس (Allahmoradi et al., 2013) نیز تحت شرایط تنش خشکی افزایش یافت. به طور کلی حضور بیشتر پرولین در گیاهان به عنوان شاخصی از مقاومت به خشکی بیان شده است (Niknam et al., 2006).

در این آزمایش، استفاده از ۲۴-اپی براسینولید به صورت محلول پاشی، موجب افزایش محتوای پرولین شد. بیشترین میزان این صفت تحت سطوح ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی به واسطه کاربرد ۰/۲ میلی گرم بر لیتر ۲۴-اپی براسینولید مشاهده شد که به ترتیب موجب افزایش ۷۸/۰۶ و ۱۵۲ درصدی پرولین برگ در مقایسه

آب برگ کاهش می یابد. مطابق با این نتایج کمبود محتوای آب نسبی در لوبیا (Lizana et al., 2006) و عدس (Salehpour et al., 2009) تحت تنش خشکی نیز گزارش شده است.

اعمال محلول پاشی ۲۴-اپی براسینولید موجب افزایش محتوای نسبی آب برگ در مقایسه با تیمار شاهد شد (جدول ۳). بیشترین محتوای رطوبت نسبی آب برگ در تیمار ۰/۲ میلی گرم بر لیتر ۲۴-اپی براسینولید به دست آمد که به میزان ۱۱/۷۷ درصد این صفت را نسبت به شاهد افزایش داد (جدول ۳). از آنجا که محتوای نسبی آب برگ با جذب آب توسط ریشه ها و همچنین با اتلاف آب در اثر تعرق مرتبط است، لذا افزایش محتوای نسبی آب برگ توسط اعمال ۲۴-اپی براسینولید ممکن است مربوط به کاهش تلفات آب گیاهچه ها در اثر تعرق (Li et al., 2008) و همچنین، در نتیجه تنظیم اسمزی و افزایش جذب آب از خاک (Talaat and Shawky, 2016) باشد. علاوه بر این بیان شده است که براسینولیدها می توانند از طریق تنظیم بیان ژن های مربوط به آکواپورین ها، میزان تولید و فعالیت این پروتئین های غشایی را تحت شرایط تنش کم آبی افزایش دهند. در نتیجه گیاه قادر است که آب را به طور موثری از خاک جذب کرده و موجب افزایش نگهداشت بیشتر آب در سطح سلولی گردد (Ahmed et al., 2021). بیان شده است که بروز تنش خشکی در ذرت با کاربرد خارجی براسینولید با افزایش محتوای نسبی آب برگ در هر دو حالت تنش و عدم تنش مواجه بوده است (Anjum et al., 2011). همچنین اعمال تنش شدید آبی (۳۵٪ ظرفیت نگهداری آب مزرعه)، بیشترین محتوای نسبی آب برگ در گیاهچه های *pseudoacacia Robinia* را با اعمال ۰/۲ میلی گرم بر لیتر براسینولید به دنبال داشت (Li et al., 2008). تاثیر مثبت و معنی دار کاربرد براسینولید بر افزایش محتوای نسبی آب برگ در لوبیا (Rady, 2011)، گوجه فرنگی (*olanum lycopersicum*)

شده است. بنابراین هنگامی که پتانسیل آب برگ کاهش یافته است، تجمع قندها احتمال دارد در تنظیم اسمزی نقش اصلی را ایفا کنند. تجمع قندهای احیا می‌تواند به‌عنوان محافظت‌کننده اسمزی در شرایط تنش، جایگزین آب شده و برای نگهداری فسفولیپیدهای غشا و جلوگیری از تغییرپذیری ساختاری پروتئین‌ها و حفظ فتوسنتز در لوبیا نقش داشته باشد. افزایش این اسمولیت در تنش خشکی مطابق با نتایج حاضر در لوبیا گزارش شده است (Petroopoulos *et al.*, 2020).

تحت کاربرد محلول‌پاشی ۲۴-پی‌براسینولید، بیشترین مقدار قندهای محلول از تیمار ۶۰ درصد نیاز آبی و کاربرد ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر ۲۴-پی‌براسینولید به میزان ۱۰۱/۴۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ حاصل شد و کم‌ترین مقدار نیز تحت تیمار آبیاری معمول و عدم کاربرد ۲۴-پی‌براسینولید به میزان ۴۲/۵۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ به‌دست آمد (جدول ۴). گزارش شده است تحت شرایط تنش کم‌آبی در گیاهان تیمار شده با ۲۴-پی‌براسینولید، با افزایش در میزان قندها، آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش کم‌آبی کاهش یافته است (Khrupach *et al.*, 1998). در این تحقیق نیز ۲۴-پی‌براسینولید باعث تغییر میزان قندها شده است، و تأثیر معنی‌داری در محتوای قندهای محلول در سطوح تنش اعمال‌شده داشته است. قندهای محلول به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های اسمزی، ثبات‌دهنده غشاهای یاخته‌ای و حفظ‌کننده آماس یاخته‌ها عمل می‌کنند. به عبارت دیگر، در گیاهانی که قندهای محلول در پاسخ به تنش خشکی تجمع می‌یابند، تنظیم اسمزی بهتر صورت می‌گیرد.

با تیمار شاهد آبیاری مطلوب شد (جدول ۴). اثرگذاری مثبت ۲۴-پی‌براسینولید بر افزایش محتوای پرولین می‌تواند ناشی از بیان ژن‌های مسئول در مسیر ساخت پرولین باشد (Talaat and Shawky, 2013). از آنجا که هورمون‌های براسینواستروئید می‌توانند منجر به افزایش ساخت نوکلئیک اسیدها در بافت‌های گیاهان شوند (Bajguz, 2000)، بنابراین ممکن است که افزایش پرولین ناشی از کاربرد ۲۴-پی‌براسینولید در این پژوهش به‌علت افزایش ساخت نوکلئیک اسیدها و تبدیل آن‌ها به اسید آمینه‌های پرولین باشد. نتیجه مطالعات نشان داده است براسینواستروئیدها با افزایش فعالیت پرولین-۵- کربوکسیلات سینتتاز (P5CS) و ارنیتین-۸- آمینوترانسفراز (OAT) و جلوگیری از فعالیت پرولین دهیدروژناز (PDH) موجب افزایش مقدار پرولین می‌شوند (Liu *et al.*, 2016). در لوبیا (Rady, 2011) و ذرت (Agami, 2013) نیز به‌دنبال کاربرد براسینولید، محتوای پرولین برگ‌ها افزایش یافت.

محتوای قندهای محلول کل

اثر تنش کم‌آبیاری، محلول‌پاشی ۲۴-پی‌براسینولید و برهم‌کنش تنش کم‌آبیاری × محلول‌پاشی ۲۴-پی‌براسینولید در سطح احتمال یک درصد بر محتوای قندهای محلول معنی‌دار بود (جدول ۲). با افزایش سطوح تنش کم‌آبیاری بر محتوای قندهای محلول افزوده شد. بیشترین مقدار این صفت تحت تیمار ۶۰ درصد نیاز آبی به دست آمد که در مقایسه با تیمار آبیاری معمول با افزایش ۴۶/۴۴ درصدی همراه شده بود. (جدول ۴).

به نظر می‌رسد در برگ‌های لوبیا، تنش کم‌آبی موجب افزایش تجزیه نشاسته و تجمع قندهای محلول

سامفر و همکاران: تاثیر محلول پاشی ۲۴-اپی براسینولید بر ...

Table 1. Physical and chemical properties of the soil at the experimental site

Soil texture (%)	Organic carbon (%)	Zn (ppm)	Fe (ppm)	K (ppm)	P (ppm)	N (%)	pH
Silty loam	0.70	0.84	5.21	310	17.18	0.14	7.54

Table 2. Analysis of variance (mean squares) for physiological traits and grain yield of *Phaseolus vulgaris* L. cv. Pinto under low irrigation stress and 24-epibrassinolide treatments.

S.O.V	df	Chlorophyll Index	RWC	Proline	Soluble sugar	MDA	Catalase	Peroxidase	SOD	Grain Yield
Replication (R)	2	8.90*	2.06 ^{ns}	0.12*	15.42*	0.005 ^{ns}	4.07 ^{ns}	0.003*	0.19 ^{ns}	9433 ^{ns}
Low irrigation Stress (S)	2	485.09**	555.53**	24.73**	5643.91**	4.71**	292.85**	6.51**	110.14**	2451858**
Main plot error	4	0.94	1.78	0.029	28.87	0.04	1.88	0.07	0.40	6766
24-epibrassinolide (EPL)	3	88.64**	182.16*	4.96**	517.57**	2.92**	102.01**	2.38**	5.39**	2415429**
S × EPL	6	7.65 ^{ns}	3.69 ^{ns}	0.38*	48.04**	0.21*	24.31**	0.12*	0.58*	236165**
Subplot error	18	4.38	5.68	0.018	4.24	0.072	5.002	0.018	0.21	21370
c.v. (%)		4.99	2.96	2.69	2.90	14.54	23.83	7.78	8.71	5.87

ns, * and **: Non-significant and significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

RWC= Relative Water Content; MDA= Malone DiAldehyde; SOD= SuperOxide Dismutase

Table 3. Comparison of means for the effects of low irrigation stress and 24-epibrassinolide foliar application on chlorophyll content and relative water content (RWC) in Phaseolus vulgaris L. cv. Pinto

Treatment	Treatment levels	Chlorophyll Index	RWC (%)
Low irrigation Stress	100 % water requirement	58.69 ^a	87.44 ^a
	80 % water requirement	54.80 ^b	79.51 ^b
	60 % water requirement	48.53 ^c	73.90 ^c
24-epibrassinolide (mg.L ⁻¹)	0	51.62 ^b	75.28 ^d
	0.05	52.88 ^b	78.01 ^c
	0.1	54.64 ^a	82.53 ^b
	0.2	55.76 ^a	85.33 ^a

In each column, the averages with common characters are not significantly different at the 5% level.

RWC= Relative Water Content

مالون دی آلدئید

اثرات اصلی تنش کم آبیاری و محلول پاشی ۲۴-اپی براسینولید در سطح یک درصد و برهم کنش تنش کم آبیاری × محلول پاشی ۲۴-اپی براسینولید در سطح احتمال پنج درصد بر محتوای مالون دی آلدئید معنی دار بود (جدول ۲). بیشترین محتوای مالون دی آلدئید در سطوح رژیم آبیاری در ۶۰ درصد نیاز آبی مشاهده شد که نسبت به تیمار آبیاری کامل به میزان ۱/۰۶ برابر افزایش یافته بود. (جدول ۲). پراکسیداسیون لیپیدهای غشا علامتی از تخریب اکسیداتیو می باشد، به گونه ای که از آن به عنوان شاخصی از میزان آسیب وارد شده به غشای یاخته ای یاد می شود. طی شرایط کم آبی با افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، محتوای مالون دی آلدئید در یاخته های تحت تنش افزایش می یابد (Eraslan et al., 2007). پژوهشگران عنوان نموده اند که تحت شرایط تنش خشکی در لوبیای معمولی (Svetleva et al., 2012) و لوبیا سبز (Yasar et al., 2010) محتوای مالون دی آلدئید افزایش یافته است.

کاربرد محلول پاشی ۲۴-اپی براسینولید موجب کاهش معنی دار محتوای مالون دی آلدئید نسبت به تیمار شاهد در هر یک از سطوح رژیم آبیاری در این آزمایش شد، به گونه ای که کمترین محتوای این صفت در سطوح ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی تحت محلول پاشی ۰/۲ میلی گرم بر لیتر ۲۴-اپی براسینولید مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد سطح آبیاری مطلوب به ترتیب اختلاف ۲۲/۹۸ و ۹/۳۱ درصدی را نشان دادند (جدول

۴). در واقع حضور ۲۴-اپی براسینولید به واسطه ایجاد نقش موثر بر حفظ ساختار و پایداری غشای پلاسمایی در زمان وقوع تنش خشکی، عامل کاهش محتوای مالون دی آلدئید بوده است. براین اساس در یافته های حاضر کاهش میزان تجمع بیومارکر مالون دی آلدئید در سطوح اعمال کم آبی با افزودن تیمارهای ۲۴-اپی براسینولید، حاکی از کاهش شدت تخریب پراکسیداسیونی در طی تنش و در نتیجه حفظ سلامت غشا است. به جهت آنکه گیاهان برای جلوگیری از خسارت اکسیداتیو ناشی از گونه های فعال اکسیژن، سامانه های دفاعی آنزیمی و غیر آنزیمی را توسعه می دهند، به نظر می رسد در این پژوهش کاربرد ۲۴-اپی براسینولید با افزایش پرولین به عنوان راهبرد دفاعی غیر آنزیمی سبب کاهش تولید رادیکال های آزاد اکسیژن و در پی آن کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و در نتیجه تولید کمتر مالون دی آلدئید گردید. محققان بیان داشته اند که کاربرد براسینولید موجب کاهش محتوای مالون دی آلدئید می شود و این کاهش را به فعالیت آنزیمی و پروتئین های دفاعی در حفظ ساختار اندامک کلروپلاست، سامانه فتوسنتزی و کاهش تنش اکسیداتیو نسبت داده اند (Özdemir et al., 2004).

همچنین کاهش مالون دی آلدئید در پی اعمال براسینولید در لوبیا (Mohammadi et al., 2021)، ذرت (Rattan et al., 2020) و گندم (Shopova et al., 2021) نیز گزارش شده است.

Table 4. Comparison of means for the interaction effects of low irrigation stress and 24-epibrassinolide foliar application on certain physiological traits and grain yield in *Phaseolus vulgaris* L. cv. Pinto

Low irrigation Stress	24-epibrassinolide foliar application (mg.L ⁻¹)	Prolin (μ mol.g ⁻¹ FW)	Soluble sugar (mg.g ⁻¹ FW)	MDA (μM.g ⁻¹ FW)	Catalase (m mol.g ⁻¹ .min)	Peroxidase (Unit.mg ⁻¹ protein.min)	SOD (m mol.g ⁻¹ min)	Grain Yield (kg.ha ⁻¹)
100 % water requirement	0	3.1 ^d	42.59 ^b	1.61 ^a	3.55 ^b	0.63 ^c	1.56 ^b	2196 ^c
	0.05	3.57 ^c	45.39 ^b	1.28 ^b	3.55 ^b	0.81 ^b	1.83 ^b	2446 ^c
	0.1	4.01 ^b	49.15 ^a	0.96 ^c	4.48 ^a	1.2 ^a	2.23 ^a	3526 ^b
	0.2	4.29 ^a	49.93 ^a	0.87 ^c	4.99 ^a	1.3 ^a	2.23 ^a	3786 ^a
80 % water requirement	0	4.12 ^c	67.53 ^c	2.47 ^a	5.76 ^d	1.08 ^d	4.9 ^c	1963 ^c
	0.05	4.33 ^c	70.45 ^c	2.24 ^b	7.86 ^c	1.68 ^c	5.7 ^{bc}	2076 ^c
	0.1	4.66 ^b	81.71 ^b	1.73 ^c	12.18 ^b	2.08 ^b	6.13 ^b	2386 ^b
	0.2	5.52 ^a	89.28 ^a	1.24 ^d	13.36 ^a	2.33 ^a	7.13 ^a	3063 ^a
60 % water requirement	0	5.34 ^d	79.53 ^d	3.33 ^a	8.12 ^d	1.56 ^d	6.8 ^c	1743 ^c
	0.05	5.96 ^c	83.84 ^c	2.88 ^b	10.15 ^c	2.33 ^c	7.23 ^c	2026 ^b
	0.1	7.09 ^b	90.06 ^b	2.05 ^c	15.39 ^b	2.71 ^b	8.36 ^b	2146 ^b
	0.2	7.84 ^a	101.49 ^a	1.46 ^d	22.16 ^a	3.21 ^a	9.23 ^a	2516 ^a

Means with similar letters in each column for each irrigation stress level do not show a statistically significant difference at the 5% level. FW= Fresh Weigh; MDA= Malone DiAldehyde; SOD= SuperOxide Dismutase

افزایش فعالیت کاتالاز در پی بروز تنش کم آبیاری در این آزمایش نیز نشان دهنده کنترل موثر هیدروژن پراکسید است. در این راستا مطابق با این نتایج، مطرح شده است که آنزیم کاتالاز به واسطه پاکسازی گونه‌های اکسیژن فعال و ممانعت از تخریب غشا، باعث بقا و افزایش تحمل گیاه می‌شود (Jiang and Zhang, 2001). مطابق با یافته‌های حاضر افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گندم تحت تنش کم آبی نیز گزارش شده است (Ahmadizadeh *et al.*, 2011).

استفاده از محلول پاشی هورمون ۲۴-اپی براسینولید موجب افزایش معنی دار فعالیت کاتالاز نسبت به عدم کاربرد شد (جدول ۲). کاربرد تیمار ۰/۲ میلی گرم بر لیتر ۲۴-اپی براسینولید موجب دستیابی به بیشترین فعالیت کاتالاز در هر یک از سطوح تنش کم آبیاری شد که نسبت به تیمار شاهد (عدم محلول پاشی در سطح آبیاری

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی فعالیت آنزیم کاتالاز

تاثیر اثر اصلی تنش کم آبیاری و محلول پاشی هورمون ۲۴-اپی براسینولید و اثر متقابل تنش کم آبیاری × محلول پاشی ۲۴-اپی براسینولید در سطح احتمال یک درصد بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز معنی دار بود (جدول ۲). با افزایش سطوح کم آبی مقدار فعالیت این آنزیم افزایش یافت به گونه‌ای که بیشترین مقدار کاتالاز در سطح تیمار ۶۰ درصد نیاز آبی مشاهده شد که نسبت به آبیاری کامل ۱/۲۸ برابر افزایش یافت (جدول ۴). آنزیم کاتالاز به طور مستقیم عامل هیدرولیز هیدروژن پراکسید و تبدیل آن به مولکول‌های آب و اکسیژن می‌باشد و از این طریق موجب محافظت یاخته‌ها از تاثیر هیدروژن پراکسید می‌شود (Abogadallah, 2010).

مقادیر مضر هیدروژن پراکسید محافظت کند (Verma *et al.*, 2012). افزایش فعالیت پراکسیداز در پژوهشی بر گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.) نیز تحت تنش خشکی گزارش شده است (Habibi, 2013).

محلول پاشی هورمون ۲۴-پی‌براسینولید بر فعالیت پراکسیداز مثبت بود و بیشترین میزان این آنزیم در هر دو حالت آبیاری کامل و سطوح تنش با کاربرد ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر ۲۴-پی‌براسینولید حاصل شد. تحت کاربرد این سطح از ۲۴-پی‌براسینولید بیشترین فعالیت پراکسیداز با میانگین ۲/۳۳ و ۳/۲۱ جذب در دقیقه به میکروگرم پروتئین به ترتیب تحت تیمارهای ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی مشاهده گردید که نسبت به تیمار شاهد آبیاری مطلوب به ترتیب با افزایش ۲/۶۹ و ۴/۰۷ برابری همراه بودند (جدول ۴). مطرح شده است که پی‌براسینولید به واسطه نقش کلیدی خود بر بیان ژن و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، متابولیسم ترکیبات فنولیک و سامانه دفاعی گیاهان را تنظیم می‌کند (Ahammed *et al.*, 2013). در راستای این پژوهش، یافته‌های دیگر محققان بر خردل (*Brassica juncea* Zhang *et al.*, 2010) L.) و سویا (Arora *et al.*, 2010) نیز حاکی از افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت کاربرد براسینولید است.

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

اثر اصلی تنش کم‌آبیاری محلول پاشی ۲۴-پی‌براسینولید در سطح حتمال یک درصد و برهم‌کنش تنش کم‌آبیاری × محلول پاشی ۲۴-پی‌براسینولید در سطح احتمال پنج درصد بر محتوای فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین و کمترین مقدار این آنزیم به ترتیب در تیمارهای ۶۰ درصد نیاز رطوبتی و آبیاری معمول مشاهده شد که نسبت به یکدیگر اختلاف ۳/۳۵ برابری داشتند (جدول ۴). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در طی تنش اکسیداتیو، نخستین ماده تولید شده از احیای اکسیژن تک‌ظرفیتی،

کامل) با افزایش ۲/۷۶ و ۵/۲۴ برابری به ترتیب تحت سطوح ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی همراه بود (جدول ۴). در رابطه با اثرگذاری هورمون‌های براسینواستروئید بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان عنوان شده است که این هورمون‌ها تجمع گونه‌های فعال اکسیژن را با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌دهند و از این طریق مقاومت گیاهان به تنش خشکی را بهبود می‌بخشند (Talaat and Shawky, 2016). در واقع سازوکار این عمل به جهت نقش کلیدی این هورمون‌ها بر فرآیند رونویسی یا ترجمه ژن‌ها است (Bajguz, 2000). افزایش فعالیت کاتالاز به دنبال کاربرد پی‌براسینولید در ذرت (Bhardwaj *et al.*, 2007) و گوجه‌فرنگی (Yuan *et al.*, 2010) نیز بیان شده است.

فعالیت آنزیم پراکسیداز

اثر اصلی تنش کم‌آبیاری و محلول پاشی هورمون ۲۴-پی‌براسینولید و همچنین برهم‌کنش تنش کم‌آبیاری × محلول پاشی ۲۴-پی‌براسینولید تاثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد داشت (جدول ۲). بیشترین میزان فعالیت پراکسیداز از تیمار ۶۰ درصد نیاز آبی با میانگین ۱/۵۶ جذب در دقیقه به میکروگرم پروتئین و کمترین میزان نیز از تیمار آبیاری کامل به مقدار ۰/۶۳ مشاهده شد (جدول ۴). هیدروژن پراکسید تولید شده طی تنش اکسیداتیو توسط آنزیم پراکسیداز تجزیه و پاکسازی می‌شود (Zeid and Shedeed, 2006). در واقع این آنزیم به علت استفاده از ترکیبات فنولیک دهنده الکترون عامل هیدرولیز هیدروژن پراکسید است (Abogadallah, 2010). همچنین پراکسیداز حضور مثبتی در حذف بیومارکر مالون دی‌آلدئید دارد که باعث پراکسیداسیون غشا می‌شود، از همین رو سبب حفظ پایداری دیواره سلولی می‌باشد (Hojati *et al.*, 2011). آنزیم پراکسیداز در مسیر بیوسنتز پلیمرهای فنولیکی همچون لیگنین شرکت دارد و افزایش غلظت آن می‌تواند سلول‌ها را در برابر

یعنی رادیکال سوپراکسید را هیدرولیز کرده و به اکسیژن و هیدروژن پراکسید تبدیل می کند، در نتیجه افزایش پایداری غشای یاخته های گیاهان تحت تنش را سبب می شود. بر این اساس آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به عنوان نخستین مرحله دفاعی در برابر رادیکال های آزاد اکسیژن شناخته می شود (Sharma et al., 2012). همسو با این نتایج افزایش سطوح تنش خشکی با افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در گندم همراه بوده است (Amjad Hameed et al., 2011).

در این تحقیق، کاربرد محلول پاشی ۲۴-اپی براسینولید موجب افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز شد. بیشترین میزان این صفت تحت تیمار ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی به واسطه کاربرد ۰/۲ میلی گرم بر لیتر ۲۴-اپی براسینولید مشاهده شد که به ترتیب موجب افزایش ۳/۵۷ و ۴/۹۱ برابری فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در مقایسه با عدم کاربرد ۲۴-اپی براسینولید (در سطح آبیاری کامل) شد (جدول ۴). مطالعات نشان داده است که براسینولیدها از طریق تولید مولکول های میانجی گر نظیر نیتریک اکسید و تاثیر بر بیوسنتز آبسزیک اسید و افزایش سطح درونی این هورمون می توانند سبب القاء فعالیت های آنتی اکسیدانی شود (Zhang et al., 2010). افزایش محتوای فعالیت سوپراکسید دیسموتاز با کاربرد براسینولید در سویا (Zhang et al., 2008) عنوان شده است.

عملکرد دانه

اثر اصلی تنش کم آبیاری و محلول پاشی ۲۴-اپی براسینولید و برهم کنش تنش کم آبیاری × محلول پاشی ۲۴-اپی براسینولید در سطح احتمال یک درصد بر عملکرد دانه معنی دار بود (جدول ۲). اعمال تنش در ۶۰ درصد نیاز رطوبتی موجب کاهش ۲۰/۶۳ درصدی عملکرد دانه نسبت به تیمار آبیاری کامل شد (جدول ۴). اعمال تنش رطوبتی به دلیل تاثیر خسارات وارده بر ساختار یاخته ای و کاهش تحمل گیاه در برابر حضور رادیکال های آزاد اکسیژن، افزایش نشت یونی، کاهش محتوای نسبی آب برگ ها و در نتیجه کاهش تولید مواد فتوسنتزی، منجر به افت عملکرد

دانه شده است. عنوان شده است که تحت شرایط تنش خشکی، به جهت کاهش توان فتوسنتزی گیاه، عملکرد دانه و زیست توده کاهش یافته است (Medrano et al., 2002). همسو با این نتایج، در مطالعات متعددی از یافته های پژوهشگران بر لوییا، کاهش عملکرد دانه طی تنش خشکی اظهار شده است (Ahmed and Suliman, 2010; Bastos et al., 2011; Muñoz-Perea et al., 2006). اعمال تیمار محلول پاشی ۲۴-اپی براسینولید موجب افزایش معنی دار عملکرد دانه در مقایسه با عدم کاربرد این هورمون شد (جدول ۲). بیشترین عملکرد دانه در هر یک از سطوح تنش با کاربرد ۰/۲ میلی گرم بر لیتر ۲۴-اپی براسینولید ثبت گردید که در مقایسه با عدم استفاده از این هورمون در سطح آبیاری ۱۰۰ درصد موجب افزایش ۳۹/۴۸ و ۱۴/۵۷ درصدی عملکرد دانه به ترتیب در سطوح ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی شد (جدول ۴). بالاتر بودن عملکرد دانه در زمان کاربرد تیمارهای براسینولید ممکن است از جهت عملکرد بهتر فتوسنتزی در پی بهبود جذب دی اکسید کربن باشد که منجر به تجمع رنگدانه های فتوسنتزی و محتوای پروتئین های محلول بیشتر می شود (Bera et al., 2014). علاوه بر این محلول پاشی براسینولید موجب افزایش عملکرد دانه در ماش (Kajal Sengupta et al., 2009)، سویا (Zhang et al., 2008) و آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) (Bera et al., 2014) نیز شده است.

نتیجه گیری

یافته های این پژوهش حاکی از تاثیر منفی تنش کم آبیاری بر صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه لوییا چیتی بود. کاربرد ۲۴-اپی براسینولید به واسطه کاهش محتوای مالون دی آلدئید، افزایش محتوای نسبی آب برگ ها، افزایش میزان غلظت پرولین و قندهای محلول و همچنین افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی موجب افزایش تحمل به تنش کم آبیاری شد و در نتیجه عملکرد دانه را نیز بهبود بخشید. به صورت کلی می توان پیشنهاد کرد که استفاده از ۲۴-اپی براسینولید راهکاری مطلوب در جهت

سپاس گزاري

از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه یاسوج در حمایت از اجرای این پژوهش تشکر می‌شود.

افزایش رشد و نمو و در نتیجه بهبود عملکرد گیاه لویا چیتی در هر دو حالت آبیاری نرمال و تنش کم آبیاری می‌باشد.

References

- Abogadallah, G.M. (2010). Insights into the significance of antioxidative defense under salt stress. *Plant Signaling and Behavior*, 5(4): 369-374.
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105: 121-126.
- Agami, R. A. (2013). Alleviating the adverse effects of NaCl stress in maize seedlings by pretreating seeds with salicylic acid and 24-epibrassinolide. *South African Journal of Botany*, 88: 171-177.
- Ahamed, G., Zhou, Y., Xia, X., Mao, W., Shi, K., & Yu, J. (2013). Brassinosteroid regulates secondary metabolism in tomato towards enhanced tolerance to phenanthrene. *Biologia Plantarum*, 57(1): 154-158.
- Ahmadzadeh, M., Valizadeh, M., Zaefizadeh, M., & Shahbazi, H. (2011). Antioxidative protection and electrolyte leakage in durum wheat under drought stress condition. *Journal of Applied Sciences Research*, 7(3): 236-246.
- Ahmed, F.E., & Suliman, A.S.H. (2010). Effect of water stress applied at different stages of growth on seed yield and water-use efficiency of cowpea. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(4): 534-540.
- Ahmed, S., Kouser, S., Asgher, M., & Gandhi, S.G. (2021). Plant aquaporins: A frontward to make crop plants drought resistant. *Physiologia Plantarum*, 172(2): 1089-1105.
- Ali, S., Farooq, M., & Bashir, H. (2021). Brassinosteroids mitigate drought stress in lentil (*Lens culinaris*) by enhancing chlorophyll content and photosynthetic efficiency. *Plant Growth Regulation*, 93(2): 235-246.
- Allahmoradi, P., Mansourifar, C., Saidi, M., & Jalali Honarmand, S. (2013). Water deficiency and its effects on grain yield and some physiological traits during different growth stages in lentil (*Lens culinaris* L.) cultivars. *Annals of Biological Research*, 4(5): 139-145.
- Alonso, R., Elvira, S., Castillo, F., & Gimeno, B. (2001). Interactive effects of ozone and drought stress on pigments and activities of antioxidative enzymes in *Pinus halepensis*. *Plant, Cell and Environment*, 24(9): 905-916.
- Amjad Hameed, A.H., Noreen Bibi, N.B., Javed Akhter, J.A., & Nayyer Iqbal, N.I. (2011). Differential changes in antioxidants, proteases, and lipid peroxidation in flag leaves of wheat genotypes under different levels of water deficit conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49: 178-185.
- Anjum, S., Wang, L., Farooq, M., Hussain, M., Xue, L., & Zou, C. (2011). Brassinolide application improves the drought tolerance in maize through modulation of enzymatic antioxidants and leaf gas exchange. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 197(3): 177-185.
- Armand, N., Amiri, H., & Ismaili, A. (2016). Interaction of methanol spray and water-deficit stress on photosynthesis and biochemical characteristics of *Phaseolus vulgaris* L. cv. Sadry. *Photochemistry and Photobiology*, 92(1): 102-110.
- Arora, P., Bhardwaj, R., & Kumar Kanwar, M. (2010). 24-epibrassinolide induced antioxidative defense system of *Brassica juncea* L. under Zn metal stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 16: 285-293.
- Asghari, M., & Zahedipour, P. (2016). 24-Epibrassinolide acts as a growth-promoting and resistance-mediating factor in strawberry plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35: 722-729.
- Bajguz, A. (2000). Effect of brassinosteroids on nucleic acids and protein content in cultured cells of *Chlorella vulgaris*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 38(3): 209-215.

- Bajguz, A., & Hayat, S. (2009). Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47(1): 1-8.
- Bastos, E.A., Nascimento, S.P.D., Silva, E.M.D., Freire Filho, F.R., & Gomide, R.L. (2011). Identification of cowpea genotypes for drought tolerance. *Revista Ciência Agronômica*, 42: 100-107.
- Beauchamp, C., & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44(1): 276-287.
- Bera, A., Pramanik, K., & Mandal, B. (2014). Response of biofertilizers and homo-brassinolide on growth, yield and oil content of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *African Journal of Agricultural Research*, 9(48): 3494-3503.
- Bhardwaj, R., Arora, N., Sharma, P., & Arora, H.K. (2007). Effects of 28-homobrassinolide on seedling growth, lipid peroxidation and antioxidative enzyme activities under nickel stress in seedlings of *Zea mays* L. *Asian Journal of Plant Sciences* 6(5): 765-772.
- Choudhury, F.K., & Khatun, M. (2022). Enhancing drought tolerance in mungbean (*Vigna radiata*) through brassinosteroid application: Effects on chlorophyll content and antioxidant activity. *Journal of Plant Physiology*, 272: 153-165.
- Eraslan, F., Inal, A., Savasturk, O., & Gunes, A. (2007). Changes in antioxidative system and membrane damage of lettuce in response to salinity and boron toxicity. *Scientia Horticulturae*, 114(1): 5-10.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S.M. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Sustainable Agriculture*, 29: 185-211.
- Ghasemi, M., Jahanbin, S., Latifmanesh, H., Farajee, H., & Mirshekari, A. (2021). Effect of brassinolide foliar application on some physiological and agronomic characteristics of sunflower (*Helianthus annuus* L.) under drought stress conditions. *Journal of Crop Production*, 14(1): 31-48. [In Persian]
- Habibi, G. (2013). Effect of drought stress and selenium spraying on photosynthesis and antioxidant activity of spring barley. *Acta Agriculturae Slovenica*, 101(1): 31-39-31-39.
- Hayat, S., Alyemeni, M.N., & Hasan, S.A. (2012). Foliar spray of brassinosteroid enhances yield and quality of *Solanum lycopersicum* under cadmium stress. *Saudi journal of biological sciences*, 19(3): 325-335.
- Heath, R.L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of biochemistry and biophysics*, 125(1): 189-198.
- Hojati, M., Modarres-Sanavy, S.A.M., Karimi, M., & Ghanati, F. (2011). Responses of growth and antioxidant systems in *Carthamus tinctorius* L. under water deficit stress. *Acta physiologiae plantarum*, 33: 105-112.
- Hosseinzadeh, S., Amiri, H., & Ismaili, A. (2016). Effect of vermicompost fertilizer on photosynthetic characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Photosynthetica*, 54: 87-92.
- Irigoyen, J., Einerich, D., & Sánchez-Díaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia plantarum*, 84(1): 55-60.
- Jiang, M., & Zhang, J. (2001). Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. *Plant and Cell Physiology*, 42(11): 1265-1273.
- Kajal Sengupta, K.S., Mitra, S., & Manabendra Ray, M.R. (2009). Effect of brassinolide on growth and yield of summer greengram crop. *Journal of Crop and Weed*, 7(2): 152-154.
- Khripach, V.A., Zhabinskii, V., & De Groot, A.E. (1998). Brassinosteroids: a new class of plant hormones. Academic Press. 456 p.
- Li, K., Wang, H., Han, G., Wang, Q., & Fan, J. (2008). Effects of brassinolide on the survival, growth and drought resistance of *Robinia pseudoacacia* seedlings under water-stress. *New Forests*, 35: 255-266.
- Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S.K., & Becker, D.F. (2013). Proline mechanisms of stress survival. *Antioxidants and Redox Signaling*, 19(9): 998-1011.

- Liu, Z., Li, L., Luo, Z., Zeng, F., Jiang, L., & Tang, K. (2016). Effect of brassinolide on energy status and proline metabolism in postharvest bamboo shoot during chilling stress. *Postharvest Biology and Technology*, 111: 240-246.
- Lizana, C., Wentworth, M., Martinez, J.P., Villegas, D., Meneses, R., Murchie, E.H., Pastenes, C., Lercari, B., Vernieri, P., & Horton, P. (2006). Differential adaptation of two varieties of common bean to abiotic stress: I. Effects of drought on yield and photosynthesis. *Journal of Experimental Botany*, 57(3): 685-697.
- MacAdam, J.W., Nelson, C.J., & Sharp, R.E. (1992). Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue: I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. *Plant Physiology*, 99(3): 872-878.
- Malik, A.A., Li, W.G., Lou, L.N., Weng, J.H., & Chen, J.F. (2010). Biochemical/physiological characterization and evaluation of in vitro salt tolerance in cucumber. *African Journal of Biotechnology*, 9(22): 3298-3302.
- Medrano, H., Escalona, J.M., Bota, J., Gulías, J., & Flexas, J. (2002). Regulation of photosynthesis of C3 plants in response to progressive drought: stomatal conductance as a reference parameter. *Annals of Botany*, 89(7): 895-905.
- Mishra, A., & Choudhuri, M. (1999). Effects of salicylic acid on heavy metal-induced membrane deterioration mediated by lipoxygenase in rice. *Biologia Plantarum*, 42: 409-415.
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9): 405-410.
- Mohammadi, M., Pouryousef, M., & Tavakoli, A. (2021). The effect of epibrassinolide application on photosynthetic material allocation, drought tolerance, and seed yield of two Pinto bean genotypes (*Phaseolus vulgaris* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research*, 19(2): 169-184. [In Persian]
- Muñoz-Perea, C.G., Terán, H., Allen, R.G., Wright, J.L., Westermann, D.T., & Singh, S.P. (2006). Selection for drought resistance in dry bean landraces and cultivars. *Crop science*, 46(5): 2111-2120.
- Najaphy, A., Khamssi, N.N., Mostafaie, A., & Mirzaee, H. (2010). Effect of progressive water deficit stress on proline accumulation and protein profiles of leaves in chickpea. *African Journal of Biotechnology*, 9(42): 7033-7036.
- Niknam, V., Razavi, N., Ebrahimzadeh, H., & Sharifzadeh, B. (2006). Effect of NaCl on biomass, protein and proline contents, and antioxidant enzymes in seedlings and calli of two *Trigonella* species. *Biologia Plantarum*, 50(4): 591-596.
- Özdemir, F., Bor, M., Demiral, T., & Türkan, İ. (2004). Effects of 24-epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid peroxidation, proline content and antioxidative system of rice (*Oryza sativa* L.) under salinity stress. *Plant Growth Regulation*, 42(3): 203-211.
- Paquin, R., & Lechasseur, P. (1979). Observations sur une méthode de dosage de la proline libre dans les extraits de plantes. *Canadian Journal of Botany*, 57(18): 1851-1854.
- Petropoulos, S.A., Fernandes, Â., Plexida, S., Chrysargyris, A., Tzortzakis, N., Barreira, J.C.M., Barros, L., & Ferreira, I.C.F.R. (2020). Biostimulants Application Alleviates Water Stress Effects on Yield and Chemical Composition of Greenhouse Green Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agronomy*, 10(2): 1-26.
- Rady, M.M. (2011). Effect of 24-epibrassinolide on growth, yield, antioxidant system and cadmium content of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants under salinity and cadmium stress. *Scientia Horticulturae*, 129(2): 232-237.
- Rattan, A., Kapoor, D., Kapoor, N., Bhardwaj, R., & Sharma, A. (2020). Brassinosteroids regulate functional components of antioxidative defense system in salt stressed maize seedlings. *Journal of Plant Growth Regulation*, 39: 1465-1475.
- Salehi, F., Bahrani, M.J., Kazemeini, S.A.R., Pakniyat, H., & Karimian, N.A. (2013). Influence of soil incorporating wheat residues on agronomic and physiological traits of red common bean. *Plant Productions*, 36(1): 89-101. [In Persian]
- Salehpour, M., Ebadi, A., Izadi, M., & Jamaati-e-Somarin, S. (2009). Evaluation of water stress and nitrogen fertilizer effects on relative water content, membrane stability index, chlorophyll and some

- other traits of lentils (*Lens culinaris* L.) under hydroponics conditions. *Research Journal of Environmental Sciences*, 3(1): 103-109.
- Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S., & Pessaraki, M. (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany*, 2012: 1-26.
- Shenkut, A.A., & Brick, M.A. (2003). Traits associated with dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.) productivity under diverse soil moisture environments. *Euphytica*, 133(3), 339-347.
- Shopova, E., Katerova, Z., Brankova, L., Dimitrova, L., Sergiev, I., Todorova, D., & Talaat, N. B. (2021). Modulation of physiological stress response of *Triticum aestivum* L. to glyphosate by brassinosteroid application. *Life*, 11(11): 1156-1170.
- Siddiqui, M.H., Al-Khaishany, M.Y., Al-Qutami, M.A., Al-Wahaibi, M.H., Grover, A., Ali, H.M., Al-Wahibi, M.S., & Bukhari, N.A. (2015). Response of Different Genotypes of Faba Bean Plant to Drought Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(5): 10214-10227.
- Svetleva, D., Krastev, V., Dimova, D., Mitrovska, Z., Miteva, D., Parvanova, P., & Chankova, S. (2012). Drought tolerance of Bulgarian common bean genotypes, characterised by some biochemical markers for oxidative stress. *Journal of Central European Agriculture*, 13(2): 349-361.
- Talaat, N.B., & Shawky, B.T. (2013). 24-Epibrassinolide alleviates salt-induced inhibition of productivity by increasing nutrients and compatible solutes accumulation and enhancing antioxidant system in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Acta physiologiae plantarum*, 35(3), 729-740.
- Talaat, N.B., & Shawky, B.T. (2016). Dual Application of 24-Epibrassinolide and Spermine Confers Drought Stress Tolerance in Maize (*Zea mays* L.) by Modulating Polyamine and Protein Metabolism. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35(2): 518-533.
- Thussagunpanit, J., Jutamanee, K., Sonjaroon, W., Kaveeta, L., Chai-Arree, W., Pankean, P., & Suksamrarn, A. (2015). Effects of brassinosteroid and brassinosteroid mimic on photosynthetic efficiency and rice yield under heat stress. *Photosynthetica*, 53(2): 312-320.
- Van Kooten, O., & Snel, J.F. (1990). The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynthesis research*, 25: 147-150.
- Verma, A., Malik, C.P., & Gupta, V.K. (2012). *In Vitro* Effects of Brassinosteroids on the Growth and Antioxidant Enzyme Activities in Groundnut. *International Journal of Research in Agronomy*, 2012: 1-8.
- Yasar, F., Uzal, O., & Ozpay, T. (2010). Changes of the lipid peroxidation and chlorophyll amount of green bean genotypes under drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 5(19): 2705-2709.
- Yuan, G.F., Jia, C.G., Li, Z., Sun, B., Zhang, L.P., Liu, N., & Wang, Q.M. (2010). Effect of brassinosteroids on drought resistance and abscisic acid concentration in tomato under water stress. *Scientia Horticulturae*, 126(2): 103-108.
- Zadehbagheri, M., Kamelmanesh, M., Javanmardi, S., & Sharafzadeh, S. (2012). Effect of drought stress on yield and yield components, relative leaf water content, proline and potassium ion accumulation in different white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotype. *African Journal of Agricultural Research*, 7(42), 5661-5670.
- Zeid, I.M., & Shedeed, Z.A. (2006). Response of alfalfa to putrescine treatment under drought stress. *Biologia Plantarum*, 50(4): 635-640.
- Zendedel_Sabet, M., Sharifi, P., & Gholami, M. (2018). Effect of Plant Density on Seed Yield and Morphological Characteristics of Some Guilan Local Bean Lines. *Plant Productions*, 41(3): 1-12. [In Persian]
- Zhang, A., Zhang, J., Zhang, J., Ye, N., Zhang, H., Tan, M., & Jiang, M. (2010). Nitric Oxide Mediates Brassinosteroid-Induced ABA Biosynthesis Involved in Oxidative Stress Tolerance in Maize Leaves. *Plant and Cell Physiology*, 52(1): 181-192.
- Zhang, M., Zhai, Z., Tian, X., Duan, L., & Li, Z. (2008). Brassinolide alleviated the adverse effect of water deficits on photosynthesis and the antioxidant of soybean (*Glycine max* L.). *Plant Growth Regulation*, 56(3): 257-264.