



The Effect of Growth-Promoting Bacteria and Salicylic Acid on Some Biochemical Indices of Common Bean Genotypes under Drought Stress

Narges Asadian¹ | Ali Ahmadi² | Manijeh Sabokdast Noudehi³

1. Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: n.asadian@alumni.ut.ac.ir

2. Corresponding Author, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: ahmadi@ut.ac.ir

3. Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: sabokdast@ut.ac.ir

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: June 21, 2025

Revised: September 28, 2025

Accepted: September 28,

2025

Keywords:

Antioxidant enzymes,
biotic treatments,
common bean,
drought stress,
salicylic acid.

Extended Abstract

Introduction. With an average annual rainfall of 240 mm, Iran is classified as an arid country, and more than 40% of its agricultural lands face water shortages. Drought is one of the most important abiotic stresses and a major factor limiting crop yield in arid and semi-arid regions. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), as one of the most important sources of plant protein, is highly sensitive to water deficit, with yield reductions of up to 87% having been reported. Among the main defense mechanisms of plants against drought stress are the accumulation of osmolytes, enhancement of soluble proteins, and activation of antioxidant enzymes. In this context, salicylic acid plays a crucial role in drought tolerance by regulating photosynthesis, enhancing the antioxidant system, and reducing oxidative damage, while rhizosphere growth-promoting bacteria such as *Rhizobium* contribute to improved plant adaptation to drought through nitrogen fixation and the production of plant growth hormones. Recent studies have shown that the combined application of salicylic acid and plant growth-promoting bacteria can have synergistic effects in improving membrane stability, increasing antioxidant activity, and mitigating the damage caused by stress.

Materials and Methods. The present study was conducted as a field experiment during the 2021–2022 growing season at the research farm of the University of Tehran (Karaj), on a clay loam soil, using a split-factorial arrangement in a randomized complete block design with three replications. The treatments included three irrigation levels (100, 60, and 30% of field capacity), two levels of salicylic acid (0 and 0.5 mM), two levels of *Rhizobium* (non-inoculation and inoculation with strain R160), and two bean genotypes (Sadri, drought-tolerant, and Yas, drought-sensitive). Seeds were inoculated with *Rhizobium* before sowing, and foliar application of salicylic acid was carried out at two stages (15 and 30 days after seedling emergence). Drought stress was imposed one month after sowing, and leaf sampling was performed two weeks later from the third fully expanded leaf. Biochemical and physiological traits, including electrolyte leakage, protein content, proline, malondialdehyde, and the activities of antioxidant enzymes (CAT, POD, APX, GR) were measured according to standard methods. Data were analyzed using SAS 9.4 software, and mean comparisons were conducted with the LSD test at the 5% probability level. In this study, two common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes (Sadri and Yas) were evaluated under drought stress and treatments with salicylic acid and *Rhizobium* bacteria. Biochemical and physiological parameters, including protein content, proline, malondialdehyde, activities of catalase, peroxidase, ascorbate peroxidase, glutathione reductase, and electrolyte leakage, were investigated.

Results and Discussion. The results showed that drought stress significantly affected all traits, while hormone and bacterial treatments improved biochemical status and reduced cellular damage. Proline accumulation, as an indicator of osmotic adjustment, increased with the severity of drought stress; however, the combined application of salicylic acid and *Rhizobium* reduced its content, indicating a regulatory role of these treatments in alleviating oxidative stress and protecting cells. Under stress conditions, especially at severe levels, the Sadri genotype exhibited higher proline content than the Yas genotype. These findings, consistent with previous studies, highlight the crucial role of proline accumulation and osmotic adjustment in drought tolerance. Drought stress also increased malondialdehyde content and electrolyte leakage, which are indicators of membrane damage and oxidative stress, while salicylic acid and *Rhizobium* treatments reduced these parameters, reflecting their protective effects on membrane integrity and plant water balance. These protective effects were more evident in the drought-tolerant Sadri genotype, confirming the role of these factors in enhancing drought tolerance. Antioxidant enzyme activities, including catalase, peroxidase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase, increased with drought intensity, and hormone and bacterial treatments further enhanced these activities. The increase in antioxidant enzyme activities reduced the accumulation of reactive oxygen species and protected cellular structures, indicating the reinforcement of the plant defense system under water deficit.

Conclusion. Overall, the findings suggest that these physiological and biochemical traits can serve as key indicators for evaluating drought tolerance in different common bean genotypes. The novelty of this research lies in the simultaneous evaluation of salicylic acid and *Rhizobium* bacteria under normal irrigation and drought stress conditions in two bean cultivars with different levels of drought tolerance. This treatment combination has been rarely addressed in previous studies and provides an opportunity for a more precise explanation of the physiological and biochemical mechanisms associated with stress tolerance. The findings revealed that the combined application of salicylic acid and *Rhizobium* enhanced and strengthened the antioxidant system. These results highlight the great potential of integrating hormonal and microbial factors in the sustainable management of drought stress and the development of eco-friendly strategies to improve the production of beans and other crops.

Cite this article: Asadian, N., Ahmadi, A., & Sabokdast Noudehi, M. (2026). The effect of growth-promoting bacteria and salicylic acid on some biochemical indices of common bean genotypes under drought stress. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 57(1), 119-138. DOI: 10.22059/ijfcs.2025.397019.655149.





تأثیر باکتری محرک رشد و اسیدسالیسیلیک بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های لوبیای معمولی (*Phaseolus vulgaris* L.) تحت تنش خشکی

نرگس اسدیان^۱ | علی احمدی^۲ | منیژه سبکدست نودهی^۳

۱. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: n.asadian@alumni.ut.ac.ir
 ۲. نویسنده مسئول، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: ahmadia@ut.ac.ir
 ۳. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: sabokdast@ut.ac.ir

چکیده

اطلاعات مقاله

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی محسوب می‌شود که تولید محصولات زراعی و حیوانات را در سراسر جهان تهدید می‌کند. هدف پژوهش حاضر، بررسی برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در لوبیای معمولی تحت شرایط تنش خشکی بود. برای این منظور، آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی گروه زراعت دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در کرج، طی سال زراعی ۱۴۰۱، به صورت آزمایش اسپلیت‌فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای این طرح شامل سه سطح آبیاری (آبیاری نرمال و آبیاری بر اساس ۳۰ و ۶۰ درصد ظرفیت زراعی)، دو سطح هورمون سالیسیلیک‌اسید (صفر و ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید)، دو سطح باکتری (عدم استفاده و استفاده از باکتری ریزوبیوم تثبیت‌کننده نیتروژن *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* سویه R160) و دو ژنوتیپ لوبیا (صدری و یاس) بود. نتایج نشان داد که افزایش شدت تنش خشکی موجب کاهش محتوای پروتئین و افزایش میزان پرولین، مالون‌دی‌آلدئید، نش‌الکترولیت، کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات‌پراکسیداز و گلوکاتانیون-پراکسیداز شد. همچنین، کاربرد سالیسیلیک‌اسید و باکتری ریزوبیوم نسبت به شاهد (عدم استفاده از هورمون و باکتری)، باعث بهبود محتوای پروتئین و فعالیت‌های آنزیمی شد و در عین حال میزان مالون‌دی‌آلدئید و نش‌الکترولیت را کاهش داد. رقم حساس و متحمل نیز در صفات نش‌الکترولیت، محتوای پروتئین و مالون‌دی‌آلدئید تفاوت معنی‌داری با هم داشتند. به‌طور کلی، این نتایج ایده استفاده توأم از سالیسیلیک‌اسید و باکتری ریزوبیوم را به‌عنوان روشی مؤثر برای افزایش تحمل به خشکی در ارقام حساس و متحمل لوبیای معمولی تقویت می‌کند.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۳۱

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۷/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۰۶

کلیدواژه‌ها:

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تنش خشکی، تیمارهای زیستی، سالیسیلیک‌اسید، لوبیا.

استناد: اسدیان، ن، احمدی، ع، و سبکدست نودهی، م. (۱۴۰۵). تأثیر باکتری محرک رشد و اسیدسالیسیلیک بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های لوبیای معمولی (*Phaseolus vulgaris* L.) تحت تنش خشکی. *علوم گیاهان زراعی ایران*، ۵۷(۱)، ۱۱۹-۱۳۸.

DOI: 10.22059/ijfcs.2025.397019.655149



۱. مقدمه

ایران با میانگین بارندگی سالانه ۲۴۰ میلی‌متر، در زمره کشورهای با اقلیم خشک طبقه‌بندی می‌شود. این شرایط موجب شده است که بیش از ۴۰ درصد از اراضی کشاورزی کشور با چالش کمبود آب مواجه باشند (Morante-Carballo *et al.*, 2022). تنش‌های محیطی به‌عنوان مهم‌ترین موانع دست‌یابی به پتانسیل ژنتیکی گیاهان زراعی شناخته می‌شوند. مطالعات نشان می‌دهد که در شرایط مطلوب، عملکرد واقعی بسیاری از محصولات زراعی کمتر از ۱۰-۲۰ درصد پتانسیل ژنتیکی آنها است (Lipiec *et al.*, 2013). در میان تنش‌های غیرزیستی، خشکی به‌عنوان یکی از مخرب‌ترین عوامل محدودکننده تولیدات کشاورزی، به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان مطرح است (Bharti *et al.*, 2024). در سطح جهانی، بیش از ۵۰ درصد از میانگین عملکرد محصولات عمده به دلیل تنش خشکی کاهش می‌یابد (Cohen *et al.*, 2021). تنش خشکی از طریق مکانیسم‌های متعددی موجب کاهش عملکرد گیاهان می‌شود که از جمله می‌توان به اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیک (کاهش نرخ فتوسنتز تا ۵۰ درصد)، بیوشیمیایی (تولید گونه‌های فعال اکسیژن) و مولکولی اشاره کرد (Wahab *et al.*, 2022). لوبیای معمولی (*Phaseolus vulgaris* L.) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین منابع پروتئین گیاهی در جهان، به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه، حساسیت بالایی به تنش خشکی نشان می‌دهد. گزارش‌ها حاکی از آن است که تنش خشکی می‌تواند تا ۸۷ درصد از عملکرد این محصول را در مراحل حساس رشد کاهش دهد (Martinez *et al.*, 2007). امروزه مقابله با تنش خشکسالی به یک چالش جهانی تبدیل شده است. کشور ایران با وجود وسعت خاک و تنوع گیاهی، از دیرباز با کمبود آب برای کشاورزی روبرو بوده است. تنش خشکی مانند سایر تنش‌های محیطی، تغییرات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی در گیاهان ایجاد می‌کند (Wahab *et al.*, 2022). بسیاری از فرآیندهای گیاهی به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم به وجود آب وابسته هستند و کمبود آب باعث کاهش جوانه‌زنی، رشد اندام‌های هوایی، کاهش تولید ماده خشک و تأخیر در رشد می‌شود (Bhattacharya & Bhattacharya, 2021). تنش آبی عاملی مهم در کاهش تولید محصولات زراعی محسوب می‌شود و این اثرات با سایر تنش‌های غیرزیستی و همچنین تغییرات اقلیمی تشدید می‌شود (Kopecká *et al.*, 2023). شرایط خشکی می‌تواند عملکرد لوبیای معمولی را به شدت کاهش دهد، به‌طوری‌که کاهش عملکرد تا ۴۹٪ در دوره گلدهی و ۵۸-۸۷ درصد در مراحل تولیدمثل گزارش شده است (Martinez *et al.*, 2007). تنش خشکی با ایجاد تغییرات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی در گیاهان، فرآیندهایی چون فتوسنتز، تعادل آبی، فعالیت آنزیمی و ساختار غشایی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در بسیاری از گیاهان، کمبود آب منجر به بسته‌شدن روزنه‌ها، کاهش رشد ریشه و اندام‌های هوایی، تجمع اسمولیت‌هایی مانند پرولین، و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود (Wahab *et al.*, 2022). تحت تنش، گیاهان یک مکانیسم دفاعی و هموستاز سلولی را با تجمع اسمولیت‌ها (مانند پرولین، گلیسین‌بتائین) و پروتئین‌ها ایجاد می‌کنند و در نتیجه تحمل گیاهان را در برابر تنش افزایش می‌دهند (Nahar *et al.*, 2016). با این حال، تحمل گیاه به تنش‌های غیرزیستی یک صفت پیچیده است که شامل طیف وسیعی از مکانیسم‌های مولکولی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی است (Singh *et al.*, 2022). پاسخ گیاهان به تنش‌ها به گونه‌ها و ژنوتیپ‌ها، طول و شدت کمبود آب، سن و مرحله رشد بستگی دارد (Oguz *et al.*, 2022). بررسی‌های دیگر نیز نشان داده‌اند که واکنش گیاه لوبیا به تنش خشکی به ژنوتیپ وابسته است. در مطالعات انجام‌شده روی چند ژنوتیپ لوبیا قرمز، اعمال سطوح مختلف تنش خشکی در مرحله پیش از گلدهی موجب تغییرات قابل‌توجهی در رنگدانه‌های فتوسنتزی، محتوای کربوهیدرات کل، نشت الکترولیت، محتوای نسبی آب (RWC)، میزان پرولین، اسیدآبسیزیک و پروتئین‌های محلول شده است. همچنین، افزایش پراکسیداسیون لیپید (MDA) و تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز، گایاکول‌پراکسیداز و آسکوربات‌پراکسیداز بسته به ژنوتیپ تفاوت‌هایی نشان داده است (Mombeni & Abbasi, 2019).

چندین راهکار برای مقابله با تنش خشکی یا افزایش تحمل گیاه وجود دارد، سالیسیلیک‌اسید به‌عنوان یک هورمون گیاهی، نقش کلیدی در القای مقاومت به تنش‌های محیطی از طریق تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با تحمل به خشکی، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و حفظ پتانسیل اسمزی ایفا می‌کند (Naeem *et al.*, 2020). مطالعات نشان داده‌اند که کاربرد این ترکیب می‌تواند تا ۳۰ درصد از خسارات ناشی از تنش خشکی را کاهش دهد (Salem *et al.*, 2021). پژوهش‌ها نشان می‌دهند که استفاده توأم از این باکتری‌ها با ترکیباتی مانند سالیسیلیک‌اسید می‌تواند اثرات سینرژیستی در بهبود تحمل به خشکی ایجاد کند

(Mehrasa et al., 2022). سالیسیلیک اسید به عنوان یک فیتوهورمون شبه فنولی، نقش مهمی در مقاومت گیاه به تنش های غیرزیستی نظیر خشکی، شوری و سرما دارد (Alamer & Fayez, 2020; Khan et al., 2014). سالیسیلیک اسید ضمن تنظیم انتقال یون، افزایش فتوسنتز، بهبود نفوذپذیری غشا، القای بیان ژن و افزایش جذب عناصر معدنی، به تقویت سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی گیاه کمک می کند (Naeem et al., 2020). مطالعات مختلف نشان داده اند که محلول پاشی سالیسیلیک اسید می تواند آسیب اکسیداتیو را کاهش داده و رشد گیاه را در شرایط کم آبی بهبود بخشد (Salem et al., 2021). همچنین سپهری و همکاران در مطالعات خود دریافته اند که انواع ژنوتیپ لوبیا تاثیرات گوناگونی نسبت به اعمال سالیسیلیک اسید از خود نشان می دهند و برخی ارقام با اسپری برگی این هورمون به عملکرد بالاتری نسبت به سایر ارقام دست پیدا می کنند.

علاوه بر سالیسیلیک اسید، باکتری های ریزوسفری محرک رشد گیاه نیز از طریق تثبیت نیتروژن، افزایش دسترسی به عناصر غذایی، تولید هورمون های رشد و کاهش تنش اکسیداتیو، باعث بهبود تحمل گیاهان به خشکی می شوند (Gontia-Mishra et al., 2016; Khan et al., 2019). باکتری های ریزوسفری محرک رشد گیاه مانند گونه های *Bacillus*، *Pseudomonas* و *Azotobacter* می توانند با ترشح آگروپولی ساکاریدها و تولید آنتی بیوتیک های طبیعی، مقاومت گیاهان را در برابر شرایط سخت افزایش دهند (Ojuederie et al., 2019). در یک پژوهش (Feizian et al., 2017) گزارش کردند که استفاده از باکتری ریزوبیوم سویه ۱۶۰، گیاه لوبیا قادر به تحمل تنش خشکی متوسط بدون افت عملکرد است. خاوری و شاکرمی (۲۰۱۹) گزارش کردند که ژنوتیپ های مختلف لوبیا قرمز واکنش های متفاوتی به تلقیح باکتری ازتوباکتر و قارچ میکوریزا نشان دادند. هر رقم به میزان متفاوتی در افزایش عملکرد دانه و محتوای پروتئین دانه پاسخ داد، به طوری که بیشترین اثر ترکیبی بر عملکرد دانه در رقم گلی مشاهده شد و سایر ارقام نیز به ترتیب مقادیر متفاوتی افزایش عملکرد و پروتئین را تجربه کردند. این یافته ها نشان دهنده وجود تفاوت ژنوتیپ × تیمار (G × T) در پاسخ به کودهای زیستی و اهمیت انتخاب ژنوتیپ مناسب برای بهره وری بهینه در شرایط مزرعه است.

کاربرد همزمان باکتری های محرک رشد گیاه (PGPR) و هورمون پاشی با سالیسیلیک اسید می تواند نقش بسزایی در افزایش مقاومت گیاهان تحت تنش خشکی ایفا کند. نتایج پژوهش ها نشان داده است که این ترکیب علاوه بر کاهش نشت الکترولیت از غشاهای سلولی، موجب پایداری بیشتر ساختار غشا و کاهش آسیب های اکسیداتیو می شود. همچنین، استفاده همزمان از این عوامل محرک، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز را بهبود بخشیده و از تجمع رادیکال های آزاد جلوگیری می کند. در نتیجه، گیاه قادر خواهد بود تعادل متابولیکی خود را بهتر حفظ کرده و فرآیندهای فیزیولوژیک حیاتی مانند فتوسنتز و جذب عناصر غذایی را در شرایط تنش حفظ نماید. این اثرات مثبت در نهایت منجر به افزایش کارایی مصرف آب و بهبود رشد و عملکرد گیاه در شرایط کم آبی می شود (زمانی و همکاران، ۲۰۲۴).

باتوجه به اهمیت لوبیای معمولی (*Phaseolus vulgaris* L.) به عنوان منبع پروتئین و انرژی در رژیم های غذایی به ویژه در کشورهای در حال توسعه (Castro-Guerrero et al., 2016) و نیز با توجه به کاهش منابع آبی و آسیب های ناشی از تنش خشکی، استفاده از راهکارهای زیستی پایدار جهت افزایش بهره وری و تحمل این گیاه امری ضروری به نظر می رسد. بنابراین هدف این پژوهش، بررسی اثرات محلول پاشی سالیسیلیک اسید و استفاده از باکتری های محرک رشد در بهبود شاخص های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی دو ژنوتیپ لوبیای معمولی تحت شرایط آبیاری بود. با وجود مطالعاتی در زمینه نقش تنش خشکی و کاربرد باکتری های محرک رشد (PGPR) در بهبود سازگاری گیاهان، بررسی همزمان ژنوتیپ های متحمل و حساس لوبیا در پاسخ به تنش خشکی و تیمارهای PGPR کمتر مورد توجه قرار گرفته است؛ این موضوع بیانگر جنبه نوآوری و ارزش افزوده پژوهش حاضر است.

۲. روش شناسی پژوهش

۲-۱. محل و طرح آزمایش

پژوهش حاضر به صورت آزمایش مزرعه ای در سال زراعی ۱۴۰۱-۱۴۰۰ در مزرعه تحقیقاتی دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در کرج (با مختصات جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۴ دقیقه طول شرقی و ۳۵ درجه و ۵۵ دقیقه عرض شمالی و

ارتفاع ۱۳۱۲ متر از سطح دریا)، با بافت خاک لومی‌رسی اجرا شد. خصوصیات شیمیایی خاک مزرعه محل آزمایش در جدول ۱ ذکر شده است.

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه محل آزمایش.

Table 1. Soil physical and chemical properties of experimental field.

Texture	Available K (mg.Kg ⁻¹)	Available P (mg.Kg ⁻¹)	Total N (%)	Organic Carbon (%)	EC (dS.m ⁻¹)	pH
Loamy Clay	147	8.17	0.066	0.59	1.01	7.6

آزمایش به صورت اسپلیت‌فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل موارد زیر بودند: سه سطح آبیاری: آبیاری نرمال (ظرفیت مزرعه کامل)، آبیاری در ۶۰٪ ظرفیت زراعی، و آبیاری در ۳۰٪ ظرفیت زراعی؛ ظرفیت زراعی خاک به روش وزنی و با استناد به مقاله Ramezan & Abbaszadeh (2016) تعیین شد. بدین منظور، پس از اشیاع کامل کرت‌ها و گذشت ۴۸ ساعت، از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری خاک نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها بلافاصله توزین و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شدند. با مقایسه وزن تر و خشک، درصد رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی محاسبه شد. برای اعمال تیمارهای آبیاری، از روش وزنی و معادله زیر استفاده شد:

$$V = \rho \times Z \times A \times (FC - PWP) / 100$$

که در آن:

V: حجم آب مورد نیاز (لیتر)

p: وزن مخصوص ظاهری خاک (g cm⁻³)

Z: عمق توسعه ریشه (cm)

A: مساحت واحد آزمایشی (m²)

FC: رطوبت خاک در ظرفیت زراعی (%)

PWP: رطوبت خاک در نقطه پژمردگی دائم (%)

میزان آب مورد نیاز هر کرت بر اساس این رابطه محاسبه و با استفاده از کنتور حجمی به کرت‌ها اعمال شد.

دو سطح سالیسیلیک‌اسید: عدم مصرف و مصرف محلول ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید؛

دو سطح باکتری: بدون باکتری و استفاده از باکتری ریزوبیوم تثبیت‌کننده نیتروژن *Rhizobium leguminosarum biovar phaseoli* سویه R160؛

دو ژنوتیپ لوبیا: در این مطالعه از ژنوتیپ‌های لوبیای معمولی صدری و یاس استفاده شد که بر اساس یافته‌های Soltani (2022) ژنوتیپ صدری مقاوم به خشکی و ژنوتیپ یاس حساس به خشکی است. بذرها ژنوتیپ‌های صدری و یاس از بانک ژن دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج تهیه شد.

۲-۲. کاشت و نگهداری

بعد از انجام خاکورزی مرسوم منطقه و تعیین محل کاشت، کرت‌هایی با طول سه متر و عرض ۲/۵ متر تهیه و آماده شد. به این صورت که در هر کرت پنج ردیف سه متری وجود داشت. فاصله هر ردیف نیم متر در نظر گرفته شد. فاصله هر کرت با کرت دیگر نیز نیم متر بود. فاصله بوته در یک ردیف ده سانتی‌متر بود. برای جلوگیری از اختلاط تیمارهای تنش، بین کرت‌های آبیاری دو متر فاصله در نظر گرفته شد. از هیچ نوع کودی هنگام کاشت، داشت و برداشت استفاده نشد. بذرها قبل از کاشت با باکتری ریزوبیوم تلقیح شدند (بذر مال). محلول پاشی سالیسیلیک‌اسید ۱۵ و ۳۰ روز پس از ظهور گیاهچه انجام شد، به این ترتیب که در هر لیتر آب، ۱۳/۰ گرم سالیسیلیک‌اسید حل شده و به هر گیاه ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول در هر بار اسپری شد. وچین نیز در مرحله استقرار گیاه و تقریباً ۲۵ روز بعد از کاشت انجام خواهد شد. اعمال تنش خشکی یک ماه پس از کاشت آغاز شد.

۲-۳. نمونه برداری و نگهداری نمونه

دو هفته پس از اعمال تنش، نمونه برداری برگ از برگ سوم هر گیاه انجام شد (برگ سوم از بالا انتخاب شد زیرا نه خیلی جوان و در حال رشد است و نه خیلی پیر و در حال تخلیه مواد، این برگ از نظر فیزیولوژیکی پایدارتر است و استفاده از آن امکان مقایسه بهتر بین تیمارها را فراهم می‌کند). از هر تیمار، ۲۰ برگ انتخاب و در پاکت‌های آلومینیومی قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها در تانک نیتروژن مایع سریعاً منجمد و تا زمان آزمایش در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

۲-۴. اندازه‌گیری نشت الکترولیت برگ

از برگ‌های جوان کاملاً توسعه یافته نمونه‌های ۳۰ تاایی به شکل دیسک دایره‌ای با اندازه یکسان تهیه شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت، با استفاده از EC متر (Ino lab ساخت کشور ژاپن)، هدایت الکتریکی هر نمونه اندازه‌گیری شد (EC1). به منظور اندازه‌گیری میزان کل نشت الکترولیت‌های برگ در اثر مرگ سلول‌ها، لوله‌های آزمایش به مدت ۴۵ دقیقه در حمام آب جوش با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از سرد شدن لوله‌ها در دمای آزمایشگاه، پس از ۲۴ ساعت مجدداً هدایت الکتریکی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (EC2). در نهایت درصد نشت الکترولیت نمونه‌ها با استفاده از رابطه زیر تعیین شد (McKay, 1992).

$$\text{EL (\%)} = (\text{EC}_1 / \text{EC}_2) \times 100 \quad \text{رابطه ۱}$$

۲-۵. اندازه‌گیری پروتئین برگ

برای تعیین غلظت کل پروتئین، ۰/۱ گرم از برگ‌های خردشده و پودر شده با بافر استخراج آنزیمی که شامل پلی‌وینیل‌پیرولیدون، اسیداتیلن‌دی‌آمین‌تتراستیک، و تریتون X-100 در بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولاری (pH=۶/۷) بود، مخلوط شد. سپس مخلوط برای ۳۰ ثانیه در دستگاه ورتکس قرار گرفت. پس از آن، با سرعت ۱۵۰۰۰g به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. فاز مایع حاصل به داخل لوله‌های پلاستیکی منتقل و در یخچال با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای تجزیه و تحلیل‌های بعدی پروتئین و فعالیت آنزیمی نگهداری شد. سرم آلبومین گاوی به عنوان استاندارد برای ایجاد منحنی کالیبراسیون جهت کمی‌سازی سطوح پروتئین به کار رفت. محتوای پروتئین به صورت میلی‌گرم به ازای هر گرم وزن تازه برگ ($\text{mg g}^{-1} \text{FW}$) با اندازه‌گیری جذب نور واکنش‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر تعیین شد (Bradford, 1976).

۲-۶. اندازه‌گیری محتوای پرولین برگ

به این منظور، حدود ۵/۰ گرم بافت تازه برگ در ۱۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوسالیسیلیک سه درصد (وزنی/حجمی) همگن‌سازی شد و عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. از سوپرناتانت شفاف، دو میلی‌لیتر برداشته و با دو میلی‌لیتر معرف نینهیدرین اسیدی و دو میلی‌لیتر اسیداستیک گلاسیال مخلوط شد. مخلوط واکنش به مدت یک ساعت در حمام آب جوشان (۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت و سپس بلافاصله در حمام یخ سرد شد. در ادامه، چهار میلی‌لیتر تولون به آن افزوده و فاز رنگی قرمز-بنفش حاصل جدا شد. جذب نوری این فاز در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. غلظت پرولین با استفاده از منحنی استاندارد تهیه‌شده با پرولین خالص محاسبه و بر حسب میکرومول در گرم وزن تر ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{FW}$) بیان شد (Bates et al., 1973).

۲-۷. اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید

برای تعیین غلظت مالون‌دی‌آلدئید به روش Heath & Packer (1968)، ابتدا ۰/۵ گرم برگ تازه در محلول ۲۰ درصد تری-کلرواستیک اسید (TCA) حاوی ۰/۵ درصد تیوباریتوریک اسید (TBA) به صورت کامل پودر شد. مخلوط به مدت ۲۵ دقیقه در حمام بن‌ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. سپس مخلوط سریعاً سرد شده و با سانتریفیوژ، رسوب جدا شد. غلظت مالون‌دی‌آلدئید از جذب محلول در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری و محاسبه شد.

۲-۸. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

۲-۸-۱. کاتالاز (CAT)

برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز، میزان تجزیه هیدروژن پراکسید (H_2O_2) در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم بر حسب کاهش جذب نوری در واحد زمان محاسبه شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات (۵۰ میلی‌مولار، pH حدود ۷)، محلول H_2O_2 (۳۰ میلی‌مولار) و عصاره آنزیمی بود (Pereira et al., 2002).

۲-۸-۲. پراکسیداز (POD)

در ابتدا ۰/۵ گرم از برگ‌های خردشده به‌طور کامل با نیتروژن مایع و ۰/۱ درصد اسیدتری کلرواستیک (TCA) مخلوط شدند و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۶۰۰۰ گرم سانتیفریوژ شدند. قبل از حل کردن یدید پتاسیم یک مولار در مخلوط، حجمی برابر از فاز مایع نمونه‌های سانتیفریوژ شده با یک بافر فسفات ۱۰ میلی‌مولار، ترکیب شد. در نهایت، جذب محلول حاصل در ۳۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Velikova et al., 2000).

۲-۸-۳. آسکورات پراکسیداز (APX)

فعالیت آنزیم آسکورات پراکسیداز بر اساس واکنش آن با اسیدآسکوربیک و H_2O_2 که منجر به تشکیل دهیدروآسکورات می‌شود، در طول موج ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محیط واکنش شامل ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7)، ۶۰۰ میکرولیتر EDTA (۰/۱ میلی‌مولار)، ۴۰۰ میکرولیتر آسکوربیک اسید (۰/۵ میلی‌مولار)، ۴۰۰ میکرولیتر H_2O_2 (۳۰٪) و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. تغییرات جذب محلول طی هفت دقیقه و در فواصل زمانی ۲۰ ثانیه ثبت شد (Nakano et al., 1981).

۲-۸-۴. گلوکاتینون ردوکتاز (GR)

سنجش فعالیت گلوکاتینون ردوکتاز بر پایه کاهش جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر بر اساس اکسایش NADPH به NADP سنجیده شد (Foyer & Halliwell, 1976).

۲-۹. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های به‌دست‌آمده از اندازه‌گیری کلیه صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS ۹٫۴ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها برای اثرات اصلی تیمارها با آزمون LSD و برای برهم‌کنش‌ها با استفاده از رویه LS means و در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

۳. یافته‌های پژوهش و بحث

در این مطالعه، دو ژنوتیپ مختلف لوبیا از نظر میزان پروتئین، محتوای پرولین، مالون‌دی‌آلدئید، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، آسکورات پراکسیداز، گلوکاتینون ردوکتاز و نشأت الکترولیت تحت شرایط کاربرد هورمون و باکتری ریزوبیوم مورد ارزیابی قرار گرفت. اثر تیمارهای تنش خشکی بر این پارامترها در ژنوتیپ‌های مورد بررسی معنی‌دار بود. داده‌ها نشان می‌دهد که صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی ژنوتیپ‌های لوبیا بسته به سطح کم‌آبی به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر قرار گرفته است (جدول‌های ۲ و ۳).

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر چهارگانه تیمارها (آبیاری × باکتری × هورمون × ژنوتیپ) بر محتوای پروتئین برگ، غلظت مالون‌دی‌آلدئید و نشأت الکترولیت معنی‌دار شد. همچنین اثر سه‌گانه آبیاری × هورمون × باکتری و آبیاری × هورمون × ژنوتیپ بر محتوای پرولین لوبیا معنی‌دار بود. علاوه بر این، اثر سه‌گانه آبیاری × هورمون × ژنوتیپ بر فعالیت آنزیم کاتالاز و اثر سه‌گانه آبیاری × هورمون × باکتری بر فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، آسکورات پراکسیداز و گلوکاتینون ردوکتاز نیز معنی‌دار گزارش شد (جدول‌های ۲ و ۳).

مطابق شکل ۱، در هر سه سطح آبیاری، کاربرد همزمان هورمون سالیسیلیک اسید (h_2) و باکتری ریزوبیوم (b_2) در مقایسه با عدم استفاده از آنها (h_1) و (b_1)، باعث افزایش معنی‌دار محتوی پروتئین برگ شد. همچنین ژنوتیپ صدری نسبت به ژنوتیپ یاس محتوای پروتئین بالاتری نشان داد.

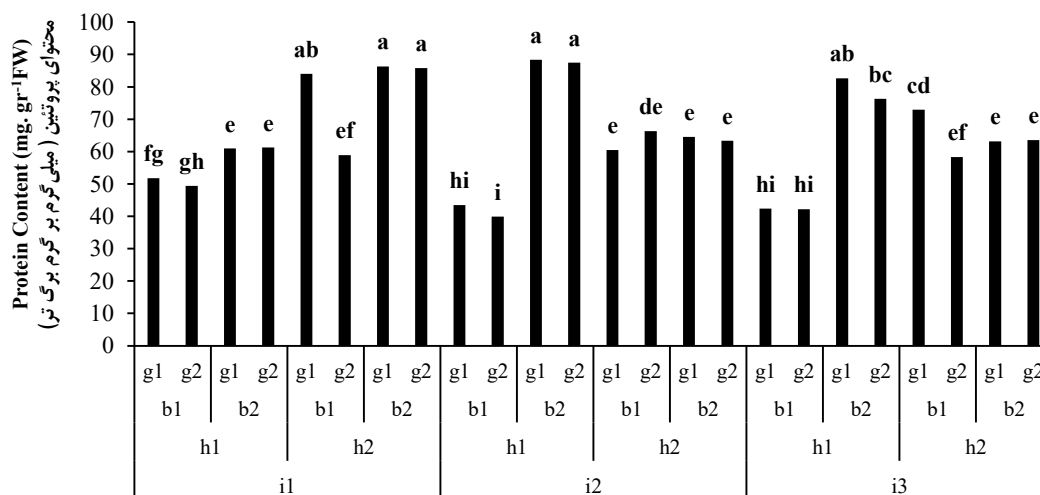
جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس مربوط به صفات مختلف اندازه گیری شده ژنوتیپ های لوبیای معمولی در اثر استفاده از تیمارهای هورمونی و باکتری در شرایط تنش آبی.

Table 2. Results of analysis of variance related to various measured traits of common bean genotypes due to the use of hormonal treatments and under water stress conditions.

Sources of Variation	df	Mean Squares				
		Peroxidase activity	Catalase activity	Malondialdehyde content	Proline content	Protein content
Replication	2	0.828 ^{n.s}	0.076 ^{n.s}	0.017 ^{n.s}	4.724 ^{n.s}	35.892 ^{n.s}
Irrigation	2	2723.309 ^{***}	2224.348 ^{***}	981.896 ^{***}	6067.664 ^{***}	131.458 ^{n.s}
Error (Main plot)	4	2.271	0.937	0.099	3.223	29.152
Hormone	1	549.862 ^{***}	61.069 ^{***}	284.638 ^{***}	1779.747 ^{***}	1272.372 ^{***}
Bacterium	1	802.202 ^{***}	38.257 ^{***}	126.378 ^{***}	38.848 ^{***}	5644.466 ^{***}
Genotype	1	0.595 ^{n.s}	2.359 ^{n.s}	13.622 ^{***}	39.490 ^{***}	285.642 ^{**}
Irrigation * Hormone	2	161.172 ^{***}	245.054 ^{***}	97.557 ^{***}	1086.331 ^{***}	963.039 ^{***}
Irrigation * Bacterium	2	307.819 ^{***}	61.972 ^{***}	49.200 ^{***}	58.018 ^{***}	172.641 ^{**}
Irrigation * Genotype	2	0.977 ^{n.s}	7.458 ^{***}	1.827 ^{***}	9.530 [*]	78.050 ^{n.s}
Hormone * Bacterium	1	342.266 ^{***}	32.943 ^{***}	4.159 ^{***}	21.592 ^{**}	3244.744 ^{***}
Hormone * Genotype	1	5.640 ^{n.s}	0.903 ^{n.s}	1.557 ^{***}	0.220 ^{n.s}	60.129 ^{n.s}
Bacterium * Genotype	1	0.006 ^{n.s}	0.734 ^{n.s}	3.071 ^{***}	0.039 ^{n.s}	126.014 [*]
Irrigation * Hormone * Bacterium	2	193.622 ^{***}	0.166 ^{n.s}	8.312 ^{***}	74.006 ^{***}	1093.499 ^{***}
Irrigation * Hormone * Genotype	2	2.356 ^{n.s}	3.018 [*]	0.147 ^{n.s}	9.909 [*]	97.951 [*]
Irrigation * Bacterium * Genotype	2	0.413 ^{n.s}	0.325 ^{n.s}	0.926 ^{***}	2.342 ^{n.s}	93.026 [*]
Hormone * Bacterium * Genotype	1	1.637 ^{n.s}	0.0006 ^{n.s}	1.908 ^{***}	4.453 ^{n.s}	138.016 [*]
Irrigation * Hormone * Bacterium * Genotype	2	3.097 ^{n.s}	0.075 ^{n.s}	1.891 ^{***}	3.892 ^{n.s}	117.342 [*]
Second error (Sub-plot)	42	2.96	0.842	0.068	2.776	25.137
Coefficient of Variation	-	10.97	3.03	2.24	4.59	7.70

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس مربوط به صفات مختلف اندازه‌گیری شده ژنوتیپ‌های لوبیای معمولی در اثر استفاده از تیمارهای هورمونی و باکتری در شرایط تنش آبی.
Table 3. Results of analysis of variance related to various measured traits of common bean genotypes due to the use of hormonal and bacterial treatments under water stress conditions.

Sources of Variation	df	Mean Squares		
		Ion Leakage	Glutathione reductase	Ascorbate Peroxidase Activity
Replication	2	1.676 ^{n.s}	1.685 ^{n.s}	8.753 ^{n.s}
Irrigation	2	1713.015 ^{***}	784.209 ^{***}	1556.414 ^{***}
First error (Main plot)	4	1.156	1.016	2.247
Hormone	1	1543.701 ^{***}	341.020 ^{***}	611.360 ^{***}
Bacterium	1	878.466 ^{***}	116.656 ^{***}	386.468 ^{***}
Genotype	1	28.718 ^{***}	29.120 ^{***}	0.534 ^{n.s}
Irrigation * Hormone	2	404.662 ^{***}	4.228 ^{n.s}	89.652 ^{***}
Irrigation * Bacterium	2	290.543 ^{***}	2.922 ^{n.s}	45.567 ^{***}
Irrigation * Genotype	2	8.519 ^{**}	0.690 ^{n.s}	0.844 ^{n.s}
Hormone * Bacterium	1	495.034 ^{***}	0.004 ^{n.s}	221.329 ^{**}
Hormone * Genotype	1	28.380 ^{***}	0.059 ^{n.s}	0.856 ^{n.s}
Bacterium * Genotype	1	46.355 ^{***}	1.162 ^{n.s}	8.735 ^{n.s}
Irrigation * Hormone * Bacterium	2	171.911 ^{***}	6.020 ^{**}	140.333 ^{**}
Irrigation * Hormone * Genotype	2	8.683 ^{**}	0.629 ^{n.s}	6.327 ^{n.s}
Irrigation * Bacterium * Genotype	2	8.620 ^{**}	0.695 ^{n.s}	5.009 ^{n.s}
Hormone * Bacterium * Genotype	1	16.062 ^{**}	0.492 ^{n.s}	1.675 ^{n.s}
Irrigation * Hormone * Bacterium * Genotype	2	10.701 ^{**}	3.059 ^{n.s}	0.950 ^{n.s}
Second error (Sub-plot)	42	1.359	1.395	3.818
Coefficient of Variation		5.88	7.06	13.43



تیمار (Treatment)

شکل ۱. مقایسه میانگین اثرات آبیاری، هورمون، باکتری و ژنوتیپ بر محتوی پروتئین در لوبیای معمولی. آبیاری در سه سطح: شاهد (i₁) (۹۰ درصد ظرفیت زراعی)، ۶۰ (i₂) و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی (i₃)، ژنوتیپ‌های لوبیای معمولی شامل یاس (g₁) و صدری (g₂)، باکتری در دو سطح (عدم تلقیح با باکتری (b₁)، تلقیح با جدایه باکتریایی (b₂)) و هورمون در دو غلظت صفر (h₁) و ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید (h₂). حروف متفاوت بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار دارند.

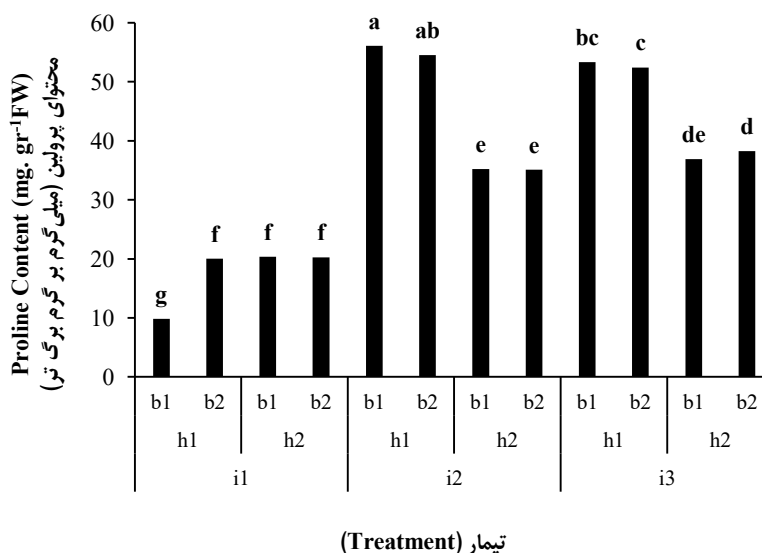
Figure 1. Comparison of the mean effects of irrigation, hormone, bacteria, and genotype on protein content in common bean. Irrigation was applied at three levels: Control (i₁) (90% field capacity), 60% field capacity (i₂), and 30% field capacity (i₃). The common bean genotypes included Yas (g₁) and Sadri (g₂). Bacterial treatment was applied at two levels: Non-inoculated (b₁) and inoculated with bacterial isolate (b₂). Hormone treatment consisted of two concentrations: 0 mM (h₁) and 0.5 mM salicylic acid (h₂). Different letters indicate significant differences based on the LSD test at the 1% probability level.

در آزمایش حاضر، نتایج جداول ۱ و ۲ نشان می‌دهد که میزان تجمع پرولین، محتوای پروتئین، نشت الکترولیت و محتوای مالون‌دی‌آلدئید در تمامی ژنوتیپ‌ها به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش آبی قرار گرفته‌اند.

۳-۱. محتوای پرولین

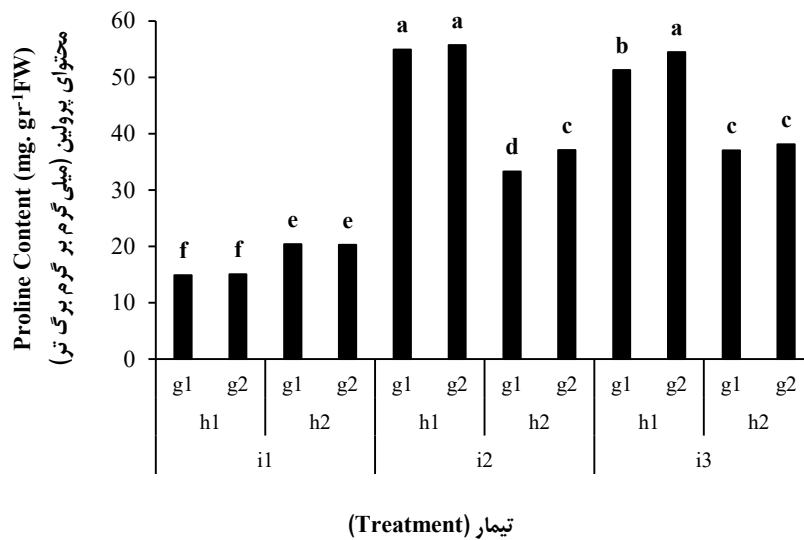
انباشت پرولین در گیاهان تحت تنش خشکی در این مطالعه با افزایش شدت تنش خشکی افزایش یافت (جدول ۱؛ شکل‌های ۲ و ۳). با این حال، استفاده از هورمون و باکتری باعث کاهش میزان پرولین نسبت به شرایط بدون کاربرد آن‌ها شد (شکل ۲). مطابق شکل ۳، کاربرد هورمون در مقایسه با عدم کاربرد آن، موجب کاهش میزان پرولین شد. همچنین در مقایسه ژنوتیپ‌ها، در سطح تنش خشکی ۳۰ درصد ظرفیت زراعی (با کاربرد هورمون) و ۶۰ درصد ظرفیت زراعی (بدون کاربرد هورمون)، ژنوتیپ صدری در مقایسه با ژنوتیپ یاس دارای انباشت پرولین بیشتری بود. در سایر تیمارها، تفاوت معناداری بین ژنوتیپ‌ها مشاهده نشد (شکل ۳). مطالعات متعددی تجمع پرولین را در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی مختلف گزارش کرده‌اند. تجمع پرولین می‌تواند تولید رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش خشکی را محدود سازد. افزون‌براین، پرولین با فراهم کردن منبع انرژی تنفسی برای گیاه، به مقاومت و بازیابی گیاه تحت تنش کمک می‌کند (Zulfiqar & Ashraf, 2023). بر اساس نتایج Soltani *et al.* (2023) دو رقم صدری و یاس تفاوت معنی‌داری در میزان پرولین در شرایط شاهد و تنش از خود نشان می‌دهند.

پرولین یکی از اسمولیت‌های رایج در گیاهان است که در پاسخ به انواع مختلف تنش‌های غیرزیستی، از جمله خشکی و شوری، در گونه‌های مختلف گیاهی تجمع می‌یابد (Sorkhi & Fateh, 2019). علاوه‌براین، افزودن اسیدسالیسیلیک در غلظت‌های مختلف باعث افزایش میزان پرولین شده و این امر موجب بهبود مقاومت گیاه به تنش خشکی می‌شود (یزدان‌پناه و همکاران، ۱۳۸۸). تلقیح گیاهان با *Rhizobium leguminosarum* به‌طور چشم‌گیری باعث افزایش میزان پرولین شد که این امر می‌تواند بیانگر نقش باکتری در القای تحمل به خشکی از طریق تنظیم اسمزی و بهبود سازوکارهای دفاعی گیاه باشد. همچنین این تلقیح موجب بهبود سایر صفات فیزیولوژیکی از جمله RWC و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد (AbdelMotlb *et al.*, 2023).



شکل ۲. مقایسه میانگین اثرات آبیاری، هورمون، باکتری و ژنوتیپ بر محتوای پرولین در لوبیای معمولی. آبیاری در سه سطح شاهد (i₁) (۹۰ درصد ظرفیت زراعی)، ۶۰ (i₂) و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی (i₃)، باکتری در دو سطح (عدم تلقیح با باکتری (b₁)، تلقیح با جدایه باکتریایی (b₂)) و هورمون در دو غلظت صفر (h₁) و ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید (h₂). حروف متفاوت بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار دارند.

Figure 2. Comparison of the mean effects of irrigation, hormone, bacteria, and genotype on proline content in common bean. Irrigation was applied at three levels: Control (i₁) (90% field capacity), 60% field capacity (i₂), and 30% field capacity (i₃). Bacterial treatment was applied at two levels: non-inoculated (b₁) and inoculated with bacterial isolate (b₂). Hormone treatment consisted of two concentrations: 0 mM (h₁) and 0.5 mM salicylic acid (h₂). Different letters indicate significant differences based on the LSD test at the 1% probability level.



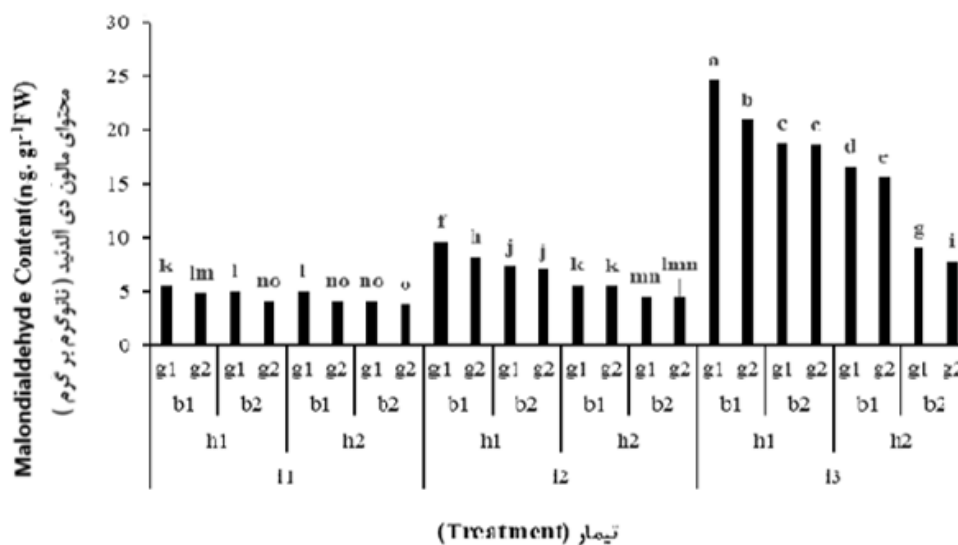
شکل ۳. مقایسه میانگین اثرات آبیاری، هورمون، باکتری و ژنوتیپ بر محتوی پرولین در لوبیای معمولی. آبیاری در سه سطح شاهد (i₁) (۹۰ درصد ظرفیت زراعی)، ۶۰ (i₂) و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی (i₃)، ژنوتیپ‌های لوبیای معمولی شامل یاس (g₁) و صدری (g₂) و هورمون در دو غلظت صفر (h₁) و ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید (h₂). حروف متفاوت بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار دارند.

Figure 3. Comparison of the mean effects of irrigation, hormone, bacteria, and genotype on proline content in common bean. Irrigation was applied at three levels: Control (i₁) (90% field capacity), 60% field capacity (i₂), and 30% field capacity (i₃). The common bean genotypes included Yas (g₁) and Sadri (g₂). Hormone treatment consisted of two concentrations: 0 mM (h₁) and 0.5 mM salicylic acid (h₂). Different letters indicate significant differences based on the LSD test at the 1% probability level.

۲-۳. تأثیر خشکی بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید و نشت الکترولیت

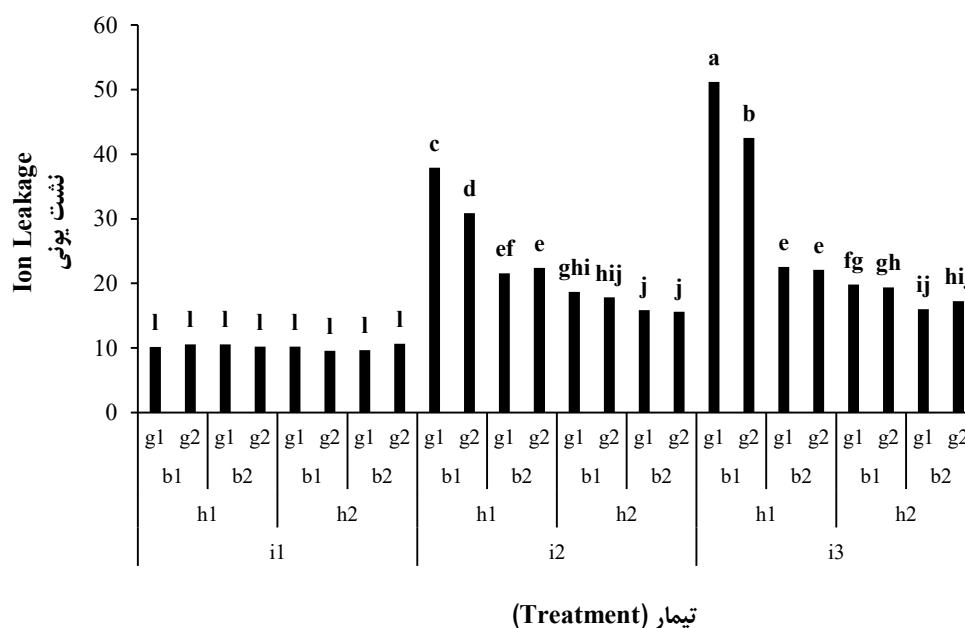
نتایج نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی، میزان مالون‌دی‌آلدئید افزایش یافت، به طوری که در سطح تنش ۳۰ درصد ظرفیت زراعی، بیشترین میزان مالون‌دی‌آلدئید مشاهده شد. همچنین، کاربرد باکتری در مقایسه با عدم کاربرد آن، در هر سه سطح تنش خشکی باعث کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدئید شد؛ این امر نشان می‌دهد که استفاده از باکتری موجب کاهش آسیب به غشاهای سلولی و کاهش نشت الکترولیت سلول‌ها می‌شود. شرایط خشکی همراه با تلقیح باکتری و تیمار با اسیدسالیسیلیک (SA)، بر سطح مالون‌دی‌آلدئید تأثیر گذاشتند (شکل ۴) که به عنوان شاخصی برای سنجش تنش اکسیداتیو و آسیب سلولی محسوب می‌شود. تیمارهای حاوی SA و باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) به طور قابل توجهی نشانگرهای استرس اکسیداتیو را کاهش داده، روابط آبی گیاه را بهبود و تحمل به خشکی را افزایش دادند (شکل ۴). کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید، بیشتر از این فرضیه حمایت می‌کند که این تیمارها آسیب غشایی ناشی از استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهند (Zamani *et al.*, 2024).

توانایی تیمارهای SA و باکتری ریزوبیوم در حفظ سطح بالاتری از فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، در حالی که میزان مالون‌دی‌آلدئید را کاهش می‌دهند، اثربخشی این تیمارها را در محافظت از ساختارهای سلولی، به ویژه تحت شرایط تنش خشکی، نشان می‌دهد (شکل ۴). مالون‌دی‌آلدئید در تیمار تلقیح بذر و اسپری سالیسیلیک‌اسید با کاهش روبرو شدند که این موضوع نشان‌دهنده کاهش تنش اکسیداتیو و اثر مثبت این دو تیمار در تخفیف اثر تنش خشکی بود. همچنین تنش خشکی به تنهایی و بدون بکارگیری تیمارهای هورمونی و باکتریایی می‌تواند موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه لوبیا شود (Zamani *et al.*, 2024). این یافته با مطالعاتی که نشان می‌دهند تلقیح با PGPR و محلول‌پاشی هورمونی با جلوگیری از آسیب غشایی، موجب افزایش تحمل به خشکی در محصولات می‌مانند *Phaseolus vulgaris* می‌شود مطابقت دارد.



شکل ۴. مقایسه میانگین اثرات آبیاری، هورمون، باکتری و ژنوتیپ بر محتوی مالون دی‌الدهید در لوبیای معمولی. آبیاری در سه سطح شاهد (i₁) (۹۰ درصد ظرفیت زراعی)، ۶۰ (i₂) و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی (i₃)، ژنوتیپ‌های لوبیای معمولی شامل صدری (g₂) و یاس (g₁)، باکتری در دو سطح (عدم تلقیح با باکتری (b₁))، تلقیح با جدایه باکتریایی (b₂) و هورمون در دو غلظت صفر (h₁) و ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید (h₂). حروف متفاوت بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار دارند.

Figure 4. Comparison of the mean effects of irrigation, hormone, bacteria, and genotype on malondialdehyde (MDA) content in common bean. Irrigation was applied at three levels: Control (i₁) (90% field capacity), 60% field capacity (i₂), and 30% field capacity (i₃). The common bean genotypes included Sadri (g₂) and Yas (g₁). Bacterial treatment was applied at two levels: Non-inoculated (b₁) and inoculated with bacterial isolate (b₂). Hormone treatment consisted of two concentrations: 0 mM (h₁) and 0.5 mM salicylic acid (h₂). Different letters indicate significant differences based on the LSD test at the 1% probability level.



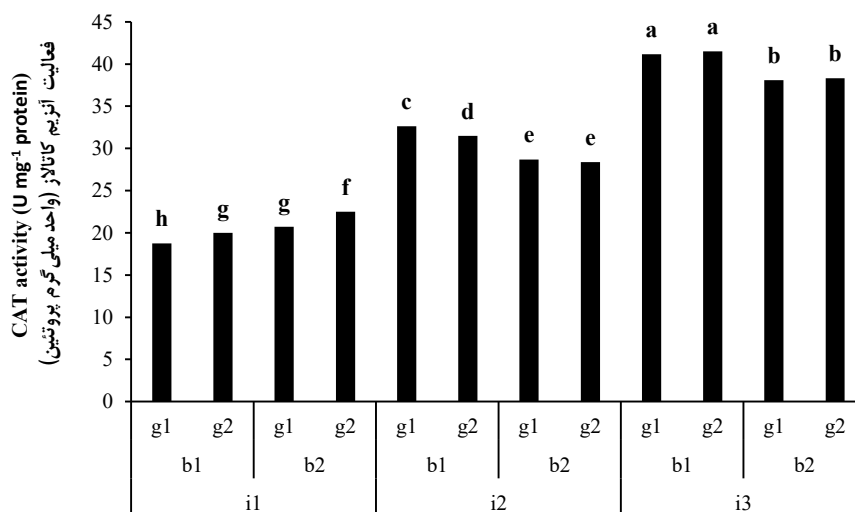
شکل ۵. مقایسه میانگین اثرات آبیاری، هورمون، باکتری و ژنوتیپ بر نشت الکترولیت در لوبیای معمولی. آبیاری در سه سطح شاهد (i₁) (۹۰ درصد ظرفیت زراعی)، ۶۰ (i₂) و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی (i₃)، ژنوتیپ‌های لوبیای معمولی شامل یاس (g₁) و صدری (g₂)، باکتری در دو سطح (عدم تلقیح با باکتری (b₁))، تلقیح با جدایه باکتریایی (b₂) و هورمون در دو غلظت صفر (h₁) و ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید (h₂). حروف متفاوت بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار دارند.

Figure 5. Comparison of the mean effects of irrigation, hormone, bacteria, and genotype on electrolyte leakage in common bean. Irrigation was applied at three levels: Control (i₁) (90% field capacity), 60% field capacity (i₂), and 30% field capacity (i₃). The common bean genotypes included Yas (g₁) and Sadri (g₂). Bacterial treatment was applied at two levels: Non-inoculated (b₁) and inoculated with bacterial isolate (b₂). Hormone treatment consisted of two concentrations: 0 mM (h₁) and 0.5 mM salicylic acid (h₂). Different letters indicate significant differences based on the LSD test at the 1% probability level.

با افزایش شدت تنش خشکی، میزان نشت الکترولیت افزایش یافت، به طوری که در سطح تنش ۳۰ درصد ظرفیت زراعی، بیشترین میزان نشت الکترولیت مشاهده شد. همچنین، استفاده از هورمون و باکتری در مقایسه با عدم کاربرد آنها، در هر سه سطح تنش خشکی موجب کاهش نشت الکترولیت شد. مشاهدات نشان داد که نشت الکترولیت و تجمع مالون‌دی‌آلدئید به شدت تحت تأثیر میزان تنش خشکی قرار دارند (جدول‌های ۲ و ۳، شکل‌های ۴ و ۵). در شرایط تنش خشکی، محتوای نسبی آب برگ (RWC) نقش مهمی در تحمل گیاه به تنش ایفا می‌کند، چرا که از طریق تجمع مواد محافظ اسمزی باعث تنظیم اسمزی می‌شود (Karimi *et al.*, 2018). در این مطالعه، کاهش نشت یونی در حضور اسیدسالیسیلیک نشان می‌دهد که این شبه هورمون گیاهی قادر است با تحریک سامانه دفاعی آنتی‌اکسیدانی، از اکسیداسیون لیپیدهای غشا جلوگیری کرده و ساختار آن را حفظ کند (Rajeshwari & Bhuvaneshwari, 2017). مطالعات نشان داده‌اند که همزیستی لوبیا با ریزوبیوم می‌تواند در بهبود پایداری غشای سلولی مؤثر باشد و از میزان نشت الکترولیت‌ها بکاهد. Zahran *et al.* (2021) گزارش کردند که تلقیح گیاه سویا با سویه‌های مؤثر ریزوبیوم در شرایط تنش خشکی منجر به کاهش قابل توجه نشت یونی شد که این امر به حفظ بهتر ساختار غشا، کاهش آسیب اکسیداتیو، و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نسبت داده شد. این نتایج تأکیدی است بر نقش حفاظتی ریزوبیوم در پایداری فیزیولوژیک گیاه در مواجهه با تنش خشکی. در مجموع، کاهش نشت یونی در تیمارهای حاوی باکتری و اسیدسالیسیلیک، به‌ویژه در رقم متحمل، حاکی از نقش کلیدی این عوامل در حفظ ساختار غشاهای سلولی و افزایش تحمل گیاه به خشکی است.

۳-۳. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

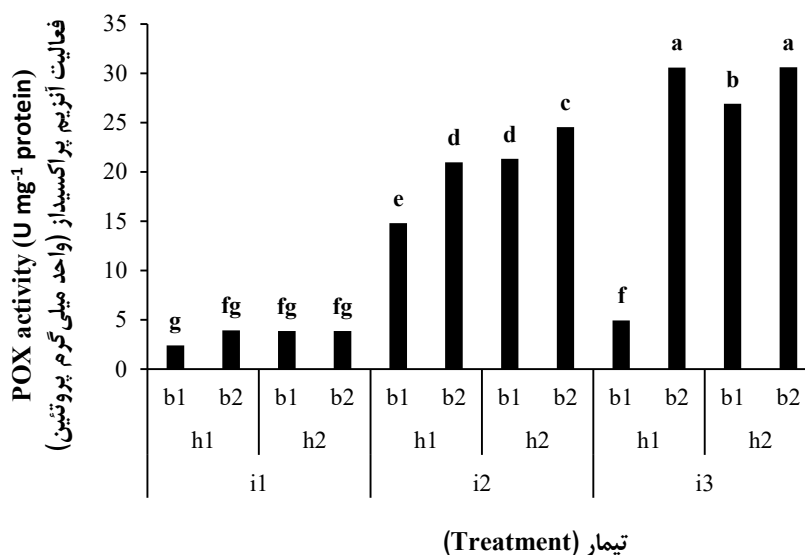
نتایج نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافت، به طوری که در سطح تنش ۳۰ درصد ظرفیت زراعی، بالاترین میزان کاتالاز مشاهده شد. همچنین، کاربرد باکتری در مقایسه با عدم کاربرد آن، در هر سه سطح تنش خشکی موجب کاهش میزان کاتالاز شد.



تیمار (Treatment)

شکل ۶. مقایسه میانگین اثرات آبیاری، هورمون، باکتری و ژنوتیپ بر فعالیت آنزیم کاتالاز در لوبیای معمولی. آبیاری در سه سطح شاهد (i₁) (۹۰ درصد ظرفیت زراعی)، ۶۰ (i₂) و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی (i₃)، ژنوتیپ‌های لوبیای معمولی شامل یاس (g₁) و صدری (g₂) و باکتری در دو سطح (عدم تلقیح با باکتری (b₁)، تلقیح با جدایه باکتریایی (b₂)). حروف متفاوت بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار دارند.

Figure 6. Comparison of the mean effects of irrigation, hormone, bacteria, and genotype on catalase enzyme activity in common bean. Irrigation was applied at three levels: Control (i₁) (90% field capacity), 60% field capacity (i₂), and 30% field capacity (i₃). The common bean genotypes included Yas (g₁) and Sadri (g₂). Bacterial treatment was applied at two levels: Non-inoculated (b₁) and inoculated with bacterial isolate (b₂). Different letters indicate significant differences based on the LSD test at the 1% probability level.

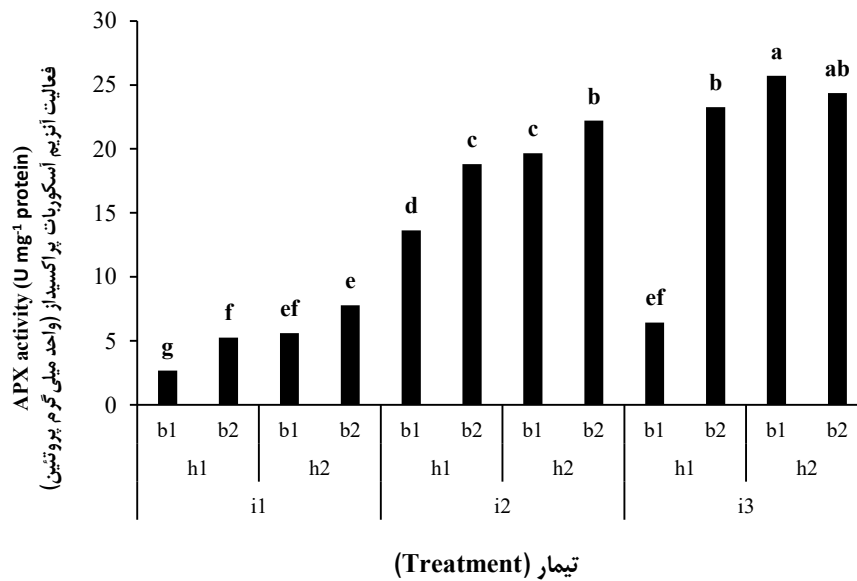


شکل ۷. مقایسه میانگین اثرات آبیاری، هورمون، باکتری و ژنوتیپ بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در لوبیای معمولی. آبیاری در سه سطح شاهد (i₁) (۹۰ درصد ظرفیت زراعی)، ۶۰ (i₂) و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی (i₃)، باکتری در دو سطح (عدم تلقیح با باکتری (b₁))، تلقیح با جدایه باکتریایی (b₂) و هورمون در دو غلظت صفر (h₁) و ۰/۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید (h₂). حروف متفاوت بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی دار دارند.

Figure 7. Comparison of the mean effects of irrigation, hormone, bacteria, and genotype on peroxidase enzyme activity in common bean. Irrigation was applied at three levels: Control (i₁) (90% field capacity), 60% field capacity (i₂), and 30% field capacity (i₃). Bacterial treatment was applied at two levels: Non-inoculated (b₁) and inoculated with bacterial isolate (b₂). Hormone treatment consisted of two concentrations: 0 mM (h₁) and 0.5 mM salicylic acid (h₂). Different letters indicate significant differences based on the LSD test at the 1% probability level.

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت؛ به طوری که در سطح تنش ۳۰ درصد ظرفیت زراعی، بالاترین میزان پراکسیداز مشاهده شد. همچنین، استفاده از هورمون و باکتری در مقایسه با عدم استفاده از آنها، در هر سه سطح تنش خشکی موجب افزایش فعالیت پراکسیداز شد. در تحقیقات مشابه گیاهانی که با سوبه ریزوباکتری محرک رشد گیاه *Rhizobium* (HAS31) تیمار شدند، در شرایط تنش خشکی توانستند فعالیت بالاتری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POD) را در مقایسه با گیاهان شاهد بدون تیمار با PGPR حفظ کنند. این موضوع نشان می‌دهد که حضور *Rhizobium* با تحریک سیستم دفاعی گیاه، نقش مهمی در کاهش آسیب‌های ناشی از تنش اکسیداتیو و افزایش توانایی گیاه برای سازگاری با خشکی ایفا می‌کند (Batool et al., 2020).

نتایج نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی، میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت؛ به طوری که در سطح تنش ۶۰ درصد ظرفیت زراعی، بالاترین میزان آسکوربات پراکسیداز مشاهده شد. همچنین، استفاده از هورمون و باکتری در مقایسه با عدم استفاده از آنها، در هر سه سطح تنش خشکی موجب افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز شد. فعالیت بالاتر آنزیم‌هایی مانند APX، به‌ویژه در شرایط خشکی، سودمند است؛ زیرا تعادل بین تولید و حذف گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را حفظ کرده و از تجمع بیش از حد این مولکول‌ها که می‌تواند به شدت ساختار و عملکرد سلولی را مختل کند، جلوگیری می‌کند (Laxa et al., 2019). افزایش فعالیت APX تضمین می‌کند که H₂O₂ به‌طور مؤثر سم‌زدایی شود، در نتیجه از کلروپلاست‌ها محافظت کرده و کارایی فتوسنتز را حتی در شرایط کمبود آب حفظ می‌کند. این افزایش ظرفیت مهار ROS، در نهایت به بهبود تحمل به خشکی در گیاهان تیمار شده کمک می‌کند (Hussain et al., 2019). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، آسیب اکسیداتیو را به‌ویژه در شرایط محدودیت آبی به حداقل می‌رساند و در نتیجه از فرآیندهای سلولی حیاتی، از جمله فتوسنتز، محافظت می‌کند (Moradi & Piri, 2018). به‌عنوان مثال، در گیاه لوبیا، تنش خشکی به‌طور قابل توجهی فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی را در مقایسه با شرایط آبی معمولی افزایش داده است (Desoky et al., 2021).



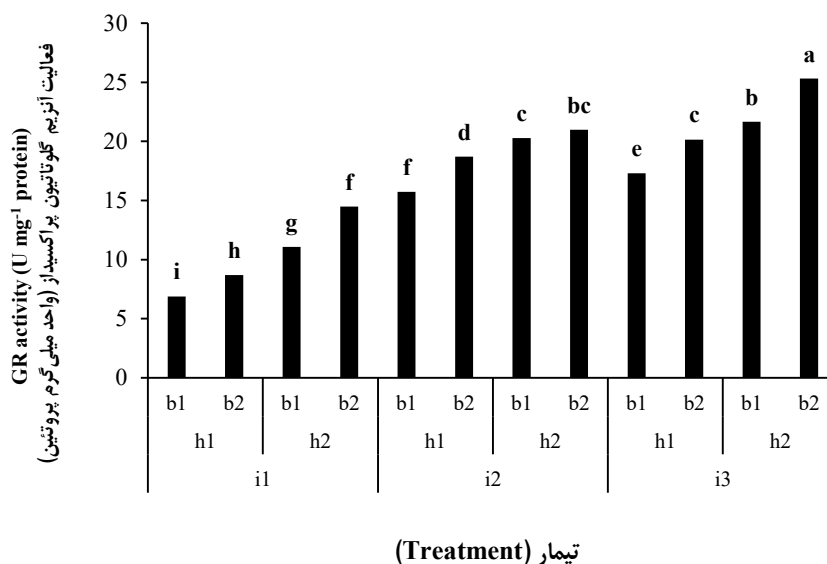
شکل ۸. مقایسه میانگین اثرات آبیاری، هورمون، باکتری و ژنوتیپ بر فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز در لوبیای معمولی. آبیاری در سه سطح شاهد (i₁) (۹۰ درصد ظرفیت زراعی)، ۶۰ (i₂) و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی (i₃)، باکتری در دو سطح (عدم تلقیح با باکتری (b₁)، تلقیح با جدایه باکتریایی (b₂)) و هورمون در دو غلظت صفر (h₁) و ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید (h₂). حروف متفاوت بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار دارند.

Figure 8. Comparison of the mean effects of irrigation, hormone, bacteria, and genotype on ascorbate peroxidase activity in common bean. Irrigation was applied at three levels: Control (i₁) (90% field capacity), 60% field capacity (i₂), and 30% field capacity (i₃). Bacterial treatment was applied at two levels: Non-inoculated (b₁) and inoculated with bacterial isolate (b₂). Hormone treatment consisted of two concentrations: 0 mM (h₁) and 0.5 mM salicylic acid (h₂). Different letters indicate significant differences based on the LSD test at the 1% probability level.

با افزایش شدت تنش خشکی، میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون‌ردوکتاز افزایش یافت؛ به طوری که در سطح تنش ۳۰ درصد ظرفیت زراعی، بالاترین میزان گلوکاتایون‌ردوکتاز مشاهده شد. همچنین، استفاده از هورمون و باکتری در مقایسه با عدم استفاده از آنها، در هر سه سطح تنش خشکی موجب افزایش فعالیت گلوکاتایون‌ردوکتاز شد. همچنین، استفاده از هورمون و باکتری در مقایسه با عدم استفاده از آنها، در هر سه سطح تنش خشکی موجب افزایش فعالیت گلوکاتایون‌پراکسیداز شد. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، به‌ویژه کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز، پراکسیداز یک نتیجه قابل توجه از استفاده از هورمون سالیسیلیک‌اسید و باکتری ریزوبیوم بود (شکل‌های ۶ تا ۹). این افزایش نشان‌دهنده تقویت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی توسط این تیمارها، کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود تحمل به خشکی است. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز نقش مهمی در تجزیه H₂O₂ به آب و اکسیژن ایفا می‌کنند، درحالی‌که آسکوربات‌پراکسیداز با استفاده از آسکوربات، یک مکانیسم ضروری در شرایط خشکسالی، H₂O₂ را کاهش می‌دهد؛ افزایش فعالیت آسکوربات‌پراکسیداز در طول خشکسالی به جلوگیری از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن کمک می‌کند که در غیر این صورت می‌تواند منجر به آسیب سلولی شود (Sharma et al., 2019).

در پژوهشی (Kusvuran & Dasgan, 2017) که اثر تنش خشکی را بر آسیب‌های اکسیداتیو و تغییرات آنتی‌اکسیدان‌ها در دو رقم لوبیا Bn-16 (حساس به خشکسالی) و Bn-150 (مقاوم به خشکسالی) مورد بررسی قرار دادند، مشاهده شد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، مانند سوپراکسیددیسموتاز، آسکوربات‌پراکسیداز و گلوکاتایون‌ردوکتاز، در ژنوتیپ‌های مقاوم (Bn-150) نسبت به ژنوتیپ‌های حساس (Bn-16) افزایش بیشتری داشت. همچنین پراکسیداسیون لیپیدی با افزایش شدت خشکی در همه ژنوتیپ‌ها افزایش یافت. این نتایج نشان داد که یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی، اسمولیت‌ها (مانند پرولین) نقش مهمی در لوبیا معمولی (*Phaseolus vulgaris* L.) در طول تنش خشکی و بازیابی دارند. باکتری‌های اندوفیت و کاربرد سالیسیلیک‌اسید (SA) باعث بهبود رشد، خواص بیوشیمیایی و جذب مواد مغذی در لوبیا سفید تحت تنش خشکی می‌شوند (Mehrasa et al., 2022). در پژوهشی دیگر بیان شد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌طور قابل توجهی در گیاهان تحت تیمار، در شرایط خشکی، افزایش یافت. شواهد متعددی بیانگر آن است که اسیدسالیسیلیک در گیاهان تحت تنش با گونه‌های فعال اکسیژن و گلوکاتایون برهم‌کنش داشته و این

تعامل نقش مهمی در تنظیم پاسخ‌های دفاعی ایفا می‌کند. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که ارتباط میان اسیدسالیسیلیک، گونه‌های فعال اکسیژن و گلوتاتیون با فرآیندهای تنظیمی رونویسی ژن‌های دفاعی مرتبط است. علاوه بر این، تغییرات وضعیت اکسید و احیا (ردوکس) در تنظیم‌کننده‌ها و هم‌تنظیم‌کننده‌های درگیر در مسیرهای وابسته به اسیدسالیسیلیک می‌تواند الگوهای زمانی بیان ژن‌های دفاعی را در واکنش به تنش‌های محیطی تعیین کند (Herrera-Vásquez *et al.*, 2015).



شکل ۹. مقایسه میانگین اثرات آبیاری، هورمون، باکتری و ژنوتیپ بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز در لوبیای معمولی. آبیاری در سه سطح شاهد (i₁) (۹۰ درصد ظرفیت زراعی)، ۶۰ (i₂) و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی (i₃)، باکتری در دو سطح (عدم تلقیح با باکتری (b₁))، تلقیح با جدایه باکتریایی (b₂) و هورمون در دو غلظت صفر (h₁) و ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید (h₂)، حروف متفاوت بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار دارند.

Figure 9. Comparison of the mean effects of irrigation, hormone, bacteria, and genotype on glutathione reductase enzyme activity in common bean. Irrigation was applied at three levels: Control (i₁) (90% field capacity), 60% field capacity (i₂), and 30% field capacity (i₃). Bacterial treatment was applied at two levels: Non-inoculated (b₁) and inoculated with bacterial isolate (b₂). Hormone treatment consisted of two concentrations: 0 mM (h₁) and 0.5 mM salicylic acid (h₂). Different letters indicate significant differences based on the LSD test at the 1% probability level.

همچنین باید در نظر داشت که تفاوت ژنوتیپ‌های مختلف لوبیا تحت تنش خشکی عمدتاً در صفاتی مثل نرخ رشد، عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیکی، محتوای کلروفیل، محتوای نسبی آب برگ، میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و پراکسیداز) مشاهده می‌شود. ارقام مقاوم معمولاً کاهش کمتری در عملکرد و ویژگی‌های فیزیولوژیکی نشان می‌دهند و افزایش بیشتری در فعالیت آنتی‌اکسیدانی و تجمع پرولین دارند (سپهری و همکاران، ۱۳۹۴). به این ترتیب، می‌توان این صفات را به عنوان شاخص‌هایی برای مقایسه بین ارقام و بررسی تفاوت حساسیت آن‌ها به خشکی در نظر گرفت. به طور کلی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با افزایش سطوح تنش خشکی در همه ژنوتیپ‌ها به طور قابل توجهی افزایش یافت (شکل‌های ۶، ۷، ۸ و ۹). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی معمولاً همبستگی‌های مثبت قوی با یکدیگر دارند که نشان می‌دهد اغلب در پاسخ به تنش اکسیداتیو همزمان القا یا سرکوب می‌شوند (شکل‌های ۶، ۷، ۸ و ۹) که نشان‌دهنده همبستگی مثبت بین این آنزیم‌ها در مدیریت تنش اکسیداتیو است.

۴. نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج نشان داد که تمامی خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو ژنوتیپ لوبیا تحت تنش خشکی تغییرات معنی‌داری یافت. همچنین ژنوتیپ صدری با افزایش بیشتر فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی توانایی بهتری در کاهش آسیب اکسیداتیو داشت. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌طور قابل توجهی در گیاهان تیمار شده با هورمون سالیسیلیک‌اسید و باکتری‌های ریزوبیوم

تحت تنش خشکی افزایش یافت. این مطالعه پتانسیل تیمارهای تلقیح بذر با باکتری و هورمون را در افزایش تحمل به خشکی در لوبیاهای معمولی نشان می‌دهد و رویکردی مناسب برای افزایش تحمل به تنش را ارائه می‌کند. استفاده از تیمارهای سالیسیلیک‌اسید و باکتری ریزوبیوم سویه R160 با تقویت چندین مکانیسم فیزیولوژیکی و مولکولی، اثرات ناشی از خشکی را در گیاه لوبیای معمولی کاهش داد. این تیمارها با حفظ رطوبت نسبی بالاتر سلول و کاهش تنش اکسیداتیو از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، به افزایش تحمل به تنش کمک می‌کنند و با افزایش سطح پرولین بیشتر از تنظیم اسمزی پشتیبانی می‌کنند. همچنین ارقام مقاوم در مقایسه با ارقام حساس، دارای فعالیت بالاتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و میزان بیشتری پروتئین و پرولین بودند.

۵. منابع

- AbdelMotlb, N.A., Abd El-Hady, S.A., Abdel-all, F.S., Ghoname, A.A.A., & Youssef, S.M.S. (2023). Rhizobium enhanced drought stress tolerance in green bean plants through improving physiological and biochemical biomarkers. *Egyptian Journal of Horticulture*, 50(4). <https://doi.org/10.21608/ejoh.2023.211561.1246>.
- Adejumo, S.A. (2023). Sustainable crop nutrition for ameliorating biotic stress in grain legumes and ensuring food security. In *Advances in Legume Research: Physiological Responses and Genetic Improvement for Biotic Stress Resistance: Bentham Science Publishers*, 130-141.
- Alamer, K.H., & Fayez, K.A. (2020). Impact of salicylic acid on the growth and physiological activities of parsley plants under lead toxicity. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 26, 1361-1373. <https://doi.org/10.1007/s12298-020-00830-1>.
- Anjum, S.A., Ashraf, U., Zohaib, A., Tanveer, M., Naeem, M., Ali, I., Tabassum, T., & Nazir, U. (2017). Growth and development responses of crop plants under drought stress: A review. *Zemdirbyste-Agriculture*, 104(3), 267-276. <https://doi.org/10.13080/z-a.2017.104.034>.
- Arif, Y., Sami, F., Siddiqui, H., Bajguz, A., & Hayat, S. (2020). Salicylic acid in relation to other phytohormones in plant: A study towards physiology and signal transduction under challenging environment. *Environmental and Experimental Botany*, 175, 104040. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104040>.
- Batool, T., Ali, S., Seleiman, M.F., Naveed, N.H., Ali, A., Ahmed, K., Abid, M., Rizwan, M., Shahid, M.R., Alotaibi, M., Al-Ashkar, I., & Mubushar, M. (2020). Plant growth promoting rhizobacteria alleviates drought stress in potato in response to suppressive oxidative stress and antioxidant enzymes activities. *Scientific Reports*, 10, 16975. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73489-z>.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>.
- Beigzadeh, S., Maleki, A., Heydari, M.M., Khourgami, A., & Rangin, A. (2019). Ecological and physiological performance of white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) affected by algae extract and salicylic acid spraying under water deficit stress. *Applied Ecology & Environmental Research*, 17(1). http://dx.doi.org/10.15666/aecer/1701_343355.
- Behera, S.K., & Panda, R.K. (2009). Effect of fertilization and irrigation schedule on water and fertilizer solute transport for wheat crop in a subhumid subtropical region. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 130, 141-155. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2008.11.010>.
- Bharti, R., Sharma, D., & Kunjam, S. (2024). Role of abiotic and biotic stress management practices in extreme environment in monitoring and improving physiological properties of plant. *Modern Techniques to Sustainable Agriculture; EDU Publishers: Lucknow, India*, 125 pp.
- Bhattacharya, A., & Bhattacharya, A. (2021). Effect of soil water deficit on growth and development of plants: A review. *Soil water deficit and physiological issues in plants*, 393-488. https://doi.org/10.1007/978-981-33-6276-5_5.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Castro-Guerrero, N.A., Isidra-Arellano, M.C., Mendoza-Cozatl, D.G., & Valdés-López, O. (2016). Common bean: A legume model on the rise for unraveling responses and adaptations to iron, zinc, and phosphate deficiencies. *Frontiers in Plant Science*, 7, 600. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00600>.
- Cohen, I., Zandalinas, S.I., Huck, C., Fritschi, F.B., & Mittler, R. (2021). Meta-analysis of drought and heat stress combination impact on crop yield and yield components. *Physiologia Plantarum*, 171(1), 66-76. <https://doi.org/10.1111/ppl.13203>.
- Daniel, A.I., Fadaka, A.O., Gokul, A., Bakare, O.O., Aina, O., Fisher, S., Burt, A.F., Mavumengwana, V., Keyster, M., & Klein, A. (2022). Biofertilizer: The future of food security and food safety. *Microorganisms*, 10(6), 1220. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10061220>.
- Desoky, E.S.M., Mansour, E., El-Sobky, E.S.E., Abdul-Hamid, M.I., Taha, T.F., Elakkad, H.A., Arnaout, S.M., Eid, R.S., El-Tarabily, K.A., & Yasin, M.A. (2021). Physio-biochemical and agronomic responses of faba

- beans to exogenously applied nano-silicon under drought stress conditions. *Frontiers in Plant Science*, *12*, 637783. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.637783>.
- Emamverdian, A., Ding, Y., & Mokhberdorran, F. (2020). The role of salicylic acid and gibberellin signaling in plant responses to abiotic stress with an emphasis on heavy metals. *Plant Signaling & Behavior*, *15*(7), 1777372.
- Feizian, M., Hemmati, A., AsadiRahmani, H., & Azizi, K. (2017). Effects of rhizobium bacteria strains on yield components of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in drought stress condition. *Journal of Soil Biology*, *4*(2), 165-176. Doi: 10.22092/sbj.2017.109311.
- Foyer, C.H., & Halliwell, B. (1976). The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: A proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta*, *133*(1), 21–25. <https://doi.org/10.1007/BF00386001>.
- Gharib, F.A.E.L., Osama, K., Sattar, A.M.A.E., & Ahmed, E.Z. (2024). Impact of *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis salina*, and *Arthrospira platensis* as bio-stimulants on common bean plant growth, yield and antioxidant capacity. *Scientific Reports*, *14*(1), 1398. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-50040-4>.
- Gill, S.S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, *48*(12), 909-930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>.
- Gontia-Mishra, I., Sapre, S., Sharma, A., & Tiwari, S. (2016). Amelioration of drought tolerance in wheat by the interaction of plant growth-promoting rhizobacteria. *Plant Biology*, *18*(6), 992-1000. <https://doi.org/10.1111/plb.12505>.
- 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.
- Herrera-Vásquez, A., Salinas, P., & Holuigue, L. (2015). Salicylic acid and reactive oxygen species interplay in the transcriptional control of defense genes expression. *Frontiers in Plant Science*, *6*, 171. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00171>.
- Hussain, S., Rao, M.J., Anjum, M.A., Ejaz, S., Zakir, I., Ali, M.A., Ahmad, N., & Ahmad, S. (2019). Oxidative stress and antioxidant defense in plants under drought conditions. *Plant abiotic stress tolerance: Agronomic, molecular and biotechnological approaches*, 207-219. https://doi.org/10.1007/978-3-030-06118-0_9.
- Ismail, M.A., Amin, M.A., Eid, A.M., Hassan, S.E.D., Mahgoub, H.A., Lashin, I., Abdelwahab, A.T., Azab, E., Gobouri, A.A., Elkelish, A., & Fouda, A. (2021). Comparative study between exogenously applied plant growth hormones versus metabolites of microbial endophytes as plant growth-promoting for *Phaseolus vulgaris* L. *Cells*, *10*(5), 1059. <https://doi.org/10.3390/cells10051059>.
- Jha, Y., Yadav, K.A., & Mohamed, H.I. (2023). Plant growth-promoting bacteria and exogenous phytohormones alleviate the adverse effects of drought stress in pigeon pea plants. *Plant and Soil*, 1-21. <https://doi.org/10.1007/s11104-023-06155-8>.
- Karimi, S., Rahemi, M., Rostami, A.A., & Sedaghat, S. (2018). Drought effects on growth, water content and osmoprotectants in four olive cultivars with different drought tolerance. *International Journal of Fruit Science*, *18*(3), 254-267. <https://doi.org/10.1080/15538362.2018.1438328>.
- Khan, M.I.R., Asgher, M., & Khan, N.A. (2014). Alleviation of salt-induced photosynthesis and growth inhibition by salicylic acid involves glycinebetaine and ethylene in mungbean (*Vigna radiata* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, *80*, 67-74. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.03.026>.
- Khan, N., Bano, A., Rahman, M.A., Guo, J., Kang, Z., & Babar, M.A. (2019). Comparative physiological and metabolic analysis reveals a complex mechanism involved in drought tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.) induced by PGPR and PGRs. *Scientific Reports*, *9*(1), 2097. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38702-8>.
- Khavari, H., & Shakerami, Q. (2019). Role of arbuscular mycorrhiza and *Azotobacter chroococcum* on growth and yield of different red bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *Plant Ecophysiology Journal*, *11*(38), 131–181.
- Kopecká, R., Kameniarová, M., Černý, M., Brzobohatý, B., & Novák, J. (2023). Abiotic stress in crop production. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(7), 6603. <https://doi.org/10.3390/ijms24076603>.
- Kuila, D., & Ghosh, S. (2022). Aspects, problems and utilization of Arbuscular Mycorrhizal (AM) application as bio-fertilizer in sustainable agriculture. *Current Research in Microbial Sciences*, *3*, 100107. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2022.100107>.
- Kumar, G., Singh, S., Singh, R., & Mishra, R. (2021). Role of physical agents in inducing genotoxicity and oxidative stress in plants. *Induced genotoxicity and oxidative stress in plants*. 65-102. https://doi.org/10.1007/978-981-16-2074-4_3.
- Kumar, M.S., Reddy, G.C., Phogat, M., & Korav, S. (2018). Role of bio-fertilizers towards sustainable agricultural development: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *7*(6), 1915-1921.
- Kumari, V.V., Banerjee, P., Verma, V.C., Sukumaran, S., Chandran, M.A.S., Gopinath, K.A., Venkatesh, G., Yadav, S.K., Singh, V.K., & Awasthi, N.K. (2022). Plant nutrition: An effective way to alleviate abiotic stress in agricultural crops. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(15), 8519. <https://doi.org/10.3390/ijms23158519>.

- Kusvuran, S., & Dasgan, H.Y. (2017). Effects of drought stress on physiological and biochemical changes in *Phaseolus vulgaris* (L.). *Legume Research-An International Journal*, 40(1), 55-62. <https://doi.org/10.18805/lr.v0i0.7025>.
- Laxa, M., Liebthal, M., Telman, W., Chibani, K., & Dietz, K.J. (2019). The role of the plant antioxidant system in drought tolerance. *Antioxidants*, 8(4), 94. <https://doi.org/10.3390/antiox8040094>.
- Lipiec, J., Doussan, C., Nosalewicz, A., & Kondracka, K. (2013). Effect of drought and heat stresses on plant growth and yield: A review. *International Agrophysics*, 27(4), 463-477. <https://doi.org/10.2478/intag-2013-0017>.
- Loboguerrero, A.M., Campbell, B.M., Cooper, P.J., Hansen, J.W., Rosenstock, T., & Wollenberg, E. (2019). Food and earth systems: Priorities for climate change adaptation and mitigation for agriculture and food systems. *Sustainability*, 11(5), 1372. <https://doi.org/10.3390/su11051372>.
- Martínez, J.P., Silva, H.F.L.J., Ledent, J.F., & Pinto, M. (2007). Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *European Journal of Agronomy*, 26(1), 30-38. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2006.08.003>.
- Martínez-Hidalgo, P., & Hirsch, A.M. (2017). The nodule microbiome: N₂-fixing rhizobia do not live alone. *Phytobiomes Journal*, 1(2), 70-82. <https://doi.org/10.1094/PBIOMES-12-16-0019-RVW>.
- Masheva, V., Spasova-Apostolva, V., Aziz, S., & Tomlekova, N. (2022). Variations in proline accumulation and relative water content under water stress characterize bean mutant lines (*P. vulgaris* L.). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 28, 430-436.
- McKay, H.M. (1992). Electrolyte leakage from fine roots of conifer seedlings: A rapid index of plant vitality following cold storage. *Canadian Journal of Forest Research*, 22(9), 1371-1377. <https://doi.org/10.1139/x92-182>.
- Mehrasa, H., Farnia, A., Kenarsari, M.J., & Nakhjavan, S. (2022). Endophytic bacteria and SA application improve growth, biochemical properties, and nutrient uptake in white beans under drought stress. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 22(3), 3268-3279. <https://doi.org/10.1007/s42729-022-00884-y>.
- Mladenov, P., Aziz, S., Topalova, E., Renaut, J., Planchon, S., Raina, A., & Tomlekova, N. (2023). Physiological responses of common bean genotypes to drought stress. *Agronomy*, 13(4), p.1022. <https://doi.org/10.3390/agronomy13041022>.
- Mombeni, M., & Abbasi, A. (2019). Biochemical responses of some common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes to drought stress. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 21(2), 407-421.
- Moradi, A., & Piri, R. (2018). Plant growth promoting rhizobacteria enhance salinity stress tolerance in cumin (*Cuminum cyminum* L.) during germination stage. *Journal of Plant Process and Function*, 6(22), 47-54. <http://jispp.iut.ac.ir/article-1-831-en.html>.
- Morante-Carballo, F., Montalván-Burbano, N., Quiñonez-Barzola, X., Jaya-Montalvo, M., & Carrión-Mero, P. (2022). What do we know about water scarcity in semi-arid zones? A global analysis and research trends. *Water*, 14(17), 2685. <https://doi.org/10.3390/w14172685>.
- Myers, J.R., & Kmiecik, K. (2017). Common bean: Economic importance and relevance to biological science research. The common bean genome, 1-20. https://doi.org/10.1007/978-3-319-63526-2_1.
- Naeem, M., Basit, A., Ahmad, I., Mohamed, H.I., & Wasila, H. (2020). Effect of salicylic acid and salinity stress on the performance of tomato plants. *Gesunde Pflanzen*, 72(4), 1-10. <https://doi.org/10.1007/s10343-020-00521-7>.
- Nahar, K., Hasanuzzaman, M., & Fujita, M. (2016). Roles of osmolytes in plant adaptation to drought and salinity: Osmolytes and plants acclimation to changing environment. *Emerging Omics Technologies*, 37-68. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2616-1_4.
- Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867-880.
- Naseem, H., & Bano, A. (2014). Role of plant growth-promoting rhizobacteria and their exopolysaccharide in drought tolerance of maize. *Journal of Plant Interactions*, 9(1), 689-701.
- Oguz, M.C., Aycan, M., Oguz, E., Poyraz, I., & Yildiz, M. (2022). Drought stress tolerance in plants: Interplay of molecular, biochemical and physiological responses in important development stages. *Physiologia*, 2(4), 180-197. <https://doi.org/10.3390/physiologia2040015>.
- Ojuederie, O.B., Olanrewaju, O.S., & Babalola, O.O. (2019). Plant growth promoting rhizobacterial mitigation of drought stress in crop plants: Implications for sustainable agriculture. *Agronomy*, 9(11), 712. <https://doi.org/10.3390/agronomy9110712>.
- Qiao, M., Hong, C., Jiao, Y., Hou, S., & Gao, H. (2024). Impacts of drought on photosynthesis in major food crops and the related mechanisms of plant responses to drought. *Plants*, 13(13), 1808. <https://doi.org/10.3390/plants13131808>.
- Pereira, G.J.G., Molina, S.M.G., Lea, P.J., & Azevedo, R.A.D. (2002). Activity of antioxidant enzymes in response to cadmium in *Crotalaria juncea*. *Plant and Soil*, 239(1), 123-132.

- Rajeshwari, V., & Bhuvaneshwari, V. (2017). Salicylic acid induced salt stress tolerance in plants. *International Journal of Plant Biology and Research*, 5(3), 1067.
- Ramezan, G., & Abbaszadeh, B. (2016). The effect of drought stress on yield, content, and percentage of essential oil of *Nepeta pogonosperma* Jamzad et Assadi under different plant densities. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 31(6), 1071–1085. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2016.105895>.
- Salem, K.F., Saleh, M.M., Abu-Ellail, F.F., Aldahak, L., & Alkuddsi, Y.A. (2021). The role of salicylic acid in crops to tolerate abiotic stresses. *Salicylic Acid-A versatile plant growth regulator*, 93-152. https://doi.org/10.1007/978-3-030-79229-9_7.
- Sepehri, A., Abbasi, R., & Karami, A. (2015). Effect of drought stress and salicylic acid on yield and yield components of red bean genotypes. *Journal of Crop Improvement*, 17(2), 123-136. <https://doi.org/10.22059/jci.2015.55196>.
- Sharma, P., Jha, A.B., & Dubey, R.S. (2019). Oxidative stress and antioxidative defense system in plants growing under abiotic stresses. In *handbook of plant and crop stress*, Fourth Edition, 93-136. CRC press.
- Sheteiwy, M.S., Ali, D.F.I., Xiong, Y.C., Brestic, M., Skalicky, M., Hamoud, Y.A., Ulhassan, Z., Shaghaleh, H., Abdelgawad, H., Farooq, M., & Sharma, A. (2021). Physiological and biochemical responses of soybean plants inoculated with *Arbuscular mycorrhizal* fungi and *Bradyrhizobium* under drought stress. *BMC Plant Biology*, 21, 1-21. <https://doi.org/10.1186/s12870-021-02949-z>.
- Sheteiwy, M.S., An, J., Yin, M., Jia, X., Guan, Y., He, F., & Hu, J. (2019). Cold plasma treatment and exogenous salicylic acid priming enhances salinity tolerance of *Oryza sativa* seedlings. *Protoplasma*, 256, 79-99. <https://doi.org/10.1007/s00709-018-1279-0>.
- Singh, P., Choudhary, K.K., Chaudhary, N., Gupta, S., Sahu, M., Tejaswini, B., & Sarkar, S. (2022). Salt stress resilience in plants mediated through osmolyte accumulation and its crosstalk mechanism with phytohormones. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1006617. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1006617>.
- Soltani, E. (2022). *The effect of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on biochemical, physiological, and molecular traits of some common bean (Phaseolus vulgaris L.) genotypes under drought stress*. Ph.D. Thesis. University of Tehran, Iran.
- Sorkhi, F., & Fateh, M. (2019). Effect of drought stress on leaf area index, photosynthesis, stomatal conductance and proline content in two pinto bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 12(2), 389-399. <https://doi.org/10.22077/escs.2018.1373.1294>.
- Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A.J.P.S. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151(1), 59-66.
- Vocciant, M., Grifoni, M., Fusini, D., Petruzzelli, G., & Franchi, E. (2022). The role of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in mitigating plant's environmental stresses. *Applied Sciences*, 12(3), 1231. <https://doi.org/10.3390/app12031231>.
- Wahab, A., Abdi, G., Saleem, M.H., Ali, B., Ullah, S., Shah, W., Mumtaz, S., Yasin, G., Muresan, C.C., & Marc, R.A. (2022). Plants' physio-biochemical and phyto-hormonal responses to alleviate the adverse effects of drought stress: A comprehensive review. *Plants*, 11(13), 1620. <https://doi.org/10.3390/plants11131620>.
- Yazdanpanah, S., Abbasi, F., & Baqizadeh, A. (2009). Effect of salicylic acid and ascorbic acid treatments on proline, sugar, and protein content in maize under drought stress. *Proceedings of the 1st National Conference on Environmental Stresses in Agricultural Sciences*, University of Birjand, Iran. (In Persian).
- Youssef, S.M., López-Orenes, A., Ferrer, M.A., & Calderón, A.A. (2023). Foliar application of salicylic acid enhances the endogenous antioxidant and hormone systems and attenuates the adverse effects of salt stress on growth and yield of french bean plants. *Horticulturae*, 9(1), 75. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9010075>.
- Zahran, H.H., Abbas, M.M., & Abdel Wahab, A.M. (2021). Physiological and biochemical responses of *Phaseolus vulgaris-Rhizobium* symbiosis to drought stress. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(4), 2297–2306. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.01.061>.
- Žalnėravičius, R., Paškevičius, A., Samukaitė-Bubnienė, U., Ramanavičius, S., Vilkienė, M., Mockevičienė, I., & Ramanavičius, A. (2022). Microbial fuel cell based on nitrogen-fixing *Rhizobium anhuiense* bacteria. *Biosensors*, 12(2), 113. <https://doi.org/10.3390/bios12020113>.
- Zamani, F., Hosseini, N.M., Oveisi, M., Arvin, K., Rabieyan, E., Torkaman, Z., & Rodriguez, D. (2024). Rhizobacteria and phytohormonal interactions increase drought tolerance in *Phaseolus vulgaris* through enhanced physiological and biochemical efficiency. *Scientific Reports*, 14(1), 30761. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-79422-y>.
- Zulfiqar, F., & Ashraf, M. (2023). Proline alleviates abiotic stress induced oxidative stress in plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(8), 4629-4651. <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10839-3>.