

بهبود فتوسنتز، تبادلات گازی و محتوای کلروفیل لوبیا با کاربرد اپی براسینولید در شرایط تنش خشکی

- مهسا محمدی^۱، افشین توکلی^{۲*}، مجید پوریوسف^۳، احسان محسنی فرد^۴
۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان
۲. دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان
۳. دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان
۴. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان
(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۹/۲۸ - تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۲/۰۲)

چکیده

به منظور مطالعه کاربرد براسینواستروئید بر بهبود فتوسنتز، تبادلات گازی و محتوای کلروفیل لوبیا، پژوهشی در سال زراعی ۱۳۹۴-۱۳۹۵ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان، به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. در این پژوهش، سطوح آبیاری (در دو سطح آبیاری مطلوب و تنش خشکی) در کرت‌های اصلی قرار گرفت و ارقام لوبیا (در دو سطح رقم کوشا و ژنوتیپ COS16) و سطوح مختلف براسینواستروئید (در چهار سطح ۰، ۲، ۴ و ۶ میکرومولار) به صورت فاکتوریل در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. در مرحله گلدهی با قطع آبیاری، تنش خشکی اعمال شد و همزمان با اعمال تنش خشکی، بوته‌های لوبیا، با براسینواستروئید (اپی براسینولید) با غلظت‌های ذکر شده محلول‌پاشی شد. نتایج نشان داد که اعمال تنش خشکی بر غلظت CO₂ زیر روزنه‌ای، میزان تعرق، هدایت روزنه‌ای، سرعت فتوسنتز و محتوای کلروفیل تأثیر منفی داشت، اما با حذف تنش خشکی و آبیاری مجدد، گیاهان بهبود یافتند. کاربرد اپی براسینولید باعث به حداقل رساندن تأثیرات منفی تنش خشکی بر فتوسنتز، تبادلات گازی، محتوای کلروفیل و عملکرد دانه لوبیا شد. بالاترین عملکرد دانه با کاربرد غلظت ۲ میکرومولار اپی براسینولید (با میانگین ۲۰۶۸/۲ کیلوگرم بر هکتار) حاصل شد. بنابراین، کاربرد این هورمون را به عنوان راهکاری جهت افزایش مقاومت به تنش خشکی و افزایش عملکرد دانه لوبیا در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی می‌توان پیشنهاد نمود.

واژه‌های کلیدی: سرعت فتوسنتز، عملکرد دانه، غلظت CO₂ زیر روزنه‌ای، میزان تعرق، هدایت روزنه‌ای.

Improvement of photosynthesis, gas exchange and chlorophyll content of bean by application of Epibrassinolide under drought stress condition

Mahsa Mohammadi¹, Afshin Tavakoli^{2*}, Majid Pouryousef³, Ehsan Mohsenifard⁴

1 PhD student in Plant Physiology, Faculty of Agriculture, University of Zanjan.

2 Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Zanjan.

3 Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Zanjan.

4 Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Zanjan.

(Received: December 19, 2017- Accepted: April 22, 2018)

ABSTRACT

In order to study the photosynthesis, gas exchange and chlorophyll content of bean by application of Brassinosteroid, an experiment was conducted during 2016-2017 at the research farm of the University of Zanjan, in split factorial base on randomized complete block design with three replications. In this experiment, irrigation levels (in two levels of optimal irrigation and drought stress) were applied to main plots and bean cultivars (at two levels of Kusha cultivar and COS16 genotype) and different levels of Brassinosteroid (at four levels of 0, 2, 4 and 6 μM) were allocated to sub plots as factorial. In the flowering stage, by cutting irrigation, drought stress was applied and simultaneously with drought stress, bean plants, were sprayed with Brassinosteroid (Epibrassinolide) at the indicated concentrations. The results showed that drought stress had negative effects on the intercellular CO₂ concentration, transpiration rate, stomatal conductance, photosynthesis rate and chlorophyll content, but with the elimination of drought stress and re-irrigation, the plants were recovered. The use of Epibrassinolide minimized the negative effects of drought stress on photosynthesis, gas exchange, chlorophyll content and seed yield of bean. The highest seed yield was obtained by application of 2 μM of Epibrassinolide (with an average of 2068.2 kg.h⁻¹). Therefore, the use of this hormone can be suggested as a solution to increase drought stress resistance and increase the seed yield of bean under optimal irrigation and drought stress conditions.

KeyWords: Intercellular CO₂ concentration, Photosynthesis rate, Seed yield, Stomatal conductance, Transpiration rate.

* Corresponding author E-mail: tavakoli@znu.ac.ir

مقدمه

حبوبات از اصلی‌ترین منابع پروتئینی در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان محسوب می‌شوند و اهمیت زیادی در اقتصاد کشاورزی این مناطق دارند (Tuba-Bicer, 2004). در ایران، انواع لوبیا با تولید حدود ۱۹۹ هزار تن، رتبه دوم را پس از نخود به خود اختصاص داده است (FAO, 2014). خشکی یکی از تنش‌های مهم غیرزیستی است که تغییرات زیادی را در خصوصیات فیزیولوژی و بیوشیمیایی گیاه القا می‌کند. به عقیده پژوهشگران، تنش خشکی در لوبیا یک محدودیت برای تولید در سراسر جهان است (Teran and Singh, 2002; Szilagyi, 2003).

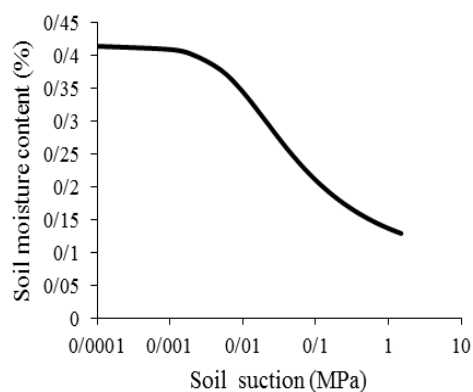
پس از قرار گرفتن گیاه در معرض خشکی، بسته‌شدن روزنه‌ها یکی از اولین پاسخ‌هایی است که سرعت فتوسنتز را کاهش می‌دهد (Farooq *et al.*, 2009; Armand *et al.*, 2016). همچنین، کاهش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی در اثر افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و ایجاد تنش اکسیداتیو، از دیگر پیامدهای تنش خشکی می‌باشد (Armand *et al.*, 2016). در مطالعه‌ای روی گیاه لوبیا، رقم صدری، مشخص شد که اعمال تنش خشکی باعث کاهش در صفات محتوای کلروفیل a، b و کل، کاروتنوئیدها و سرعت فتوسنتز شد (Armand *et al.*, 2016). همچنین، در مطالعه‌ای دیگر روی گیاه نخود در سه مرحله نمو (گیاهچه‌ای، گلدهی و غلاف‌دهی) بیان شد که اعمال تنش خشکی ملایم (۷۵ درصد ظرفیت زراعی) و همچنین تنش خشکی شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) باعث کاهش محتوای کلروفیل کل، سرعت فتوسنتز و میزان تعرق در هر سه مرحله نمو این گیاه شد (Hosseinzadeh *et al.*, 2015). به نظر می‌رسد که حفظ محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی از قبیل کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها در شرایط تنش خشکی به ثبات فتوسنتز کمک می‌کند. برخی محققین استفاده از ظرفیت فتوسنتزی و محتوای کلروفیل کل در گیاه را به‌عنوان روشی ساده برای انتخاب ارقام متحمل و حساس به تنش خشکی پیشنهاد داده‌اند (Armand *et al.*, 2016). براسینواسترنوئیدها، گروهی از هورمون‌های استروئیدی هستند که نقشی محوری در بسیاری از پدیده‌های نمو ایفا می‌کنند که از آن جمله می‌توان به تقسیم و طول‌شدن سلولی در ساقه و ریشه، اندام‌زایی نوری، نمو تولید مثلی، رشد لوله‌های گرده، فعال-

سازی آنزیم‌ها، بیوسنتز اتیلن، پیری برگ، تنظیم بیان ژن و پاسخ به تنش‌ها اشاره کرد (Talaat & Shawky, 2012). اطلاعاتی مبنی بر مکانیزمی که براسینواسترنوئیدها باعث تحمل به تنش می‌شوند، وجود ندارد و به‌طور کلی پیشنهاد شده است که براسینواسترنوئیدها پاسخ به تنش را با یک توالی پیچیده از واکنش‌های بیوشیمیایی، مانند فعال‌سازی یا غیرفعال‌سازی واکنش‌های آنزیمی کلیدی، القای سنتر پروتئین‌ها و تولید ترکیبات شیمیایی دفاعی مختلف تنظیم می‌کنند (Bajguz & Hayat, 2009). در برخی مطالعات مشخص شده است که براسینواسترنوئیدها مقاومت گیاه در برابر تنش و آسیب‌های گیاهی را افزایش می‌دهند و موجب افزایش سازگاری گیاهان در برابر شرایط نامساعد محیطی می‌شوند. برای مثال، در مطالعه‌ای کاربرد خارجی اپی-براسینولید و هموبراسینولید با غلظت‌های ۱ و ۵ میکرومولار قبل از اعمال تنش خشکی و در مرحله گلدهی در لوبیا مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که کاربرد این هورمون‌ها باعث بهبود اثرات منفی تنش در ریشه‌ها گردید و به‌طور کلی بیان شد که هم در گیاهان تنش‌دیده و هم در گیاهان با آبیاری مطلوب با کاربرد ۵ میکرومولار براسینواسترنوئید عملکرد غلاف افزایش یافت (Upreti & Murti, 2004). در مطالعه‌ای دیگر نیز گزارش شد که کاربرد براسینولید بر سویا باعث به حداقل رساندن کاهش عملکرد ناشی از تنش خشکی می‌شود، بنابراین می‌توان از این هورمون جهت افزایش مقاومت به تنش خشکی استفاده نمود (Zhang *et al.*, 2008). با توجه به اینکه یکی از مشکلات عمده کشاورزی در ایران کمبود آب می‌باشد و مهم‌ترین اثر تنش خشکی، کاهش معنی‌دار شاخص‌های فتوسنتزی و فیزیولوژیکی در گیاهان است، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر کاربرد اپی-براسینولید بر فتوسنتز، تبادلات گازی، محتوای کلروفیل و عملکرد دانه لوبیا در شرایط آبیاری مطلوب و اعمال تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال زراعی ۱۳۹۴-۱۳۹۵ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان واقع در عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴۰ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۲۴ دقیقه غربی و ارتفاع ۱۵۹۴ متر از سطح دریا اجرا شد. آزمایش به‌صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب

پژمردگی دائم) رسید. برای ترسیم منحنی رطوبتی خاک، نمونه‌برداری صورت گرفت و پتانسیل آب خاک در رطوبت-های مختلف در آزمایشگاه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان تعیین شد. سپس منحنی رطوبتی که ارتباط بین درصد رطوبت وزنی و مکش خاک را نشان می‌داد، ترسیم شد (شکل ۱). همچنین، تیمار شاهد به‌طور تقریبی هر هفته یکبار آبیاری شد، به‌گونه‌ای که رطوبت خاک در محدوده رطوبت سهل‌الوصول (۱۸ تا ۲۲ درصد رطوبت وزنی) حفظ شود. درصد وزنی رطوبت خاک مزرعه آزمایش در ظرفیت زراعی ۳۳ درصد، و در نقطه پژمردگی دائم ۱۲ درصد، تعیین شد (شکل ۱) و از آنجایی که کمبود مجاز مدیریتی لوبیا (MAD) ۰/۴ است (Keller & Bliesner, 1990)، مقدار رطوبت سهل‌الوصول ۱۸ تا ۲۲ درصد وزنی تعیین شد.



شکل ۱. منحنی رطوبتی خاک محل انجام پژوهش.

Fig 1. Soil moisture curve of the place of research.

پارامترهای مختلف تبادلات‌گازی شامل غلظت CO_2 زیر روزنه‌ای، میزان تعرق، هدایت روزنه‌ای و سرعت فتوسنتز در دو مرحله (اوج تنش خشکی و یک هفته پس از آبیاری مجدد) با استفاده از دستگاه تحلیل‌گر گاز مادون قرمز (IRGA, model: LCA4, ADC Bioscientific Ltd.) (Hoddeston, UK) انجام شد. اندازه‌گیری در ساعت ۱۰-۱۲ صبح و با شدت نور معادل ۱۴۰۰-۱۲۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه انجام شد. اندازه‌گیری این متغیرها در جوان‌ترین برگ‌های کاملاً توسعه‌یافته صورت گرفت. همچنین، محتوای کلروفیل a، b و کل نیز در دو زمان ذکر شده با کمک روابط زیر محاسبه گردید (Arnon, 1949).

طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد که در آن سطوح آبیاری (در دو سطح آبیاری مطلوب و اعمال تنش خشکی) در کرت‌های اصلی قرار گرفت و ارقام لوبیا (در دو سطح رقم کوشا با تیپ رشد ایستاده و رشد نامحدود و ژنوتیپ COS16 با تیپ رشد ایستاده و رشد محدود) و سطوح مختلف براسینواستروئید (در چهار سطح ۰، ۲، ۴ و ۶ میکرومولار) به‌صورت فاکتوریل در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. به‌منظور آماده‌سازی زمین، در پاییز سال ۱۳۹۴ شخم عمیق زده شده و در فصل بهار جهت یکنواخت‌شدن وضعیت خاک مزرعه از دیسک و ماله استفاده شد. کشت در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۵ انجام شد. هر کرت شامل چهار ردیف به‌طول سه متر بود. کاشت به‌صورت مسطح، فاصله ردیف‌های کاشت ۵۰ سانتی‌متر، فاصله بوته‌ها بر روی ردیف پنج سانتی‌متر و تراکم ۴۰ بوته در مترمربع در نظر گرفته شد. سیستم آبیاری به‌صورت قطره‌ای بود و اولین آبیاری بلافاصله پس از کاشت انجام شد و آبیاری‌های بعدی تا زمان اعمال تیمارها بر اساس شرایط محیطی هفته‌ای یک‌بار صورت گرفت. در مراحل مختلف رشد گیاه، علف‌های هرز از طریق وجین دستی کنترل شدند. در طول دوره رشد گیاه، آفت یا بیماری که جهت کنترل آن نیاز به سمپاشی باشد، مشاهده نگردید. در مرحله گلدهی (به‌گل رفتن ۵۰ درصد واحدهای آزمایشی)، به‌طور همزمان برای هر دو رقم، تنش خشکی اعمال شد و همزمان با اعمال تنش خشکی، بوته‌های لوبیا با براسینواستروئید (اپی‌براسینولید) با غلظت‌های ذکرشده محلول‌پاشی شد. جهت اطمینان از جذب کافی هورمون توسط گیاه، عمل محلول‌پاشی سه بار و به‌فاصله هر چهار روز یکبار بر روی کل بوته انجام گردید.

برای اعمال تنش خشکی، در مرحله گلدهی آبیاری قطع شده و تا رسیدن پتانسیل آب خاک به ۱/۵- مگاپاسکال ادامه یافت (Contour-Ansel *et al.*, 2010) و سپس آبیاری مجدد انجام شد. برای تعیین درصدی از رطوبت خاک که در آن پتانسیل آب خاک به ۱/۵- مگاپاسکال می‌رسید از منحنی رطوبتی خاک استفاده شد (شکل ۱). به این منظور، بعد از قطع آبیاری هر دو روز یکبار نمونه‌برداری از خاک صورت گرفت و درصد رطوبت وزنی خاک تعیین شد و آبیاری تیمار تنش وقتی صورت گرفت که درصد رطوبت خاک به ۱۲ درصد (نقطه

- رابطه ۱. $V/(1000 \times W) \times ((\text{جذب در طول موج } 645 \text{ نانومتر}) - 2/79 - (\text{جذب در طول موج } 663 \text{ نانومتر})) / (12/25)$ = کلروفیل a (میلی-گرم بر گرم وزن تر)
- رابطه ۲. $V/(1000 \times W) \times ((\text{جذب در طول موج } 663 \text{ نانومتر}) - 5/1 - (\text{جذب در طول موج } 645 \text{ نانومتر})) / (21/5)$ = کلروفیل b (میلی-گرم بر گرم وزن تر)
- رابطه ۳. $V/(1000 \times W) \times ((\text{جذب در طول موج } 663 \text{ نانومتر}) + 7/15 - (\text{جذب در طول موج } 645 \text{ نانومتر})) / (18/71)$ = کلروفیل کل (میلی-گرم بر گرم وزن تر)

این غلظت، باعث کاهش ۱۷/۱۹ درصدی در این صفت نسبت به عدم کاربرد هورمون شد (جدول ۲). غلظت CO₂ زیر روزه‌ای کمتر در شرایط تنش خشکی به مفهوم آسیب کمتر به دستگاه فتوسنتزی است (Reddy *et al.*, 2004). احتمالاً کاربرد اپی‌براسینولید با بهبود عملکرد دستگاه فتوسنتزی باعث کاهش غلظت CO₂ زیر روزه‌ای و افزایش فتوسنتز در هر دو شریط آبیاری مطلوب و تنش خشکی شده است. کاهش غلظت CO₂ زیر روزه‌ای در گیاهان تیمار شده با براسینواستروئید، در مطالعات دیگری نیز گزارش شده است (Thussagunpanit *et al.*, 2015; Asghari & Zahedipour, 2016) که همسو با یافته‌های این مطالعه می‌باشد.

نتایج تجزیه واریانس صفت غلظت CO₂ زیر روزه‌ای مرحله دوم (یک هفته پس از آبیاری مجدد) نیز نشان داد که اثر هورمون‌پاشی ($p \leq 0.05$) بر این صفت معنی‌دار بود (جدول ۱). کاربرد اپی‌براسینولید باعث کاهش غلظت CO₂ زیر روزه‌ای نسبت به عدم کاربرد این هورمون شد و پایین‌ترین غلظت CO₂ زیر روزه‌ای با کاربرد غلظت ۲ میکرومولار اپی‌براسینولید حاصل شد، به طوری که کاربرد این غلظت، باعث کاهش ۱۶/۰۲ درصدی در غلظت CO₂ زیر روزه‌ای نسبت به عدم کاربرد هورمون شد (جدول ۲). عدم تفاوت معنی‌دار غلظت CO₂ زیر روزه‌ای در این مرحله بین تیمارهای آبیاری مطلوب و اعمال تنش خشکی می‌تواند نشان‌دهنده بهبود گیاه در این مقطع زمانی باشد. در گیاهانی که پس از آبیاری مجدد، بهبود صورت می‌گیرد، احتمالاً این بهبود (برگشت‌پذیری) مربوط به تحمل گیاه و یا عدم تولید مواد خسارت‌زا در حد توقف کارکردهای فتوسنتزی است؛ ولی محققان به‌طور واضح، تعریفی برای درجه برگشت‌پذیری فتوسنتز و عوامل مربوط به فتوسنتز ارائه نداده‌اند (Miyashita *et al.*, 2005). برگشت‌پذیری

در روابط فوق V حجم نهایی نمونه استخراج‌شده (میلی‌لیتر) و W وزن تر نمونه (گرم) است. برای اندازه‌گیری عملکرد دانه نیز مساحت دو مترمربع از سطح مزرعه برداشت شده و عملکرد دانه اندازه‌گیری شد. پس از انجام اندازه‌گیری‌ها و محاسبات لازم، تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (9.1) انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد و جهت رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel (2013) استفاده گردید.

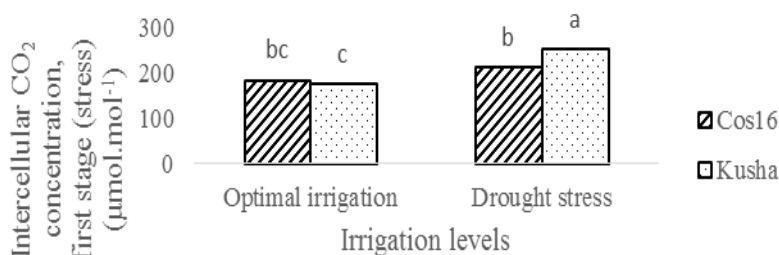
نتایج و بحث

غلظت CO₂ زیر روزه‌ای

اثر هورمون‌پاشی ($p \leq 0.05$) و اثر متقابل سطوح آبیاری و ارقام ($p \leq 0.05$) بر غلظت CO₂ زیر روزه‌ای مرحله اول (اوج تنش خشکی) معنی‌دار بود (جدول ۱). اعمال تنش خشکی در ژنوتیپ COS16 باعث افزایش ۱۵/۰۱ درصدی و در رقم کوشا باعث افزایش ۴۴/۴۴ درصدی در غلظت CO₂ زیر روزه‌ای نسبت به آبیاری مطلوب شد (شکل ۲). غلظت CO₂ زیر روزه‌ای نشان‌دهنده مصرف یا عدم مصرف دی-اکسیدکربن در چرخه کلون است و همچنین میزان آسیب به عوامل تثبیت‌کننده دی‌اکسیدکربن را نشان می‌دهد (Reddy *et al.*, 2004). بنابراین در شرایط تنش خشکی، آسیب وارد شده به عوامل بیوشیمیایی تثبیت‌کننده دی-اکسیدکربن سبب می‌شود که اسیمیلاسیون دی‌اکسیدکربن کاهش و در نتیجه غلظت CO₂ زیر روزه‌ای افزایش یابد. کاربرد اپی‌براسینولید باعث کاهش معنی‌دار غلظت CO₂ زیر روزه‌ای نسبت به عدم کاربرد این هورمون شد (جدول ۲). پایین‌ترین غلظت CO₂ زیر روزه‌ای با کاربرد غلظت ۲ میکرومولار اپی‌براسینولید حاصل شد، به طوری که کاربرد

گیاه با اعمال تنش خشکی ناچیز بوده است.

غلظت CO₂ زیر روزه‌های در این پژوهش نشان‌دهنده این مسأله است که احتمالاً تخریب مراکز فتوسنتزی در این



شکل ۲. اثر متقابل سطوح آبیاری و ارقام بر غلظت CO₂ زیر روزه‌های مرحله اول (اوج تنش خشکی). میانگین‌های با حروف مشابه مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Fig 2. Interaction between irrigation levels and cultivars on the intercellular CO₂ concentration of the first stage (peak of the drought stress). Mean values sharing similar letter(s) are not significant according to Duncan's multiple range tests at $p \leq 0.05$.

های دیگری نیز گزارش شده است (Anjum *et al.*, 2011; Thussaganpanit *et al.*, 2015) که همسو با یافته‌های این مطالعه می‌باشد. نتایج تجزیه واریانس صفت میزان تعرق مرحله دوم (یک هفته پس از آبیاری مجدد) نیز نشان داد که اثر هورمون‌پاشی ($p \leq 0.05$) بر این صفت معنی‌دار بود (جدول ۱). کاربرد اپی‌براسینولید باعث افزایش میزان تعرق نسبت به عدم کاربرد این هورمون شد و بالاترین میزان تعرق با کاربرد غلظت ۲ میکرومولار اپی‌براسینولید حاصل شد، به طوری که کاربرد این غلظت، باعث افزایش ۳۲/۴۵ درصدی در میزان تعرق نسبت به عدم کاربرد هورمون شد (جدول ۲). عدم تفاوت معنی‌دار میزان تعرق در این مرحله بین تیمارهای آبیاری مطلوب و اعمال تنش خشکی نیز نشان‌دهنده بهبود گیاه در این مقطع زمانی است (جدول ۱).

هدایت روزه‌های

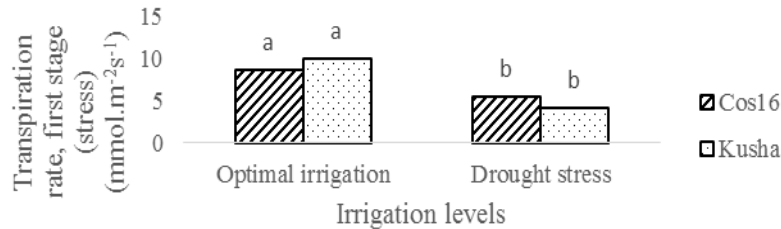
اثر سطوح آبیاری ($p \leq 0.01$) و هورمون‌پاشی ($p \leq 0.01$) بر هدایت روزه‌های مرحله اول (اوج تنش خشکی) معنی‌دار بود (جدول ۱). اعمال تنش خشکی باعث کاهش ۷۴/۵۵ درصدی در هدایت روزه‌های نسبت به آبیاری مطلوب شد (جدول ۲). دلیل اصلی کاهش هدایت روزه‌های در شرایط تنش خشکی، کاهش تورژسانس سلول‌های نگهبان اطراف منافذ روزه‌ها است (Reddy *et al.*, 2004). به عبارت دیگر، کاهش هدایت روزه‌های می‌تواند به دلیل بسته شدن روزه‌ها

میزان تعرق

اثر سطوح آبیاری ($p \leq 0.05$)، هورمون‌پاشی ($p \leq 0.05$) و اثر متقابل سطوح آبیاری و ارقام ($p \leq 0.01$) بر میزان تعرق مرحله اول (اوج تنش خشکی) معنی‌دار بود (جدول ۱). اعمال تنش خشکی در رقم کوشا باعث کاهش ۵۸/۷۹ درصدی و در ژنوتیپ COS16 باعث کاهش ۳۶/۸۳ درصدی در میزان تعرق نسبت به آبیاری مطلوب شد (شکل ۳). گیاه در شرایط تنش خشکی، روزه‌ها را بسته تا از هدررفت آب جلوگیری به عمل آید، در نتیجه طبیعی به نظر می‌رسد که میزان تعرق در شرایط تنش خشکی، پایین‌تر از شرایط آبیاری مطلوب باشد. به عبارت دیگر، کاهش میزان تعرق در تیمارهای تحت تنش احتمالاً به دلیل بسته شدن روزه‌ها و کاهش هدایت روزه‌های است. کاربرد اپی-براسینولید باعث افزایش میزان تعرق نسبت به عدم کاربرد این هورمون شد (جدول ۲). بالاترین میزان تعرق با کاربرد غلظت ۴ میکرومولار اپی‌براسینولید حاصل شد که با کاربرد غلظت‌های ۶ و ۲ میکرومولار از این هورمون تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲). باز نگه داشتن روزه‌ها توسط گیاه می‌تواند یک مزیت برای گیاه در نظر گرفته شود چراکه در صورت باز بودن روزه‌ها، گیاه قادر به جذب مقدار بیشتری آب و مواد غذایی از خاک خواهد بود. احتمالاً کاربرد اپی-براسینولید از طریق باز شدن یا بازماندن روزه‌ها، باعث افزایش تعرق و در نتیجه افزایش فتوسنتز شده است. افزایش میزان تعرق با کاربرد براسینواستروئید در پژوهش-

شرایط آبیاری مطلوب گزارش شده است (Gupta *et al.*, 2001; Fariduddin *et al.*, 2009).

در شرایط تنش خشکی باشد، تا از این طریق تلفات آب به حداقل برسد. در مطالعات دیگری نیز کاهش معنی‌دار هدایت روزنه‌ای در شرایط تنش خشکی در مقایسه با



شکل ۳. اثر متقابل سطوح آبیاری و ارقام بر میزان تعرق مرحله اول (اوج تنش خشکی). میانگین‌های با حروف مشابه مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Fig 3. Interaction between irrigation levels and cultivars on the transpiration rate of the first stage (peak of the drought stress). Mean values sharing similar letter(s) are not significant according to Duncan's multiple range tests at $p \leq 0.05$.

باعث افزایش ۶۰/۰۰ درصدی در این صفت نسبت به عدم کاربرد هورمون شد (جدول ۲).

سرعت فتوسنتز

اثر سطوح آبیاری ($p \leq 0.05$) و هورمون‌پاشی ($p \leq 0.01$) بر سرعت فتوسنتز مرحله اول (اوج تنش خشکی) معنی‌دار بود (جدول ۱). اعمال تنش خشکی باعث کاهش ۴۶/۰۷ درصدی در سرعت فتوسنتز نسبت به آبیاری مطلوب شد (جدول ۲). عامل اصلی کاهش فتوسنتز در شرایط تنش خشکی، بسته‌شدن روزنه‌ها و آسیب به مجموعه عوامل بیوشیمیایی تثبیت‌کننده دی‌اکسیدکربن است (Reddy *et al.*, 2004). کاهش سرعت فتوسنتز در طول دوره تنش خشکی ممکن است صرف‌نظر از تأثیر عوامل روزنه‌ای به-علت کاهش فعالیت روبیسکو، جلوگیری از واکنش‌های فتوشیمیایی و کاهش محتوای کلروفیل برگ نیز باشد (Reddy *et al.*, 2004). کاربرد اپی‌براسینولید باعث افزایش سرعت فتوسنتز نسبت به عدم کاربرد این هورمون شد و بالاترین سرعت فتوسنتز با کاربرد غلظت ۲ میکرومولار اپی‌براسینولید حاصل شد، به طوری که کاربرد این غلظت، باعث افزایش ۴۳/۴۵ درصدی در این صفت نسبت به عدم کاربرد هورمون شد (جدول ۲). افزایش در سرعت فتوسنتز توسط براسینواستروئید ممکن است به دلیل افزایش محتوای کلروفیل و یا فعالسازی آنزیم روبیسکو که آنزیمی کلیدی در چرخه کلون است، باشد (Yu *et al.*, 2004).

کاربرد اپی‌براسینولید باعث افزایش هدایت روزنه‌ای نسبت به عدم کاربرد این هورمون شد و بالاترین هدایت روزنه‌ای با کاربرد غلظت ۴ میکرومولار اپی‌براسینولید حاصل شد که با کاربرد غلظت ۲ میکرومولار از این هورمون تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲). احتمالاً کاربرد اپی‌براسینولید از طریق بازشدن یا باز ماندن روزنه‌ها و افزایش تعرق، باعث حصول هدایت روزنه‌ای بالاتر و فتوسنتز بیشتر شده است. گزارش شده است که تنش خشکی باعث کاهش هدایت روزنه‌ای ذرت شد؛ ولی کاربرد براسینولید باعث بهبود هدایت روزنه‌ای در هر دو شرایط تنش و عدم تنش گردید (Anjum *et al.*, 2011). افزایش هدایت روزنه‌ای در گیاهان تیمار شده با براسینواستروئید در مطالعات دیگری نیز گزارش شده است (Fariduddin *et al.*, 2009; Thussaganpanit *et al.*, 2015; Asghari & Zahedipour, 2016) که همسو با نتایج پژوهش حاضر می‌باشد. نتایج تجزیه واریانس صفت هدایت روزنه‌ای مرحله دوم (یک هفته پس از آبیاری مجدد) نیز نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار هورمون‌پاشی ($p \leq 0.01$) بر این صفت بود در حالی که سطوح آبیاری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند که نشان‌دهنده بهبود گیاه در این مقطع زمانی است (جدول ۱). کاربرد اپی‌براسینولید باعث افزایش هدایت روزنه‌ای نسبت به عدم کاربرد این هورمون شد و بالاترین هدایت روزنه‌ای با کاربرد غلظت ۲ میکرومولار اپی-براسینولید حاصل شد، به طوری که کاربرد این غلظت،

براسینواستروئید، نشان‌دهنده افزایش سرعت فتوسنتز در این گیاهان است (Xia et al., 2009).

کاهش غلظت CO₂ زیر روزنه‌ای، کاهش مقاومت روزنه‌ای و افزایش هدایت روزنه‌ای در گیاهان تیمار شده با

جدول ۱. تجزیه واریانس صفات مختلف دو رقم لوبیا با اعمال غلظت‌های مختلف اپی‌براسینولید در شرایط آبیاری مطلوب و اعمال تنش خشکی

Table 1. Analysis of variance of different traits of two bean cultivars by application of different concentrations of Epibrassinolide under optimal irrigation and drought stress conditions

S.O.V.	DF	MS												
		Intercellular CO ₂ concentration	Stomatal conductance	Transpiration rate	Photosynthesis rate	Chl a content	Chl b content	Total chl content	Stomatal conductance	Transpiration rate	Photosynthesis rate	Chl a content	Chl b content	Total chl content
Replication	2	525.90 ^{ns}	38.94 ^{ns}	0.01 ^{ns}	38.46 ^{ns}	0.005 ^{ns}	29.46 ^{ns}	0.68 ^{ns}	0.06 ^{ns}	1.16 ^{ns}	0.09 ^{ns}	0.04 ^{ns}	0.07 ^{ns}	384286.77 ^{ms}
Irrigation	1	33390.75 ^{ns}	241.83 [*]	2.07 ^{**}	574.36 [*]	0.03 ^{ns}	56.90 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.0003 ^{ns}	0.08 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.004 ^{ns}	0.17 ^{ns}	29224641.05 [*]
Error1	2	2611.31	7.88	0.005	2620.90	4.10	3.55	0.15	0.009	0.21	0.11	0.02 [*]	0.18	522929.00
Cultivar	1	3333.33 ^{ns}	0.002 ^{ns}	0.004 ^{ns}	0.44 ^{ns}	1.08 ^{ns}	1.45 ^{ns}	0.08 ^{ns}	0.0009 ^{ns}	0.08 ^{ns}	0.73 ^{ns}	0.02 [*]	0.97 ^{**}	2810849.76 ^{**}
Hormone	3	3726.53 [*]	8.20 ^{**}	0.06 ^{**}	3418.06 ^{**}	5.34 [*]	34.27 ^{**}	0.46 ^{**}	0.05 ^{**}	0.80 ^{**}	0.21 ^{**}	0.01 ^{**}	0.33 ^{**}	1111848.91 ^{**}
Irrigation*Cultivar	1	7600.33 [*]	21.12 ^{**}	0.03 ^{**}	140.08 ^{ns}	1.53 ^{ns}	31.72 ^{ns}	1.49 ^{**}	0.11 ^{**}	2.42 ^{**}	0.03 ^{**}	0.008 ^{ns}	0.07 ^{ns}	854880.42 ^{**}
Irrigation*Hormone	3	592.75 ^{ns}	1.16 ^{ns}	0.02 ^{ns}	6.17 ^{ns}	0.46 ^{ns}	2.49 ^{ns}	0.30 [*]	0.03 [*]	0.49 [*]	0.06 ^{ns}	0.002 ^{ns}	0.08 ^{ns}	103955.50 ^{ns}
Cultivar*Hormone	3	662.33 ^{ns}	4.77 ^{ns}	0.02 ^{ns}	11.50 ^{ns}	3.09 ^{ns}	7.45 ^{ns}	0.16 ^{ns}	0.02 ^{ns}	0.28 ^{ns}	0.02 ^{ns}	0.0003 ^{ns}	0.02 ^{ns}	112591.72 ^{ns}
Irrigation*Cultivar*Hormone	3	290.00 ^{ns}	1.43 ^{ns}	0.009 ^{ns}	7.85 ^{ns}	1.97 ^{ns}	14.45 ^{ns}	0.06 ^{ns}	0.008 ^{ns}	0.10 ^{ns}	0.06 ^{ns}	0.005 ^{ns}	0.09 ^{ns}	43080.59 ^{ns}
Error2	28	1172.08	2.75	0.01	7.52	1.68	9.34	0.09	0.009	0.13	0.04	0.003	0.06	139151.25
CV (%)		16.62	23.72	29.11	23.72	23.09	27.73	28.07	29.33	26.18	29.02	26.91	26.81	19.95

ns و ** بترتیب نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار و وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد، † مرحله اول (اوج تنش خشکی) و †† مرحله دوم (یک هفته پس از آبیاری مجدد)

and ** indicate no significant difference and significant difference at the probability level of 5% and 1%, respectively. † First stage (peak of the drought stress) and †† second stage (one w

جدول ۲. مقایسه میانگین صفات مختلف دو رقم لوبیا با اعمال غلظت‌های مختلف اپی‌براسینولید در شرایط آبیاری مطلوب و اعمال تنش خشکی

Table 2. Mean comparison of different traits of two bean cultivars by application of different concentrations of Epibrassinolide under optimal irrigation and drought stress conditions

	Intercellular CO ₂ concentration (μmol.mol ⁻¹)	Stomatal conductance † (mmol.m ⁻² .s ⁻¹)	Transpiration rate † (mmol.m ⁻² .s ⁻¹)	Photosynthesis rate † (μmol.CO ₂ .m ⁻² .s ⁻¹)	Stomatal conductance †† (mmol.m ⁻² .s ⁻¹)	Transpiration rate †† (mmol.m ⁻² .s ⁻¹)	Photosynthesis rate †† (μmol.CO ₂ .m ⁻² .s ⁻¹)	Chl a content † (mg.g ⁻¹ FW)	Chl b content † (mg.g ⁻¹ FW)	Total chl † (mg.g ⁻¹ FW)	Chl a content †† (mg.g ⁻¹ FW)	Chl b content †† (mg.g ⁻¹ FW)	Total chl †† (mg.g ⁻¹ FW)	Seed yield (kg.h ⁻¹)
Optimal irrigation	179.58±7.82 ^a	9.24±0.52 ^a	5.84±0.30 ^a	12.11±0.83 ^a	224.42±7.96 ^a	5.84±0.30 ^a	9.42±0.88 ^b	1.10±0.06 ^a	0.32±0.02 ^a	1.42±0.08 ^a	0.73±0.05 ^a	0.21±0.01 ^a	0.94±0.07 ^a	2650.0±140.66 ^a
Drought stress	232.33±7.63 ^a	4.75±0.40 ^b	5.40±0.29 ^a	9.94±0.54 ^b	221.58±6.50 ^a	5.40±0.29 ^a	9.42±0.88 ^b	1.02±0.11 ^a	0.316±0.03 ^a	1.33±0.14 ^a	0.63±0.05 ^a	0.20±0.01 ^a	0.83±0.06 ^a	1089.4±68.23 ^b
COS16	197.63±7.52 ^a	6.999±0.61 ^a	5.47±0.27 ^a	10.85±0.67 ^a	229.38±6.99 ^a	5.47±0.27 ^a	9.42±0.88 ^b	1.10±0.07 ^a	0.320±0.03 ^a	1.42±0.10 ^a	0.56±0.06 ^b	0.19±0.01 ^b	0.74±0.06 ^b	1627.7±149.16 ^b
Kusha	214.29±10.82 ^a	6.987±0.71 ^a	5.77±0.32 ^a	11.20±0.79 ^a	216.63±7.30 ^a	5.77±0.32 ^a	9.16±1.08 ^b	1.02±0.10 ^a	0.317±0.03 ^a	1.33±0.13 ^a	0.80±0.04 ^a	0.22±0.01 ^a	1.03±0.05 ^a	2111.7±223.70 ^a
Hormone (μM)														
0	231.75±12.04 ^a	5.79±0.78 ^b	4.90±0.30 ^b	10.85±0.67 ^a	236.08±8.89 ^a	4.90±0.30 ^b	9.16±1.08 ^b	0.77±0.12 ^b	0.23±0.03 ^b	1.00±0.15 ^b	0.55±0.06 ^c	0.17±0.01 ^c	0.71±0.06 ^c	1415.9±246.61 ^b
2	191.92±12.83 ^b	7.11±1.00 ^{ab}	6.49±0.36 ^a	13.41±3.1 ^a	198.25±7.49 ^b	6.49±0.36 ^a	13.41±3.1 ^a	1.19±0.15 ^a	0.37±0.04 ^a	1.56±0.18 ^a	0.76±0.07 ^{ab}	0.22±0.02 ^{ab}	0.98±0.09 ^{ab}	2068.2±320.39 ^a
4	200.42±12.63 ^b	7.59±0.97 ^a	5.39±0.40 ^{ab}	12.71±1.39 ^a	227.67±9.01 ^a	5.39±0.40 ^{ab}	10.56±0.85 ^b	1.17±0.11 ^a	0.35±0.04 ^a	1.52±0.14 ^a	0.82±0.07 ^a	0.24±0.02 ^a	1.07±0.09 ^a	2001.7±271.78 ^a
6	199.75±14.07 ^b	7.48±0.96 ^a	5.70±0.43 ^{ab}	10.70±0.71 ^a	230.00±12.18 ^a	5.70±0.43 ^{ab}	10.70±0.71 ^a	1.10±0.09 ^a	0.32±0.03 ^a	1.42±0.11 ^a	0.59±0.08 ^{bc}	0.19±0.02 ^b	0.78±0.10 ^b	1993.0±246.99 ^a

میانگین‌های با حروف مشابه در یک صفت، مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند. مقادیر جدول میانگین ± خطای معیار هستند. † مرحله اول (اوج تنش خشکی) و †† مرحله دوم (یک هفته پس از آبیاری مجدد)

values sharing similar letter(s) in a parameter, are not significant according to Duncan's multiple range tests at p≤0.05. Values in the table are mean ± S.E. † First stage (peak of the drought stress) and †† second stage (one week after recovery

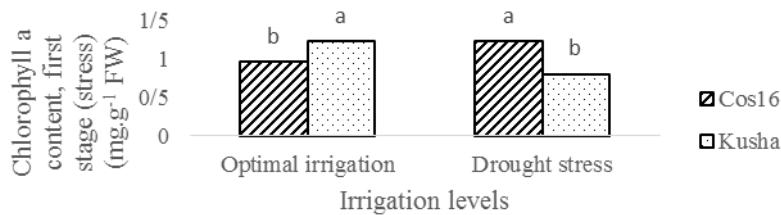
باعث افزایش ۴۲/۳۶ درصدی در سرعت فتوسنتز نسبت به عدم کاربرد هورمون شد (جدول ۲).

محتوای کلروفیل a, b و کل

اثر هورمون پاشی ($p \leq 0.01$)، اثر متقابل سطوح آبیاری و ارقام ($p \leq 0.01$) و اثر متقابل سطوح آبیاری و هورمون پاشی ($p \leq 0.05$) بر محتوای کلروفیل a, b و کل مرحله اول (اوج تنش خشکی) معنی دار بود (جدول ۱). رقم کوشا در شرایط آبیاری مطلوب و ژنوتیپ COS16 در شرایط تنش خشکی بالاترین محتوای کلروفیل a, b و کل را داشتند و نیز رقم کوشا در شرایط تنش خشکی و ژنوتیپ COS16 در شرایط آبیاری مطلوب پایین ترین این صفات را به خود اختصاص دادند (شکل های ۴، ۵ و ۶). اعمال تنش خشکی در رقم کوشا، به ترتیب باعث کاهش ۳۴/۹۳، ۲۷/۷۲ و ۳۳/۲۷ درصدی و در ژنوتیپ COS16 به ترتیب باعث افزایش ۲۸/۷۸، ۳۳/۵۸ و ۲۹/۷۶ درصدی در محتوای کلروفیل a, b و کل شد (شکل های ۴، ۵ و ۶).

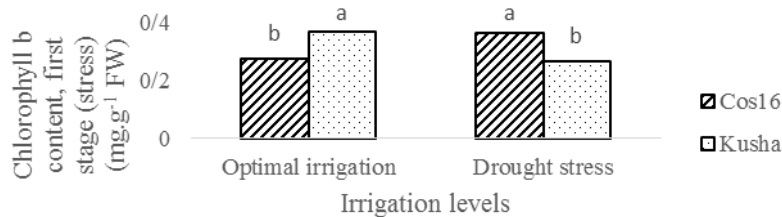
کاربرد هوموبراسینولید در شرایط خشکی محتوای کلروفیل و سرعت فتوسنتز را افزایش داد و همچنین باعث بهبود اثرات منفی تنش خشکی شد (Fariduddin *et al.*, 2009). افزایش سرعت فتوسنتز در گیاهان تیمار شده با براسینواستروئید در مطالعات دیگری نیز گزارش شده است (Anjum *et al.*, 2011; Thussaganpanit *et al.*, 2015; Asghari & Zahedipour, 2016) که مطابق با یافته های این مطالعه می باشد.

نتایج تجزیه واریانس صفت سرعت فتوسنتز مرحله دوم (یک هفته پس از آبیاری مجدد) نیز نشان داد که اثر هورمون پاشی ($p \leq 0.05$) بر این صفت معنی دار بود، در حالی که سطوح آبیاری با یکدیگر تفاوت معنی داری نداشتند که نشان دهنده بهبود گیاه در این مقطع زمانی است (جدول ۱). کاربرد اپی براسینولید باعث افزایش سرعت فتوسنتز نسبت به عدم کاربرد این هورمون شد و بالاترین سرعت فتوسنتز با کاربرد غلظت ۲ میکرومولار اپی-براسینولید حاصل شد، به طوری که کاربرد این غلظت،



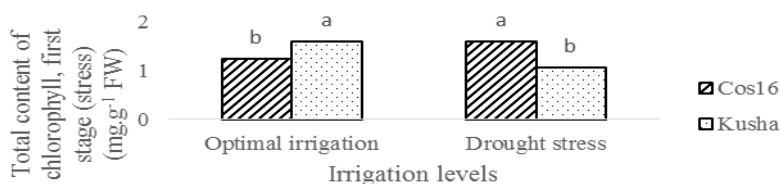
شکل ۴. اثر متقابل سطوح آبیاری و ارقام بر محتوای کلروفیل a مرحله اول (اوج تنش خشکی). میانگین های با حروف مشابه مطابق آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند.

Fig 4. Interaction between irrigation levels and cultivars on the chlorophyll a content of the first stage (peak of the drought stress). Mean values sharing similar letter(s) are not significant according to Duncan's multiple range tests at $p \leq 0.05$.



شکل ۵. اثر متقابل سطوح آبیاری و ارقام بر محتوای کلروفیل b مرحله اول (اوج تنش خشکی). میانگین های با حروف مشابه مطابق آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند.

Fig 5. Interaction between irrigation levels and cultivars on the chlorophyll b content of the first stage (peak of the drought stress). Mean values sharing similar letter(s) are not significant according to Duncan's multiple range tests at $p \leq 0.05$.

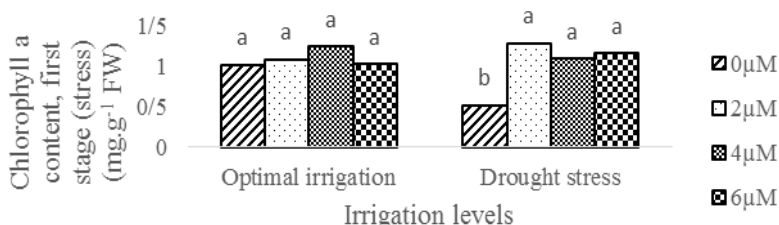


شکل ۶. اثر متقابل سطوح آبیاری و ارقام بر محتوای کلروفیل کل مرحله اول (اوج تنش خشکی). میانگین‌های با حروف مشابه مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Fig 6. Interaction between irrigation levels and cultivars on the total content of chlorophyll of the first stage (peak of the drought stress). Mean values sharing similar letter(s) are not significant according to Duncan's multiple range tests at $p \leq 0.05$.

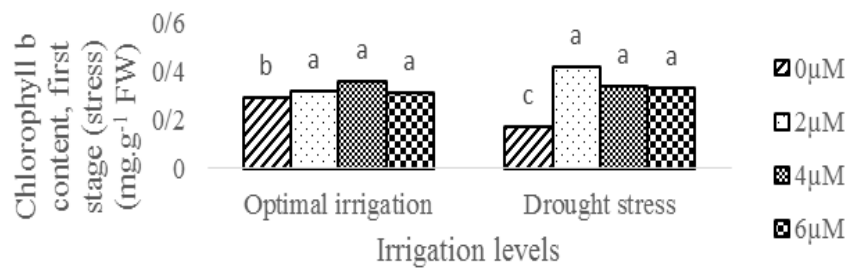
میکرومولار از این هورمون باعث بیشترین مقدار افزایش در صفات فوق نسبت به عدم کاربرد هورمون شده است (شکل‌های ۷، ۸ و ۹). در حالی‌که، در شرایط اعمال تنش خشکی، این افزایش معنی‌دار بود و کاربرد غلظت ۲ میکرومولار از این هورمون باعث حصول بالاترین مقدار افزایش در صفات فوق نسبت به عدم کاربرد هورمون شده است (شکل‌های ۷، ۸ و ۹). به عبارت دیگر، کاربرد اپی-براسینولید در شرایط تنش خشکی باعث افزایش بیشتری در محتوای کلروفیل a، b و کل نسبت به شرایط آبیاری مطلوب شد. اثربخشی بیشتر کاربرد براسینواستروئید در شرایط نامساعد نسبت به شرایط مطلوب محیطی در مطالعات دیگری نیز گزارش شده است (Vardhini & Anjum, 2015; Talaat & Shawky, 2016). همچنین، افزایش محتوای کلروفیل در گیاهان تیمار شده با براسینواستروئید در مطالعات دیگری نیز گزارش شده است (Zhang et al., 2008; Fariduddin et al., 2009; Anjum et al., 2011; Thussaganpanit et al., 2015; Asghari & Zahedipour, 2016) که همسو با یافته‌های این پژوهش می‌باشد.

در شرایط تنش ملایم با کاهش سطح برگ، غلظت کلروفیل در واحد سطح برگ افزایش می‌یابد و به عبارت دیگر، هر چه تلفات آب و انقباض سلول‌ها بیشتر شود غلظت محلول سلول افزایش می‌یابد، در حالی‌که تنش شدید باعث توقف کلروفیل‌سازی می‌گردد. در این آزمایش، احتمالاً اعمال تنش خشکی در ژنوتیپ COS16 تنش ملایم و در رقم کوشا تنش شدید بوده است. کاهش محتوای کلروفیل در شرایط تنش خشکی شدید، به دلیل تخریب غشاهای تیلاکوئیدهای کلروپلاست و اکسیداسیون نوری کلروفیل در اثر افزایش فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن و نیز افزایش فعالیت کلروفیل‌لاز است (Alonso et al., 2001). کاهش محتوای کلروفیل در شرایط تنش خشکی در مطالعات دیگری بر روی لوبیا (Armand et al., 2016)، نخود (Hosseinzadeh et al., 2015) و سویا (Zhang et al., 2008) نیز گزارش شده است. نتایج مقایسات میانگین اثر متقابل سطوح آبیاری و هورمون‌پاشی نیز نشان داد که در شرایط آبیاری مطلوب، کاربرد غلظت‌های مختلف اپی-براسینولید باعث افزایش اندکی در محتوای کلروفیل a، b و کل شد و کاربرد غلظت ۴



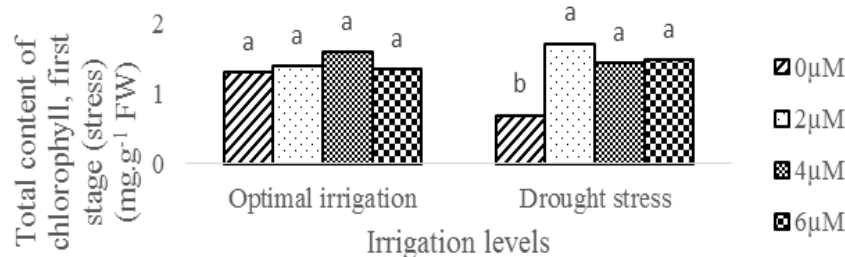
شکل ۷. اثر متقابل سطوح آبیاری و هورمون‌پاشی بر محتوای کلروفیل a مرحله اول (اوج تنش خشکی). میانگین‌های با حروف مشابه مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Fig 7. Interaction between irrigation levels and hormone spraying on the chlorophyll a content of the first stage (peak of the drought stress). Mean values sharing similar letter(s) are not significant according to Duncan's multiple range tests at $p \leq 0.05$.



شکل ۸. اثر متقابل سطوح آبیاری و هورمون پاشی بر محتوای کلروفیل b مرحله اول (اوج تنش خشکی). میانگین‌های با حروف مشابه مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Fig 8. Interaction between irrigation levels and hormone spraying on the chlorophyll b content of the first stage (peak of the drought stress). Mean values sharing similar letter(s) are not significant according to Duncan's multiple range tests at $p \leq 0.05$.



شکل ۹. اثر متقابل سطوح آبیاری و هورمون پاشی بر محتوای کلروفیل کل مرحله اول (اوج تنش خشکی). میانگین‌های با حروف مشابه مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Fig 9. Interaction between irrigation levels and hormone spraying on the total content of chlorophyll of the first stage (peak of the drought stress). Mean values sharing similar letter(s) are not significant according to Duncan's multiple range tests at $p \leq 0.05$.

در رقم کوشا باعث کاهش ۶۰/۴۰ درصدی و در ژنوتیپ COS16 باعث کاهش ۵۶/۸۸ درصدی در عملکرد دانه شد (شکل ۱۰). تنش خشکی از طریق کاهش آب برگ و بسته‌شدن روزنه‌ها، کاهش هدایت روزنه‌ای و سرعت فتوسنتز و نیز کاهش غلظت کلروفیل باعث کاهش تولید مواد فتوسنتزی در گیاه شده و در نهایت منجر به افت عملکرد دانه شده است. گزارش شده است که کاهش هدایت روزنه‌ای در شرایط تنش خشکی، منجر به کاهش اسیمیلاسیون کربن و در نتیجه تولید عملکرد دانه زیست‌توده پایین خواهد شد (Medrano *et al.*, 2002). نتایج تحقیقات سایر آزمایش‌ها نیز حاکی از کاهش عملکرد دانه لوبیا بر اثر تنش خشکی است (German *et al.*, 2006; Munoz-Perea *et al.*, 2006; Ahmed & Suliman, 2010; Bastos *et al.*, 2011). کاربرد اپی‌براسینولید باعث افزایش عملکرد دانه نسبت به عدم کاربرد این هورمون شد (جدول

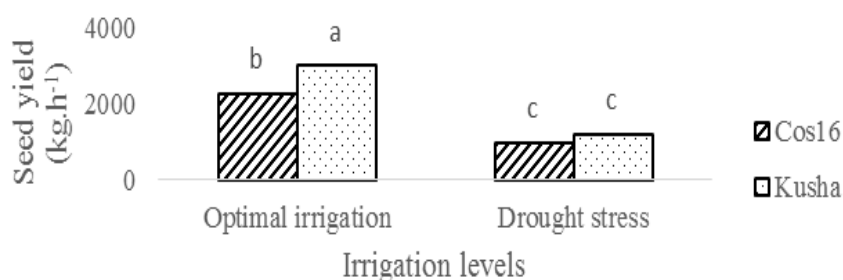
نتایج اندازه‌گیری مرحله دوم (یک هفته پس از آبیاری مجدد) نیز نشان داد که اثرات ساده ارقام و هورمون پاشی بر محتوای کلروفیل a، b و کل معنی‌دار بود (جدول ۳). رقم کوشا نسبت به ژنوتیپ COS16، محتوای کلروفیل a، b و کل بالاتری داشت (جدول ۲). همچنین، کاربرد اپی-براسینولید باعث افزایش معنی‌دار محتوای کلروفیل a، b و کل نسبت به عدم کاربرد این هورمون شد و بالاترین این صفات با کاربرد غلظت ۴ میکرومولار اپی‌براسینولید حاصل شد که با کاربرد غلظت ۲ میکرومولار از این هورمون تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲).

عملکرد دانه

اثر سطوح آبیاری ($p \leq 0.05$)، ارقام ($p \leq 0.01$)، هورمون پاشی ($p \leq 0.01$) و اثر متقابل سطوح آبیاری و ارقام ($p \leq 0.05$) بر عملکرد دانه معنی‌دار بود (جدول ۱). اعمال تنش خشکی

2014). در پژوهشی، کاربرد براسینولید باعث افزایش عملکرد دانه لوبیا در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی شد و محققین این افزایش را به دلیل تأثیر مثبت براسینولید بر محتوای سایتوکینین و فعالیت نیتروژناژ در ریشه‌ها دانستند (Upreti & Murti, 2004). محلول‌پاشی با براسینواستروئید موجب افزایش عملکرد دانه ماش (Sengupta et al., 2009)، سویا (Zhang et al., 2008)، آفتاب‌گردان (Bera et al., 2014) و ذرت (Anjum et al., 2011) نیز شده است.

۲). بالاترین عملکرد دانه با کاربرد غلظت ۲ میکرومولار اپی‌براسینولید (با میانگین ۲۰۶۸/۲ کیلوگرم بر هکتار) حاصل شد، به طوری که کاربرد این غلظت، عملکرد دانه را به میزان ۴۶/۰۷ درصد نسبت به عدم کاربرد هورمون افزایش داد (جدول ۲). افزایش عملکرد دانه با کاربرد براسینولید ممکن است به دلیل راندمان فتوشیمیایی بالاتر از نظر جذب دی‌اکسیدکربن باشد که به افزایش تجمع رنگدانه‌های فتوسنتزی، به ویژه کلروفیل و محتوای بیشتر پروتئین‌های محلول نسبت داده می‌شود (Bera et al., 2014).



شکل ۱۰. اثر متقابل سطوح آبیاری و ارقام بر عملکرد دانه. میانگین‌های با حروف مشابه مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Fig 10. Interaction between irrigation levels and cultivars on the seed yield. Mean values sharing similar letter(s) are not significant according to Duncan's multiple range tests at $p \leq 0.05$.

خشکی، باعث کاهش تأثیرات منفی تنش خشکی و بهبود در صفات مذکور شد. به طور کلی، کاربرد اپی‌براسینولید را به عنوان روشی جهت بهبود رشد و عملکرد لوبیا هم در شرایط آبیاری مطلوب و هم در شرایط تنش خشکی می‌توان پیشنهاد نمود، ضمن اینکه دستیابی به اطلاعاتی جامع در زمینه تأثیرات مثبت اپی‌براسینولید، نیازمند مطالعه این هورمون در شرایط مختلف آب و هوایی نیز می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که تنش خشکی بر فتوسنتز، تبادلات گازی، محتوای کلروفیل و عملکرد دانه لوبیا تأثیر منفی داشت؛ اما با حذف تنش خشکی و آبیاری مجدد گیاهان بهبود یافتند و پس از آبیاری مجدد، ویژگی‌های اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت. کاربرد اپی‌براسینولید در شرایط آبیاری مطلوب، باعث افزایش در صفات اندازه‌گیری شده و در شرایط تنش

REFERENCES

- 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.
- Alonso, R., Elvira, S., Castillo, F.J. & Gimeno, B.S. (2001). Interactive effects of ozone and drought stress on pigments and activities of antioxidative enzymes in *Pinus halepensis*. *Plant Cell and Environment*, 24(4), 905-916.
- Anjum, S.A., Wang, L.C., Farooq, M., Hussain, M., Xue, L.L. & Zou, C.M. (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, 102-110.

5. Arnon, D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24(1), 1-15.
6. 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(3), 722-729.
7. Bajguz, A. & Hayat, S. (2009). Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47(1), 1-8.
8. Bastos, E.A., Nascimento, S.P., Silva, E.M., Filho, F.R.F. & Gomide, R.L. (2011). Identification of cowpea genotypes for drought tolerance. *Revista Ciencia Agronomica*, 42(1), 100-107.
9. Bera, A.K., Pramanik, k. & Mandal, B. (2014). Response of biofertilizers and homobrassinolide on growth, yield and oil content of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *African Journal of Agricultural Research*, 9 (48), 3494-3503.
10. Contour-Ansel, D., Torres-Franklin, M.L., Zuily-Fodil, Y. & Cruz de Carvalho, M.H. (2010). An aspartic acid protease from common bean is expressed 'on call' during water stress and early recovery. *Journal of Plant Physiology*, 167, 1606-1612.
11. Fariduddin, Q., Khanam, S., Hasan, S.A., Ali, B., Hayat, S. & Ahmad, A. (2009). Effect of 28-homobrassinolide on the drought stress induced changes in photosynthesis and antioxidant system of *Brassica juncea* L. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31, 889-897.
12. Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. & Basra, S.M.A. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29, 185-212.
13. Food and Agriculture Organization. (2014). Crops production report from. <http://faostat.fao.org>
14. German, C., Teran, H. & Allen, R.G. (2006). Selection for drought resistance in dry bean landraces and cultivars. *Crop Science*, 46, 2111-2120.
15. Gupta, N.K., Gupta, S. & Kumar, A. (2001). Effect of Water Stress on physiological attributes and their relationship with growth and yield of wheat cultivars at different stages. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 186, 55-62.
16. Hosseinzadeh, S.R., Amiri, H. & Ismaili, A. (2015). Effect of vermicompost fertilizer on photosynthetic characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Photosynthetica*, 54(1), 87-92.
17. Keller, J. & Bliesner, R.D. (1990). Sprinkler and trickle irrigation. Anavi book. Van Nostrand Reinhold, New York. Pp 652.
18. Medrano, H., Escalona, J.M., Bota, J., Gulias, J. & Flexas, J. (2002). Regulation of photosynthesis of C3 plant in response to progressive drought: stomatal conductance as a reference parameter. *Annals of Botany*, 89, 895-905.
19. Miyashita, K., Tanakamaru, S., Maitani, T. & Kimura, K. (2005). Recovery responses of photosynthesis, transpiration, and stomatal conductance in kidney bean following drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, 53(2), 205-214.
20. Munoz-Perea, C.G., Teran, 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, 2111-2120.
21. Reddy, A.R., Chaitanya, K.V. & Vivekanandan, M. (2004). Drought-induced response of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology*, 161, 1189-1202.
22. Sengupta, K., Mitra, S. & Ray, M. (2009). Effect of brassinolide on growth and yield of summer greengram crop. *Indian Agriculturist*, 53(3/4), 155-157.
23. Szilagyi, L. (2003). Influence of drought on seed yield components in common bean. *Bulgarian Journal of Plant Physiology. Special Issue*, 320-330.
24. Talaat, N.B. & Shawky, B.T. (2012). 24-Epibrassinolide ameliorates the saline stress and improves the productivity of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 82, 80-88.
25. 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*. DOI: 10.1007/s00344-015-9557-y.
26. Teran, H. & Singh, S.P. (2002). Comparison of sources and lines selected for drought resistance in common bean. *Crop Science*, 42(1), 64-70.
27. 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.
28. Tuba Bicer, B., Narin Kalender, A. & Akar, D.A. (2004). The effect of irrigation on spring-sown Chickpea. *Journal of Agronomy*, 3, 154-158.
29. Upreti, K.K. & Murti, G.S.R. (2004). Effects of brassinosteroids on growth, nodulation, phytohormone content and nitrogenase activity in French bean under water stress. *Biologia Plantarum*, 48(3), 407-411.

30. Vardhini, B.V. & Anjum, N.A. (2015). Brassinosteroids make plant life easier under abiotic stresses mainly by modulating major components of antioxidant defense system. *Frontiers in Environmental Science*. DOI: 10.3389/fenvs.2014.00067.
31. Xia, J.X., Huang, L.F., Zhou, Y.H., Mao, W.H., Shi, K., Wu, J.X., Asami, T., Chen, Z. & Yu, J.Q. (2009). Brassinosteroids promote photosynthesis and growth by enhancing activation of Rubisco and expression of photosynthetic genes in *Cucumis sativus*. *Planta*, 230, 1185-1196.
32. Yu, J.Q., Huang, L.F., Hu, W.H., Zhou, Y.H., Mao, W.H., Ye, S.F. & Noguees, S.A. (2004). A role of brassinosteroids in the regulation of photosynthesis in *Cucumis sativus*. *Journal of Experimental Botany*, 55, 1135-1143.
33. 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, 257-264.