

بررسی اثر کاربرد براسینولید در تحمل به خشکی لوبيا چشم بلبلی

(*Vigna unguiculata* L. Walp.)

امید صادقی‌پور^{۱*} و نیلگون بنکدار‌هاشمی^۲

- ۱) استادیار گروه زراعت، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
- ۲) دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه زراعت، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: Osadeghipour@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۹/۰۳

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۶/۱۵

چکیده

براسینو استروپریدها مواد طبیعی هستند که علاوه بر تنظیم رشد و نمو گیاهان، تحمل گیاهان زراعی به تنش‌های غیرزیستی را بهبود می‌بخشند. در این تحقیق، نقش کاربرد خارجی براسینولید در کاهش اثر نامطلوب تنش خشکی در لوبيا چشم بلبلی بررسی گردید. این آزمایش به صورت کوتاه‌شده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۲ در منطقه شهر ری اجرا شد. عامل اصلی شامل دو سطح آبیاری (آبیاری پس از ۶۰ و ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A به ترتیب به عنوان شرایط عدم تنش و تنش خشکی) و عامل فرعی نیز شامل پنج سطح کاربرد براسینولید (عدم کاربرد، خیساندن بذور در براسینولید با غلظت دو میکرومولار، خیساندن بذور در براسینولید با غلظت چهار میکرومولار، برگ‌پاشی براسینولید با غلظت دو میکرومولار و برگ‌پاشی براسینولید با غلظت چهار میکرومولار) بود. نتایج نشان داد که تنش خشکی به طور معنی‌داری محتوی آب نسبی، هدایت روزنه‌ای، شاخص سطح برگ، ارتفاع بوته و عملکرد دانه را کاهش ولی درصد پروتئین دانه را افزایش داد. با این وجود، کاربرد براسینولید به ویژه برگ‌پاشی آن با غلظت دو میکرومولار، محتوی آب نسبی، شاخص سطح برگ، درصد پروتئین دانه، ارتفاع بوته و عملکرد دانه را در هر دو شرایط عدم تنش و وجود تنش افزایش داد. ضمن این‌که هدایت روزنه‌ای را در شرایط عدم تنش افزایش و در شرایط وجود تنش کاهش داد که البته این تغییرات معنی‌دار نبود. بر اساس نتایج این تحقیق، کاربرد براسینولید از طریق بهبود محتوی آب نسبی، شاخص سطح برگ، ساخت پروتئین و تغییر در هدایت روزنه‌ای موجب بهبود رشد، ارتفاع بوته و عملکرد دانه لوبيا چشم بلبلی تحت شرایط عدم تنش و وجود تنش گردید. بنابراین می‌توان از برگ‌پاشی براسینولید به عنوان روشی جهت بهبود تحمل به تنش خشکی در لوبيا چشم بلبلی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: براسینو استروپریدها، تنش آبی، رشد، عملکرد و هدایت روزنه‌ای.

مقدمه

لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* L. Walp.) یکی از قدیمی‌ترین حبوبات با ارزش غذایی بالا، حدود ۲۵ پروتئین، خوش طعم با زمان پخت کوتاه می‌باشد. این گیاه توانایی زیادی در تثبیت زیستی نیتروژن خاک داشته و بنابراین برای رشد نیازی به خاک خیلی حاصل خیز ندارد. شاخ و برگ آن نیز به عنوان غذای دام مورد استفاده قرار می‌گیرند. لوبیا چشم بلبلی جزء لاینفک کشاورزی پایدار و نظامهای استفاده کارآمد از زمین است (Abayomi and Abidoye, 2009).

تنش‌های محیطی از جمله خشکی، دما، فلزات سنگین و شوری رشد و نمو گیاهان را به شدت کاهش می‌دهند. در بین تنش‌های غیرزیستی، خشکی یکی از غیرزیستی عوامل محیطی است که تولید گیاهان زراعی را محدود کرده و متوسط عملکرد را گاه تا ۵۰ درصد و یا بیشتر کاهش می‌دهد (Wang et al., 2003). جهت بهبود تولید محصولات کشاورزی تحت شرایط محدودیت آب، افزایش تحمل گیاهان زراعی به تنش خشکی ضروری است. برای کاهش اثر سوء تنش آبی بر گیاهان زراعی، روش‌های زراعی و فیزیولوژیکی مختلفی به کار می‌روند که در این میان استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد یکی از مناسب‌ترین و کاربردی‌ترین روش‌ها است. مواد تنظیم‌کننده رشد به طور گستره‌های برای القای تحمل به خشکی در محصولات کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Anjum et al., 2011 a). براسینو استروپیدها اولین هورمون‌های استروپیدی کشف شده در گیاهان هستند که دارای فعالیت محرک رشد می‌باشند. علاوه بر تحریک رشد، این هورمون‌ها نقش مهمی در سایر فرآیندهای نموی از قبیل جوانه‌زنی بذر، ریشه‌زایی، گل‌دهی، زوال، ریزش و رسیدگی ایفا می‌کنند. هم‌چنین براسینو استروپیدها در کاهش اثر نامطلوب تنش‌های محیطی مؤثرند (Qayyum et al., 2007). در بین مواد شیمیایی مختلف که برای کاهش اثر نامطلوب تنش آبی به کار می‌روند، مشخص شده که براسینولید (یکی از فرم‌های فعال و پایدار براسینو استروپیدها) رشد و تولید گیاهان را تحت شرایط کم‌آبی تنظیم می‌کند. براسینولید به عنوان ماده کاهش‌دهنده اثر تنش‌های مختلف زیستی و غیرزیستی شناخته شده است. کاربرد خارجی آن به طور مشخصی موجب تحریک رشد می‌شود. براسینولید فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی مانند فتوسنتز، اسیدهای نوکلیک، تجمع پرولین و ساخت پروتئین را تحریک می‌کند. هم‌چنین ثابت شده که این ماده، در مراحل رونویسی ژن و ترجمه نقش داشته و بنابراین سطوح پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و در نهایت عملکرد دانه را بهبود می‌بخشد. با وجود این که بسیاری از مطالعات روی بهبود تحمل گیاهان به تنش‌های شوری و دمای بالا متمرکز شده‌اند، گزارش‌های محدودی در خصوص قابلیت براسینولید در کاهش اثر خشکی در گیاهان زراعی وجود دارد (Anjum et al., 2011 a). برای مثال گزارش شده که روابط آبی و تبادلات گازی در گندم تحت تنش خشکی با کاربرد براسینولید بهبود یافته است (Sairam, 1994). هم‌چنین در عدس، استفاده از براسینولید عملکرد محصول را در شرایط خشکی افزایش داد (Hayat and Ahmad, 2003).

کاربرد براسینولید تحمل خشکی در برنج را بالا برد (Farooq *et al.*, 2009). با این وجود، اطلاعات اندکی در خصوص اثر براسینولید در تحمل خشکی لوبيا چشم بلبلی وجود دارد. لذا تحقیق حاضر به منظور بررسی نقش کاربرد براسینولید در بهبود تحمل به خشکی این گیاه بر اساس تغییرات محتوى آب نسبی، هدایت روزنایی، شاخص سطح برگ، محتوى پروتئین، ارتفاع بوته و عملکرد دانه صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در بهار سال ۱۳۹۲ در مزرعه آموزشی پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری واقع در جنوب تهران انجام شد. ارتفاع منطقه از سطح دریا ۱۰۰۰ متر است که از لحاظ موقعیت جغرافیایی، در عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۳۵ دقیقه و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۲۸ دقیقه واقع شده است. این منطقه جزو مناطق خشک با تابستانی گرم و خشک و زمستانی سرد و خشک محسوب شده که میانگین بارش و دما سالانه آن به ترتیب $20.1/7$ میلی‌متر و $20/4$ درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. کرت‌های اصلی دارای دو سطح آبیاری شامل: آبیاری پس از ۶۰ و ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A به ترتیب به عنوان شرایط عدم تنش و تنش خشکی بود. کرت‌های فرعی نیز شامل پنج سطح کاربرد براسینولید به شرح ذیل بود: ۱- عدم کاربرد براسینولید (شاهد- خیساندن بذور به مدت ۸ ساعت در آب مقطر)، ۲- خیساندن بذور به مدت ۸ ساعت در براسینولید با غلظت ۲ میکرومولا، ۳- خیساندن بذور به مدت ۸ ساعت در براسینولید با غلظت ۴ میکرومولا، ۴- محلول پاشی برگ در مراحل ۶ برگی و غنچه‌دهی با براسینولید با غلظت ۲ میکرومولا، ۵- محلول پاشی برگ در مراحل ۶ برگی و غنچه‌دهی با براسینولید با غلظت ۴ میکرومولا.

به منظور آماده‌سازی زمین، شخم عمیق در پاییز سال قبل از کشت به وسیله گاو‌اهن برگ‌داندار زده شد و در بهار قبل از کشت، به منظور خرد کردن کلوخه‌ها و هم‌چنین یکنواخت شدن وضعیت خاک مزرعه، دیسک و ماله زده شد و در زمان کشت با فاروئر جوی و پشت‌هایی به فاصله ۵۰ سانتی‌متر از هم ایجاد گردید. هر کرت فرعی شامل چهار خط کاشت به طول چهار متر با فاصله ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بین بوته‌ها روی هر خط کاشت نیز ۱۰ سانتی‌متر بود. بین هر دو تکرار دو نهر تعییه گردید که یکی برای آبیاری تکرار پایینی و دیگری به عنوان زهکش تکرار بالایی در نظر گرفته شد. فاصله هر دو کرت فرعی از هم یک متر (دو پشت‌های نکاشت) و فاصله کرت‌های اصلی از هم دو متر (چهار پشت‌های نکاشت) در نظر گرفته شد. در این آزمایش از رقم کامران که از ارقام پر محصول لوبيا چشم بلبلی است استفاده گردید. در تاریخ ۲۶ خرداد سال ۱۳۹۲ عملیات کاشت انجام شد. جهت کشت روی هر پشت‌های با استفاده از فوکا شیاری به عمق ۳-۴ سانتی‌متر ایجاد شد. به منظور

اطمینان از رویش یکنواخت، بذور با تراکم زیاد درون شیار روی پشت‌های کشت شده و سپس روی این بذور با مخلوط خاک نرم و ماسه پوشانده شد. اولین آبیاری بلافصله پس از کاشت و آبیاری‌های بعدی تا زمان تنک کردن بر اساس نیاز گیاه و شرایط محیطی انجام شد. پس از آن تیمارهای آبیاری بر اساس نقشه طرح اعمال گردیدند. در مرحله تشکیل ۲-۴ برگ حقیقی عمل تنک انجام شد و فاصله بوته‌ها روی پشت‌های ۱۰ سانتی‌متر (تراکم ۲۰ بوته در مترمربع) رسید. وجین علف‌های هرز در چند مرحله و به صورت دستی صورت گرفت. ضمن این که آفت یا بیماری که جهت کنترل آن نیاز به سمپاشی باشد مشاهده نگردید. در مرحله رویشی (۶ برگی) و غنچه‌دهی دو بار محلول‌پاشی کرت‌ها با براسینولید و طبق نقشه طرح صورت گرفت. محلول‌پاشی در اوایل صبح به وسیله سمپاش پشتی انجام شد.

در اواسط گل‌دهی، محتوی آب نسبی، هدایت روزنه‌ای و شاخص سطح برگ به شرح ذیل اندازه‌گیری شدند. جهت محاسبه محتوی آب نسبی، از خط دوم هر کرت دیسک‌هایی از ۱۰ برگ فعال و کاملاً توسعه یافته قسمت فوقانی پنج بوته تهیه و بلافصله وزن تر آن‌ها توسط ترازوی دقیق یادداشت شد. سپس نمونه‌ها درون ظرف‌های محتوی آب مقطر قرار گرفته و پس از ۲۴ ساعت وزن اشباع آن‌ها تعیین گردید. پس از آن، نمونه‌های برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت درون آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا وزن خشک آن‌ها محاسبه گردد. از تقسیم تفاضل وزن تر و خشک بر تفاضل وزن اشباع و خشک محتوی آب نسبی برگ‌ها تعیین گردید. برای سنجش میزان هدایت روزنه‌ای، دستگاه Leaf Porometer مدل SC-1 به کار گرفته شد. پس از حذف اثر حاشیه‌ای، این صفت از طریق برگ‌های کاملاً توسعه یافته بالایی پنج بوته از خط دوم هر کرت و هر کدام دو قرائت طی ساعت ۱۱-۹ اندازه‌گیری شد. جهت تعیین سطح برگ از دستگاه Leaf Area Meter مدل CI-202 استفاده شد. این صفت از اسکن کردن تمام برگ‌های پنج بوته از خط دوم هر کرت پس از حذف اثر حاشیه‌ای تعیین گردید. با توجه به تراکم ۲۰ بوته در مترمربع، حاصلضرب عدد حاصل در عدد چهار برابر با شاخص سطح برگ بود.

در زمان رسیدگی فیزیولوژیکی (واخر شهریور)، پس از حذف اثر حاشیه‌ای تعداد پنج بوته از خط دوم هر کرت کف بر شده و ارتفاع آن‌ها تا انتهای پیچک ساقه اندازه گرفته شد. پس از جدا کردن دانه‌ها از غلاف‌ها و آفتاب خشک کردن آنها، درصد پروتئین دانه‌ها با روش کجلال (درصد نیتروژن $\times 6/25$) تعیین گردید (Anonymous, 1984). جهت محاسبه عملکرد دانه از خط سوم هر کرت و پس از حذف نیم متر از ابتدا و انتهای هر خط و از ۳ متر طولی (معادل ۱/۵ مترمربع) تمامی بوته‌ها برداشت، دانه‌ها از غلاف‌ها جدا و آفتاب خشک شدند سپس عملکرد دانه هر کرت تعیین گردید. در نهایت تجزیه و تحلیل داده‌ها به وسیله نرمافزار آماری MSTAT-C و مقایسه میانگین‌ها نیز توسط آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

محتوى آب نسبى

جدول ۱ نشان داد که اثر تنفس خشکی، کاربرد براسینولید و همچنین برهمکنش این دو عامل بر محتوى آب نسبى در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. در این آزمایش، تنفس خشکی محتوى آب نسبى برگ های لوبيا چشم بلبلی را در مقایسه با شرایط عدم تنفس $26/4\%$ کاهش داد، با این وجود کاربرد براسینولید در هر دو شرایط آبی، محتوى آب نسبى را بهبود بخشید. بیشترین اثر از تیمار برگ پاشی براسینولید با غلظت دو میکرومولار حاصل شد. در شرایط عدم تنفس وجود تنفس، این تیمار نسبت به تیمار شاهد محتوى آب نسبى را به ترتیب معادل $8/7\%$ و $22/4\%$ افزایش داد به بیان دیگر اثر براسینولید در افزایش محتوى آب نسبى تحت تنفس خشکی چشم گیرتر از شرایط عدم تنفس بود (جدول ۲). محتوى آب نسبى معیاری جهت سنجش وضعیت آب گیاه است که نشان دهنده فعالیت متابولیکی بافتها میباشد و از آن به عنوان شاخصی برای شناسایی و تمایز لگومهای متتحمل به آب کشیدگی استفاده میشود (Sinclair and Ludlow, 1986).

محتوى آب نسبى برگ با جذب آب توسط ریشه ها و همچنین اتلاف آب در اثر تعرق مرتبط است. کاهش محتوى آب نسبى برگ در بسیاری از گیاهان در اثر تنفس خشکی روی می دهد (Nayyar and Gupta, 2006). در تحقیق حاضر، تنفس خشکی محتوى آب نسبى را کاهش داد. از سوی دیگر در هر دو شرایط آبی، کاربرد براسینولید میزان این صفت را افزایش داد. هم راستا با نتایج طرح حاضر، Sairam (۱۹۹۴) گزارش کرد که کاربرد براسینولید به طور معنی داری محتوى آب نسبى دو رقم گندم را تحت شرایط عدم تنفس و وجود تنفس خشکی افزایش داد که این امر به افزایش جذب آب در بوته های تیمار شده مرتبط بود. همچنین Anjum و همکاران (۲۰۱۱ a) دریافتند که تنفس خشکی موجب کاهش محتوى آب نسبى برگ های ذرت شد ولی کاربرد براسینولید باعث بهبود محتوى آب نسبى در هر دو شرایط تنفس و عدم تنفس گردید. از سوی دیگر، تحت تنفس شدید خشکی، محتوى آب برگ و پتانسیل آب گیاهچه های *Robinia pseudoacacia* تیمار شده با $0/2$ میلی گرم بر لیتر براسینولید به طور معنی داری بیشتر از تیمار شاهد بود. افزایش محتوى آب مربوط به کاهش تلفات آب گیاهچه ها در اثر تعرق بود (Li et al., 2008). در پژوهش حاضر نیز تیمار براسینولید در شرایط تنفس خشکی موجب کاهش (البته غیر معنی دار) هدایت روزنه های گردید که نشان دهنده کاهش تعرق و حفظ آب برگ می باشد.

نتایج سایر تحقیقات نیز بیان گر افزایش محتوى آب نسبى خیار، *Chorispora bungeana* و *Xanthoceras sorbifolia* تحت تنفس خشکی و گوجه فرنگی تحت تنفس کادمیوم در اثر کاربرد براسینولید است (Pustovoitova et al., 2001; Li et al., 2001; Li et al., 2011; Feng et al., 2012; Hayat et al., 2012).

جدول ۱: خلاصه تجزیه واریانس محتوی آب نسبی، هدایت روزنها، شاخص سطح برگ، درصد پروتئین دانه، ارتفاع بوته و عملکرد دانه لوبيا چشم بلبلی تحت اثر خشکی و کاربرد براسینولید

منابع تغییرات	آزادی	درجه	محتوی آب نسبی	هدایت روزنها	شاخص سطح برگ	پروتئین دانه	ارتفاع بوته	عملکرد دانه	میانگین مریعات
تکرار	۲		۰/۷۸ ^{ns}	۱۹۲/۰ ^{ns}	۰/۰۰ ۱ ^{ns}	۱/۹۱ ^{ns}	۰/۹ ^{ns}	۷۸۷۶۵/۶۳ ^{ns}	۷۸۷۶۵/۶۳ ^{ns}
خشکی	۱		۲۶۰.۶/۶۲ ^{**}	۴۵۱/۹۴ ^{**}	۷/۶۲ ^{**}	۳۴۸/۲۹ ^{**}	۲۳۶۶۰/۲۰.۸ ^{**}	۲۲۶۲۷۰/۳۰/۵ ^{**}	۲۲۶۲۷۰/۳۰/۵ ^{**}
خطای a	۲		۰/۲۲	۵۷/۷۲	۰/۰۰ ۳	۱/۶۳	۰/۳۱	۸۸۳۷۱/۲۳	۸۸۳۷۱/۲۳
براسینولید	۴		۱۱۱/۲۶ ^{**}	۳/۶۵ ^{ns}	۱/۱۲ ^{**}	۴۴/۲۵ ^{**}	۱۱۰.۷/۶۳ ^{**}	۶۹۷۷۴۰.۵/۹۱ ^{**}	۶۹۷۷۴۰.۵/۹۱ ^{**}
خشکی × براسینولید	۴		۱۰/۴۴ ^{**}	۱۵/۹۸ ^{**}	۰/۱ ^{**}	۷/۳۷ ^{ns}	۴۵۹/۵۰.۸ ^{**}	۸۰۶۳۱۵/۷۸ ^{**}	۸۰۶۳۱۵/۷۸ ^{**}
خطای b	۱۶		۰/۴۷	۹/۸۶	۰/۰۰ ۱	۲/۸۰	۰/۲۶	۷۴۴۲۸۹/۶	۷۴۴۲۸۹/۶
ضریب تغییرات (درصد)			۰/۸۳	۱۲/۳۰	۰/۹	۷/۹۰	۰/۳۹	۸/۲۱	۸/۲۱

.ns, * و ** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشد.

هدایت روزنها

اثر تنفس خشکی و همچنین برهمکنش تنفس خشکی و کاربرد براسینولید بر هدایت روزنها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود اما اثر کاربرد براسینولید بر این صفت معنی‌دار تشخیص داده نشد (جدول ۱). تنفس خشکی، هدایت روزنها برگ‌های لوبيا چشم بلبلی را در مقایسه با شرایط عدم تنفس معادل ۳۴٪ کاهش داد. با این وجود، کاربرد براسینولید در شرایط عدم تنفس، هدایت روزنها را نسبت به شاهد افزایش داد که البته این افزایش معنی‌دار نبود. همچنین تیمار براسینولید در شرایط تنفس خشکی، هدایت روزنها را در مقایسه با شاهد کاهش داد که البته این کاهش نیز معنی‌دار نبود. به بیان دیگر در شرایط عدم تنفس، کاربرد براسینولید با افزایش هدایت روزنها به بالابردن فتوسنتر کمک کرد در حالی‌که در شرایط تنفس، با کاهش هدایت روزنها در حفظ آب گیاه و اجتناب از تنفس نقش داشت (جدول ۲). روزنها منافذ اتلاف آب و نیز جذب CO_2 هستند. یکی از اولین واکنش‌های گیاه به تنفس خشکی بسته شدن روزنها است که سرعت فتوسنتر را نیز کاهش می‌دهد (Anjum *et al.*, 2011 b). بیش از ۹۹ درصد آب جذب شده توسط ریشه‌های گیاه از طریق تعرق و بهویژه توسط روزنها برگ از دست می‌رود. تحت تنفس آبی، گیاهان سعی می‌کنند محتوی آب خود را با کاهش هدایت روزنها حفظ کنند. تیمار گیاه *Robinia pseudoacacia* با ۰/۲۰ میلی‌گرم بر لیتر براسینولید سرعت تعرق و هدایت روزنها را به‌طور مشخصی در گیاهچه‌های تحت تنفس آبی کاهش داد (Li *et al.*, 2008). Qayyum و همکاران (۲۰۰۷) دریافتند که سرعت تعرق و هدایت روزنها برگ‌های گندم در دو سطح کاربرد اپی براسینولید تحت شرایط شوری و عدم شوری کاهش یافت. از سوی دیگر تنفس خشکی موجب کاهش هدایت روزنها ذرت شد ولی کاربرد براسینولید باعث بهبود هدایت روزنها در هر دو شرایط تنفس و عدم تنفس گردید اگرچه این افزایش معنی‌دار نبود (Anjum *et al.*, 2011 a). نتایج بعضًا متضاد در خصوص نقش براسینولید در هدایت روزنها نشان

می‌دهند که اثر این تنظیم‌کننده رشد بر هدایت روزنه‌ای به شدت بستگی به گونه گیاهی، نوع و شدت تنفس و همچنین غلظت و روش کاربرد آن دارد.

جدول ۲ : مقایسه میانگین محتوی آب نسبی، هدایت روزنه‌ای، شاخص سطح برگ، درصد پروتئین دانه، ارتفاع بوته و عملکرد دانه لوبیا چشم بلبلی تحت اثر خشکی و کاربرد براسینولید

تیمار (خشکی × براسینولید)	محتوی آب نسبی (درصد)	مترمربیج برگ بر ثانیه (درصد)	برگ	شاخص سطح برگ	هدایت روزنه‌ای (میلی مول بر ثانیه)	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	عملکرد دانه (گرم در مترازیع)
عدم تنفس × عدم کاربرد (شاهد)	۸۶/۵۹d	۲۸/۴۱a	۳/۵۶c	۲۲/۴۰c	۱۵۴/۳b	۲۳۳/۰d	
عدم تنفس × ۳ میکرومولاو خیساندن	۸۹/۸۵c	۲۹/۶۹a	۴/۰۶b	۲۳/۱۰c	۱۵۷/۰ab	۲۴۸/۶c	
عدم تنفس × ۴ میکرومولاو خیساندن	۹۳/۰۷ab	۳۰/۸۵a	۴/۱۹a	۲۴/۵۷bc	۱۶۳/۲a	۲۶۵/۸b	
عدم تنفس × ۲ میکرومولاو برگپاشی	۹۴/۱۱a	۳۰/۷۵a	۴/۳۴a	۲۴/۹۶bc	۱۶۸/۰a	۲۸۰/۲a	
عدم تنفس × ۴ میکرومولاو برگپاشی	۹۲/۲۳b	۳۰/۵۹a	۴/۰۰b	۲۲/۸۰c	۱۵۹/۲ab	۲۶۲/۹b	
خشکی × عدم کاربرد	۶۳/۷۵h	۱۸/۷۲b	۲/۴-g	۲۶/۱۷b	۸۶/۲f	۱۳۴/۹h	
خشکی × ۲ میکرومولاو خیساندن	۷۰/۴۵g	۱۸/۱۰b	۲/۷۱f	۲۷/۱۷ab	۹۸/۴e	۱۴۵/۱g	
خشکی × ۴ میکرومولاو خیساندن	۷۵/۴۰f	۱۷/۵۴b	۳/۲۰d	۲۹/۶۴a	۱۲۳/۱d	۱۶۳/۵f	
خشکی × ۲ میکرومولاو برگپاشی	۷۸/۰۶e	۱۷/۱۰b	۳/۳۲d	۳۰/۴۲a	۱۳۲/۵c	۱۷۴/۶e	
خشکی × ۴ میکرومولاو برگپاشی	۷۴/۹۸f	۱۶/۲۹b	۲/۸۹e	۲۷/۱۵ab	۹۹/۳e	۱۶۰/۸f	

میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند، اختلاف آماری معنی‌داری در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد نداشتند.

شاخص سطح برگ

همان‌گونه که در جدول ۱ مشخص است اثر تنفس خشکی، کاربرد براسینولید و همچنین برهمکنش آن‌ها بر شاخص سطح برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اعمال خشکی، شاخص سطح برگ لوبیا چشم بلبلی را در مقایسه با عدم تنفس ۳۳٪ کاهش داد. با این وجود، کاربرد براسینولید در هر دو شرایط آبی، شاخص سطح برگ را افزایش داد. بیشترین اثر از تیمار برگپاشی براسینولید با غلظت دو میکرومولاو حاصل شد. در شرایط عدم تنفس و وجود تنفس، این تیمار نسبت به تیمار شاهد شاخص سطح برگ را به ترتیب معادل ۲۲٪ و ۳۸٪ افزایش داد. این امر نشان داد که اثر کاربرد براسینولید در بهبود محتوی آب نسبی برگ‌های لوبیا چشم بلبلی در شرایط تنفس دارای شب نسبتاً تندتری بود. این موضوع در حقیقت نشان‌دهنده برهمکنش معنی‌داری است که بین دو عامل تنفس خشکی و کاربرد براسینولید وجود داشت. البته تیمار فوق با تیمار خیساندن بذور در براسینولید با غلظت چهار میکرومولاو اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲). احتناب از تنفس خشکی معمولاً از طریق تغییراتی در گیاه از قبیل کاهش هدایت روزنه‌ای، کاهش سطح برگ، توسعه سیستم ریشه‌ای و افزایش نسبت ریشه به اندام هوایی حاصل می‌شود (Levitt, 1980). به منظور فتوستنتز و تولید ماده خشک، گسترش متعادل سطح برگ ضروری است. در بسیاری از گونه‌های گیاهی اصولاً تنفس آبی، رشد و سطح برگ را کاهش می‌دهد (Jaleel *et al.*, 2009). مشاهدات ما نشان داد که تنفس خشکی، شاخص سطح برگ را کاهش داد. با این حال، در هر دو شرایط آبی، کاربرد براسینولید میزان این صفت را افزایش داد. افزایش شاخص سطح برگ در اثر تیمار براسینولید ممکن است به فعالیت بافت‌های مریستمی گیاه و افزایش تعداد و اندازه سلول‌ها نسبت داده شود که در نهایت

سطح فتوستزکننده را افزایش می‌دهد (Prakash *et al.*, 2008). مشابه یافته‌های ما، Sairam (۱۹۹۴) گزارش نمود که در دو رقم گندم، تیمار با براسینولید سطح برگ و زیست‌توده را در مرحله لقادره طور معنی‌داری تحت شرایط تنش و عدم تنش خشکی افزایش داد. سطح برگ بالاتر به دلیل تأخیر در زوال و ریزش برگ بود. افزایش سطح برگ در اثر کاربرد براسینولید با توانایی گیاه در جذب بیشتر نور و در نتیجه بهبود کارایی فتوستز مرتبط است. این امر نشان‌دهنده اثر مثبت براسینولید بر تقسیم سلولی و در نتیجه اندازه برگ، آناتومی برگ و تعداد روزنه‌ها است (Yu *et al.*, 2004). هم‌چنین Anjum و همکاران (۲۰۱۱a) مشاهده کردند که تنش خشکی موجب کاهش سطح برگ بوته‌های ذرت شد ولی کاربرد براسینولید باعث بهبود سطح برگ در هر دو شرایط تنش و عدم تنش گردید. نتایج سایر مطالعات نیز بیان گر افزایش سطح برگ خیار، گوجه فرنگی، ماش و لوبيا چشم بلبلی در اثر تیمار با براسینولید است (Yu *et al.*, 2004; Hayat *et al.*, 2012; Sengupta *et al.*, 2011; Asha and Lingakumar, 2015).

درصد پروتئین دانه

اثر تنش خشکی و کاربرد براسینولید بر محتوی پروتئین دانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ولی برهمکنش آن‌ها بر این صفت معنی‌دار تشخیص داده نشد (جدول ۱). درصد پروتئین دانه لوبيا چشم بلبلی در اثر تنش خشکی نسبت به شرایط عدم تنش معادل ۱۷ درصد افزایش یافت. با این وجود، کاربرد براسینولید در هر دو شرایط آبی، درصد پروتئین دانه را بالاتر برداشت. بیشترین اثر از تیمار برگ‌پاشی براسینولید با غلظت دو میکرومولار حاصل شد. در شرایط عدم تنش وجود تنش، این تیمار نسبت به تیمار شاهد درصد پروتئین دانه را به ترتیب معادل ۱۱/۵ و ۱۶/۵ درصد افزایش داد. البته این تیمار با تیمار خیساندن بدوز در براسینولید با غلظت چهار میکرومولار اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲). تحت تنش خشکی، به علت کوتاه شدن دوره پر شدن دانه، از انتقال مواد فتوستزی به سمت دانه‌ها کاسته شده و ذخیره نشاسته در آن‌ها کاهش می‌یابد که این امر موجب کوچک شدن دانه‌ها و افزایش درصد پروتئین می‌گردد. ضمن اینکه در شرایط تنش، گیاه با ساخت پروتئین‌های متحمل به تنش، میزان پروتئین‌های محلول خود را نیز افزایش می‌دهد (De-Mejia *et al.*, 2003). در تحقیق حاضر، تنش خشکی محتوی پروتئین دانه‌ها را افزایش داد. از سوی دیگر در هر دو شرایط آبی، کاربرد براسینولید میزان این صفت را باز هم بالاتر برداشت. افزایش میزان پروتئین‌های محلول به دلیل کاربرد براسینولید به علت افزایش فعالیت آنزیمهای دخیل در سوخت و ساز نیتروژن است (Syed Ali Fathima *et al.*, 2011). هم‌چنین کاربرد براسینولید علاوه بر اثر بر فعالیت‌های متابولیکی مختلف، جذب آب و عناصر غذایی بهویژه نیتروژن را افزایش داده که این امر منجر به افزایش ساخت پروتئین، رشد و در نهایت عملکرد می‌شود (Sairam, 1994). از سوی Feng و Li (۲۰۱۱) گزارش کردند که تیمار گیاه *Xanthoceras sorbifolia* با براسینولید موجب افزایش محتوی

پروتئین و پرولین شد که این امر به منظور محافظت گیاه از خسارت خشکی رخ داد. افزایش میزان پروتئین‌های محلول در Yu *et al.*, 2004; Asha and Lingakumar, 2015; Sana and Rahman, 2014 اثر تیمار با براسینولید در خیار، لوبیا چشم بلبلی و ماش نیز گزارش شده است (Lingakumar, 2015; Sana and Rahman, 2014).

ارتفاع بوته

جدول ۱ نشان داد که اثر تنفس خشکی، کاربرد براسینولید و همچنین برهمکنش این دو عامل بر ارتفاع بوته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. در این تحقیق، تنفس خشکی ارتفاع بوته لوبیا چشم بلبلی را در مقایسه با شرایط عدم تنفس ۴۴ درصد کاهش داد. با این وجود، کاربرد براسینولید در هر دو شرایط آبی، ارتفاع بوته را افزایش داد. بیشترین اثر از تیمار برگ‌پاشی براسینولید با غلظت دو میکرومولار حاصل شد. در شرایط عدم تنفس وجود تنفس، این تیمار نسبت به تیمار شاهد ارتفاع بوته را به ترتیب معادل ۹ و ۵۴ درصد افزایش داد. به عبارت دیگر نقش براسینولید در افزایش ارتفاع بوته در شرایط تنفس بسیار مشخص‌تر بود (جدول ۲). رشد سلول یکی از حساس‌ترین فرآیندهای فیزیولوژیکی به خشکی است که دلیل آن کاهش فشار آماس سلولی است. رشد نتیجه تولید سلول‌های دختری توسط تقسیم سلول‌های مریستمی و به دنبال آن بزرگ شدن سلول‌های جوان است. تحت تنفس شدید آبی، طویل شدن سلول‌های گیاهان عالی می‌تواند در اثر اختلال در جریان آب از آوندهای چوب به سلول‌های در حال طویل شدن متوقف گردد. خشکی موجب مختل شدن میتوز، طویل و حجیم شدن سلول و در نتیجه کاهش رشد از جمله ارتفاع ساقه می‌شود (Anjum *et al.*, 2011 b). مشاهدات ما نشان داد که، تنفس خشکی ارتفاع بوته را کاهش داد، اما در هر دو شرایط آبی، کاربرد براسینولید میزان این صفت را افزایش داد. براسینو استروپیدها طیف وسیعی از واکنش‌ها از قبیل تحریک رشد طولی بافت‌های جوان از طریق تقسیم و طویل شدن سلولی و همچنین تمایز آوندی را القا می‌کنند که فرآیند نموی مهمی برای رشد گیاه محسوب می‌شود (Anjum *et al.*, 2011 a) و همکاران (Asha and Lingakumar, 2015) بیان کردند که اعمال خشکی در مرحله ظهور گل‌های نر ذرت به شدت رشد گیاه را از نظر ارتفاع بوته، سطح برگ، تعداد بلال و وزن تر و خشک کاهش داد که این امر به میزان زیادی مربوط به اختلال در روابط آبی و تبادلات گازی برگ بود. با این وجود، کاربرد براسینولید موجب بهبود رشد در شرایط تنفس گردید. این تحریک رشد به بهبود انتقال مواد فتوسنتری که منجر به افزایش اجزای عملکرد، وزن تر و خشک اندام هوایی، ارتفاع بوته و عملکرد دانه شد نسبت داده می‌شود. در تحقیق دیگری، دو مرحله برگ‌پاشی براسینولید در مراحل غنچه‌دهی و گل‌دهی آفتابگردان بهطور معنی‌داری ارتفاع بوته را در مقایسه با یک مرحله برگ‌پاشی افزایش داد. افزایش ارتفاع بوته مربوط به اثر مثبت براسینولید بر بافت‌های مریستمی گیاه و افزایش تعداد و اندازه سلول‌ها بود (Bera *et al.*, 2014). همچنین برگ‌پاشی با براسینولید موجب افزایش ارتفاع بوته و سطح برگ‌های ماش گردید که این امر

مربوط به افزایش تقسیم و طویل شدن سلول ها بود (Sana and Rahman, 2014) و همکاران (۲۰۱۱) نیز اظهار کردند که برگپاشی با براسینولید موجب افزایش ارتفاع بوته ماش گردید که این امر به افزایش بیوسنتز اکسین و جیبرولین توسط براسینولید نسبت داده شد. در تحقیق دیگری کاربرد براسینولید بهویژه با غلظت $^{+/-} 10^{-8}$ مولار، موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی و ریشه، تعداد شاخه های فرعی، ارتفاع و قطر ساقه گیاه مرزه تحت تنفس خشکی گردید که از این طریق اثر سوء تنفس را کاهش داد (Eskandari, 2011). سایر محققین نیز افزایش ارتفاع ساقه لوبیا چشم بلبلی و Asha and Lingakumar, 2015; Li et al., 2008 را تحت اثر تیمار با براسینولید گزارش نموده اند (*Robinia pseudoacacia*).

عملکرد دانه

اثر تنفس خشکی، کاربرد براسینولید و برهمکنش این دو عامل بر عملکرد دانه در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۱). تنفس خشکی عملکرد دانه لوبیا چشم بلبلی را در مقایسه با شرایط عدم تنفس معمدل ۴۲ درصد کاهش داد. با این وجود، کاربرد براسینولید در هر دو شرایط آبی، عملکرد دانه را افزایش داد. بیشترین اثر تیمار برگپاشی براسینولید با غلظت دو میکرومولار حاصل شد. در شرایط عدم تنفس و وجود تنفس، این تیمار نسبت به تیمار شاهد عملکرد دانه را به ترتیب معمدل ۲۰ و ۲۹ درصد افزایش داد (جدول ۲). اگرچه لوبیا چشم بلبلی جزو گیاهان متتحمل به کم آبی است با این وجود، تنفس شدید آبی بهویژه در مراحل گلدهی و پر شدن غلافها عملکرد آن را کاهش می دهد. افت عملکرد دانه لوبیا چشم بلبلی به کاهش اجزای عملکرد شامل تعداد غلاف، تعداد دانه در غلاف و وزن دانه ها نسبت داده شده است (Ahmed and Suliman, 2010; Abayomi and Abidoye, 2009) و همکاران (۲۰۱۱) نیز گزارش کردند که برگپاشی با براسینولید موجب افزایش عملکرد دانه ماش گردید که این امر مربوط به بهبود اجزای عملکرد بود. همچنین Kamal و همکاران (۱۹۹۵) دریافتند که افزایش عملکرد سویا در اثر کاربرد براسینولید در مرحله گلدهی در درجه اول مربوط به افزایش تعداد دانه و غلاف از طریق افزایش تعداد گره های بارور و تعداد غلاف در هر گره بارور بود. در آزمایش دیگری دو بار برگپاشی با براسینولید در مقایسه با یک مرحله برگپاشی، عملکرد دانه آفتابگردان را $25/9$ درصد افزایش داد. افزایش عملکرد ممکن است به دلیل راندمان فتوشیمیایی بالاتر از نظر واکنش هیل و جذب CO_2 باشد که به افزایش تجمع رنگدانه های فتوسنتزی بهویژه کلروفیل و محتوی بیشتر پروتئین های محلول نسبت داده می شود (Bera et al., 2014) و همکاران (۲۰۱۱ a) نیز بیان کردند که تنفس خشکی موجب کاهش عملکرد دانه ذرت شد ولی کاربرد براسینولید باعث بهبود عملکرد دانه در هر دو شرایط تنفس و عدم تنفس گردید. در

آزمایش صورت گرفته توسط Sairam (۱۹۹۴) مشخص شد که کاربرد براسینولید باعث افزایش معنی‌دار عملکرد دانه و اجزای آن از قبیل تعداد سنبله، تعداد دانه در سنبله، وزن هزار دانه و شاخص برداشت در دو رقم گندم تحت شرایط خشکی و عدم خشکی گردید. غلظت $0/05$ بی‌یام بهصورت بذرمال و یا برگ‌پاشی بهترین نتیجه را داشت. اثر مفید براسینولید از نظر افزایش فعالیتهای متابولیکی و عملکرد دانه تحت تنش آبی، به دلیل افزایش پایداری غشاء و یا ساخت پروتئین‌های ویژه متحمل به تنش بود. علاوه بر این‌ها، براسینولید باعث بهبود جذب آب و مواد غذایی بهویژه نیتروژن شد که موجب افزایش ساخت پروتئین، رشد و در نهایت عملکرد گردید. Ramraj و همکاران (۱۹۹۷) نیز گزارش کردند که برگ‌پاشی با براسینولید موجب افزایش عملکرد دانه گندم، برنج، خردل و پنبه، عملکرد غلاف بادام زمینی و عملکرد غده سیب زمینی گردید. آن‌ها همچنین بیان کردند که بهبود عملکرد بستگی به گونه گیاهی، غلظت براسینولید و مراحل و زمان کاربرد آن داشت.

نتیجه‌گیری

تشخیص خشکی موجب کاهش محتوی آب نسبی، هدایت روزنها، شاخص سطح برگ، ارتفاع بوته و عملکرد دانه لوبيا چشم بلبلی گردید اما درصد پروتئین دانه را افزایش داد. با این وجود، تیمار با براسینولید بهویژه برگ‌پاشی آن با غلظت دو میکرومولار، باعث افزایش محتوی آب نسبی، شاخص سطح برگ، درصد پروتئین دانه، ارتفاع بوته و عملکرد دانه در هر دو شرایط عدم تنش و وجود تنش شد. ضمن اینکه هدایت روزنها را در شرایط عدم تنش افزایش و در شرایط وجود تنش کاهش داد که البته این تغییرات معنی‌دار نبود. بر اساس نتایج این تحقیق، کاربرد براسینولید از طریق بهبود محتوی آب نسبی، شاخص سطح برگ، ساخت پروتئین و تغییر در هدایت روزنها موجب بهبود رشد، ارتفاع بوته و عملکرد دانه لوبيا چشم بلبلی تحت شرایط تنش و عدم تنش گردید. بنابراین می‌توان از برگ‌پاشی براسینولید بهعنوان روشی جهت بهبود رشد و عملکرد لوبيا چشم بلبلی تحت شرایط تنش خشکی و عدم تنش استفاده نمود.

منابع

- Abayomi, Y.A. and Abidoye, T.O. 2009.** Evaluation of cowpea genotypes for soil moisture stress tolerance under screen house conditions. African Journal of Plant Science 3 (10): 229-237.
- Ahmed, F.E. and 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.
- Anjum, S.A., Wang, L.C., Farooq, M., Hussain, M., Xue, L.L. and Zou, C.M. 2011 a.** Brassinolide application improves the drought tolerance in maize through modulation of enzymatic antioxidants and leaf gas exchange. Journal of Agronomy and Crop Science 197: 177-185.

Anjum, S.A., Xie, X.Y., Wang, L.C., Saleem, M.F., Man, C. and Lei, W. 2011 b. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. African Journal of Agricultural Research 6 (9): 2026-2032.

Anonymous, 1984. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, 14th ed. Washington DC. USA. ISBN: 0-935584-24-2.

Asha, A. and Lingakumar, K. 2015. Effect of 24-epibrassinolide on the morphological and biochemical constitutions *Vigna unguiculata* (L.) seedlings. Indian Journal of Scientific Research and Technology 3 (1): 35-39.

Bera, A.K., Pramanik, k. and Mandal, B. 2014. Response of biofertilizers and homobrassinolideon growth, yield and oil content of sunflower (*Helianthus annuus* L.). African Journal of Agricultural Research 9 (48): 3494-3503.

De-Mejia, E.G., Martinez-Resendiz, V., Castano-Tostado, E. and Loarca-Pina G. 2003. Effect of drought on polyamine metabolism, yield, protein content and in vitro protein digestibility in tepary (*Phaseolus acutifolius*) and common (*Phaseolus vulgaris*) bean seeds. Journal of the Science of Food and Agriculture 83: 1022-1030.

Eskandari, M. 2011. The effect of 28-Homobrassinolid in reducing the effects of drought in savory herbs. International Journal of Plant Physiology and Biochemistry 3 (11): 183-187.

Farooq, M., Wahid, A., Basra, S.M.A. and Din, I.U. 2009. Improving water relations and gas exchange with brassinosteroids in rice under drought stress. Journal of Agronomy and Crop Science 195: 262-269.

Hayat, S. and Ahmad, A. 2003. Soaking-seeds of *Lens culinaris* with 28-homobrassinolide increased nitrate reductase activity and grain yield in the field in India. Annals of Applied Biology 143: 121-124.

Hayat, S., Alyemeni, M.N. and Hasan, S.A. 2012. Foliar spray of brassinosteroid enhances yield and quality of *Solanum lycopersicum* under cadmium stress. Saudi Journal of Biological Sciences 19: 325-335.

Jaleel, C.A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. 2009. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. International Journal of Agriculture and Biology 11: 100-105.

Kamal, M., Takahashi, H., Mikoshiba, H. and Ota, Y. 1995. Analysis of soybean yield components as affected by plant growth regulators applied at flowering stages. Japanese Journal of Tropical Agriculture 39: 184-189.

Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stress: chilling, freezing and high temperature stresses. 2nd ed. New York, Academic Press.

- Li, K.R., Wang, H.H., Han, G., Wang, Q.J. and Fan, J.** 2008. Effects of brassinolide on the survival, growth and drought resistance of *Robinia pseudoacacia* seedlings under water-stress. *New Forests* 35: 255-266.
- Li, K.R. and Feng, C.H.** 2011. Effects of brassinolide on drought resistance of *Xanthoceras sorbifolia* seedlings under water stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 33: 1293-1300.
- Li, Y.H., Liu, Y.J., Xu, X.L., Jin, M., An, L.Z. and Zhang, H.** 2012. Effect of 24-epibrassinolide on drought stress-induced changes in *Chorispora bungeana*. *Biologia Plantarum* 56 (1): 192-196.
- Nayyar, H. and Gupta, D.** 2006. Differential sensitivity of C3 and C4 plants to water deficit stress: association with oxidative stress and antioxidants. *Environmental and Experimental Botany* 58: 106-113.
- Prakash, M., Suganthi, S., Gokulakrishnan, J. and Sabesan, T.** 2008. Effect of homobrassinolide on growth, physiology and biochemical aspects of sesame. *Karnataka Journal of Agricultural Sciences* 20 (1): 110-112.
- Pustovoitova, T.N., Zhdanova, N.E. and Zholkevich, V.N.** 2001. Epibrassinolide increases plant drought resistance. *Doklady Biochemistry and Biophysics* 376: 36-38.
- Qayyum, B., Shahbaz, M. And Akram, N.A.** 2007. Interactive effect of foliar application of 24-epibrassinolide and root zone salinity on morpho-physiological attributes of wheat (*Triticum aestivum* L.). *International Journal of Agriculture and Biology* 9 (4): 584-589.
- Ramraj, V.M., Vyas, B.N., Godrej, N.B., Mistry, K.B., Swami, B.N. and Singh, N.** 1997. Effects of 28-homobrassinolide on yields of wheat, rice, groundnut, mustard, potato and cotton. *The Journal of Agricultural Science* 128: 406-413.
- Sairam, R.K.** 1994. Effect of homobrassinolide application on plant metabolism and grain yield under irrigated and moisture stress conditions of two wheat varieties. *Plant Growth Regulation* 14: 173-181.
- Sana, N.H. and Rahman, A.** 2014. Comparative changes in metabolism of vigna radiata by foliar and root application of brassinolide at different concentrations. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry* 6 (5): 56-65.
- Sengupta, K., Banik, N.C., Bhui, S. and Mitra, S.** 2011. Effect of brassinolide on growth and yield of summer green gram crop. *Journal of Crop and Weed* 7 (2): 152-154.
- Sinclair, T.R. and Ludlow, M.M.** 1986. Influence of soil water supply on the plant water balance of four tropical grain legumes. *Australian Journal of Plant Physiology* 13: 329-341.
- Syed Ali Fathima, M., Johnson, M. and Lingakumar, K.** 2011. Effect of Crude Brassinosteroid Extract on Growth and Biochemical Changes of *Gossypium hirsutum* L. and *Vigna mungo* L. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry* 7 (4): 324-334.

Wang, W., Vinocur, B. and Altman, A. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* 218: 1-14.

Yu, J.Q., Huang, L.F., Hu, W.H., Zhou, Y.H., Mao, W.H., Ye, S.F. and Nogues, S. 2004. A role for brassinosteroids in the regulation of photosynthesis in *Cucumis sativus*. *Journal of Experimental Botany* 55: 1135-1143.