Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Crop Production

Print ISSN: 2008- 739x
Online ISSN: 2008- 7403

Iranian Society of Agronomy and Plant Breeding Sciences

Investigating the role of brassinolide in tolerance to lead toxicity on growth and physiological traits of pinto beans

Kosar Hajiri[1], Alireza Pazoki[2*]

[1] M.Sc Student, Dept. of Agronomy, Yadgar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, Email: khjiri.95@gmail.com

[2] Associate Prof., Dept. of Agronomy, Yadgar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, Email: alireza.pazoki@ut.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 2022-10-9
Revised:
Accepted: 2023-10-4

Keywords:
Brassinosteroid
Biomarkers
Lead
Pinto beans
Yield

ABSTRACT

Background and objectives: Heavy metal pollution is becoming a serious problem for agricultural lands and a great threat to the sustainability of agricultural ecosystems. Lead is one of the most dangerous heavy metals, which is the second heavy metal after arsenic in terms of toxicity and occurrence. One of the important aspects of tolerance of non-living stresses including heavy metals in plants is the role of plant growth regulators. Among these growth regulators, we can mention brassinosteroid, which plays an important role in inducing the reaction of plants to many abiotic stresses such as heavy metals. As a messenger molecule, this compound increases the activity of antioxidant enzymes and reduces the production of reactive oxygen species. In the production of the leguminous family, the toxicity caused by heavy metals has a significant effect. Therefore, the present research is aimed at investigating the effect of the heavy metal lead and the moderating effect of brassinolide.

Materials and methods: In order to investigate the brassinolide application effect on reducing the toxicity caused by lead heavy metal stress in the pinto bean plant (Talash cv.) a pot experiment was conducted in the greenhouse located in Ray City in spring and summer of 2021. This research was conducted in the form of a completely randomized design with 6 treatments and 4 replications. The treatments were 1) control (no application of lead and brassinolide) (T1). 2) lead stress (application of 200 mg/kg of soil from a source of lead nitrate) (T2). 3) lead stress + seed treatment with brassinolide. Concentration of 0.1 mg/liter for 12 hours (T3). 4) Lead stress + seed treatment with brassinolide with a concentration of 0.2 mg/liter for 12 hours (T4). 5) Lead stress + spraying Brassinolide with a concentration of 0.1 mg/liter from the 4-leaf stage during 3 stages with an interval of 7 days (T5). During 3 stages with an interval of 7 days (T6).

Results: The results of this research showed that the vegetative traits all decreased due to the use of lead and the toxicity of this heavy metal, but biomarkers and antioxidant enzymes increased along with root lead. This method increased the resistance of pinto beans to lead stress. The results of the mean comparisons showed that the highest seed yield with an average of 18.31 gr/plant was obtained from the control treatment (no use of lead and brassinolide) and the lowest amount with an average of 8.22 grams per plant was obtained from the treatment of lead toxicity with an amount of 200 ml g/kg and lack of brassinolide consumption were found to moderate the effect of lead. Also, among the treatments in which brassinolide was used as a compound preventing the harmful effects of the heavy metal lead, the highest amount with an average of 13.84 grams per plant was related to the

use of 0.2 mg/liter as a foliar spray, which indicates The superiority of using brassinolide as a foliar spray is compared to other methods and consumption amounts.

Conclusion: These results showed that seed pretreatment and foliar spraying with brassinolide can be used as a useful method to tolerate lead stress in beans by reducing lead absorption, increasing the activity of antioxidant enzymes and improving the greenness index and water condition of the plant.

Cite this article: Hajiri, K., Pazoki, A.R. 2023. Investigating the role of brassinolide in tolerance to lead toxicity on growth and physiological traits of pinto beans. *Crop Production Journal*, 16 (3), 17-32.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/ejcp.2024.20577.2532
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

تـولیـد گیـاهـان زراعـی
شـاپـا چـاپـی: ۲۰۰۸-۷۳۹x
شاپا الکترونیکی: ۲۰۰۸-۷۴۰۳
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
انجمن علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران

بررسی نقش براسینولید در تحمل به سمیت سرب بر صفات رشدی و فیزیولوژیک لوبیا چیتی

کوثر حجیری[۱]، علیرضا پازکی[۲*]

[۱] دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه زراعت، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، رایانامه: Khjiri.95@gmail.com
[۲] دانشیار، گروه زراعت، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، رایانامه: alireza.pazoki@ut.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۷/۱۷
تاریخ ویرایش:
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۷/۱۲

واژه‌های کلیدی:
براسینواستروئید
بیومارکرها
سرب
عملکرد
لوبیا چیتی

چکیده

سابقه و هدف: آلودگی فلزات سنگین در حال تبدیل شدن به یک مشکل جدی برای زمین‌های کشاورزی و یک تهدید بزرگ برای پایداری زیست بوم‌های زراعی است. سرب یکی از خطرناک‌ترین فلزات سنگین است که از نظر سمیت و وقوع، دومین فلز سنگین پس از آرسنیک محسوب می‌شود. یکی از جنبه‌های مهم تحمل تنش‌های غیرزنده از جمله فلزات سنگین در گیاهان نقش تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی است. از جمله این تنظیم‌کننده‌های رشدی می‌توان به براسینواستروئید اشاره نمود که در القای واکنش گیاهان به بسیاری از تنش‌های غیر زنده مانند فلزات سنگین نقش مهمی دارد. این ترکیب به عنوان یک مولکول پیام‌رسان، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را افزایش و تولید گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش می‌دهد. در تولید خانواده لگومینوز سمیت ناشی از فلزات سنگین تاثیر به‌سزایی دارند. از این‌رو، تحقیق حاضر به منظور بررسی تاثیر فلز سنگین سرب و اثر تعدیل کنندگی براسینولید انجام شد.

مواد و روش‌ها: این آزمایش به منظور بررسی نقش کاربرد براسینولید در کاهش مسمومیت ناشی از تنش فلز سنگین سرب در گیاه لوبیا چیتی رقم تلاش، به صورت گلدانی در گلخانه‌ای واقع در شهر ری در بهار و تابستان ۱۴۰۰ اجرا شد. این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و در ۴ تکرار اجرا شد. تیمارها عبارتند بودند از ۱) شاهد (عدم کاربرد سرب و براسینولید) (T1).۲) تنش سرب (کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک از منبع نیترات سرب) (T2).۳) تنش سرب + تیمار بذر با براسینولید با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر به مدت ۱۲ ساعت (T3). ۴) تنش سرب + تیمار بذر با براسینولید با غلظت ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر به‌مدت ۱۲ ساعت (T4). ۵) تنش سرب + محلول‌پاشی براسینولید با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر از مرحله ۴ برگی طی ۳ مرحله با فاصله ۷ روز (T5). ۶)- تنش سرب + محلول‌پاشی براسینولید با غلظت ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر از مرحله ۴ برگی طی ۳ مرحله با فاصله ۷ روز (T6).

یافته‌ها: نتایج این تحقیق نشان داد که صفات رویشی همگی در اثر کاربرد سرب و سمیت این فلز سنگن کاهش یافتند، اما بیومارکرها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به همراه سرب ریشه افزایش یافتند. در این بین، کاربرد براسینولید موجب افزایش بیومارکرها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

گردید که از این طریق موجب افزایش مقاومت لوبیا چیتی نسبت به تنش سرب گردید. نتایج مقایسات میانگین نشان داد که بیش‌ترین عملکرد دانه با میانگین ۱۸/۳۱ گرم در بوته از تیمار شاهد (عدم مصرف سرب و براسینولید به‌دست آمد و کم‌ترین مقدار نیز با میانگین ۸/۲۲ گرم در بوته مربوط به تیمار سمیت سرب به مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و عدم مصرف براسینولید به‌عنوان تعدیل‌کننده اثر سرب به‌دست آمد. همچنین، در بین تیمارهایی که از براسینولید به‌عنوان ترکیب ممانعت‌کننده از اثرات سوء فلز سنگین سرب استفاده شده بود، بالاترین مقدار با میانگین ۱۳/۸٤ گرم در بوته مربوط به مصرف ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر به صورت محلول پاشی بود که این امر نشان‌دهنده برتری کاربرد براسینولید به صورت محلول‌پاشی نسبت به سایر روش‌ها و مقادیر مصرف می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی: این نتایج نشان داد که پیش تیمار بذر و محلول پاشی با براسینولید می‌تواند از طریق کاهش جذب سرب، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و بهبود شاخص سبزینگی و وضعیت آبی گیاه، به‌عنوان روشی مفید در تحمل به تنش سرب در لوبیا مورد استفاده قرار گیرد.

استناد: حجیری، ک.، پازکی، ع. (۱٤۰۲). بررسی نقش براسینولید در تحمل به سمیت سرب بر صفات رشدی و فیزیولوژیک لوبیا چیتی. *مجله تولید گیاهان زراعی*، ۱٦ (۳)، ۳۲-۱۷.

DOI: 10.22069/ejcp.2024.20577.2532

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

آلودگی فلزات سنگین در حال تبدیل شدن به یک مشکل جدی برای زمین‌های کشاورزی و یک تهدید بزرگ برای پایداری زیست بوم‌های زراعی است. سرب یکی از خطرناک‌ترین فلزات سنگین است که از نظر سمیت و وقوع، دومین فلز سنگین پس از آرسنیک محسوب می‌شود (۱). منابع آلوده کننده خاک به سرب را می‌توان به سه گروه فعالیت‌های صنعتی مانند فرآیندهای معدن کاوی و ذوب کاری، فعالیت‌های کشاورزی شامل: کاربرد سموم، کودهای شیمیایی و فاضلاب و فعالیت‌های شهری از قبیل استفاده از بنزین حاوی سرب، مواد رنگی و سایر مواد شیمیایی گروه‌بندی نمود. با وجود اینکه سرب نقشی ضروری در متابولیسم گیاه ایفا نمی‌کند، اما به راحتی جذب آن شده و موجب بروز اثرات نامطلوب ظاهری، فیزیولوزیکی و بیوشیمیایی در گیاه می‌گردد (۲). سرب باعث ایجاد اختلال در فعالیت‌های آنزیمی، به هم خوردن تعادل آبی و هورمونی، اختلال در جذب عناصر غذایی، کاهش تقسیم سلولی، تولید گونه های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species) و خسارت اکسیداتیو به غشاها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک، تخریب رنگ دانه‌ها، کاهش فتوسنتز، تعرق و تنفس و در نهایت کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌شود (۳، ٤).

یکی از جنبه‌های مهم تحمل تنش‌های غیرزنده از جمله فلزات سنگین در گیاهان نقش تنظیم کننده‌های رشد گیاهی است (۵). از جمله این تنظیم‌کننده‌های رشدی می‌توان به براسینوستروئید اشاره نمود که در القای واکنش گیاهان به بسیاری از تنش‌های غیرزنده مانند فلزات سنگین نقش مهمی دارد (٦). این ترکیب به عنوان یک مولکول پیام‌رسان، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را افزایش و تولید گونه‌های اکسیژن فعال را کاهش می‌دهد (۷).

گزارش شده که براسینواستروئیدها موجب کاهش خسارت ناشی از تنش سرما، دمای زیاد، فلزات سنگین، شوری (۸) و تنش کم آبی شده‌اند (۹). یکی از مسیرهای گیاهی جهت کنترل توسعه روزنه‌ها که به خوبی شناسایی شده است، به‌وسیله براسینواستروئیدها کنترل و تنظیم می‌شود (۱۰). براسینواستروئیدها هورمون‌های گیاهی استروئیدی هستند که نقش‌های تنظیمی مهمی در پروسه‌های فیزیولوژیکی مختلف شامل رشد، تمایز، طویل شدن ریشه و ساقه، رشد لوله گرده، خمش و اپی‌ناستی برگ، تمایز آوندها، مقاومت به بیماری‌ها، تحمل تنش و پیری بازی می‌کند (۱۱، ۱۲). این گروه از استروئیدهای گیاهی شامل بیش از ۷۰ ترکیب هستند که به نظر می‌رسد در سرتاسر قلمرو گیاهان توزیع شده‌اند. براسینواستروئیدها از دانه‌ها، میوه‌ها، برگ‌ها، گال‌ها و دانه‌های گرده شناسایی و جداسازی شده‌اند (٦). استفاده از براسینواستروئیدها در تولیدات کشاورزی نیز مورد بررسی قرار گرفته است. چندین مطالعه اظهار داشتند که براسینواستروئیدها رشد گیاه، جوانه‌زنی بذر، تثبیت نیتروژن، پیری، ریزش برگ و تحمل تنش را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۱۳). در نتیجه، تحقیقات گسترده‌ای برای توسعه براسینواستروئیدها به عنوان تنظیم کننده‌های رشد گیاهی برای تولید محصولات کشاورزی انجام شده است (١٤، ١٥). چشم‌انداز امیدوار کننده‌ای برای افزایش عملکرد محصولات زراعی و تولید مواد غذایی به واسطه کاربرد براسینواستروئیدها در سیستم‌های کشاورزی مدرن وجود دارد. به‌علاوه براسینواستروئیدها نوعی هورمون غیر سمی (١٦) سازگار با محیط زیست هستند (۱۷). با وجود آنکه تحقیقات زیادی در مورد تاثیر کاربرد براسینولید در افزایش تحمل به تنش‌های محیطی صورت گرفته است، اطلاعات بسیار محدودی در خصوص نقش

براسینولید به بهبود تحمل به سمیت سرب در گیاه لوبیا چیتی در دسترس است. لذا آزمایش حاضر به‌منظور بررسی نقش براسینولید در تحمل به سمیت سرب در لوبیا چیتی طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی مقایسه اثر پیش تیمار بذر لوبیا چستی رقم تلاس با براسینواستروئید به تنش سرب آزمایشی گلدانی در محیط باز طی بهار و تابستان سال ۱۴۰۰ در جنوب تهران با مختصات طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۲۸ دقیقه، عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۳۵ دقیقه و ارتفاع ۱۰۰۰ متر از سطح دریا انجام شد. این منطقه دارای اقلیمی خشک با تابستانی گرم و خشک و زمستانی سرد و خشک است. میانگین دما و بارندگی بلند مدت آن به ترتیب ۲۰/٤ درجه سانتی‌گراد و ۲۰۱/۷ میلی‌متر بارندگی است. این تحقیق به صورت طرح کاملا تصادفی با شش تیمار و ٤ تکرار اجرا شد. تیمارها شامل: ۱) شاهد (عدم کاربرد سرب و براسینولید) (T1)، ۲) تنش سرب (کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک از منبع نیترات سرب) (T2)، ۳) تنش سرب + تیمار بذر با براسینولید با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر به‌مدت ۱۲ ساعت (T3)، ٤) تنش سرب + تیمار بذر با براسینولید با غلظت ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر به مدت ۱۲ ساعت (T4)، ۵) تنش سرب + محلول‌پاشی براسینولید با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر از مرحله ٤ برگی طی ۳ مرحله با فاصله ۷ روز (T5) و ٦)- تنش سرب + محلول‌پاشی براسینولید با غلظت ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر از مرحله ٤ برگی طی ۳ مرحله با فاصله ۷ روز (T6) بودند. هر گلدان پلاستیکی با قطر و ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر حاوی ۱۵ کیلوگرم خاک به نسبت مساوی از خاک زراعی، کود دامی کاملا پوسیده و خاک برگ بود. به منظور انجام زهکشی مناسب، کف هر گلدان چند سوراخ ایجاد و چند سانتی‌متر سنگ‌ریزه ریخته شد. ویژگی‌های خاک گلدان‌ها قبل از اعمال تیمارها در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- نتایج تجزیه خاک مورد استفاده در آزمایش.

Table 1- the results of used soil in this experiment.

هدایت‌الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر) EC(ds/m)	اسیدیته PH	آهک (درصد) TNV %	کربن آلی (درصد) OC %	نیتروژن کل (درصد) Total N %	فسفر میلی‌گرم بر کیلوگرم P(ava) Mg/kg	پتاسیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم) K(ava) Mg/kg	رس (درصد) Clay(%)	سیلت (درصد) Silt(%)	شن (درصد) Sand(%)	بافت خاک Texture
3.34	7.12	12	1.89	0.18	98	223	43	35	22	لوم رسی Clay-loam

خاک نیمی از گلدان‌ها با نمک نیترات سرب به نسبت ۵۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم خاک به خوبی مخلوط شد (۱۸، ۱۹). جهت اطمینان از برقراری تعادل یونی در خاک، گلدان‌ها به مدت دو ماه به همین شکل نگهداری شدند. بذرهای سالم و یکنواخت لوبیا چیتی به مدت پنج دقیقه با هیپوکلریت سدیم پنج درصد ضدعفونی و پس از آن به خوبی با آب مقطر شستشو شدند. سپس با توجه به نوع تیمارها به مدت ۱۲ ساعت در محلول‌های براسینولید خیسانده شدند. محلول‌پاشی براسینولید پس از تنک کردن، و از مرحله ٤ برگی به فاصله ۷ روز یکبار طی ۳ مرحله (با توجه به نقشه طرح) انجام شد.

در اوخر اردیبهشت ۱٤۰۰ تعداد ۱۰ بذر به عمق چهار سانتی‌متر در هر گلدان کشت شده و گلدان‌ها در شرایط مزرعه و محیط باز قرار داده شدند. پس از کاشت، آبیاری گلدان‌ها به طور منظم و دفع علف‌های هرز با دست انجام شد. در مرحله دو برگی پس از تنک کردن و با توجه به تناسب بین تراکم بوته در سطح مزرعه و سطح گلدان (۰/۲ متر مربع)، در هر گلدان شش بوته قوی و سالم (معادل ۳۰ بوته در متر مربع) حفظ شد. د شروع مرحله گلدهی (٤٥ روز پس از کاشت)، شاخص سبزینگی برگ، محتوای آب نسبی و سطح برگ توسط دستگاه کلروفیل سنج (Chlorophyll Content Meter CL-01, Hansatech Instruments Ltd. England) از جوان‌ترین برگ‌ها کاملا توسعه یافته بوته‌ها قرائت و ثبت شد (۲۰). برای تعیین محتوای نسبی آب، از تقسیم تفاضل وزن تر و خشک بر تفاضل وزن اشباع و خشک نمونه‌های برگ استفاده شد (۲۱). جهت برآورد سطح برگ نیز از دستگاه سطح برگ سنج (Leaf Area Meter CI-202, CID, Bio-Science, USA) استفاده شد (۲۰).

همچنین، نمونه‌هایی از برگ‌های بالایی و کاملا توسعه یافته بوته‌ها جدا شده و در ظرف محتوای یخ جهت سنجش صفات بیوشیمیایی بلافاصله به آزمایشگاه منتقل و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر اساس سنجش مهار احیای نوری نیتروبلو تترازولیوم اندازه‌گیری شد (۲۲). سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز توسط پایش تجزیه پراکسید هیدروژن در ول موج ۲٤۰ نانومتر انجام شد (۲). فعالیت آنزیم آسکوربات اکسید شده در ۲۹۰ نانومتر سنجیده شد (۲۳). علاوه بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، محتوای مالون دی‌آلدئید رگ‌های گیاه نیز به عنوان یکی از آخرین فرآورده‌های پراکسیداسیون چربی غشاها به روش هیث و پکر (۲٤) محاسبه گردید. بوته‌ها پس از تعیین ارتفاع، به دقت از خاک خارج و اه اندام هوایی و ریشه تفکیک شد و در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤۸ ساعت خشک شد. برای محاسبه غلظت سرب ریشه، ۰/۲ گرم از ریشه پودر شده، با ترکیبی از اسید نیتریک و اسید پرکلریک به نسبت ٤ به ۱ هضم شد. محلول حاصل پس از عبور از کاغذ صافی با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد (٤). اندازه‌گیری غلظت سرب نمونه‌ها به وسیله دستگاه طیف سنج جذب اتمی انجام شد (Shimadzu 6200, Japan). داده‌های حاصل توسط نرم‌افزار SAS تجزیه و تحلیل شده، مقایسات میانگین‌ها به‌وسیله آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت و نمودارها نیز توسط نرم‌افزار اکسل رسم شدند.

نتایج بحث

با توجه به نتایج تجزیه واریانس ارائه شده در جدول ۲ و ٤ تمامی صفات مورد بررسی در این تحقیق تحت تاثیر اثر تیمار قرار گرفت.

شاخص سبزینگی: جدول ۳ نشان داد که اثر کاربرد سرب و براسینولید بر شاخص سبزینگی معنی‌دار بود، به‌طوری که در اثر کاربرد سرب، این صفت کاهش یافت و کاربرد براسینولید تا حدودی مانع کاهش بیش از حد شاخص سبزینگی در مقابل سمیت ناشی از سرب گردید. نتایج مقایسات میانگین نشان داد که بیش‌ترین مقدار برای شاخص سبزینگی با میانگین ۳۹/٤ مربوط به تیمار شاهد (عدم مصرف سرب و براسینولید) بود و کم‌ترین مقدار نیز با میانگین ۲۹/۷۹ از تیمار کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیترات سرب و عدم کاربرد براسینولید بود. در بین تیمارهای مختلف روش و مقدار مصرف براسینولید در حضور سرب نیز بیش‌ترین مقدار شاخص سبزینگی مربوط به تیمار محلول‌پاشی ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر براسینولید در

حضور ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیترات سرب بود که با میانگین ۳۷/۲۷ به‌دست آمد (جدول ۳). گزارشات نشان می‌دهد که فلزات سنگین منجر به کلروز و نکروز شدن رگ‌ها، کاهش مقدار کلروفیل کل، کلروفیل a و b و کارتنوئیدها در گیاهان عالی می‌گردد (۹). سرب در گیاهان عالی به علت ممانعت از فتوسیستم ۲ و یا با ممانعت بیش‌تر در سطح پلاستوکرون سبب کاهش فتوسنتز و رشد می‌گردد. سرب همچنین با غیر فعال کردن آنزیم‌های غشایی، سبب آسیب غشا و با ممانعت از فعالیت ATPase غشایی بر یکپارچگی غشا تاثیرمی‌گذارد (۳٤).

هم‌زمان غلظت بالای سرب سبب تغییرات فراساختاری سلول‌های برگ، شامل متورم شدن کلروپلاست شده. همچنین، آنزیم‌های روبیسکو و فسفو ربیولو کیناز را غیر فعال کرده و از فعالیت یکی از آنزیم‌های مهم در بیوسنتز کلروفیل به نام دلتا آمینولئولینیک اسید دهیدراتاز ممانعت کرده و با کاهش محتوای کلروفیل سبب کلروز و نکروز برگ می‌گردد. نتایج هانگ و همکاران (۱۹۷٤) حاکی از آن بود که با افزایش غلظت سرب در گیاه *Potamogeton crispus* محتوای کلروفیل کاهش یافت (۳۵).

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس مربوط به عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا چیتی تحت تاثیر تیمارهای مختلف سمیت سرب و کاربرد براسینولید.

Table 3- The results of variance analysis related to the yield and yield components of pinto bean under lead toxicity and application of Brassinolid.

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	شاخص سبزینگی Spad index	محتوای آب نسبی Relative water content	ارتفاع بوته Plant height	سطح برگ Leaf area	عملکرد دانه Grain yield	زیست توده اندام هوایی Shoot biomass
تیمار Treatment	5	43.89**	255.90*	95.20**	8117.1**	25.73**	28.01*
خطا	18	5.18	70/17	8.10	268.25	1.31	6.86
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	6.42	10.83	3.74	4.59	17.32	16.03

*و** : معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

* and **: significant at the 5 and 1 percent probability level.

محتوای آب نسبی برگ: با توجه به نتایج تجزیه واریانس ارائه شده در جدول ۲ و ۳، اثر کاربرد سرب و براسینولید بر محتوای آب نسبی برگ لوبیا در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد و نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بالاترین محتوای نسبی آب با میانگین ۸۹/٤۱ درصد مربوط به تیمار شاهد (عدم مصرف سرب و براسینولید) بود و کم‌ترین میزان نیز با میانگین ٦٤/٥٤ درصد از تیمار کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و عدم مصرف براسینولید حاصل شد. نتایج مربوط به تیمارهای مختلف روش و مقدار مصرف براسینولید در حضور سرب نیز نشان داد که تیمار ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر براسینولید به صورت محلول‌پاشی در حضور ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب با میانگین ۷۹/۹۹ درصد بالاترین محتوای نسبی آب را دارا بود. بسیاری از فلزات سنگین با تغییر در فعالیت پروتئین‌های کانالی انتقال آب و با بستن روزنه‌های برگ، جریان آب را در گیاه متوقف می‌سازند و در نتیجه منجر به کاهش محتوای آب نسبی در برگ‌ها می‌گردند (۳٦). سرب خاصیت جذبی در سلول‌های دیواره سلولی را کاهش داده که

این امر منجر به کاهش فشار ترگر می‌گردد. این خاصیت کاهش جذب به دلیل کاهش در غلظت مولکول‌هایی مانند قندها و اسیدهای آمینه‌ای است که تنظیم فشار اسمزی در داخل سلول را به عهده دارد که در نهایت این امر محتوای آب نسبی برگ را کاهش می‌دهد (۳۷). کاربرد ترکیباتی مثل براسینواستروئید و نیتروپروساید سدیم منجر به افزایش محتوای آب نسبی برگ می‌گردد که از این طریق موجب حفظ رطوبت در برگ گیاه شده و اثرات سوء ناشی از تنش سمیت فلزات سنگین را کاهش می‌دهد.

جدول ٤- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده لوبیا چیتی تحت تیمارهای مختلف سرب و براسینولید.

Table 4- Mean comparison of measurement traits of pinto bean under different treatments of lead and Brassinolide application.

تیمارها Treatments	سرب ریشه (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک) Root lead (mg/kg dw)	شاخص سبزینگی Spad index	محتوای محتوای آب نسبی (درصد) Relative water content (%)	ارتفاع بوته ارتفاع بوته (سانتی‌متر) Plant height (cm)	سطح برگ (سانتی‌متر مربع در بوته) Leafe area (cm/plant)	عملکرد دانه (گرم در بوته) Yield (g/plant)	زیست توده اندام هوایی (گرم در بوته) Shoot biomass (g/plant)
شاهد Control	0.18d	39.41a	89.41a	84.00a	434.08a	18.31a	42.40a
تنش سرب (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) Pb stress (200 mg kg-1 of soil)	22.5a	29.79c	64.54b	69.97d	303.1d	8.22c	27.12c
تنش سرب + تیمار بذر با ۰/۱ میلی‌گرم براسینولید Pb stress+ 0.1 Mm Brasinolide priming	19.91b	33.75b	77.66ab	72.52cd	335.4c	9.46c	29.37bc
تنش سرب + تیمار بذر با ۰/۲ میلی‌گرم براسینولید Pb stress+ 0.2 Mm Brasinolide priming	19.4b	36.10ab	75.99ab	74.88bc	336.7c	11.39b	34.45abc
تنش سرب +محلول‌پاشی با ۰/۱ میلی‌گرم براسینولید Pb stress+ 0.1 Mm Brasinolide Folier	18.7bc	36.24ab	76.18ab	76.83bc	350.7c	13.51b	34.66abc
تنش سرب + محلول‌پاشی با ۰/۲ میلی‌گرم براسینولید Pb stress+ 0.2 Mm Brasinolide Folier	17.66c	37.27ab	79.99a	78.14b	376.7b	13.84b	37.87ab

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند از نظر آماری و براساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

In each column, the averages with at least one letter in common are statistically and according to LSD test, there is no significant difference at the 5% probability level.

ویژگی‌های رشدی لوبیا: در اثر مسمومیت سرب، صفات رویشی از جمله ارتفاع بوته، سطح برگ، عملکرد دانه و زیست توده اندام هوایی لوبیا چیتی نسبت به تیمار شاهد به ترتیب حدود ۲۰، ٤۲، ۱۲۲ و ٥٦ درصد کاهش یافت. با این وجود خیساندن و محلول‌پاشی بذر لوبیا در براسینولید تمامی صفات

فوق را در شرایط تنش سرب به طور معنی‌داری افزایش داد. این در حالی بود که کاربرد براسینولید به صورت محلول‌پاشی به میزان ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر بالاترین بازدهی را از خود نشان داد (جدول ٤). فلزات سنگین از جمله سرب بر تقسیم، رشد و ساختار سلولی تاثیر منفی گذاشته و در نهایت رشد ونمو گیاه در اثر سمیت سرب همچنین به اختلال در فرآیندهای متابولیکی گیاه، فتوسنتز و جذب آب و عناصر غذایی نسبت داده شده است (۳). در تحقیق حاضر، کاهش صفات رشدی بوته‌های لوبیا در اثر سمیت سرب به خسارت اکسیداتیو و تخریب غشاهای زیستی سلول، کاهش شاخص سبزینگی و عدم تعادل آبی گیاه مربوط بود. در راستای نتایج پژوهش حاضر، کاهش زیست توده اندام هوایی و ریشه، سطح برگ و ارتفاع بوته در اثر مسمومیت سرب در گیاهان مختلفی هم‌چون پنبه (۲۰)، برنج (۲۸)، گل کلم (۳۹) و بامیه (٤) نیز گزارش شده است.

گزارش شده که براسینواستروئیدها موجب کاهش خسارت ناشی از تنش سرما، دمای زیاد، فلزات سنگین، شوری (۸) و تنش کم آبی (۹) شده‌اند. چشم‌انداز امیدوار کننده‌ای برای افزایش عملکرد محصولات زراعی و تولید مواد غذایی به واسطه کاربرد براسینواستروئیدها در سیستم‌های کشاورزی مدرن وجود دارد (۵). به‌علاوه براسینواستروئیدها نوعی هورمون غیر سمی (١٦) سازگار با محیط زیست هستند (٤).

سرب ریشه: حضور سرب در خاک، موجب افزایش غلظت این عنصر در ریشه لوبیا چیتی گردید به‌طوری که نسبت به تیمار عدم مصرف سرب ۱۲۲ درصد افزایش در میزان سرب در ریشه گیاه مشاهده شد با این وجود زمانی که از ترکیب براسینولید به صورت بذر مال و محلول‌پاشی استفاده شد این میزان اندکی کاهش داشت در بین تیمارهای کاربرد براسینولید نیز استفاده به روش بذر مال با میزان ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بهتر از سایر روش‌ها بود (جدول ۳). مسیر اصلی تجمع سرب در گیاه، از طریق جذب ریشه‌ای است. بخشی از سرب موجود در محلول خاک، جذب ریشه‌ها شده و سپس یا به گروه‌های کربوکسیل اسید یورونیک و یا مستقیما به پلی ساکارید سطح سلول‌های ریزودرم متصل می‌شود (۲۵). مشابه یافته‌های حاضر، تحقیقات بسیاری نشان داده که با افزایش غلظت سرب در خاک، جذب آن توسط ریشه نیز افزایش می‌یابد (۳). از طرفی دیگر، در این تحقیق مشخص شد که با کاربرد براسینولید به‌صورت پیش تیمار بذر و محلول پاشی میزان سرب جذبی در ریشه نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. کاهش جذب فلزات سنگین مانند سرب در افزایش تحمل گیاهان به سمیت سرب یک راهکار تحملی محسوب می‌شود. فعال شدن این سازوکار تحملی در اثر کاربرد ترکیباتی مانند براسینولید می‌تواند مربوط به نقش حفاظتی این مواد بر غشای سلولی و در نتیجه کاهش وورد فلزات سنیگن به سیتوپلاسم و کاهش رقابت بین سرب و سایر عناصر غذایی برای جذب باشد (٢٦).

مالون دی آلدئید و پرولین: بر اساس نتایج این تحقیق، تیمارهای دریافت‌کننده سرب با افزایش شدید در محتوای مالون دی‌آلدئید و پرولین در برگ‌های لوبیا همراه شد. به طوری که در اثر کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک سرب نسبت به عدم مصرف ان میزان این ترکیبات به ترتیب ۲۲۲۲ و ۱٤۹ درصد افزایش داد (شکل ۱). این در حالی بود که در مورد مالون دی‌آلدئید کاهش در تیمارهای دریافت‌کننده براسینولید بسیار بیش‌تر بود، ولی در مورد پرولین به نظر می‌رسد گیاه با کمک افزایش میزان پرولین گیاه را برای مقابله به تنش مهیا نموده است. به گونه‌ای که در هر دو تیمار

کاربرد بذر ما و محلول‌پاشی براسینولید نسبت به تیمار شاهد (عدم مصرف سرب) و کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب افزایش پرولین مشاهده گردید. به نظر می‌رسد مالون دی‌آلدئید به عنون یکی از آخرین محصولات پراکسداسیون چربی‌های غشا شناخته می‌شود. افزایش میزان این ماده، نشان‌دهنده پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع موجود در غشاهای زیستی است که شاخصی کلیدی در تشخیص تنش اکسیداتیو محسوب می‌شود.

محققین گزارش نمودند که براسینولید سبب افزایش میزان پرولین و کاهش میزان مالون دی‌آلدئید گیاه می‌گردد. افزایش تولید پرولین یکی از مکانسیم‌هایی است که در بسیاری از گیاهان سبز و جلبک‌ها برای مقابله با تنش فلزات سنگین مشاهده می‌گردد (۲۷). همچنین، گیاهانی با توان مقاومتی بالاتر نسبت به تنش، سنتز تعدادی از متابولیت‌های محافظ اسمزی مانند پرولین، بتائین و کربوهیدارت‌های احیاکننده را افزایش می‌دهند (۲۸). با توجه به این‌که، تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش با کاهش خسارت در غشای سلولی و پروتئین همراه بوده، می‌تواند ناشی از ممانعت پرولین از پراکسیداسیون لیپیدها و فعالیت گونه‌های اکسیژن فعال باشد (۲۹). بنابراین، انباشته شدن بیش‌تر پرولین در گیاهان تحت تیمار با غلظت‌های بالای سرب می‌تواند بیان‌گر راه‌کارهای سازگاری گیاه برای مقابله با سمیت سرب باشد که توسط نقش چندگانه پرولین از جمله به عنوان یک عامل ایجاد کننده اسمزی، پالاینده رادیکال‌های آزاد، محافظ آنزیم‌های سیتوپلاسمی، منبع نیتروژن و کربن برای رشد پس از تنش، محافظ پروتئوم و مخزن انرژی برای تنظیم پتانسیل اکسایش-کاهش صورت می‌گیرد (۳۰). گزارشاتی مبنی بر افزایش مقدار مالون‌دی‌آلدئید در شرایط سمیت ناشی از فلزات سنگین (کادمیوم) روی گیاه کلزا و اثر کاهشی کیتوزان به عنوان ترکیب تعدیل کننده بر جلوگیری از افزایش این ترکیب وجود دارد که با یافته‌های تحقیق حاضر مطابق دارد (۳۱).

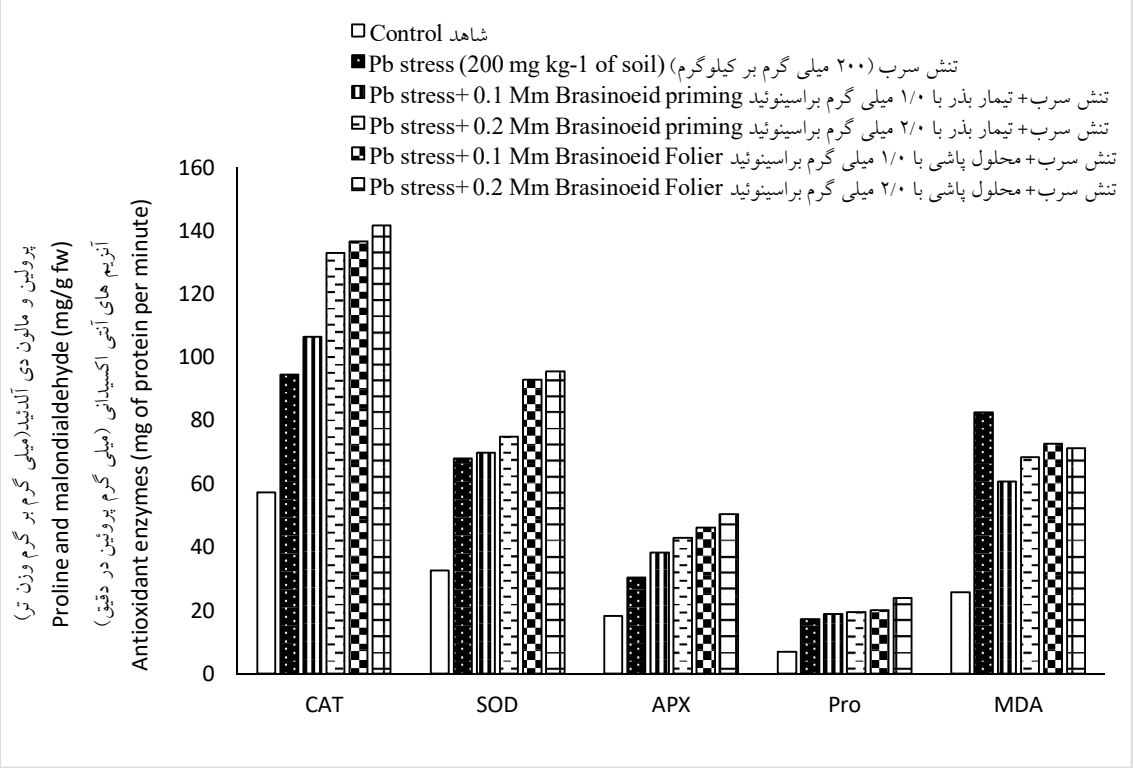
جدول٤- نتایج تجزیه واریانس مربوط به میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی لوبیا چیتی تحت تاثیر تیمارهای مختلف سمیت سرب و کاربرد براسینولید.

Table 2- The results of analysis of variance related to the activity of antioxidant enzymes of pinto beans under the influence of different treatments of lead toxicity and brassinolide application.

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	سرب ریشه Root lead	مالون دی‌آلدئید Malondialdehyde	پرولین Proline	کاتالاز Catalase	سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase
تیمار Treatments	5	262.78**	1578.26**	130.34**	3978.21**	2058.51**	556.47**
خطا Error	18	0.89	55.00	1.75	213.39	43.13	13.29
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	5.78	11.67	7.48	13.21	9.08	9.68

*و** : معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

*and **: significant at the 5 and 1 percent probability level.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر تنش سرب و تیمارهای براسینولید بر مقادیر پرولین، مالون دی آلدئید و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی لوبیا چیتی.

Figure 1- Mean comparison of lead stress and Brassinolide on the amounts of proline, malondialdehyde and antioxidant enzyme activity in pinto bean.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: تنش سرب باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز به میزان ٦٤، ١٠٨ و ٦٧ درصد نسبت به تیمار عدم مصرف سرب گردید. این در حالی بود که کاربرد براسینولید به صورت بذرمال و محلول‌پاشی با هر دو مقدار ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز نسبت به تیمار عدم مصرف براسینولید افزایش در میزان فعالیت این آنزیم‌ها نشان داد (شکل ۱). در واقع زمانی که گیاه در معرض تنش‌های محیطی مهم قرار می‌گیرد.

رادیکال‌های آزاد در گیاه تولید می‌شوند که گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده، دارای سیستم دفاعی با کارایی بالا هستند که می‌توانند رادیکال‌های آزاد را از بین برده یا خنثی کنند؛ این سیستم دفاعی شامل آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دسموتاز، پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز، مهار فعالیت رادیکال DPPH، ترکیب‌های فنلی و تعداد دیگری از مواد آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (۳۱). از میان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نیز پراکسیداز نقش مهمی در از بین بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن به‌ویژه پراکسید هیدروژن دارد. گیاهان برای حذف یا کاهش ROS از سیستم‌های آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیر آنزیمی استفاده می‌کنند (۳۲). ایجاد تنش اکسیداتیو ناشی از تنش سرب و افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌عنوان یک آنزیم آنتی‌اکسیدان مهم برای به حداقل رساندن آسیب‌های ناشی از افزایش میزان تولید پراکسیداز هیدروژن می‌باشد. همچنین، افزایش میزان مالون دی‌آلدئید در این مطالعه بیانگر افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در شرایط تنش فلزات سنگین از جمله سرب است. افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا نیز می‌تواند به‌دلیل تجمع H_2O_2 و افزایش سایر انواع اکسیژن فعال تحت تنش

سرب باشد (۳۳). در تحقیقی فعالیت زیاد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گونه گیاهی Salix acmophylla نتیجه استراتژی‌های مختلفی بود که گیاه برای بقای خود تحت تنش فلزاتی مثل مس نیکل و سرب به‌کار برد (۳٤). در خصوص نقش براسینولید در افزایش فعالیت این آنزیم‌ها نیز تحقیقات بسیاری موید نتایج این تحقیق می باشد به طوری که ژانگ و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که تیمار کاربرد ۲٤- اپی براسینولید فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش داده و سبب تخفیف تنش اکسیداتیو می‌شود (۳۲). جوانه‌های ذرت وقتی با براسینولید تیمار شدند در مواجه با تنش، فعالیت‌های سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و همچنین، میزانآسکوربیک اسید و کاروتنوئیدها افزایش پیدا کرد (۲۸). در تحقیق دیگری براسینواستروئیدها فعالیت کاتالاز را افزایش و فعالیت‌های پراکسیدازها و آسکوربیک اسید اکسیداز را تحت شرایط تنش اسمزی در سورگوم کاهش دادند (٤۱). جوانه‌های برنج در معرض تنش شوری و تیمار شده با براسینواستروئید افزایش معنی‌داری در فعالیت-های CAT، SOD و گلوتاتیون رداکتاز (GR) و افزایش اندکی در فعالیت APX نشان دادند (۳۲).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که تنش سرب موجب افزایش غلظت سرب ریشه و خسارت اکسیداتیو به بوته‌های لوبیا گردید. سمیت سرب همچنین موجب کاهش شاخص سبزینگی، محتوای نسبی آب برگ، ارتفاع بوته، سطح برگ و زیست توده ریشه شد. با این وجود، در شرایط تنش سرب، پیش تیمار بذر و محلول‌پاشی بوته‌های لوبیا چیتی با براسینولید موجب کاهش جذب سرب، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و کاهش خسارت اکسیداتیو گردید که باعث بهبود شاخص سبزینگی، محتوای آب نسبی برگ، ارتفاع بوته، سطح برگ و زیست توده ریشه شد. بین تیمارهای مختلف کاربرد براسینولید در مقادیر مصرف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، اما در روش مصرف تفاوت محسوسی وجود داشت. این نتایج نشان داد که پیش تیمار بذر و محلول‌پاشی با براسینولید می‌تواند از طریق کاهش جذب سرب، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و بهبود شاخص سبزینگی و وضعیت آبی گیاه، به عنوان روشی مفید در تحمل به تنش سرب در لوبیا مورد استفاده قرار گیرد.

References

1. Ashraf, U., Hussain, S., Anjum, S. A., Abbas, F., Tanveer, M., Noor, M. A., & Tang, X. (2017). Alterations in growth, oxidative damage, and metal uptake of five aromatic rice cultivars under lead toxicity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 115, 461-471.
2. Mahdavian, K., Ghaderian, S. M., & Schat, H. (2016). Pb accumulation, Pb tolerance, antioxidants, thiols, and organic acids in metallicolous and non-metallicolous *Peganum harmala* L. under Pb exposure. *Environmental and experimental botany*, *126*, 21-31.
3. Khan, I., Iqbal, M., Ashraf, M. Y., Ashraf, M. A., & Ali, S. (2016). Organic chelants-mediated enhanced lead (Pb) uptake and accumulation is associated with higher activity of enzymatic antioxidants in spinach (Spinacea oleracea L.). *Journal of Hazardous Materials*, *317*, 352-361.
4. Hussain, I., Siddique, A., Ashraf, M. A., Rasheed, R., Ibrahim, M., Iqbal, M., ... & Imran, M. (2017). Does exogenous application of ascorbic acid modulate growth, photosynthetic pigments and oxidative defense in okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) under lead stress?. *Acta Physiologiae Plantarum*, *39*, 1-13.

5. Upreti, K. K., & Murti, G. S. R. (2004). Effects of brassmosteroids on growth, nodulation, phytohormone content and nitrogenase activity in French bean under water stress. *Biologia Plantarum*, 48, 407-411.
6. Rady, M. M., & Mohamed, G. F. (2015). Modulation of salt stress effects on the growth, physio-chemical attributes and yields of *Phaseolus vulgaris* L. plants by the combined application of salicylic acid and Moringa oleifera leaf extract. *Scientia Horticulturae*, 193, 105-113.
7. Horváth, E., Szalai, G., & Janda, T. (2007). Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. *Journal of Plant Growth Regulation*, 26, 290-300.
8. Özdemir, F., Bor, M., Demiral, T., & Türkan, İ. (2004). Effects of 24-epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid peroxidation, proline content and antioxidative system of rice (*Oryza sativa* L.) under salinity stress. *Plant growth regulation*, *42*, 203-211.
9. Jaisingh, S. N., & Ota, Y. (1993). Effects of epibrassinolide on gram (*Cicer arientinum*) plants grow under water stress in juvenile stage. *The Indian Journal of Agricultural Sciences*, 63, 395-397.
10. Fridman, Y., & Savaldi-Goldstein, S. (2013). Brassinosteroids in growth control: how, when and where. *Plant Science*, *209*, 24-31.
11. Clouse, S. D., & Sasse, J. M. (1998). Brassinosteroids: essential regulators of plant growth and development. *Annual review of plant biology*, *49*(1), 427-451.
12. Nemhauser, J. L., & Chory, J. (2004). BRing it on: new insights into the mechanism of brassinosteroid action. *Journal of Experimental Botany*, *55*(395), 265-270.
13. Howell, W. M., Keller, G. E., Kirkpatrick, J. D., Jenkins, R. L., Hunsinger, R. N., & McLaughlin, E. W. (2007). Effects of the plant steroidal hormone, 24-epibrassinolide, on the mitotic index and growth of onion (*Allium cepa*) root tips. *Genet. Mol. Res*, *6*(1), 50-58.
14. Divi, U. K., & Krishna, P. (2009). Brassinosteroid: a biotechnological target for enhancing crop yield and stress tolerance. *New biotechnology*, 26(3-4), 131-136.
15. Vardhini, B. V., & Rao, S. S. R. (1998). Effect of brassinosteroids on growth, metabolite content and yield of Arachis hypogaea. *Phytochemistry*, *48*(6),927-930.
16. Esposito, D., Komarnytsky, S., Shapses, S., & Raskin, I. (2011). Anabolic effect of plant brassinosteroid. *The FASEB Journal*, *25*(10), 3708.
17. Kang, Y. Y., & Guo, S. R. (2011). Role of brassinosteroids on horticultural crops. *Brassinosteroids: A class of plant hormone*, 269-288.
18. Sidhu, G. P. S., Singh, H. P., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2016). Effect of lead on oxidative status, antioxidative response and metal accumulation in *Coronopus didymus*. *Plant physiology and biochemistry*, *105*, 290-296.
19. Zhou, J., Jiang, Z., Ma, J., Yang, L., & Wei, Y. (2017). The effects of lead stress on photosynthetic function and chloroplast ultrastructure of *Robinia pseudoacacia* seedlings. *Environmental Science and Pollution Research*, *24*, 10718-10726.
20. Bharwana, S. A., Ali, S., Farooq, M. A., Iqbal, N., Hameed, A., Abbas, F., & Ahmad, M. S. A. (2014). Glycine betaine-induced lead toxicity tolerance related to elevated photosynthesis, antioxidant enzymes suppressed lead uptake and oxidative stress in cotton. *Turkish Journal of Botany*, *38*(2), 281-292.
21. Hasanuzzaman, M., Alam, M. M., Rahman, A., Hasanuzzaman, M., Nahar, K., & Fujita, M. (2014). Exogenous proline and glycine betaine mediated upregulation of antioxidant defense and glyoxalase systems provides better protection against salt-induced oxidative stress in two rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *BioMed Research International,2014*.

22. Beyer Jr, W. F., & Fridovich, I. (1987). Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical biochemistry*, *161*(2), 559-566.
23. Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and cell physiology*, 22(5), 867-880.
24. 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.
25. Pourrut, B., Shahid, M., Dumat, C., Winterton, P., & Pinelli, E. (2011). Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants. *Reviews of environmental contamination and toxicology volume 213*, 113-136.
26. Jabeen, N., Abbas, Z., Iqbal, M., Rizwan, M., Jabbar, A., Farid, M., ... & Abbas, F. (2016). Glycinebetaine mediates chromium tolerance in mung bean through lowering of Cr uptake and improved antioxidant system. *Archives of Agronomy and Soil Science*, *62*(5), 648-662.
27. Turgut, C., Pepe, M. K., & Cutright, T. J. (2004). The effect of EDTA and citric acid on phytoremediation of Cd, Cr, and Ni from soil using Helianthus annuus. *Environmental pollution*, *131*(1),147-154.
28. Ewemoje, T. A. (2007). Variable Irrigation Scheduling Effects on Growth Parameters of Celosia Argentea in Humid Tropical Environment. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*.
29. Khalilzadeh, R., Pirzad, A., Sepehr, E., Khan, S., & Anwar, S. (2020). Long-term effect of heavy metal–polluted wastewater irrigation on physiological and ecological parameters of Salicornia europaea L. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, *20*, 1574-1587.
30. Raklami, A., Tahiri, A. I., Bechtaoui, N., Pajuelo, E., Baslam, M., Meddich, A., & Oufdou, K. (2021). Restoring the plant productivity of heavy metal-contaminated soil using phosphate sludge, marble waste, and beneficial microorganisms. *Journal of Environmental Sciences*, *99*, 210-221.
31. Chaki, M., Begara-Morales, J. C., & Barroso, J. B. (2020). Oxidative stress in plants. *Antioxidants*, *9*(6), 481.
32. Zong, H., Liu, S., Xing, R., Chen, X., & Li, P. (2017). Protective effect of chitosan on photosynthesis and antioxidative defense system in edible rape (Brassica rapa L.) in the presence of cadmium. *Ecotoxicology and environmental safety*, *138*, 271-278.
33. Vazquez, M. N., Rodriguez, C. R., & Manchado, F. C. (2003). Synthesis and practical applications of brassinosteroid analogs. *Brassinosteroids: bioactivity and crop productivity*, 87-117.
34. Kerchev, P., van der Meer, T., Sujeeth, N., Verlee, A., Stevens, C. V., Van Breusegem, F., & Gechev, T. (2020). Molecular priming as an approach to induce tolerance against abiotic and oxidative stresses in crop plants. *Biotechnology advances*, *40*, 107503.
35. Ruley, A. T., Sharma, N. C., Sahi, S. V., Singh, S. R., & Sajwan, K. S. (2006). Effects of lead and chelators on growth, photosynthetic activity and Pb uptake in *Sesbania drummondii* grown in soil. *Environmental pollution*, *144*(1), 11-18.
36. Huang, C. Y., Bazzaz, F. A., & Vanderhoef, L. N. (1974). The inhibition of soybean metabolism by cadmium and lead. *Plant physiology*, *54*(1), 122-124.
37. Aldesuquy, H. S. (2016). Polyamines in relation to metal concentration, distribution, relative water content and abscisic acid in wheat plants irrigated with waste water heavily polluted with heavy metals. *International Journal of Bioassays*, *5*, 4534-4546.
38. Yildirim, E., Ekinci, M., Turan, M., Güleray, A. G. A. R., Selda, Ö. R. S., Dursun, A., ... & Balci, T. (2019). Impact of cadmium and lead heavy metal stress on plant growth and physiology of rocket (*Eruca sativa* L.). *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, *22*(6), 843-850.

39. Verma, S., & Dubey, R. S. (2003). Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant science*, 164(4), 645-655.
40. Chen, Z., Yang, B., Hao, Z., Zhu, J., Zhang, Y., & Xu, T. (2018). Exogenous hydrogen sulfide ameliorates seed germination and seedling growth of cauliflower under lead stress and its antioxidant role. *Journal of Plant Growth Regulation*, *37*, 5-15.