

Improving Antioxidant Enzyme Activities, Seed and Oil Yield of Sunflower with brassinolide Foliar Application under Different Irrigation Regimes

Marzieh Ghasemi¹, Shahrokh Jahanbin², Hojatollah Latifmanesh^{*2}, Amin Mirshekari², Hamid Alahdadi³

1.MSc Graduate in agronomy, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran.

2 .Assistant Professor, Department of Agriculture and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran.

Email: h.latifmanesh@yu.ac.ir

3. MSc Graduate in Agrotechnology- Crop Physiology, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran.

Introduction

Sunflower (*Helianthus annuus* L.) is one of the most significant oilseed crops, valued for its high content of unsaturated fatty acids, which contributes to the production of high-quality oil. Although this plant exhibits relative adaptability to Iran's climatic conditions, it demonstrates moderate sensitivity to drought stress. Drought stress poses a major challenge to crop production by directly affecting plant growth and yield. While sunflowers can tolerate mild drought conditions, severe drought significantly disrupts their physiological responses. Reduced regulation of transpiration and limited leaf expansion are key factors contributing to the plant's vulnerability to severe drought. This stress condition results in excessive production of reactive oxygen species (ROS), intensifying oxidative stress. Consequently, oxidative stress leads to chloroplast degradation, decreased photosynthetic capacity, leaf shrinkage and thickening, reduced leaf area, and morphological alterations such as impaired stomatal movement. Brassinolides, which belong to the class of plant steroid hormones, play a crucial role in regulating plant growth and development, including cell division and elongation, organogenesis, delayed leaf senescence, and enhanced resistance to environmental stress. By modulating plant responses to drought, brassinolides can mitigate the adverse effects of oxidative stress and improve overall plant performance.

Materials and Methods

To investigate the effect of brassinolide under water deficit conditions on antioxidant enzyme activity and certain agronomic traits of the sunflower cultivar Oscar, an experiment was conducted in a split-plot design based on a randomized complete block design (RCBD) with three replications. The main factor consisted of irrigation regimes at three levels (full irrigation at 100% field capacity, moderate drought at 75% field capacity, and severe drought at 50% field capacity based on Class A pan evaporation). The sub-factor included brassinolide foliar application at three concentrations (0 (distilled water), 0.1 and 0.5 mg/L). In this study, traits such as relative water content (RWC) of leaves, antioxidant enzyme activities (catalase, peroxidase, and superoxide dismutase), leaf area index (LAI), filled and unfilled capitulum weight, seed yield, and oil yield were evaluated.

Results and Discussion

The results indicated that drought stress and brassinolide foliar application significantly affected the morphophysiological indices and agronomic performance of sunflower. Severe stress led to a reduction in relative leaf water content (by 18.79%) and an increase in antioxidant enzyme activity. At this stress level, leaf area index, grain yield, and oil yield decreased by 57.48%, 61.56%, and 70.01%, respectively, compared to full irrigation. This reduction highlights disruptions in water uptake and retention as well as diminished grain-filling capacity under drought conditions. On the other hand, the simple effect of foliar application of 0.5 mg/L brassinolide increased catalase and peroxidase activities by 18.58% and 36.40%, respectively. This increase underscores the role of brassinolide in mitigating oxidative stress and improving the physiological status of the plant. Additionally, the highest leaf area index was observed in the treatment combining full irrigation with 0.5 mg/L brassinolide foliar application. Grain yield and oil yield under the highest level of brassinolide foliar application in severe stress conditions increased by 83.57% and 66.66%, respectively, compared to the treatment without foliar application under severe stress.

Conclusion

The findings of this study demonstrate that brassinolide foliar application, particularly under drought stress conditions, can be an effective strategy for enhancing both the quantitative and qualitative performance of sunflower. Brassinolide

enhances antioxidant enzyme activities, mitigates the negative effects of oxidative stress, and improves plant physiological traits, thereby preserving photosynthetic potential and promoting vegetative and reproductive growth. Based on the results, foliar application of brassinolide at 0.5 mg/L yielded the most significant improvements in leaf area index, seed yield, and oil yield, underscoring its effectiveness in optimizing plant growth even under limited water availability. Therefore, the application of brassinolide under optimal irrigation regimes, particularly during moderate to severe drought stress, is recommended as a viable approach to enhancing sunflower productivity and sustainability.

Keywords: Catalase, Drought stress, Leaf area index, Relative water content of leaves

بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، عملکرد دانه و روغن آفتابگردان با محلول‌پاشی براسینولید تحت رژیم‌های مختلف آبیاری

مرضیه قاسمی^۱، شاهرخ جهانبین^۲، حجت‌اله لطیف‌منش^{۲*}، امین میرشکاری^۲، حمید اله‌دادی^۴

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد زراعت، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران.

۲- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران، *h.latifmanesh@yu.ac.ir

۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد اگروتکنولوژی-فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

نام نویسنده	نحوه مشارکت
مرضیه قاسمی	روش‌شناسی
	جمع‌آوری داده‌ها
	پردازش داده‌ها
	استخراج و تهیه متن اولیه
شاهرخ جهانبین	نظارت و مدیریت
	مشاوره فنی
	پردازش داده‌ها
	اعتبارسنجی
حجت‌اله لطیف‌منش	مفهوم‌سازی
	اعتبارسنجی
	ویرایش متن
امین میرشکاری	نظارت و مدیریت
	مشاوره فنی

چکیده

بررسی تأثیر براسینولید بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در آفتابگردان (رقم اسکار) می‌تواند به درک بهتری از مکانیسم‌های دفاعی گیاه در برابر تنش خشکی کمک کند و به معرفی راهکارهای لازم برای افزایش تاب‌آوری در شرایط کم‌آبایی منجر شود. بنابراین آزمایشی به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. عامل اصلی شامل رژیم آبیاری در سه سطح (بدون تنش (۱۰۰ درصد آبیاری کامل)، تنش متوسط (۷۵ درصد آبیاری کامل) و تنش شدید (۵۰ درصد آبیاری کامل) با توجه به تشتک تبخیر کلاس A) و عامل فرعی شامل محلول‌پاشی براسینولید در سه سطح (صفر (آب مقطر)، ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر) بود. بر اساس مقایسه میانگین تنش شدید سبب کاهش محتوای نسبی آب برگ (۱۸/۷۹ درصد) و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد. در این سطح تنش، شاخص سطح برگ، عملکرد دانه و عملکرد روغن به ترتیب با کاهش ۵۷/۴۸، ۶۱/۵۶ و ۷۰/۰۱ درصد نسبت به آبیاری کامل مواجه شدند. از سوی دیگر اثر ساده محلول‌پاشی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر براسینولید موجب افزایش ۱۸/۵۸ و ۳۶/۴۰ درصدی کاتالاز و پروکسیداز شد. همچنین بیشترین میزان شاخص سطح برگ از تیمار آبیاری کامل + محلول‌پاشی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر براسینولید به دست آمد. عملکرد دانه و عملکرد روغن نیز تحت بالاترین سطح محلول‌پاشی براسینولید در شرایط تنش شدید با افزایش ۸۳/۵۷ و ۶۶/۶۶ درصدی نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی + تنش شدید روبه‌رو بود. نتایج پژوهش نشان داد محلول‌پاشی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر براسینولید، جهت بهبود عملکرد آفتابگردان تحت شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی مناسب خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، شاخص سطح برگ، کاتالاز، محتوای نسبی آب برگ

مقدمه

آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان دانه روغنی محسوب می‌شود که به دلیل داشتن درصد بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع، از کیفیت روغن مرغوبی برخوردار است (Ansarifard, Mostafavi, Khosroshahli, Bihamta, & Ramshini, 2020). اگرچه اشاره شده است که این گیاه به خوبی با شرایط اقلیمی ایران سازگار بوده (Gholizadeh, Ghaffari, Payghamzadeh, & Kia, 2021)؛ با این حال، نسبت به خشکی تحمل متوسطی دارد (Hassan & Mohamed, 2019). پژوهشگران با توجه به پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی و تغییرات اقلیمی، تنش خشکی را چالش برانگیزترین عامل محدود کننده در مسیر تولید محصولات زراعی می‌شمارند (Balestrini, Chitarra, Antoniou, 2018). آفتابگردان، اگرچه قادر به تحمل تنش خشکی متوسط است، اما در برابر خشکی شدید حساسیت نشان می‌دهد.

این حساسیت عمدتاً به دلیل کاهش توانایی گیاه در تنظیم تعرق و آماسیدگی برگ است (García-López, Lorite, García-Ruiz, & Domínguez, 2014).

تنش خشکی تولید گونه‌های فعال اکسیژن مانند سوپراکسید و پراکسید هیدروژن را افزایش داده و تنش اکسیداتیو را تشدید می‌کند؛ در نتیجه سبب ایجاد اختلال در فعالیت‌های فیزیولوژیک یاخته‌ها (Tiwari et al., 2021) از جمله کاهش فرآیند فتوسنتز ناشی از تخریب کلروپلاست‌ها (Woodson, 2022)، کاهش سطح برگ و کوچک و ضخیم‌شدن برگ‌ها (Hu et al., 2020)، کاهش هدایت روزنه‌ای (Liu et al., 2022) و تغییرات مورفولوژیک در گیاهان می‌شود. برخی از این واکنش‌ها نوعی پاسخ سازگاری برای کاهش تعرق و از دست دادن کمتر آب می‌باشد، اما سرانجام با کاهش عملکرد کمی و کیفی گیاهان همراه خواهد بود (Gao et al., 2020). بررسی یافته‌های پژوهشگران نشان می‌دهد که تنش خشکی، محتوای نسبی آب برگ (Ghasemi, Jahanbin, Latifmanesh, & Omid Nasab, Meskarbashee, & Rahnama Ghahfarokhi, 2024) و محتوای کلروفیل (Farajee, & Mirshekari, 2021) افتابگردان را به‌صورت معنی‌داری کاهش داده است. از سوی دیگر، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (Motie, Sirousmehr, Khammari, & Naderi, 2023)، پراکسیداز (Sheikh Mamo, Rahnama, & Hassibi, 2023) و سوپراکسید دیسموتاز (Yazdandoost Hamedani, Ghobadi, Ghobadi, Jalali Honarmand, & saeidi, 2022) نیز متأثر از سطوح تنش خشکی با افزایش محسوسی در افتابگردان همراه بوده است. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با تبدیل سوپراکسید به پراکسید هیدروژن، نخستین خط دفاعی گیاه در برابر گونه‌های فعال اکسیژن است، در حالی که کاتالاز به حذف پراکسید هیدروژن از طریق تجزیه آن به آب و اکسیژن کمک می‌کند و پراکسیداز نیز با نقش‌آفرینی در پایداری دیواره سلولی و تنظیم رشد، H_2O_2 را از سلول‌ها حذف می‌کند (Huchzermeyer, Menghani, Khardia, & Shilu, 2022). افزایش هماهنگ فعالیت این آنزیم‌ها نقش حیاتی در کاهش آسیب اکسیداتیو، حفظ ساختار غشای سلولی و بهبود تحمل گیاه به تنش خشکی دارد. عرب و همکاران (Arab, Yadavi, Balouchi, & Alahdadii, 2023) اظهار نمودند تاخیر در آبیاری پس از ۱۸۰ میلی‌متر تیخیر موجب کاهش ۳۷/۵ درصدی عملکرد دانه و ۳۰ درصدی عملکرد زیستی افتابگردان شد. همچنین پژوهشگران ابراز داشته‌اند که بروز تنش خشکی سبب کاهش درصد روغن دانه (Omidinasab, Meskarbashee and Rahnama Ghahfarokhi, 2023)، عملکرد روغن (Karami borzabad, Peykarestan, and Baghbani- Arani, 2022) شاخص سطح برگ و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (Motiei, Sirousmehr, Khammari and Naderi, 2023) در افتابگردان شده است. بنابراین اتخاذ راهبردهای لازم جهت بهبود سازگاری گونه‌های مقاوم به خشکی و کم‌آبی به دلیل تطابق‌های فیزیولوژیک، ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی به‌ویژه در نواحی خشک و نیمه‌خشک، اهمیت دوچندانی می‌یابد. کم‌آبیاری به عنوان یک راهکار بهینه و رویکرد هشیارانه، نقش مهمی در تولید محصولات کشاورزی در شرایط کمبود آب ایفا می‌کند. این روش با هدف افزایش بهره‌وری آب از طریق کاهش حجم آبیاری در هر نوبت یا حذف آبیاری‌هایی که توان بازدهی کمتری دارند، به مدیریت بهتر منابع آبی کمک می‌کند (Abaszadeh, Fanaee, & Bakhshi, 2024).

براسینولیدها متعلق به دسته‌ای از هورمون‌های استروئیدی گیاهی هستند که در تنظیم فرآیندهای رشد و نمو از جمله تقسیم و کشیدگی سلولی، اندام‌زایی، پیری برگ و واکنش به تنش‌های محیطی نقش کلیدی ایفا می‌کنند (Hassanuzzaman, Nahar, Alam, Ahmad, & Fujita, 2015).

این هورمون‌ها در بسیاری از گیاهان وجود دارند و حتی در غلظت‌های بسیار پایین نیز فعالیت بالایی دارند. مطالعات نشان داده است که براسینولیدها در رشد و توسعه جنین و تعامل با سایر هورمون‌های گیاهی اولیه و جاسمونیک اسید و سالیسیلیک اسید تأثیرگذارند. تعامل این هورمون‌ها با آبسزیک اسید در بسته شدن روزنه‌ها و افزایش تحمل به خشکی از طریق مسیرهای پیام‌رسانی نیتریک اکسید، به گیاه در مقابله با تنش‌های غیرزیستی کمک می‌کند. براسینولیدها همچنین با تنظیم بیان ژن‌های مشترک با آبسزیک اسید، فرآیندهای مرتبط با رشد و پاسخ به تنش خشکی را هماهنگ می‌کنند (Planas-Riverona *et al.*, 2019). نتایج یافته‌های حجیری و پاژکی (Hajiri & Pazoki, 2023) نشان می‌دهد کاربرد براسینولید متناسب با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش میزان نشت مواد یونی سبب بهبود محتوای نسبی آب برگ در لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris* L. Pinto) شد. این هورمون‌ها از طریق افزایش فتوسنتز، تنظیم فعالیت آنزیم روبیسکو و چرخه کالوین، کارایی دریافت دی‌اکسید کربن و سرعت کربوکسیلاسیون را بهبود بخشیده و در توسعه آوند چوبی، تشکیل لوله کرده و تمایز بافت‌های آوندی نقش دارند (Sirohi & Kapoor, 2020). کمبود براسینولید همچنین باعث کاهش جوانه‌زنی، کوتولگی، تأخیر در گل‌دهی و کاهش باروری می‌شود، در حالی که افزایش بیان ژن‌های مربوط به بیوستز براسینولیدها، رشد و تحمل گیاه را بهبود می‌بخشد (Chaghakaboodi, Mousavi, & Kakaie, 2024). تأثیر نقش مثبت براسینولید در افزایش عملکرد دانه و عملکرد روغن (Kumar, Singh & Sharma, 2021)، درصد روغن (El-Beltagi, El-Sherif & El-Metwally, 2019)، شاخص سطح برگ و محتوای کلروفیل (Kumar, Singh & Sharma, 2020) در آفتابگردان نیز مطرح شده است.

کاهش شدید و افت سطح منابع آب‌های زیرزمینی، کاهش بارندگی‌ها طی چند سال اخیر و کمبود آب در اکثر مناطق کشور، لزوم بازنگری در روش‌های کشت محصولات زراعی را با در نظر گرفتن صرفه‌جویی در مصرف آب بخش کشاورزی ضروری می‌نماید. بنابراین، در این پژوهش محلول‌پاشی هورمون براسینولید به‌عنوان پیشنهادی مطلوب برای بهبود تحمل به تنش خشکی جهت ارزیابی برخی خصوصیات فیزیولوژیک و زراعی آفتابگردان تحت رژیم‌های مختلف آبیاری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش

آزمایش حاضر در سال زراعی ۱۳۹۷ در منطقه نورآباد ممسنی، استان فارس با مشخصات جغرافیایی ۵۱ درجه و ۳۱ دقیقه طول شرقی و ۳۰ درجه و ۷ دقیقه عرض شمالی، در ارتفاع ۹۲۰ متری از سطح دریا اجرا گردید. منطقه آزمایش بر اساس تقسیمات اقلیمی به روش کوپن (Köppen, 1936) جزئی از مناطق نیمه‌خشک می‌باشد. آزمایش به‌صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. عامل اصلی آزمایش شامل رژیم آبیاری در سه سطح (بدون تنش (۱۰۰ درصد آبیاری کامل)، تنش متوسط (۷۵ درصد آبیاری کامل) و تنش شدید (۵۰ درصد آبیاری کامل) با توجه به تبخیر از تشت تبخیر کلاس A) و عامل فرعی شامل محلول‌پاشی هورمون براسینولید (محصول شرکت شیمی دانش آزمایش تهران) در سه سطح (صفر (آب مقطر)، ۰/۱ و ۰/۵ میلی گرم بر لیتر) بود.

به منظور اجرای آزمایش، عملیات آماده‌سازی زمین و بستر خاک با استفاده از وسایل مکانیزه (گاواهن و دیسک) در هفته اول تیر ماه صورت گرفت. جهت آماده‌سازی مراحل اولیه هیچ نوع علف‌کش، آفت‌کش و یا قارچ‌کش استفاده نشد. پس از انجام عملیات خاک‌ورزی، کرت‌هایی به طول ۵ متر و عرض ۴ متر ایجاد شد. هر کرت شامل ۶ ردیف به فاصله ۶۰ سانتی‌متر بود. فاصله بین کرت‌های فرعی ۱/۵ متر و فاصله بین کرت‌های اصلی نیز ۳

متر در نظر گرفته شد. قبل از انجام عملیات زراعی به منظور تعیین میزان حاصلخیزی خاک و نیاز کودی، از ۱۰ نقطه زمین آزمایشی، نمونه خاکی از عمق ۳۰-۰ سانتی متری تهیه شد (جدول ۱). بر اساس نتایج آزمون خاک ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن از منبع اوره طی سه مرحله (یک سوم همزمان با شخم، یک سوم در زمان شش برگی و یک سوم در زمان ستاره‌ای شدن طبقا به صورت نواری) اعمال گردید. کود فسفر نیز از منبع سوپر فسفات تریپل (۱۵۰ کیلوگرم در هکتار) قبل از کشت به خاک اضافه شد.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش
Table 1- Physicochemical properties of the soil at the test site

شن Sand (%)	سیلت Silt (%)	رس Clay (%)	بافت خاک Soil Texture	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی EC (ds.m ⁻¹)	کربن آلی Organic carbon (%)	نیتروژن کل Nitrogen Total (%)	فسفر قابل جذب Available P (ppm)	پتاسیم قابل جذب Available K (ppm)
20	64	16	لوم سیلتی Silty loam	7.23	1.0	0.60	0.07	15	220

رقم آفتابگردان انتخابی در این آزمایش، اسکار بود. این رقم که هیبریدی زودرس با دوره رشد ۱۱۰ روزه، مقاوم در برابر بیماری‌ها ورس و خشکی، حاوی ۴۸ تا ۵۱٪ روغن، پایدار در عملکرد و سازگار با شرایط محیطی مختلف است از شرکت نگین سبز برنا تهیه شد. کاشت به صورت جوی و پشته‌ای و هیرم کاری انجام گرفت. فرآیند کاشت به صورت دستی با توجه به اندازه بذور در عمق ۵ تا ۷ سانتی متری، به حالت کپه‌ای (کشت ۲ تا ۳ بذر در هر کپه) و با رعایت فاصله ۲۵ سانتی متری روی ردیف در ۲۵ تیرماه انجام شد. در مرحله ۲ تا ۳ برگی، عمل تنک کاری انجام شد. اولین آبیاری بلافاصله بعد از کشت انجام گرفت. تا زمان خروج گیاهچه‌ها از خاک، مزرعه هر سه روز یک بار آبیاری گردید. سپس بعد از مرحله سبز شدن هر ۶ روز یک بار انجام گرفت. زمانی که گیاه به مرحله گلدهی رسید، تیمارهای تنش خشکی اعمال شد. در این آزمایش دور آبیاری آفتابگردان با استفاده از تشتک تبخیر (از جمله پارامترهای هواشناسی که در ایستگاههای هواشناسی به طور روزانه اندازه گیری می شود و اثرات کلیه عوامل آب و هوایی از جمله دما، باد، رطوبت و تشعشع را نشان می دهد) تعیین گردید. از ابتدای کشت تا هنگام برداشت، روزانه داده‌های تبخیر از تشت تبخیر کلاس A یادداشت برداری گردید تا زمان آبیاری مشخص گردد. همچنین با در نظر گرفتن ضریب گیاهی Kc میزان تبخیر و تعرق مشخص و بر اساس تخلیه رطوبتی و طبق تیمارهای مذکور تا رسیدن رطوبت خاک به حد ظرفیت زراعی میزان آب مورد نیاز محاسبه و حجم آب مورد نیاز هر کرت توسط کنتور حجمی اندازه گیری شد. حجم آب مصرفی در هر نوبت آبیاری برای تیمارهای مختلف و تعداد دفعات آبیاری آنها به شرح جدول ۲ می باشد.

جدول ۲- حجم آب مصرفی در سطوح مختلف تیمار آبیاری
Table 2 - Water consumption volume at different irrigation treatment levels

تعداد آبیاری Number of irrigations	آب مصرفی در کرت (متر مکعب در هکتار) Water consumption in the plot (m ³ /ha)	سطوح تیمار Treatment levels
13	2.2	آبیاری ۱۰۰ درصد percent irrigation 100
13	1.6	آبیاری ۷۵ درصد percent irrigation 75
13	1.06	آبیاری ۵۰ درصد percent irrigation 50

محلول پاشی براسینولید نیز در دو مرحله‌ی رشد رویشی یعنی ۴ و ۸ برگی (با غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۵ میلی گرم بر لیتر) برای هر کرت انجام شد. به‌منظور جذب بهتر، از ماده سورفکتانت (pH کنترل) جهت بهتر خیس نمودن برگ‌ها استفاده شد. برداشت نمونه‌ها پس از رسیدگی فیزیولوژیکی آفتابگردان در ۱۰ آبان ماه از سطح سه متر مربع (پس از حذف حاشیه‌ها) در هر کرت انجام شد.

محتوای نسبی آب: نمونه‌برداری به کمک قیچی از برگ رفرنس (آخرین برگ توسعه یافته) در مرحله گلدهی (کد ۶۵ بر اساس مقیاس BBCH) انجام و نمونه‌ها بلافاصله درون یخ قرار گرفته و در آزمایشگاه وزن تر آن‌ها با ترازوی دقیق (با دقت ۰/۰۰۰۱) اندازه‌گیری شد. سپس تمامی نمونه‌ها در آب مقطر قرار داده شده و به‌مدت ۲۴ ساعت در سردخانه با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از ۲۴ ساعت وزن اشباع برگ‌ها اندازه‌گیری شد. سپس برگ‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت دیگر در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و وزن خشک یادداشت گردید. در نهایت محتوای نسبی آب از روش زیر محاسبه گردید (Ritchie & Nguyen, 1990).

$$RWC = \frac{F_w - D_w}{S_w - D_w} \times 100 \quad \text{رابطه (۱)}$$

F_w : وزن تر برگ بلافاصله بعد از نمونه‌برداری

D_w : وزن خشک برگ بعد از قرار گرفتن در آون

S_w : وزن اشباع برگ بعد از قرار گرفتن در آب مقطر

اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانسی

فعالیت آنزیم کاتالاز: کمپلکس واکنشی شامل ۱/۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH 7)، ۰/۵ میلی‌لیتر از پراکسید هیدروژن ۷/۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی بود و حجم نمونه‌ها با اضافه کردن آب مقطر به ۳ میلی‌لیتر رسانده شد. جذب کمپلکس واکنشی در طول موج ۲۹۰ نانومتر یادداشت و با استفاده از ضریب خاموشی ۳۶/۶ میلی‌مول بر سانتی‌متر میزان فعالیت آنزیم محاسبه شد (Aebi, 1984).

فعالیت آنزیم پراکسیداز: مخلوط واکنش شامل ۸۱ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH=۶/۶، ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی نمونه و ۹۰ میکرولیتر گوئی‌کول ۱٪ به‌عنوان الکترون‌دهنده مورد استفاده قرار گرفت. قبل از اندازه‌گیری سرعت واکنش، ۹۰ میکرو لیتر پراکسید هیدروژن ۳ درصد به‌عنوان پذیرنده الکترون به مخلوط واکنش اضافه شد و مقدار جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (MacAdam, 1992).

فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز: مخلوط واکنش در حجم نهایی ۴ میلی‌لیتر تهیه شد و محتوی ۶۳ میکرومولار نیتروبلوتترازولیم (NBT)، ۱۳ میلی‌مولار متیونین، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA، ۱۳ میکرومولار ریپوفلاوین، ۰/۵ مولار کربنات سدیم و ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی بود. لوله‌های آزمایش در زیر لامپ لوله‌ای فلئورسنت ۱۵ وات به‌مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفت و پس از آن به‌مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شدند. مقدار جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Beauchamp & Fridovich, 1971).

شاخص سطح برگ: از هر کرت آزمایشی ۵۰۰ گرم برگ تر از دو ردیف میانی به صورت تصادفی برداشت شد. پس از خشک کردن نمونه‌ها در آون در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت، سطح برگ نمونه‌ها با دستگاه Leaf Area Meter (Delta T) اندازه‌گیری شد. سپس، نسبت سطح ویژه برگ (SLA) به عنوان نسبت مساحت برگ به وزن خشک نمونه محاسبه گردید. با استفاده از سطح ویژه برگ و وزن خشک کل برگ‌ها در هر مترمربع زمین، شاخص سطح برگ محاسبه شد (Ravi & Indira, 1991).

عملکرد دانه و وزن طبق: سه مترمربع از وسط هر کرت انتخاب و پس از کف بر کردن ساقه‌ها، تمامی طبق‌ها از ساقه جدا شد. سپس کلیه دانه‌ها از طبق‌ها به روش دستی جدا گردید و پس از کاهش رطوبت تا سطح ۱۴ درصد توزین شدند.

عملکرد روغن: جهت اندازه‌گیری درصد روغن دانه از روش جوهانسون و اولریچ (Johnson & Ulrich, 1959) به کمک دستگاه سوکسله استفاده شد. عملکرد روغن از حاصلضرب عملکرد دانه در درصد روغن، به دست آمد.

تجزیه واریانس داده‌های آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد. مقایسه میانگین اثرات اصلی به روش LSD در سطح ۵ درصد و با معنی‌دار شدن برهمکنش عامل‌های آزمایش، مقایسه میانگین برش‌دهی با رویه L.S.Means مورد مقایسه آماری قرار گرفت. برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزار اکسل (Microsoft Excel 2016) استفاده گردید.

نتایج و بحث

محتوای نسبی آب برگ

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد برهمکنش دوگانه آبیاری $\times$ براسینولید در سطح احتمال ۵ درصد بر میزان محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار شد (جدول ۳). بر مبنای مقایسه میانگین با افزایش سطوح تنش خشکی، میزان محتوای نسبی آب نیز کاهش یافت. اعمال تنش خشکی با آبیاری ۵۰ درصد به میزان ۱۸/۷۹ درصد محتوای این صفت را در مقایسه با آبیاری کامل کاهش داد (شکل ۱). تنش خشکی باعث کاهش محتوای نسبی آب برگ (RWC) و ایجاد عدم تعادل در متابولیسم سلولی می‌شود. کاهش RWC به عنوان شاخصی برای وضعیت آبی گیاه، منجر به کاهش فشار تورگر، اختلال در فرآیند فتوسنتز و محدودیت در رشد سلولی می‌شود. به عبارت دیگر در راستای افزایش میزان شدت تنش خشکی با کاهش رطوبت خاک و محدودیت پتانسیل آب برگ، RWC نیز کاهش یافته و در پی آن هدایت روزنه‌ای و ورود دی‌اکسید کربن به داخل برگ کمتر می‌شود (Zhou et al., 2017). پژوهشگران در آفتابگردان نیز تحت تنش خشکی، کاهش محتوای نسبی آب برگ را ابراز داشته‌اند (Abdel Latef, El-Bassiony & Amer, 2016).

کاربرد محلولپاشی براسینولید تحت شرایط تنش خشکی روند مثبتی را نشان داد؛ به گونه‌ای که اعمال محلولپاشی ۰/۵ میلی گرم بر لیتر براسینولید در سطوح آبیاری ۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد به ترتیب موجب افزایش ۱۳/۹۸، ۱۴/۸۸ و ۳۵/۰۹ درصدی محتوای نسبی آب برگ در مقایسه با تیمار عدم کاربرد براسینولید شد (شکل ۱). در شرایط تنش خشکی کاربرد براسینولید می‌تواند به دلیل تأثیر بر محتوای پروتئین‌ها، فعالیت آنزیم‌های نیترات ردوکتاز، تولید اتیلن، ذخیره پلی‌آمین‌ها و محتوای نسبی آب، باعث افزایش جذب و نگهداری آب در سلول‌های گیاهی شود (Talaat & Shawky, 2016). براسینولید ممکن است در تنظیم عملکرد روزنه‌ها نقش داشته باشد. روزنه‌ها وظیفه کنترل میزان آب و گازهای موجود در گیاهان را برعهده دارند. افزایش فعالیت روزنه می‌تواند منجر به بهبود تعادل آب در گیاه شود. این هورمون همچنین تأثیرگذاری خود را به واسطه تنظیم فعالیت آنزیم‌های مرتبط با فرآیند

متابولیسم آب و حفظ تعادل آبی گیاهان اعمال می‌کند. علاوه بر این از طریق سنتز سلولز، استحکام دیواره سلولی را افزایش داده که اولین خط دفاعی در برابر تنش‌های محیطی به شمار می‌آیند (Bartwal & Arora, 2020).

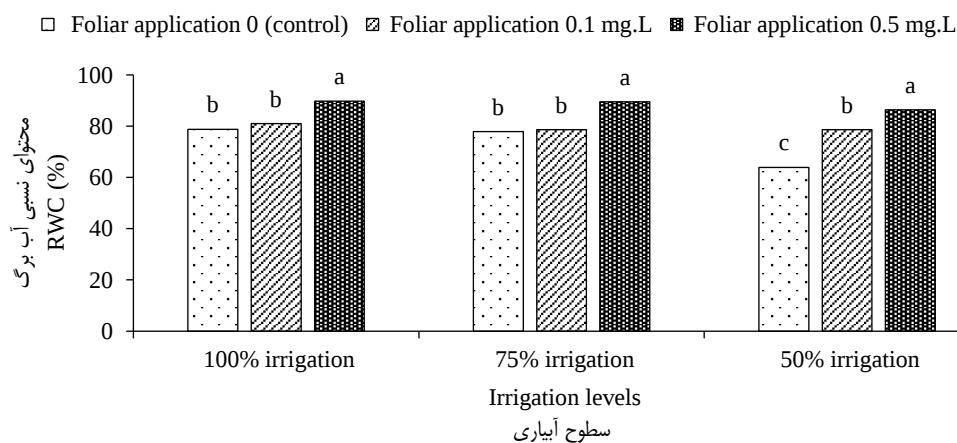
جدول ۳- تجزیه واریانس اثر آبیاری و براسینولید برای برخی از صفات فیزیولوژیک آفتابگردان

Table 3- Analysis of variance of the effect of irrigation and brassinolide for some physiological traits of sunflower

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	محتوای نسبی آب برگ RWC	آنزیم کاتالاز CAT	آنزیم پراکسیداز POX	آنزیم سوپراکسید دیسموتاز SOD
تکرار Replication	2	259.76	0.08	0.87	0.50
آبیاری Irrigation (I)	2	120.84*	1.33**	36.66**	25.45**
خطای اصلی Main plot Error	4	24.93	0.01	0.06	0.11
براسینولید Brassinolide (B)	2	515.83**	0.12**	5.33**	6.79**
I*B	4	15.31*	0.01 ^{ns}	0.16 ^{ns}	0.31*
خطای فرعی Sub plot Error	12	15.79	0.01	0.24	0.05
ضریب تغییرات CV		4.93	7.45	9.94	7.7

ns, ** و * به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال خطای ۱ و ۵ درصد را نشان می‌دهند.

ns, ** and * indicate nonsignificant and significant at the 1 and 5 percent error probability levels, respectively.



شکل ۱- مقایسه میانگین محلول‌پاشی براسینولید در سطوح رژیم آبیاری برای محتوای نسبی آب برگ در آفتابگردان. در هر سطح رژیم آبیاری حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری بین میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون LSD و رویه L.S.Means می‌باشد.

Figure 1- Mean comparison of the foliar application of brassinolide under irrigation regime levels for relative leaf water content in sunflower. At each irrigation regime level, at least one common letter indicates no statistical difference between the means at the 5% probability level based on the LSD test and L.S.Means procedure.

فعالیت آنزیم کاتالاز

مطابق با جدول تجزیه واریانس اثرات ساده آبیاری و براسینولید در سطح احتمال یک درصد بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز معنی دار شد. با این حال برهمکنش دوگانه تاثیر معنی داری را در پی نداشت (جدول ۳). مقایسه میانگین نشان داد واکنش آنزیم کاتالاز با افزایش در سطوح تنش ۷۵ و ۵۰ درصد آبیاری مطلوب به میزان ۴۵/۷۴ و ۸۱/۹۱ درصد به نسبت تیمار آبیاری ۱۰۰ درصد افزایش یافت (جدول ۴). احتمالاً انسداد روزنه‌ها در پاسخ به تنش خشکی موجب افزایش دمای برگ شده که این امر شرایط را برای تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن تسهیل می‌کند. در پی آن تخریب ساختارهای فتوسنتزی، فرآیند پراکسیداسیون لیپیدها، تخریب پروتئین‌های غشایی و اکسیداسیون ترکیبات زیستی حیاتی تشدید می‌شود. در چنین شرایطی، آنزیم‌های اکسیداتیو از جمله کاتالاز به صورت القایی فعال شده و با تجزیه پراکسید هیدروژن و سایر گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن، نقش مؤثری در کاهش آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی ایفا می‌کنند (Huchzermeyer et al., 2022). هم‌سو با نتایج حاضر، یافته‌های احمد و همکاران (Ahmad, Rasool, Gul, Sheikh & Akram, 2016) در آفتابگردان نیز نشان داد که افزایش فعالیت کاتالاز متناسب با افزایش سطوح تنش خشکی بود.

مقایسه میانگین سطوح محلول پاشی براسینولید نشان داد بیشترین میزان کاتالاز (۱/۴۵ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) در تیمار ۵/۰ میلی گرم بر لیتر براسینولید به دست آمد که با تیمار ۱/۰ میلی گرم بر لیتر براسینولید (۱/۳۵ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) تفاوت معنی داری نداشت، اما در مقایسه با تیمار شاهد (عدم محلول پاشی) با اختلاف ۱۸/۸۵ درصدی همراه بود (جدول ۴). براسینولیدها از طریق القای تولید مولکول‌های واسطه نظیر نیتریک اکسید و تنظیم بیوسنتز اسید آسبیزیک، با افزایش غلظت داخلی این هورمون، موجب فعال سازی مسیرهای آنتی اکسیدانی می‌شوند. مطالعات نشان داده‌اند که نیتریک اکسید قادر است فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نظیر کاتالاز را از طریق فعال سازی مسیرهای سیگنالی مربوط به پروتئین کینازها و فسفاتازها افزایش دهد (Yaqoob, Jan, Raman, Siddique, & John, 2022). تشدید فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در گیاهان تیمار شده با براسینولید به واسطه افزایش بیان ژن‌های مربوطه و تسریع سنتز این آنزیم‌ها رخ می‌دهد (Planas-Riverona et al., 2019). افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز تحت کاربرد براسینولید در لوبیا چیتی نیز عنوان شده است (Hajiri & Pazoki, 2023).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات اصلی آبیاری و براسینولید برای کاتالاز و پراکسیداز در آفتابگردان

Table 4- Comparison of mean main effects of irrigation and brassinolide for catalase and peroxidase in sunflower

تیمار آزمایش Experimental treatment	سطوح تیمار Treatment levels	فعالیت کاتالاز CAT (mg.g ⁻¹ FW)	فعالیت پراکسیداز POX (mg.g ⁻¹ FW)
آبیاری Irrigation	آبیاری ۱۰۰ درصد 100 percent irrigation	0.94 ^c	3.04 ^c
	آبیاری ۷۵ درصد 75 percent irrigation	1.37 ^b	4.89 ^b
	آبیاری ۵۰ درصد 50 percent irrigation	1.71 ^a	7.07 ^a
براسینولید Brassinolide (mg.L ⁻¹)	0	1.22 ^b	4.23 ^c
	0.1	1.35 ^a	5.00 ^b
	0.5	1.45 ^a	5.77 ^a

حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری با هم ندارند.

Similar letters in each column are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% error probability level.

فعالیت آنزیم پراکسیداز

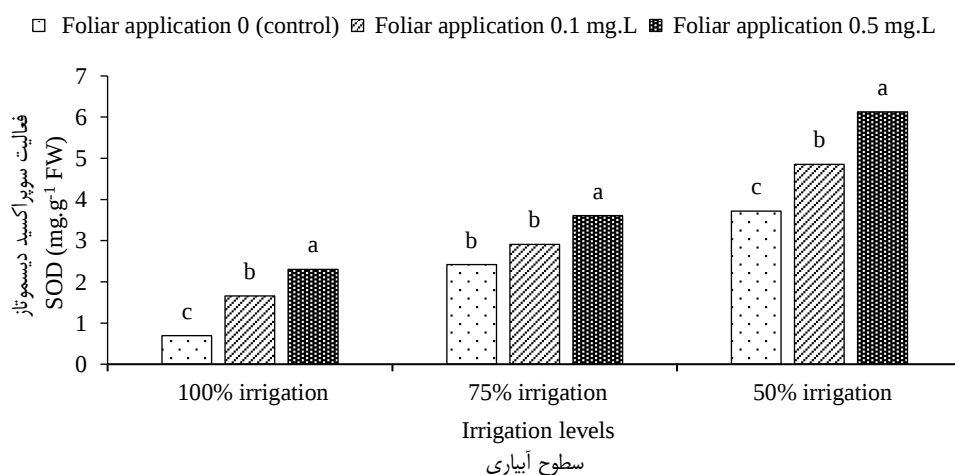
بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثرات ساده آبیاری و محلول پاشی براسینولید در سطح احتمال یک درصد بر میزان پراکسیداز معنی دار گردید اما برهمکنش آن‌ها برای صفت مذکور معنی دار نشد (جدول ۳). مقایسه میانگین سطوح آبیاری نشان داد بیشترین میزان پراکسیداز در تیمار تنش شدید (۵۰ درصد آبیاری مطلوب)؛ با میانگین ۷/۰۷ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ و کمترین میزان پراکسیداز در تیمار آبیاری کامل (۱۰۰ درصد آبیاری مطلوب)؛ با میانگین ۳/۰۴ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ به دست آمد و از این جهت فعالیت پراکسیداز با افزایش ۱/۳۲ برابری مواجه شد (جدول ۴). تنش خشکی، مشابه سایر تنش‌های زیستی و غیرزیستی، منجر به انباشت گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در سلول‌های گیاهی می‌شود. این تجمع می‌تواند باعث ایجاد تنش اکسیداتیو و آسیب به ساختارهای حیاتی سلولی گردد. پژوهش‌های متعدد نشان داده‌اند که افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز به عنوان یکی از مؤلفه‌های کلیدی در سیستم دفاعی، نقش مهمی در کاهش اثرات تنش اکسیداتیو و حفاظت از گیاهان در شرایط خشکی ایفا می‌کند. این آنزیم از طریق تجزیه پراکسید هیدروژن و خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن، به حفظ تعادل اکسیداتیو و پایداری سلولی کمک کرده و به عنوان یک نشانگر زیستی در مطالعات مرتبط با تحمل گیاه به تنش‌های محیطی مورد توجه قرار گرفته است (Ghassemi-Golezani, Ghassemi, & Zehtab-Salmasi, 2018).

مقایسه میانگین سطوح محلول پاشی براسینولید گواه آن بود که بیشترین میزان پراکسیداز (۵/۷۷ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) در تیمار ۰/۵ میلی گرم بر لیتر براسینولید و کمترین میزان این صفت (۴/۲۳ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) در تیمار شاهد به دست آمد. درواقع محلول پاشی براسینولید موجب افزایش ۳۶/۴۰ درصدی فعالیت پراکسیداز گردید (جدول ۴). براسینولید با تحریک مسیرهای سیگنالی وابسته به کینازهای پروتئین، مانند مسیرهای مرتبط با پروتئین کیناز وابسته به کلسیم (Ca^{2+} -PKC) و پروتئین کیناز فعال شده توسط براسینولید (BRI1)، می‌تواند به طور غیرمستقیم بر بیان ژن‌هایی که مسئول سنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی هستند، تأثیر بگذارد. این مسیرها ممکن است به افزایش بیان ژن‌های پراکسیداز و سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی منجر شوند. به این ترتیب، براسینولید می‌تواند از طریق تنظیم سطح بیان ژن پراکسیداز، سنتز این آنزیم را در گیاهان افزایش دهد (Hafeez et al., 2021). در این زمینه مطرح شده است که کاربرد براسینواستروئید فعالیت پراکسیداز را در آفتابگردان افزایش داده و کاهش تنش اکسیداتیو را در پی داشته است (El-Beltagi & El-Metwally, 2017).

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

تجزیه واریانس داده‌ها نشان از معنی‌داری برهمکنش آبیاری $\times$ براسینولید در سطح احتمال خطای ۵ درصد بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز داشت (جدول ۳). یافته‌ها نشان می‌دهد که بروز تنش خشکی در سطوح آبیاری ۷۵ و ۵۰ درصد به ترتیب با افزایش ۲/۵۰ و ۴/۳۹ برابری فعالیت سوپراکسید دیسموتاز نسبت به آبیاری مطلوب همراه بود (شکل ۲). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز نقش حیاتی در حفاظت از غشاهای سلولی و ماکرومولکول‌های زیستی در برابر آسیب اکسیداتیو ایفا کرده و غلظت هیدروژن پراکسید و سوپراکسید سلول را تنظیم می‌کنند. سوپراکسید با تغییر تعامل پروتئین‌ها و لیپیدها، غشاء را در معرض اکسیژن قرار داده و به عملکرد آن آسیب می‌زند. بنابراین تحت این شرایط تولید رادیکال پراکسید افزایش می‌یابد (Bogati & Walczak, 2022). نتایج این تحقیق با یافته‌های عبدالطیف و همکاران (Abdel Latef et al., 2016) در افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت تیمارهای قطع آبیاری در آفتابگردان مطابقت دارد.

نتایج مقایسه میانگین نشانگر آن است که در هر یک از سطوح آبیاری با افزایش محلول پاشی هورمون براسینولید میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافت؛ به گونه‌ای که در سطوح ۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد آبیاری، اعمال محلول پاشی ۰/۵ میلی گرم بر لیتر براسینولید به ترتیب عامل افزایش ۲/۳۳ برابری و ۴۹/۱۷ و ۶۵ درصدی فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (در مقایسه با عدم محلول پاشی هورمون) شد (شکل ۲). براسینولید به طور غیرمستقیم (از طریق بیان ژن‌های NCED و پیش‌سازهای آنزیمی) بر متابولیسم اسید آبسزیک تأثیر می‌گذارد. افزایش سطح اسید آبسزیک در پاسخ به براسینولید، به‌ویژه در شرایط تنش‌های محیطی مانند خشکی، می‌تواند فعال‌سازی سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان را تحریک کند. یکی از اثرات مهم اسید آبسزیک، تحریک تولید آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز است که مسئول خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن و کاهش آسیب‌های اکسیداتیو در سلول‌ها هستند (Gao *et al.*, 2024). در همین رابطه پژوهشی در آفتابگردان نشان داد کاربرد براسینواستروئید عامل افزایش سوپراکسید دیسموتاز تحت تیمارهای تنش خشکی بوده است (El-Beltagi & El-Metwally, 2017).



شکل ۲- مقایسه میانگین محلول پاشی براسینولید در هر سطح رژیم آبیاری برای آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در آفتابگردان. در هر سطح رژیم آبیاری حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری بین میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون LSD و رویه L.S.Means می‌باشد.

Figure 2- Mean comparison of the foliar application of brassinolide under irrigation regime levels for superoxide dismutase in sunflower. At each irrigation regime level, at least one common letter indicates no statistical difference between the means at the 5% probability level based on the LSD test and L.S.Means procedure.

شاخص سطح برگ

تجزیه واریانس نشان داد برهمکنش دوگانه آبیاری × براسینولید در سطح حتمال ۵ درصد برای میزان شاخص سطح برگ معنی‌دار شد (جدول ۵). اعمال تیمار تنش موجب کاهش ۷/۳۶ و ۵۷/۴۸ درصدی شاخص سطح برگ در سطوح آبیاری ۷۵ و ۵۰ درصد به نسبت آبیاری ۱۰۰ درصد شد (شکل ۳). کاهش محتوای رطوبتی خاک و گیاه منجر به تنش خشکی و تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود که آسیب اکسیداتیو به غشاها، پروتئین‌ها و کلروفیل وارد می‌کند. این فرایند باعث تخریب سلول‌های مزوفیل و کاهش شاخص سطح برگ‌های (LAI) می‌شود. بسته شدن روزنه‌ها و کوچک شدن برگ‌ها به عنوان مکانیسم دفاعی برای حفظ آب، اگرچه از تخرق جلوگیری می‌کند، اما فتوسنتز را محدود کرده و در ادامه تولید زیست‌توده را کاهش می‌دهد (Abaszadeh *et al.*, 2024).

نتایج مقایسه میانگین برهمکنش دوگانه تحت سطوح آبیاری نشان‌دهنده بهبود شاخص سطح برگ با افزایش کاربرد محلول‌پاشی براسینولید بود. در سطوح آبیاری ۱۰۰ و ۵۰ درصد، اعمال ۰/۵ میلی گرم بر لیتر براسینولید موجب افزایش ۱۲/۲۶ و ۴۵/۴۱ درصدی شاخص سطح برگ در مقایسه با عدم محلول‌پاشی شد (شکل ۳). با این وجود تیمارهای محلول‌پاشی هورمون در سطح آبیاری ۷۵ درصد تفاوت آماری با تیمار شاهد (عدم محلول‌پاشی) نشان ندادند (شکل ۷). براسینولیدها از طریق فعال‌سازی ژن‌های مرتبط با تقسیم و توسعه سلولی، باعث تحریک رشد برگ‌ها می‌شوند (Hassanuzzaman et al., 2015). همچنین می‌تواند با افزایش فعالیت آنزیم‌های مربوط با بیوسنتز کلروفیل و کاهش تجزیه آن؛ یا به عبارت دیگر از طریق مهار ژن‌های مرتبط با پیری برگ و فعال‌سازی آنتی‌اکسیدان‌ها، از تجزیه زودرس برگ‌ها جلوگیری کرده و سطح برگ را در طول دوره تنش خشکی حفظ کند. این امر منجر به ذخیره بیشتر مواد تغذیه‌ای شده و فرآیند رشد را بهبود می‌بخشد (Choudhury & Khatun, 2022). گزارش شده است کاربرد براسینولید سبب افزایش شاخص سطح برگ آفتابگردان در مقایسه با تیمار شاهد شد (Kumar et al., 2020).

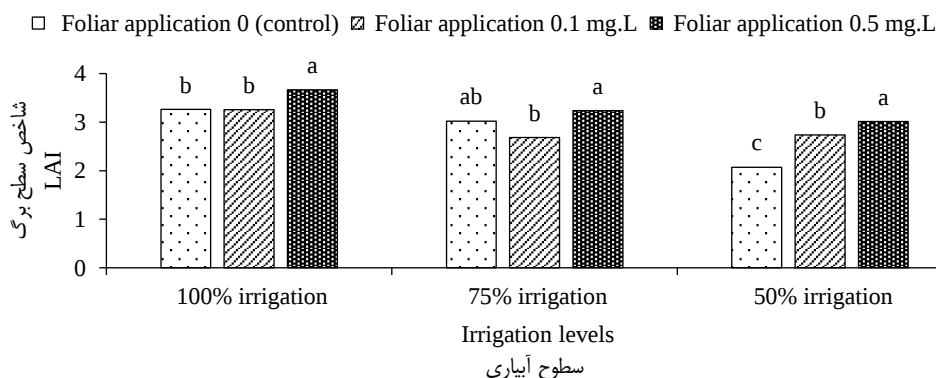
جدول ۵- تجزیه واریانس اثر آبیاری و براسینولید بر خصوصیات زراعی آفتابگردان

Table 5- Analysis of variance of the effect of irrigation and brassinolide on agronomic characteristics sunflower

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	شاخص سطح برگ LAI	وزن طبق بدون دانه Weight per head without seeds	وزن طبق با دانه Weight per head with seeds	عملکرد دانه Seed Yield	عملکرد روغن Oil Yield
تکرار Replication	2	0.93	8639	210553	356	24071
آبیاری Irrigation (I)	2	1.38**	11506*	10591542**	68881**	1261177**
خطای اصلی Main plot Error	4	0.05	2313	96232	134	13239
براسینولید Brassinolide (B)	2	0.67**	25986* ⁸	1452997*	15557**	298393**
I*B	4	0.21*	5566 ^{ns}	68916 ^{ns}	624*	19834*
خطای فرعی Sub plot Error	12	0.05	1748	215211	128	3771
ضریب تغییرات CV		7.71	8.60	15.91	5.52	7.90

ns, ** و * به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال خطای ۱ و ۵ درصد را نشان می‌دهند.

ns, ** and * indicate nonsignificant and significant at the 1 and 5 percent error probability levels, respectively.



شکل ۳- مقایسه میانگین محلول پاشی براسینولید در هر سطح رژیم آبیاری برای شاخص سطح برگ در آفتابگردان. در هر سطح رژیم آبیاری حداقل یک حرف مشترک نشان دهنده عدم تفاوت آماری بین میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون LSD و رویه L.S.Means می‌باشد.

Figure 3- Mean comparison of the foliar application of brassinolide under irrigation regime levels for leaf area index in sunflower. At each irrigation regime level, at least one common letter indicates no statistical difference between the means at the 5% probability level based on the LSD test and L.S.Means procedure.

وزن طبق بدون دانه و با دانه

تجزیه واریانس نشان داد اثرات ساده آبیاری (در سطح احتمال ۵ درصد) و محلول پاشی براسینولید (در سطح احتمال یک درصد) بر وزن طبق بدون دانه معنی‌دار بود. همچنین برای وزن طبق پر نیز اثرات ساده آبیاری و محلول پاشی براسینولید (در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد) معنی‌دار بود. اما برهمکنش‌های دوگانه آبیاری $\times$ براسینولید برای هیچ یک از این دو صفت اثر معنی‌داری را در پی نداشت (جدول ۵).

بر مبنای مقایسه میانگین سطوح آبیاری، وزن طبق بدون دانه متناسب با افزایش شدت تنش خشکی کاهش یافت؛ به گونه‌ای که تیمار آبیاری ۵۰ درصد عامل افت ۱۳/۶۵ درصدی این صفت به نسبت آبیاری ۱۰۰ درصد شد (جدول ۶). از سوی دیگر بیشترین وزن طبق با دانه (۳۵۴۰/۹ گرم) در تیمار آبیاری کامل به دست آمد که تفاوت معنی‌داری با تیمار تنش متوسط نداشت، اما در مقایسه با تیمار تنش شدید (۱۶۶۱/۵ گرم) اختلاف ۵۳/۰۷ درصدی را بروز داد (جدول ۶). تنش خشکی همزمان با کاهش محتوای رطوبتی خاک و گیاه، موجب افت فعالیت فتوسنتزی از طریق بسته شدن روزنه‌ها و تخریب کلروفیل می‌شود که سطح فتوسنتزکننده را کاهش می‌دهد. این امر منجر به کاهش تولید محصولات فتوسنتز و در نتیجه محدودیت در انتقال مواد فتوسنتزی از منابع (برگ‌ها) به مخازن (دانه‌ها) می‌شود (Jaleh, 2017). کاهش فتوسنتز و افت تولید زیست‌توده، ظرفیت پر شدن دانه‌ها را کاهش داده و وزن طبق با دانه و بدون دانه تحت تأثیر قرار می‌گیرد. با این حال، کاهش محسوس تر وزن طبق با دانه، نشان می‌دهد که افت عملکرد عمدتاً ناشی از کاهش وزن دانه‌ها است. این فرایند احتمالاً به دلیل اختلال در تخصیص منابع و محدودیت دسترسی به آب و مواد مغذی رخ می‌دهد که می‌تواند باعث کاهش رشد زایشی نسبت به رویشی شود. در نتیجه، بسته به شدت و مدت تنش خشکی، گیاه ممکن است بخشی از منابع خود را برای حفظ ساختارهای حیاتی به جای تولید دانه تخصیص دهد، که در نهایت سبب کاهش بهره‌وری گیاه در شرایط تنش خشکی می‌شود. گزارش شده است که تحت شرایط تنش خشکی، وزن طبق و تعداد دانه در طبق گیاه آفتابگردان به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (Farooq, Wahid, Kobayashi, Fujita & Basra, 2009).

مقایسه میانگین سطوح مختلف محلول پاشی براسینولید نمایانگر تأثیر مثبت و معنی‌دار این هورمون در افزایش وزن طبق پر و خالی دارد. بیشترین وزن طبق بدون دانه (۵۳۸/۳۲ گرم) و وزن طبق با دانه (۳۱۶۶ گرم) در تیمار محلول پاشی ۰/۵ میلی گرم بر لیتر براسینولید و کمترین وزن طبق بدون دانه (۴۳۰/۹۳ گرم) و وزن طبق با دانه (۲۴۵۰/۷ گرم) در تیمار شاهد (عدم محلول پاشی) به دست آمد. از این جهت اعمال محلول پاشی در بالاترین سطح کاربردی در این آزمایش، به ترتیب سبب افزایش ۲۴/۹۲ و ۲۹/۱۸ درصدی وزن طبق بدون دانه و با دانه شده است (جدول ۶). براسینولیدها با افزایش نرخ فتوسنتز، تقویت تولید محصولات فتوسنتزی و تسهیل انتقال آن‌ها به دانه‌ها، نقش مهمی در بهبود وزن طبق با دانه ایفا می‌کنند. این هورمون از طریق افزایش سنتز کلروفیل و فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی، موجب پر شدن بهتر دانه‌ها می‌شود. همچنین با تحریک تقسیم و توسعه سلولی، انباشت بیشتر مواد ذخیره‌ای مانند نشاسته و پروتئین را در دانه‌ها تسریع می‌کند (Chen, Hu, Jiang, & Wang, 2024). علاوه بر این، با کاهش آسیب

اکسیداتیو و فعال سازی آنزیم های آنتی اکسیدانی، براسینولید از تخریب برگ ها جلوگیری کرده و طول عمر برگ ها را افزایش می دهد، که به حفظ سطوح فتوسنتز کننده و تولید مواد فتوسنتزی در طول دوره رشد کمک می کند (Choudhury & Khatun, 2022).

جدول ۶- مقایسه میانگین اثرات اصلی آبیاری و براسینولید برای وزن طبق بدون دانه و با دانه در آفتابگردان
Table 6- Comparison of mean main effects of irrigation and brassinolide for seedless and seeded head weight in sunflower

تیمار آزمایش Experimental treatment	سطوح تیمار Treatment levels	وزن طبق بدون دانه Weight per head without seeds (gr)	وزن طبق با دانه Weight per head with seeds (gr)
آبیاری Irrigation	آبیاری ۱۰۰ درصد 100 percent irrigation	518.19 ^a	3540.9 ^a
	آبیاری ۷۵ درصد 75 percent irrigation	491.68 ^{ab}	3540.0 ^a
	آبیاری ۵۰ درصد 50 percent irrigation	447.42 ^b	1661.5 ^b
براسینولید Brassinolide (mg.L ⁻¹)	0	430.93 ^c	2450.7 ^b
	0.1	488.04 ^b	3125.6 ^a
	0.5	538.33 ^a	3166.0 ^a

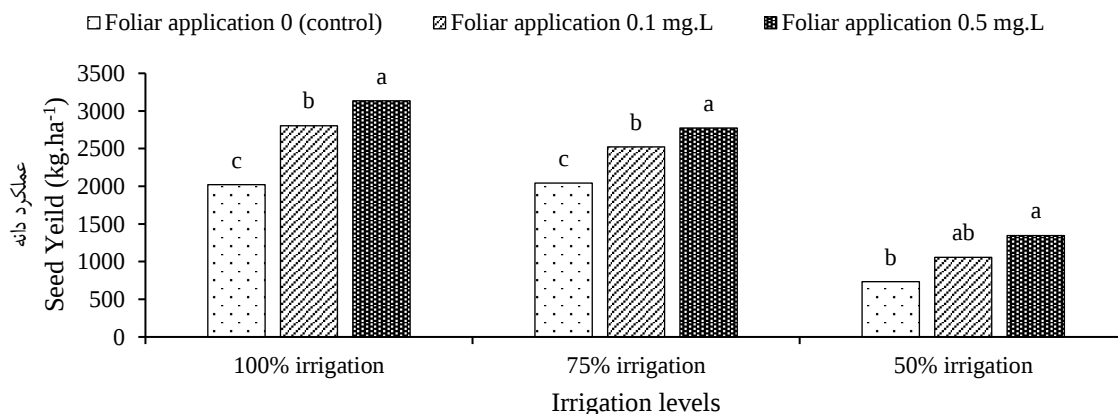
حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال خطا ۵ درصد اختلاف معنی داری با هم ندارند.
Similar letters in each column are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% error probability level.

عملکرد دانه

جدول تجزیه واریانس نشان داد برهمکنش دوگانه آبیاری × براسینولید در سطح احتمال ۵ درصد برای عملکرد دانه معنی دار شد (جدول ۵). داده های آزمایشی نشان دهنده کاهش عملکرد دانه با افزایش سطوح تنش خشکی می باشد؛ به طوری که تیمار تنش شدید کامل با کاهش ۶۱/۵۶ درصدی عملکرد دانه در مقایسه با آبیاری مطلوب همراه شد (شکل ۴). کاهش عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی می تواند به دلیل سقط و از بین رفتن فندقه و کاهش باروری گیاه در این مرحله از رشد باشد. کاهش عملکرد دانه می تواند مستقیماً در اثر بسته شدن روزنه ها و یا به طور غیرمستقیم در اثر افزایش آنزیم های تجزیه کننده پروتئین ها و کلروفیل ها باشد، که در نهایت باعث کاهش میزان فتوسنتز و به تبع آن کاهش مقدار مواد فتوسنتزی و در نهایت عملکرد دانه می گردد. عرب و همکاران (Arab *et al.*, 2023) گزارش کردند با افزایش تبخیر از تشتک تبخیر تا ۱۸۰ میلی متر، عملکرد دانه آفتابگردان به میزان ۳۷/۵ درصد کاهش یافت.

مقایسه میانگین ها مشخص نمود که با افزایش میزان براسینولید تا ۰/۵ میلی گرم بر لیتر با کاهش اثرات تنش خشکی، میزان عملکرد دانه بهبود یافت. در هریک از سطوح آبیاری بیشترین میزان عملکرد مربوط به بالاترین سطح براسینولید بود؛ به گونه ای که در مقایسه با تیمار عدم محلول پاشی موجب افزایش ۵۴/۴۰، ۳۵/۹۰ و ۸۳/۵۷ درصدی عملکرد دانه در سطوح آبیاری ۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد شد (شکل ۴). مصرف براسینولید با حفظ یا تقویت فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه در شرایط نرمال و تنش خشکی، موجب افزایش تولید مواد غذایی برای گل ها و بذرهای در حال رشد می شود. این امر به بهبود رشد و نمو بذر ها و در نتیجه افزایش عملکرد دانه منجر می گردد. افزایش عملکرد دانه تحت تأثیر براسینولید احتمالاً ناشی از بهبود جذب بیشتر

دی اکسیدکربن است که با افزایش تجمع رنگدانه‌های فتوسنتزی، به‌ویژه کلروفیل، و محتوای بالاتر پروتئین‌های محلول مرتبط است (Chen *et al.*, 2024). هم‌سو با این نتایج حامد و عبدالله (Hamed & Abdullah, 2022) نیز افزایش عملکرد دانه آفتابگردان را با کاربرد براسینولید گزارش کردند.



شکل ۴- مقایسه میانگین محلول‌پاشی براسینولید در هر سطح رژیم آبیاری برای عملکرد دانه در آفتابگردان. در هر سطح رژیم آبیاری حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری بین میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون LSD و رویه L.S.Means می‌باشد.

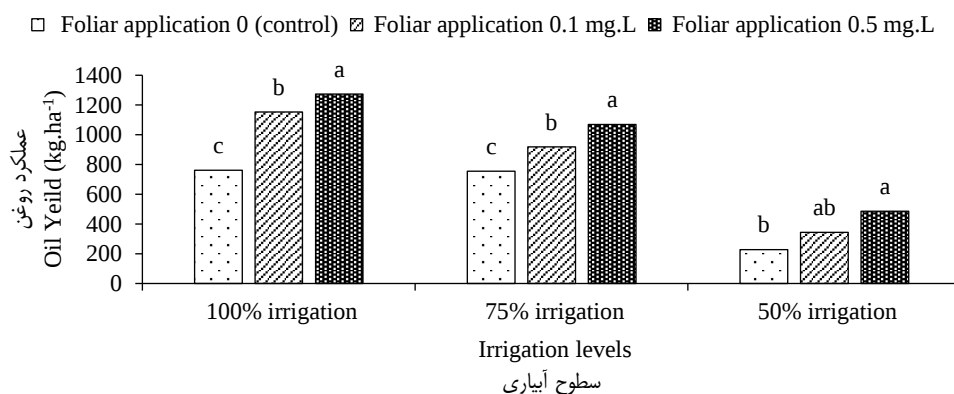
Figure 4- Mean comparison of the foliar application of brassinolide under irrigation regime levels for seed yield in sunflower. At each irrigation regime level, at least one common letter indicates no statistical difference between the means at the 5% probability level based on the LSD test and L.S.Means procedure

عملکرد روغن

بر اساس نتایج تجزیه واریانس برهمکنش آبیاری × براسینولید در سطح احتمال ۵ درصد بر عملکرد روغن معنی‌دار شد (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین آشکار نمود که عملکرد روغن متاثر از سطوح تنش خشکی به‌صورت معنی‌داری کاهش یافته است. تحت آبیاری ۵۰ درصد کم‌ترین میزان عملکرد روغن مشاهده شد که در مقایسه با تیمار آبیاری ۱۰۰ درصد با کاهش ۷۰/۰۱ درصدی مواجه بود (شکل ۵). تنش خشکی از عوامل اصلی کاهش عملکرد روغن در گیاهان روغنی است. این تنش به‌طور مستقیم باعث کاهش درصد روغن در دانه‌ها می‌شود، اما تأثیر عمده‌تر آن بر کاهش عملکرد دانه است. کاهش حجم دانه‌ها و محدودیت در تجمع مواد ذخیره‌ای مانند روغن، غالباً به‌واسطه افت فعالیت فتوسنتزی و اختلال در فرآیندهای متابولیکی مرتبط با پر شدن دانه‌ها و سنتز روغن در بافت‌های مخزن رخ می‌دهد. بنابراین، اگرچه کاهش درصد روغن در دانه‌ها تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد، اما کاهش عملکرد دانه و تولید بیومس، عامل اصلی کاهش میزان روغن تولیدی بوده است. مطابق با این نتایج رمضانی و همکاران نیز (Ramezani, Jafari & Keshavarz, 2018) از تأثیر منفی و معنی‌دار تنش خشکی بر عملکرد روغن دانه آفتابگردان گزارش کردند.

در هر یک از سطوح تیمار آبیاری، کاربرد محلول‌پاشی براسینولید با افزایش عملکرد روغن همراه بود. کاربرد سطح محلول‌پاشی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر براسینولید در سطوح آبیاری ۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد به‌ترتیب موجب افزایش ۶۷/۰۳، ۴۱/۴۹ و ۶۸/۶۶ درصدی عملکرد روغن در مقایسه با تیمار عدم محلول‌پاشی شد (شکل ۵). مصرف براسینولید تحت شرایط تنش خشکی می‌تواند با بهبود کارایی فتوسنتزی و کاهش آسیب‌های اکسیداتیو، عملکرد روغن را بهبود بخشد. همچنین براسینولید با بهبود راندمان جذب دی اکسیدکربن و افزایش تولید کلروفیل، به افزایش تجمع مواد فتوسنتزی و افزایش درصد روغن در دانه‌ها کمک می‌کند. با این حال، اثر اصلی براسینولید در بهبود عملکرد روغن، از طریق تحریک رشد و توسعه دانه‌ها، افزایش اندازه و وزن دانه و بهبود پر شدن دانه‌ها است که نهایتاً منجر به افزایش عملکرد کل دانه و در نتیجه افزایش تولید روغن می‌شود (Nasser & Sarhan, 2018).

(2023). وحدی و قلی‌نژاد (Vahdi & GHolinejad, 2015) گزارش کردند که تنش خشکی سبب کاهش عملکرد روغن دانه سویا (*Glycine max* L.) گردید. ایشان ابراز داشتند تنش خشکی باعث افزایش ضخامت پوست دانه و کاهش درصد مغز به کل دانه شد که برآیند آن‌ها کاهش درصد روغن بود.



شکل ۵- مقایسه میانگین محلول پاشی براسینولید در هر سطح رژیم آبیاری برای عملکرد روغن در آفتابگردان. در هر سطح رژیم آبیاری حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری بین میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون LSD و رویه L.S.Means می‌باشد.
Figure 5- Mean comparison of the foliar application of brassinolide under irrigation regime levels for oil yield in sunflower. At each irrigation regime level, at least one common letter indicates no statistical difference between the means at the 5% probability level based on the LSD test and L.S.Means procedure

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تنش خشکی به‌طور معنی‌داری بر تمامی صفات مورد مطالعه تأثیر منفی گذاشت. با این حال، کاربرد محلول پاشی براسینولید در سطوح مختلف تیمار آبیاری، تا حدودی توانست اثرات سوء تنش خشکی را کاهش دهد. این نتایج حاکی از آن است که تنش خشکی با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد، آسیب به غشای سلولی و ایجاد اختلال در تعادل هورمونی و فیزیولوژیکی گیاه، منجر به کاهش رشد رویشی و زایشی و در نهایت کاهش عملکرد می‌شود. اما کاربرد براسینولید می‌تواند به عنوان یک محرک رشد و افزایش‌دهنده تحمل به تنش خشکی برای آفتابگردان مورد استفاده قرار گیرد. براسینولید با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه، حفظ تعادل هورمونی و بهبود وضعیت آب و یون در گیاه، به افزایش تحمل گیاه به تنش خشکی کمک کرد. به‌گونه‌ای که کاهش خسارت وارد شده بر دستگاه فتوسنتزی با حفظ شاخص سطح برگ مطلوب در طی تنش خشکی منجر به بهبود تجمع مواد ذخیره‌ای و انتقال مناسب این مواد به طبق‌ها شده؛ در نتیجه افزایش عملکرد دانه و به‌دنبال آن عملکرد روغن را در پی داشته است. در این راستا با در نظر گرفتن محدودیت و کاهش سهولت دسترسی به منابع آبی، استفاده از این نوع محرک‌های رشد در کشاورزی پایدار می‌تواند بسیار مفید باشد. با توجه به نتایج این پژوهش، به نظر می‌رسد که محلول پاشی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر براسینولید تأثیر مثبتی در کاهش پیامدهای تنش خشکی بر عملکرد دانه و روغن آفتابگردان داشته است. با این حال، از آنجایی که این مطالعه در یک فصل زراعی انجام شده است، پیشنهاد می‌شود تحقیقات بیشتری در شرایط متنوع اقلیمی و با تکرارهای بیشتر انجام گیرد تا امکان ارائه یک توصیه مدیریتی قطعی فراهم شود.

سیاسگزاری

نویسندگان از خانم مهندس یاسمین کرمی، کارشناس محترم آزمایشگاه زراعت دانشگاه یاسوج برای پشتیبانی در اجرای آزمایشات و از معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه یاسوج به جهت تأمین اعتبار لازم برای انجام این طرح، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

فهرست منابع

- Abaszadeh, B., Fanaee, S., & Bakhshi, D. (2024). Foliar application of *Silybum marianum* L. Gaertn. with plant growth regulators under different soil moisture conditions. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 40(3), 562-580. (in Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2024.364529.3405>
- Abdel Latef, A. I., El-Bassiony, A. M., & Amer, W. A. (2016). Physiological responses of sunflower (*Helianthus annuus* L.) to drought stress and exogenous glycine betaine application. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38 (5), 1-14.
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Method of Enzymology*, 105: 121-126. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Ahmad, P., Rasool, S., Gul, A., Sheikh, S. A., & Akram, N. A. (2016). Drought stress-induced oxidative damage and antioxidant defense system in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Environmental Science and Pollution Research*, 23 (14), 14258-14270.
- Ansarifard, I., Mostafavi, K., Khosroshahli, M., Bihamta, M., & Ramshini, H. (2020). A study on genotype–environment interaction based on GGE biplot graphical method in sunflower genotypes (*Helianthus annuus* L.). *Food Science & Nutrition*, 8(7), 3327-3334. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1610>
- Arab, R., Yadavi, A., Balouchi, H., & Alahdadii, H. (2023). The effects of iron and zinc foliar application on nutrients absorption improvement, seed yield and water use efficiency of sunflower under drought stress conditions. *Journal of Crops Improvement*, 25(4), 977-993. (in Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22059/jci.2023.352118.2767>
- Balestrini, R., Chitarra, W., Antoniou, C., Ruocco, M., & Fotopoulos, V. (2018). Improvement of plant performance under water deficit with the employment of biological and chemical priming agents. *The Journal of Agricultural Science*, 156(5), 680-688. <https://doi.org/10.1017/S0021859618000126>
- Bartwal, A., & Arora, S. (2020). Brassinosteroids: molecules with myriad roles. *Co-Evolution of Secondary Metabolites*, 869-895. https://doi.org/10.1007/978-3-319-96397-6_18
- Beauchamp, C., and Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and applicable to acryl amide gels. *Annual Review of Biochemistry*, 44, 276-287. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90370-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8)
- Bogati, K., & Walczak, M. (2022). The impact of drought stress on soil microbial community, enzyme activities and plants. *Agronomy*, 12(1), 189. <https://doi.org/10.3390/agronomy12010189>
- Chaghakaboodi, Z., Mousavi, S. H., & Kakaee, M. (2024). The effect of 24-epibrasinolide (24-EBL) on physiological and biochemical pathways of lettuce (*Lactuca Sativa* L.) under drought stress conditions. *Crop Biotechnology*, 14(1), 15-28. (in Persian with English abstract). <https://doi.org/10.30473/cb.2024.70956.1964>
- Chen, X., Hu, X., Jiang, J., & Wang, X. (2024). Functions and mechanisms of brassinosteroids in regulating crop agronomic traits. *Plant and Cell Physiology*, 65(10), 1568-1580. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcae044>
- Choudhury, F.K., & Khatun, M. (2022). Enhancing drought tolerance in mungbean (*Vigna radiata*) through brassinosteroid application: Effects on chlorophyll content and antioxidant activity. *Journal of Plant Physiology*, 272, 153-165.
- El-Beltagi, H. S., & El-Metwally, M. M. (2017). Alleviation of drought stress effects on sunflower (*Helianthus annuus* L.) by exogenous application of brassinosteroids. *Plant Growth Regulation*, 83 (2), 267-279.
- El-Beltagi, H. S., El-Sherif, A. M., & El-Metwally, M. M. (2019). Role of Brassinosteroids in Improving Yield and Oil Quality of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) under Salinity Stress. *Plant Growth Regulation*, 88 (2), 215-226.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. *Agricultural Water Management*, 96 (9), 1147-1153.
- Gao, S., Wang, Y., Yu, S., Huang, Y., Liu, H., Chen, W., & He, X. (2020). Effects of drought stress on growth, physiology and secondary metabolites of two Adonis species in Northeast China. *Scientia Horticulturae*, 259, 108-795. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108795>
- Gao, Y., Ma, X., Zhang, Z., Wang, X., & Wang, Y. (2024). Brassinolides signaling pathway: tandem response to plant hormones and regulation under various abiotic stresses. *Horticulture Advances*, 2(1), 27. <https://doi.org/10.1007/s44281-024-00050-7>
- García-López, J., Lorite, I. J., García-Ruiz, R., & Domínguez, J. (2014). Evaluation of three simulation approaches for assessing yield of rainfed sunflower in a Mediterranean environment for climate change impact modelling. *Climatic change*, 124(1), 147-162. <https://doi.org/10.1007/s10584-014-1067-6>
- Ghasemi, M., Jahanbin, S., Latifmanesh, H., Farajee, H., & Mirshekari, A. (2021). Effect of brassinolide foliar application on some physiological and agronomic characteristics of sunflower (*Helianthus annuus* L.) under drought stress

- conditions. *Journal of Crop Production*, 14(1), 31-48. (in Persian with English abstract). [https://doi: 10.22069/ejcp.2021.18084.2339](https://doi.org/10.22069/ejcp.2021.18084.2339)
- Ghassemi-Golezani, K., Ghassemi, S. & Zehtab-Salmasi, S. (2018). Changes in essential oil-content and composition of ajowan (*Carum copticum* L.) seeds in response to growth regulators under water stress. *Scientia Horticulturae*, 231, 219-226. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.12.011>
- Gholizadeh, A., Ghaffari, M., Payghamzadeh, K., & Kia, S. (2021). Study on Relationships between Yield and Other Agronomic Traits and Identification of the Superior Hybrid in Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Journal of Crop Breeding*, 13(37), 171-184. (in Persian with English abstract). <http://doi.org/10.52547/jcb.13.37.171>.
- Hafeez, M. B., Zahra, N., Zahra, K., Raza, A., Batool, A., Shaukat, K., & Khan, S. (2021). Brassinosteroids: Molecular and physiological responses in plant growth and abiotic stresses. *Plant Stress*, 2, 100029. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2021.100029>
- Hajiri, K., & Pazoki, A. (2023). Investigating the role of brassinolide in tolerance to lead toxicity on growth and physiological traits of pinto beans. *Journal of Crop Production*, 16(3), 17-32. (in Persian with English abstract). [https://doi: 10.22069/ejcp.2024.20577.2532](https://doi.org/10.22069/ejcp.2024.20577.2532)
- Hamed, M. A., & Abdullah, B. H. (2022). The Effect of Brassinolide on the Yield Components, Seed and Oil Yields of some Sunflower Cultivars. *Journal of Plant Production*, 13(6), 215-218. [https://doi: 10.21608/JPP.2022.245281](https://doi.org/10.21608/JPP.2022.245281)
- Hassan, A. M., & Mohamed, H. E. (2019). L-arginine pretreatment enhances drought resistance of sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants by increase in polyamines content. *Journal of Plant Growth Regulation*, 38(2), 600-605. <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9873-0>
- Hassanuzzaman, M., Nahar, K., Alam, M. M., Ahmad, S., & Fujita, M. (2015). Exogenous application of phytoprotectants in legumes against environmental stress. *Legumes under environmental stress: Yield, improvement and Adaptations*, 161- 197. <https://doi.org/10.1002/9781118917091.ch11>
- Hu, W., Lu, Z., Meng, F., Li, X., Cong, R., Ren, T., & Lu, J. (2020). The reduction in leaf area precedes that in photosynthesis under potassium deficiency: the importance of leaf anatomy. *New Phytologist*, 227(6), 1749-1763. <https://doi.org/10.1111/nph.16644>
- Huchzermeyer, B., Menghani, E., Khardia, P., & Shilu, A. (2022). Metabolic pathway of natural antioxidants, antioxidant enzymes and ROS providence. *Antioxidants*, 11(4), 761. <https://doi.org/10.3390/antiox11040761>
- Jaleh, D. (2017). Metabolic adjustments, assimilate partitioning, and alterations in source-sink relations in drought-stressed plants. *Photoassimilate Distribution Plants and Crops Source-Sink Relationships*, 407-420.
- Johnson, C.M., & Ulrich, A. (1959). Analytical methods for use in plant analysis. *California Agricultural Experiment Station, Bulletin*, 766: 52-78.
- karami borzabad, r., Peykarestan, b., & Baghbani- Arani, A. (2022). The effect of stopping irrigation and using superabsorbent on the morphological, quantitative and qualitative characteristics of sunflower grains. *Journal of Plant Ecophysiology*, 47(13), 32-44.
- Köppen, W. (1936). Das geographische System der Klimate. In: Köppen, W., Geiger, R. (eds) *Handbuch der Klimatologie*, Vol. 1, Part C. Gebrüder Borntraeger, Berlin.
- Kumar, A., Singh, S., & Sharma, R. K. (2020). Effect of Brassinolide on Growth, Chlorophyll Content, and Yield of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) under Different Environmental Conditions. *Journal of Plant Growth Regulation*, 39 (4), 1234-1245.
- Kumar, A., Singh, S., & Sharma, R. K. (2021). Enhancing Sunflower Seed and Oil Yield through Brassinolide Application under Different Soil Moisture Regimes. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 23(4), 897-912.
- Liu, H., Song, S., Zhang, H., Li, Y., Niu, L., Zhang, J., & Wang, W. (2022). Signaling transduction of ABA, ROS, and Ca²⁺ in plant stomatal closure in response to drought. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(23), 14824. <https://doi.org/10.3390/ijms232314824>
- MacAdam, J.W., Nelson, C. J., & Sharp, R.E. (1992). Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue: I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. *Plant Physiology*, 99(3), 872-878. <https://doi.org/10.1104/pp.99.3.872>
- Motiei, M. M., Sirousmehr, A. P., Khammari, I., & Naderi, A. (2023). Investigation of the effect of different irrigation regimes on seed yield, antioxidant enzyme activity and some quantitative traits of sunflower cultivars. *Crop Physiology Journal*, 14(55): 5-20. (in Persian with English abstract).
- Nasser, S. E. D. M., & Sarhan, I. A. (2023, July). Effect of Spraying with Brassinolide on Yield and its Components of Sesame Cultivars. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 1213, No. 1, p. 012028). IOP Publishing. [https://doi: 10.1088/1755-1315/1213/1/012028](https://doi.org/10.1088/1755-1315/1213/1/012028)
- Omidi Nasab, D., Meskarbashee, M., & Rahnama Ghahfarokhi, A. (2024). The Effect of Deficit Irrigation on Grain Yield and Some Physiological Indicators of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Cultivars. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 22(1), 71-88. (in Persian with English abstract). [https://doi: 10.22067/jcsc.2023.83198.1258](https://doi.org/10.22067/jcsc.2023.83198.1258)

- Omidinasab, D., Meskarbashee, M., & Rahnama Ghahfarokhi, A. (2023). Effect of Deficit Irrigation on Grain Yield and Quality Characteristics of Oil content of Sunflower (*Helianthus annus* L.). *Iranian Journal of Field Crop Science*, 54(3), 97-108.
- Planas-Riverola, A., Gupta, A., Betegón-Putze, I., Bosch, N., Ibañes, M., & Caño-Delgado, A. I. (2019). Brassinosteroid signaling in plant development and adaptation to stress. *Development*, 146(5), dev151894. <https://doi.org/10.1242/dev.151894>
- Ramezani, A., Jafari, M., & Keshavarz, S. (2018). Impact of drought stress on sunflower oil content and quality. *Journal of Plant Physiology and Breeding*, 8 (3), 45-56.
- Ravi, V & Indira, P. (1999). Crop physiology of sweet potato. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 23, 277-338.
- Ritchie, S.W., & Nguyen, H.T. (1990). Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*, 30, 105-111. <https://doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183X003000010025x>
- Sheikh Mamo, B., Rahnama, A., & Hassibi, P. (2023). Evaluation of biochemical traits and seed yield of sunflower (*Helianthus annuss* L.) cultivars in response to terminal heat stress in Ahvaz, Iran. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 25(3), 275-293. (in Persian with English abstract).
- Sirohi, G., & Kapoor, M. (2020). Brassinosteroids in Lowering Abiotic Stressmediated Damages. *Protective chemical agents in the amelioration of plant abiotic stress: Biochemical and Molecular Perspectives*, 318- 326. <https://doi.org/10.1002/9781119552154.ch15>
- Talaat, N.B., & Shawky, B.T. (2016). Dual application of 24-epibrassinolide and spermine confers drought stress tolerance in maize (*Zea mays* L.) by modulating polyamine and protein metabolism. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35(2), 518-533. <https://doi.org/10.1007/s00344-015-9557-y>
- Tiwari, R. K., Lal, M. K., Kumar, R., Chourasia, K. N., Naga, K. C., Kumar, D., & Zinta, G. (2021). Mechanistic insights on melatonin-mediated drought stress mitigation in plants. *Physiologia Plantarum*, 172(2), 1212-1226. <https://doi.org/10.1111/ppl.13307>
- Vahdi, N., & GHolinejad, E. (2015). Evaluation of Drought Tolerance of Some Soybean Cultivars. *Journal of Water Research in Agriculture*, 29(1), 1-9. (in Persian with English abstract). <https://doi: 10.22092/jwra.2015.101321>
- Woodson, J. D. (2022). Control of chloroplast degradation and cell death in response to stress. *Trends in biochemical sciences*, 47(10), 851-864.
- Yaqoob, U., Jan, N., Raman, P. V., Siddique, K. H., & John, R. (2022). Crosstalk between brassinosteroid signaling, ROS signaling and phenylpropanoid pathway during abiotic stress in plants: Does it exist? *Plant Stress*, 4, 100075. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2022.100075>
- Yazdandoost Hamedani, M., Ghobadi, M., ghobadi, M. E., Jalali Honarmand, S., & saeidi, M. (2022). The Effect of Foliar Application of Some Chemical Compounds on Antioxidant Enzymes Activity and Chlorophyll Fluorescence of Sunflower in Different Irrigation Conditions. *Journal of Crops Improvement*, 24(1), 1-14. (in Persian with English abstract). <https://doi: 10.22059/jci.2021.307719.2432>
- Zhou, R., Yu, X., Ottosen, C.O., Rosenqvist, E., Zhao, L., Wang, Y., & Wu, Z. (2017). Drought stress had a predominant effect over heat stress on three tomato cultivars subjected to combined stress. *BMC Plant Biology*, 17, 24-33. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-0974-x>