

## Study the activity of antioxidant enzymes in the leaves of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes under normal and moisture stress conditions.

Shokoufeh Dastneshan<sup>1</sup>, Mohammad Reza Bihamta<sup>\*2</sup>, Alireza Abbasi<sup>3</sup> and Manijeh Sabokdast<sup>4</sup>  
1, 2, 3,4. Plant Breeding Department, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Iran

(Received: August 24, 2020 - Accepted: November 25, 2020)

### ABSTRACT

Abiotic stresses have major impacts on crop growth and yield. Investigation of biochemical properties and enzymatic activity of different plant genotypes under drought stress conditions can identify tolerant genotypes to abiotic stresses. In the present study, the effect of drought stress on the activity of antioxidant and biochemical enzymes at leaves of 10 bean genotypes at different water stress levels was investigated as a factorial experiment in a randomized complete block design with three replications in the research greenhouse of University of Tehran. Compared to normal moisture conditions, when drought stress increased, the total protein content decreased and Khomein genotype had the lowest total protein content among other genotypes at 25% of field capacity stress. The highest catalase activity was observed at COS-16 genotype (0.196 mg/min protein) at irrigation level of 75% of field capacity, ascorbate peroxidase (0.226 mg/min protein) at 50% of field capacity and guaiacol peroxidase at the irrigation level of 75% of the field capacity (0.293 mg/min protein). Increasing the activity of polyphenol oxidase enzyme and proline content in severe stress compared to normal moisture conditions showed that increasing the content of these two enzymes can be a reason for increasing plant tolerance to drought stress. COS-16 genotype had the highest polyphenol oxidase activity (0.183 mg/min protein) at 25% of field capacity. Also, increasing trend of malondialdehyde content in leaves was observed under severe stress. Based on the results, among the studied genotypes, COS-16 was identified as tolerant genotype and Khomein genotype was drought sensitive.

**Keywords:** Beans, drought stress, oxidative stress, tolerance, total protein.

### مطالعه فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی در برگ ژنوتیپ‌های لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) در شرایط نرمال و تنش رطوبتی

شکوفه دست نشان<sup>۱</sup>، محمدرضا بی همتا<sup>\*۲</sup>، علیرضا عباسی<sup>۳</sup> و منیژه سبکدست<sup>۴</sup>

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب کارشناس ارشد، استاد، دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی،

دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۶/۳ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۹/۵)

### چکیده

تنش‌های غیرزیستی تاثیر عمده‌ای بر رشد و عملکرد گیاهان زراعی دارند. بررسی خصوصیات بیوشیمیایی و فعالیت آنزیمی ژنوتیپ‌های مختلف گیاهی در شرایط تنش خشکی می‌تواند سبب شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به تنش‌های غیرزیستی شود. در مطالعه حاضر، اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی و بیوشیمیایی برگ ۱۰ ژنوتیپ لوبیا در سطوح مختلف تنش به صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار، در گلخانه پژوهشی دانشگاه تهران مورد بررسی قرار گرفت. با افزایش تنش خشکی نسبت به شرایط نرمال رطوبتی، میزان محتوای پروتئین کل کاهش یافت و ژنوتیپ خمین در تنش ۲۵ درصد ظرفیت زراعی در میان سایر ژنوتیپ‌ها، کمترین میزان پروتئین کل را به خود اختصاص داد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز، در ژنوتیپ COS-16 در سطح آبیاری ۷۵ درصد ظرفیت زراعی به میزان ۰/۱۹۶ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه، برای آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تنش ۵۰ درصد ظرفیت زراعی ۰/۲۲۶ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه و برای آنزیم گایاکول پراکسیداز در سطح آبیاری ۷۵ درصد ظرفیت زراعی ۰/۲۹۳ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه مشاهده شد. میزان فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز و محتوای پرولین در تنش شدید نسبت به شرایط نرمال رطوبتی افزایش نشان داد که زیاد شدن محتوای این دو آنزیم می‌تواند دلیلی بر افزایش تحمل گیاه به تنش خشکی باشد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز در تنش ۲۵ درصد ظرفیت زراعی، به ژنوتیپ COS-16 به میزان ۰/۱۸۳ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه تعلق داشت. همچنین روند افزایشی محتوای مالون دی‌آلدهید در برگ در تنش شدید مشاهده شد. بر اساس نتایج به دست آمده و در میان ژنوتیپ‌های مورد بررسی، ژنوتیپ COS-16 متحمل و ژنوتیپ خمین، حساس به تنش خشکی تشخیص داده شدند.

**واژه‌های کلیدی:** پروتئین کل، تحمل، تنش اکسیداتیو، تنش خشکی، لوبیا

\* Corresponding author E-mail: mrghanad@ut.ac.ir

## مقدمه

رشد نیز نقش موثری دارد (Morales *et al.*, 2012). گیاهانی که سطوح بالاتری از پاداکسندها را دارند، مقاومت بیشتری به تنش اکسایشی نشان می‌دهند. دو آنزیم کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POX)، از مهم‌ترین پاداکسندهایی هستند که باعث شکستن هیدروژن پراکسید به آب و مولکول‌های اکسیژن می‌شوند (Vanai *et al.*, 2011). آسکوربات پراکسیداز (APX) با پاکسازی رادیکال‌های اکسیژن سمی، از آسیب رسیدن به غشای سلولی جلوگیری می‌نماید (Abdul Jaleel *et al.*, 2009). در گیاهان تحت تنش خشکی، پاداکسنده آسکوربات، با واکنش مستقیم با رادیکال سوپراکسید و دیگر گونه‌های فعال اکسیژن می‌تواند شدت آسیب رسیدن به گیاه را کاهش دهد (Israr & Sahi, 2006). نتایج محققان، حاکی از تاثیر تنش خشکی بر روی صفات بیوشیمیایی از جمله فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز می‌باشد (Rasti Sani *et al.*, 2018). پرولین، یک اسمولیت رایج در گیاهان است که در پاسخ به انواع مختلف استرس غیر زنده از جمله خشکی و شوری در انواع مختلف گیاه تجمع می‌کند (Parvaiz & Satyawati, 2008; Verbruggen & Hermans, 2008; Szabados & Savouré, 2010; Grigore *et al.*, 2011). پرولین در شرایط تنش خشکی، در حفظ پتانسیل اسمزی، حذف رادیکال‌های آزاد، حفاظت ماکرومولکول‌ها از دناتور شدن و تنظیم pH سلولی نقش دارد. همچنین پرولین برای گیاهان تحت تنش شدید، به عنوان منبع نیتروژن و کربن عمل می‌کند و تحمل گیاه در برابر تنش را افزایش می‌دهد (Amini *et al.*, 2015). در اثر پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع توسط گونه‌های فعال اکسیژن، مالون‌دی‌آلدهید تولید می‌شود. تغییرات در پراکسیداسیون چربی‌ها، به عنوان ملاکی برای میزان آسیب اکسایشی در موجودات زنده به شمار می‌آید. احتمالاً دلیل اصلی آسیب شدید به غشای سلولی، تولید رادیکال‌های سوپراکسید ( $O_2^-$ )، پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) و رادیکال هیدروکسیل (OH) باشد که در نهایت منجر به پراکسیداسیون چربی‌های غیراشباع غشای سلولی می‌شود. کاهش پایداری غشاء یاخته‌ای، میزان پراکسیداسیون چربی ناشی از گونه‌های

لوبیای معمولی (*Phaseolus vulgaris* L.)، یکی از مهم‌ترین گیاهان در جهان است و عموماً در نواحی خشک و نیمه‌خشک کشت می‌شود. حدود ۶۰ درصد زمین‌هایی که در دنیا زیر کشت لوبیا هستند، تحت تنش خشکی می‌باشند (Assefa *et al.*, 2015). بسیاری از ارقام لوبیا بر اساس میزان تولید محصول و تحمل به تنش‌های زنده و غیر زنده مانند خشکی، انتخاب و یا اصلاح شده‌اند (Ghanbari *et al.*, 2013). از آن‌جا که آب و مواد معدنی از طریق ریشه جذب گیاه می‌شوند، بنابراین ممکن است رشد و تکثیر گیاه تحت تاثیر خشکی قرار گیرد (Abd Allah *et al.*, 2010). تنش‌های غیرزنده، سبب تولید و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند؛ تولید این ترکیبات مانند رادیکال سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل در نتیجه تنش اکسیداتیو به وجود آمده، سبب پراکسیداسیون چربی‌ها، غیرفعال شدن آنزیم‌ها، آسیب به اسیدهای نوکلئیک و تخریب غشای سلولی می‌شود (Masood *et al.*, 2017).

محققین اظهار داشتند که تحت تنش خشکی، صفات بیوشیمیایی از جمله میزان پروتئین تغییرات معنی‌داری می‌یابد (Anjum *et al.*, 2011). گیاهان تحت تنش، اغلب برای مواجهه با گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده، سامانه آنتی‌کسیدانی دارند. سامانه‌های آنتی‌کسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی در گیاهان، سبب از بین بردن اکسیژن‌های فعال (ROS) به وجود آمده می‌شوند و آن‌ها را به حد مطلوب می‌رسانند. از سامانه‌های آنتی‌کسیدانی آنزیمی می‌توان به آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز اشاره کرد (Noctor *et al.*, 2014; Hasanuzzaman *et al.*, 2017). گایاکول پراکسیداز، گلیکوپروتئین‌هایی هستند که در قسمت‌های مختلفی از گیاه شامل سیتوسول، دیواره‌ی سلولی و واکوئل وجود دارند و از اکسیداسیون ترکیبات فنولی مانند گایاکول برای سمزدایی و تجزیه  $H_2O_2$  تولید شده استفاده می‌کنند. آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX)، علاوه بر فعالیت پاداکسندگی، در چوبی شدن دیواره یاخته‌ای و تنظیم

کشاورزی دانشگاه تهران مورد بررسی قرار گرفت. به منظور اعمال تنش خشکی، سطوح آبیاری ۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی (FC) انتخاب شد. در ابتدا گلدان‌های پلاستیکی مورد استفاده در این پژوهش، از مخلوط خاک از الک عبور داده شده، ماسه بادی و کود برگ در شرایط و با وزن کاملاً یکسان پر شدند. با استقرار کامل گیاهچه‌های لوبیا تا مرحله رشد شش برگی در گلدان‌های مربوطه، آبیاری تمامی گیاهچه‌ها به صورت یکسان صورت گرفت سپس تنش خشکی در سطوح گفته شده به مدت دو هفته اعمال شد و در نهایت پارامترهای مختلف، برای بررسی تاثیر سطوح مختلف تنش خشکی اعمال شده بر روی برگ ژنوتیپ‌های مورد مطالعه اندازه‌گیری شد.

فعال اکسیژن تولیدی را نشان می‌دهد (Patel & Hemantaranjan, 2012). بنابراین هدف از انجام این پژوهش، بررسی بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی در برگ ژنوتیپ‌های انتخاب شده گیاه لوبیا در سطوح مختلف تنش خشکی، به منظور شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل و حساس به تنش بود.

## مواد و روش‌ها

در این پژوهش، تاثیر سطوح مختلف تنش خشکی بر روی ۱۰ ژنوتیپ لوبیا دریافت شده از ایستگاه خمین (جدول ۱) به صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار، در گلخانه تحقیقاتی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده

جدول ۱- ژنوتیپ‌های لوبیا مورد استفاده شامل دو رقم و لاین‌های وارداتی از CIAT که با شماره‌های موجود در بانک بذر مشخص شده‌اند.

Table 1- Bean genotypes used included two cultivars and imported lines from CIAT marked with numbers in the seed bank.

Number	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Genotypes	Taylor	KS-10012	1164	COS-16	D81083	KS-31138	Khomein	AND-1007	KS-31112	KS-31167
Seed type	Pinto bean	Black bean	Pinto bean	Pinto bean	Red bean	Red bean	Pinto bean	Red bean	Red bean	Red bean

آنزیم‌هایی که میزان فعالیت آن سنجش شد، پلی فنول اکسیداز بود که برای محاسبه آن، از روش Kar & Mishra (1976) استفاده شد و میزان فعالیت این آنزیم در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.2 و مقایسه میانگین داده‌ها بر پایه آزمون توکی و در سطح احتمال آماری یک درصد صورت پذیرفت. همچنین به منظور رسم نمودارها از برنامه Excel استفاده شد.

## نتایج و بحث

با توجه به نتایج به دست آمده از جدول تجزیه واریانس (جدول ۲)، در میان ژنوتیپ‌ها و سطوح مختلف تنش، تفاوت بسیار معنی‌دار مشاهده شد. به عبارت دیگر، تفاوت بسیار معنی‌دار در ژنوتیپ‌ها نشان از آن است که حداقل یکی از ژنوتیپ‌های مورد بررسی با بقیه ژنوتیپ‌ها تفاوت بسیار معنی‌دار دارد. تفاوت بسیار

به منظور استخراج پروتئین کل، روش Bradford (1976) به کار رفت؛ در این روش، از بافر استخراج (تریس اسید کلریدریک با pH= ۷/۵) استفاده شد و از عصاره به دست آمده برای سنجش میزان پروتئین کل و همچنین میزان فعالیت آنزیمی استفاده شد. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز از روش آبی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد (Aebi, 1984). داده‌های فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به روش Jebara *et al.* (2005) و بر اساس میزان اکسید شدن آسکوربات در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین در طول موج ۲۹۰ نانومتر مشخص شد. برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در طول موج ۴۷۰ نانومتر و در دمای اتاق، از روش Chance & Maehly (1955) استفاده شد. فعالیت ویژه این آنزیم توسط  $H_2O_2$  تجزیه شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد. از دیگر

متفاوت عمل کرده‌اند. روند افزایشی نمودارها برای صفاتی همچون فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در تنش ملایم (۷۵ درصد ظرفیت زراعی) در ژنوتیپ متحمل، بسیار بیشتر از ژنوتیپ حساس مشاهده شد. اثر متقابل ژنوتیپ و تنش از بر فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، پروتئین، پلی فنول اکسیداز، مالون دی‌آلدئید، بسیار معنی‌دار، بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز، معنی‌دار و بر صفت پرولین غیرمعنی‌دار بود.

معنی‌دار در تنش، حاکی از آن است که در بین سطوح مختلف تنش مورد استفاده در سطح احتمال آماری یک درصد، حداقل یکی از تنش‌ها با بقیه متفاوت بوده‌است به عبارت دیگر و با وجود این تفاوت، می‌توان ژنوتیپ‌های متحمل و حساس به خشکی را شناسایی نمود و به نحوی آن‌ها را برای پژوهش‌های به‌نژادی غربال کرد. در ارتباط با اثر متقابل ژنوتیپ و تنش نیز که در اغلب متغیرها معنی‌دار بود، این‌گونه توجیه می‌شود که ژنوتیپ‌های مختلف در پاسخ به سطوح مختلف تنش،

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی در ژنوتیپ‌های لوبیا، تحت سطوح مختلف تنش خشکی.

Table 2. Analysis of variance of traits evaluated in bean genotypes under different levels of drought stress.

ANOVA	Df	Ascorbat peroxidase	Catalase	Protein	Guaiacol peroxidase	Polyphenol oxidase	Proline	Malon dialdehyde
Block	2	0.00012	0.0000106	0.000060	0.00084	0.000028	0.00032	0.000102
Genotype	9	0.0069**	0.0073**	0.0335**	0.0072**	**0.0082	0.00258**	0.01039**
Stress	3	0.0135**	0.011**	0.247**	0.0231**	**0.0071	0.0111**	0.0637**
Gen.*Str	27	0.0010**	0.00030**	0.0069**	0.00072*	**0.00027	0.000196	0.00084**
Exp. Error	78	0.000090	0.00010	0.00183	0.000396	0.000133	0.000136	0.000108
CV%		6.31	7.11	6.60	9.38	8.13	9.67	8.54

\*\* معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، \* معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد، CV: ضریب تغییرات.

CV: Coefficient of Variation, \*\* and \*: Significant at 1% and 5% of probability levels.

تنش شدید نسبت به شاهد (رطوبت نرمال) مشاهده شد، ولی برای صفاتی همچون مالون دی‌آلدئید، پرولین و فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز، افزایش میزان آن‌ها در تنش شدید نسبت به شاهد مشاهده شد.

با توجه به نتایج مقایسه میانگین سطوح مختلف تنش رطوبتی (جدول ۳)، با بررسی فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و محتوای پروتئین، کاهش میزان فعالیت این آنزیم‌ها در

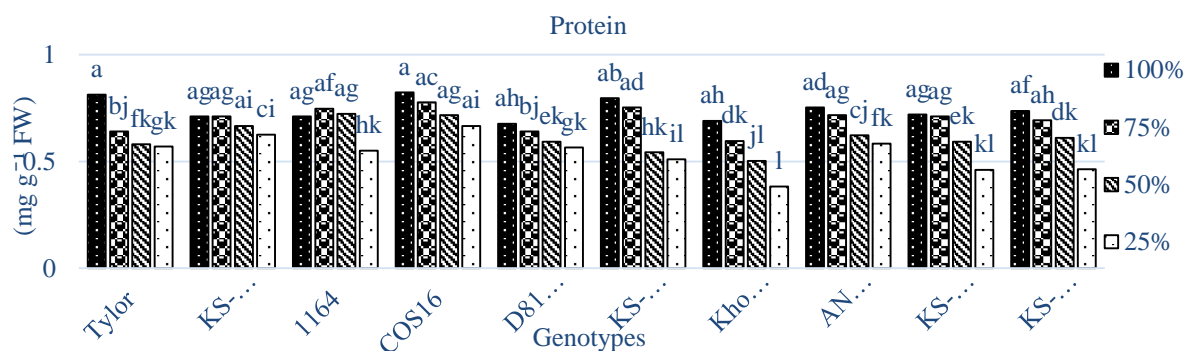
جدول ۳- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر صفات اندازه‌گیری شده در ژنوتیپ‌های مورد بررسی لوبیا در سطح احتمال یک درصد.

Table 3. Mean comparisons of the effects of different levels of drought stress on the measured traits in the studied genotypes of beans at 1% of probability level.

Malon dialdehyde	Proline	Polyphenol oxidase	Guaiacol peroxidase	Protein	Catalase	Ascorbat peroxidase	Stress
0.071d	0.096d	0.121c	0.200b	0.743a	0.137b	0.133c	100%FC
0.098c	0.115c	0.139b	0.236a	0.698b	0.166a	0.164b	75%FC
0.144b	0.128b	0.150a	0.232a	0.615c	0.143b	0.173a	50%FC
0.174a	0.142a	0.156a	0.178c	0.538d	0.119c	0.132c	25%FC
4.54	4.54	4.54	4.54	4.54	4.54	4.54	CV%

Taylor و COS-16 به ترتیب به میزان ۰/۸۱۳ و ۰/۸۲۳ میلی‌گرم بر گرم بافت تر برگ و کمترین آن به ژنوتیپ خمین در آبیاری ۲۵ درصد ظرفیت زراعی به میزان ۰/۳۸۳ میلی‌گرم بر گرم بافت تر برگ تعلق داشت. در نتایج پژوهشی، کاهش میزان پروتئین کل در برگ گیاه لوبیا در اثر افزایش میزان تنش گزارش شده است (Dastneshan & Sabokdast, 2020).

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و تنش رطوبتی بر محتوای پروتئین برگ نشان داد که با افزایش میزان شدت تنش خشکی نسبت به شاهد، از محتوای پروتئین کاسته شد (شکل ۱). کاهش سنتز پروتئین در گیاه می‌تواند یکی از علت‌های موجود برای کاهش محتوای پروتئین در تنش‌های شدید باشد. بیشترین میزان محتوای پروتئین در آبیاری شاهد، به ژنوتیپ‌های



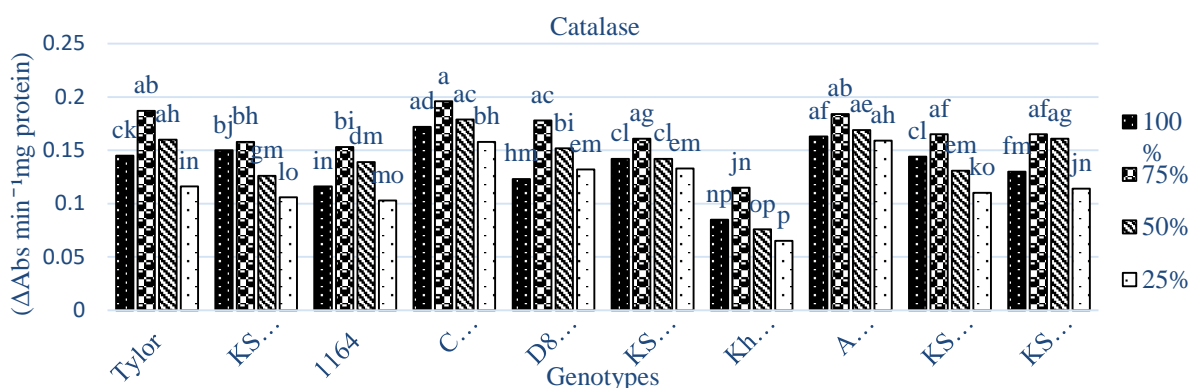
شکل ۱- محتوای پروتئین برگ در ۱۰ ژنوتیپ مورد مطالعه در سطوح مختلف تنش (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی). حروف متفاوت روی نمودار، نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.  
Figure 1. Leaf protein content in 10 studied genotypes at different stress levels (100%, 75%, 50% and 25% of field capacity). Different letters indicate significant difference based on Tukey test at 1% of probability level.

در تنش خشکی ۷۵ درصد ظرفیت زراعی مشابهت دارد (Abdelhamid *et al.*, 2013a; Sadeghipour, 2015) در گیاه لوبیا در شرایط تنش خشکی ۷۵ درصد ظرفیت زراعی، افزایش فعالیت و در شرایط تنش شدید ۲۵ درصد ظرفیت زراعی، کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز گزارش شده است (Mombeni & Abbasi, 2019) که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. بررسی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نشان داد که با افزایش میزان تنش خشکی (تنش نسبتاً ملایم ۷۵ درصد و تنش نسبتاً شدید ۵۰ درصد ظرفیت زراعی)، میزان فعالیت این آنزیم نسبت به شاهد در تمامی ژنوتیپ‌ها افزایش یافت، ولی با افزایش میزان تنش (تنش شدید ۲۵ درصد ظرفیت زراعی)، از میزان فعالیت این آنزیم کاهش یافت (شکل ۳). بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در ژنوتیپ‌های COS-16 به میزان ۰/۲۲۶ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه، D81083 به میزان ۰/۲۱ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه و AND-1007 به میزان ۰/۲ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه در تنش ۵۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد. در گیاهان، آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز در کلروپلاست، میتوکندری، پراکسی‌زوم و سیتوسول موجود است (Mittler *et al.*, 2004). مطابق نتایج محققان، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از جمله آسکوربات پراکسیداز در تنش خشکی نسبت به شاهد افزایش یافت (Pavlovic' *et al.*, 2014).

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و تنش رطوبتی برای فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که با افزایش میزان سطح تنش، فعالیت این آنزیم کاهش یافت (شکل ۲). بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به ژنوتیپ COS-16 در سطح آبیاری ۷۵ درصد ظرفیت زراعی به میزان ۰/۱۹۶ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه و کمترین آن به ژنوتیپ خمین در سطح آبیاری ۲۵ درصد ظرفیت زراعی به میزان ۰/۰۶۵ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه تعلق داشت. فعالیت متفاوت آنزیم‌های پاداکسنده در اثر تنش‌های محیطی در ژنوتیپ‌های مختلف گیاهان می‌تواند به رفتار ژنتیکی متفاوت گیاهان برای تحمل به تنش خشکی مربوط باشد (Sayfzadeh *et al.*, 2011). محققان گزارش کردند، که افزایش فعالیت کاتالاز برای کاهش اثرگذاری های پراکسیداز در هنگام تنش‌های محیطی در گیاهانی چون گندم، جو، سویا و نخود نقش مهمی داشته است (Kafi *et al.*, 2010). کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز می‌تواند به دلیل ممانعت از تولید آنزیم و یا تجزیه آنزیم به سبب پروتئازهای القا شده‌ی پراکسی‌زوم و یا غیر فعال شدن نوری آنزیم باشد (Abedi & Pakniate, 2010). در نتایج پژوهشی مشخص شد که وجود تنش، سبب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه نخود شد (Noreen & Ashraf, 2009). افزایش معنی‌دار میزان کاتالاز در نتایج پژوهشگران دیگر نیز گزارش شده است که با نتایج پژوهش حاضر

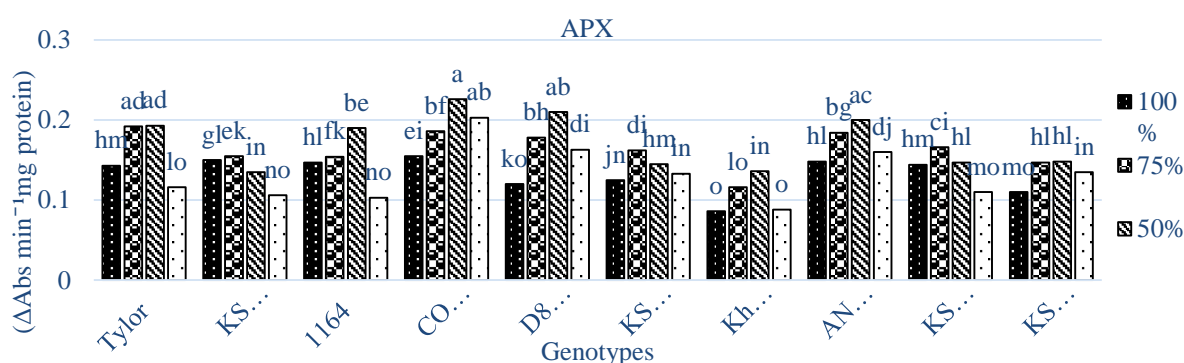
گزارش شده است (Terzi *et al.*, 2010; Saglam *et al.*, 2011; Mombeni & Abbasi, 2019)

پژوهش‌های متعددی، افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت شرایط تنش خشکی بر روی گیاه لوبیا



شکل ۲- فعالیت آنزیم کاتالاز در ۱۰ ژنوتیپ مورد مطالعه در سطوح مختلف تنش (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی). حروف متفاوت روی نمودار، نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

Figure 2. Catalase activity in 10 studied genotypes at different levels of (100%, 75%, 50% and 25% of field capacity). Different letters indicate significant difference based on Tukey test at 1% of probability level.

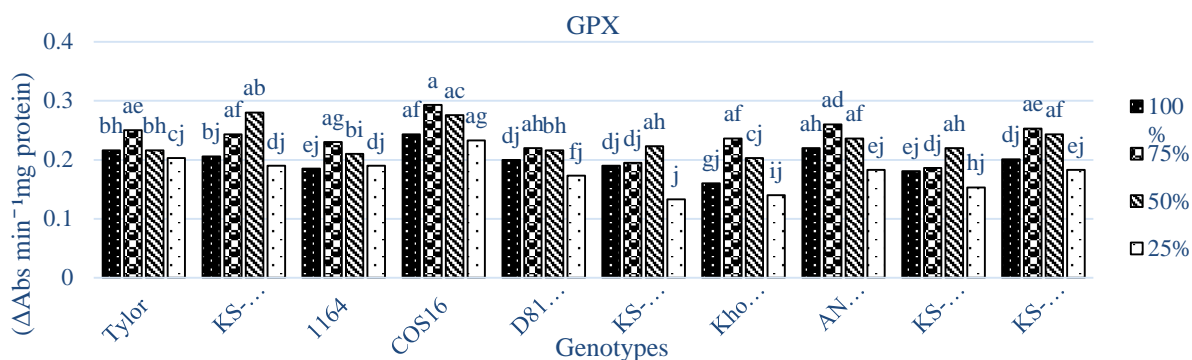


شکل ۳- فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ۱۰ ژنوتیپ مورد مطالعه در سطوح مختلف تنش (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی). حروف متفاوت روی نمودار، نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

Figure 3. APX activity in 10 studied genotypes at different levels of stress (100%, 75%, 50% and 25% of field capacity). Different letters indicate significant difference based on Tukey test at 1% of probability level.

به میزان ۰/۱۳۳ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه مشاهده شد. پژوهشگران متعددی، افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در شرایط تنش خشکی گزارش کرده‌اند (Gill & Tuteja, 2010; Rostami & Rahemi, 2013; Mombeni & Abbasi, 2019; محققین در بررسی‌های خود بر روی گیاهان ذرت و لوبیا دریافتند که بین افزایش میزان آنزیم پراکسیداز و مقاومت به تنش ارتباط نزدیکی وجود دارد (Yasar *et al.*, 2008; Askary *et al.*, 2013

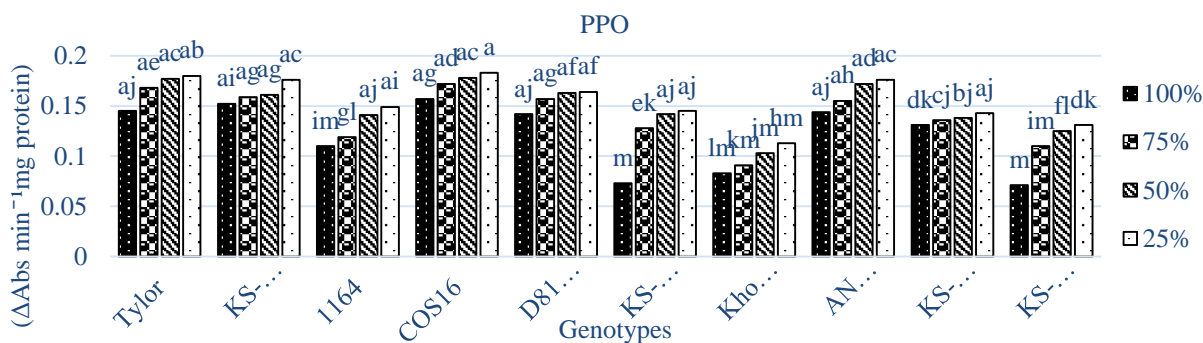
مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و تنش رطوبتی برای فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز نشان داد که در تمامی ژنوتیپ‌ها، میزان فعالیت این آنزیم در تنش ۷۵ درصد ظرفیت زراعی بیش از آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (شاهد) مشاهده شد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در ژنوتیپ COS-16 در تنش ۷۵ درصد ظرفیت زراعی به میزان ۰/۲۹۳ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بود و کمترین آن در ژنوتیپ‌های خمین ۰/۱۴ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه و KS-31138



شکل ۴- فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در ۱۰ ژنوتیپ مورد مطالعه در سطوح مختلف تنش (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی). حروف متفاوت روی نمودار، نشان دهنده تفاوت معنی دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال یک درصد می باشد.  
 Figure 4. GPX activity in 10 studied genotypes at different levels of stress (100%, 75%, 50% and 25% of field capacity). Different letters indicate significant difference based on Tukey test at 1% of probability level.

افزایش فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز را در گیاه لوبیا تحت تنش خشکی گزارش نمودند (Rasti Sani *et al.*, 2018) فعالیت آنزیم های پاداکسنده کاتالاز و پلی فنل اکسیداز در ریشه بادمجان تحت تیمار با محرک الیستور کیتوزان افزایش یافته است (Mandal, 2010). افزایش پلی فنول اکسیداز در گیاهان باقلا و لوبیا تحت تنش گزارش شد (Abdelhamid *et al.*, 2013b; Dawood *et al.*, 2014). افزایش فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان پلی فنول اکسیداز تحت تنش خشکی به افزایش ظرفیت دفاعی گیاه علیه خسارات اکسیداتیو کمک می کند (Anjum *et al.*, 2011).

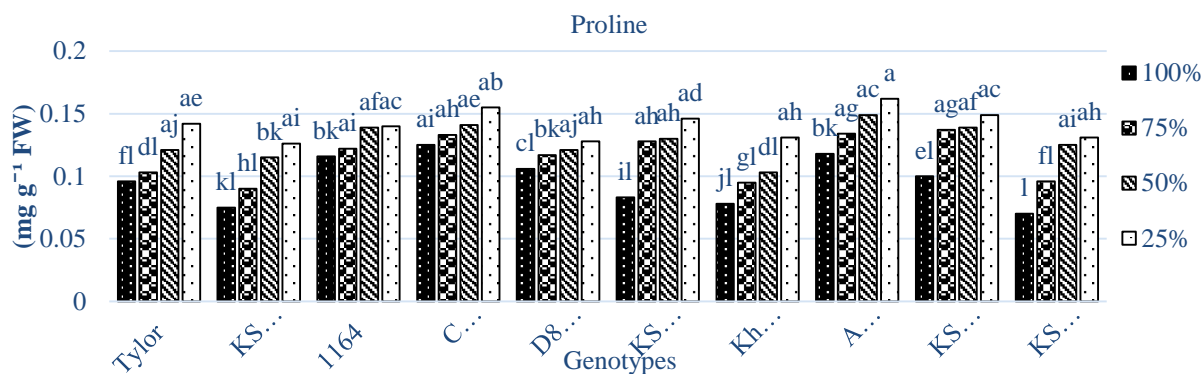
بررسی فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز حاکی از آن بود که با افزایش میزان تنش، به میزان فعالیت این آنزیم افزوده شد. بیشترین فعالیت این آنزیم در تنش ۲۵ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب در ژنوتیپ های COS-16، Tylor و AND-1007 به میزان ۰/۱۸۳، ۰/۱۸ و ۰/۱۷۶ میلی گرم پروتئین در دقیقه مشاهده شد (شکل ۵). با افزایش فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز تحت تاثیر تنش خشکی، تحمل گیاه افزایش می یابد که این افزایش فعالیت در ژنوتیپ های مختلف، متفاوت بود. ژنوتیپ COS-16 با داشتن بیشترین فعالیت این آنزیم در میان ۱۰ ژنوتیپ مورد مطالعه می تواند به عنوان ژنوتیپ متحمل به تنش خشکی شناسایی شود. محققان



شکل ۵- فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز ۱۰ ژنوتیپ مورد مطالعه در سطوح مختلف تنش (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی). حروف متفاوت روی نمودار، نشان دهنده تفاوت معنی دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال یک درصد می باشد.  
 Figure 5. PPO activity in 10 studied genotypes at different levels of stress (100%, 75%, 50% and 25% of field capacity). Different letters indicate significant difference based on Tukey test at 1% of probability level.

می‌شود (Ghorbanli, *et al.*, 2013; Liang *et al.*, 2013). افزایش پرولین در گیاه لوبیای تحت تنش خشکی در مقایسه با گیاهان کنترل گزارش شده است (Rasti Sani *et al.*, 2018). تجمع بیشتر پرولین در گیاه لوبیا تحت تنش خشکی می‌تواند نوعی سازگاری برای تحمل خشکی باشد که به نوبه خود به گیاه برای زنده ماندن و تکثیر در شرایط خشکی کمک خواهد کرد (Zadehbagheri *et al.*, 2012). محققان، افزایش میزان غلظت پرولین را در گیاهان لوبیا و باقلا تحت تنش در قسمت برگ و ریشه گزارش نمودند که نتایج تحقیق آن‌ها، همراستا با نتایج پژوهش حاضر می‌باشد (Abdelhamid, 2013a,b; Dawood *et al.*, 2014a, b; Semida *et al.*, 2014, 2015).

به دلیل غیرمعنی‌دار بودن اثر متقابل ژنوتیپ و تنش رطوبتی بر میزان پرولین (جدول ۱)، مقایسه میانگین اثرات متقابل برای میزان پرولین انجام نشد، اما روند تغییرات در شکل ۶، سیر صعودی میزان پرولین در شرایط تنش خشکی نسبت به شرایط نرمال رطوبتی را نشان می‌دهد و در تمامی ژنوتیپ‌ها، میزان پرولین در شرایط آبیاری ۲۵ درصد ظرفیت زراعی، هرچند غیرمعنی‌دار، اما بیش از میزان شاهد بود (شکل ۶). تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش به‌واسطه سنتز پرولین و غیر فعال شدن تخریب آن می‌باشد. افزایش محتوای پرولین در شرایط تنش، باعث محافظت غشای سلولی، پروتئین‌ها، آنزیم‌های سیتوپلاسمی و مهار گونه‌های فعال اکسیژن و حذف رادیکال‌های آزاد



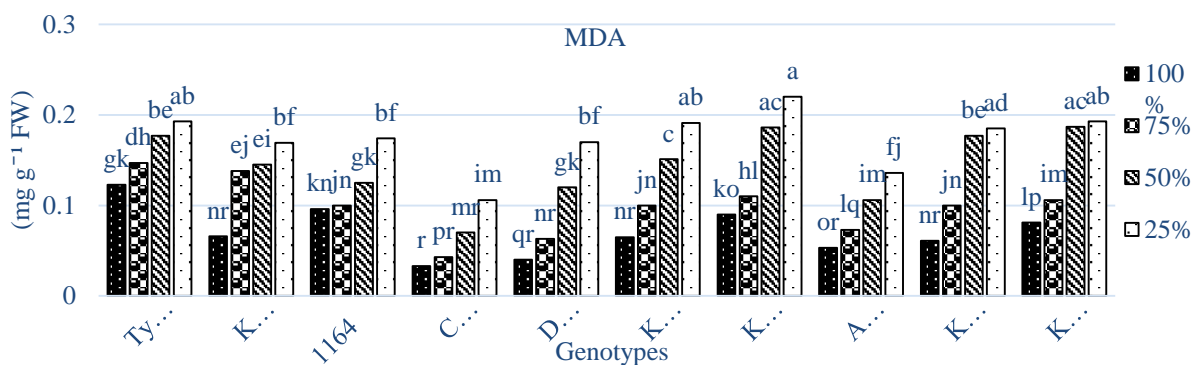
شکل ۶- محتوای پرولین در ۱۰ ژنوتیپ مورد مطالعه در سطوح مختلف تنش (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی). حروف متفاوت روی نمودار، نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

Figure 6. Proline content in 10 studied genotypes at different levels of stress (100%, 75%, 50% and 25% of field capacity). Different letters indicate significant difference based on Tukey test at 1% of probability level.

گزارش شده است (Yasar *et al.*, 2010; Svetleva *et al.*, 2012; Abdelhamid *et al.*, 2013). افزایش غلظت مالون دی‌آلدهید در برگ گیاه ذرت و باقلا را تحت شرایط تنش شوری گزارش نمودند (Gunes *et al.*, 2007; Talaat *et al.*, 2015). حداکثر افزایش محتوای مالون دی‌آلدهید در گیاه لوبیای تحت تنش خشکی ۲۵ درصد ظرفیت زراعی نسبت به گیاهان شاهد گزارش شده است (Mombeni & Abbasi, 2019).

بررسی میزان مالون دی‌آلدهید نشان داد که میزان مالون دی‌آلدهید در تنش خشکی افزایش یافت (شکل ۷)؛ این نتیجه در روند صعودی تمامی ژنوتیپ‌ها مشهود بود. بیشترین میزان مالون دی‌آلدهید در رقم خمین تحت شرایط آبیاری ۲۵ درصد ظرفیت زراعی به میزان ۰/۲۲ میلی گرم بر گرم بافت تر برگ و کمترین آن در ژنوتیپ COS-16 به میزان ۰/۰۳۳ میلی گرم بر گرم پروتئین برگ مشاهده شد. در گیاه لوبیا، افزایش میزان محتوای مالون دی‌آلدهید در نتایج محققان





شکل ۷- محتوای مالون دی آلدئید در ۱۰ ژنوتیپ مورد مطالعه در سطوح مختلف تنش (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی). حروف متفاوت روی نمودار، نشان دهنده تفاوت معنی دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال یک درصد می باشد. Figure 7- MDA content in 10 studied genotypes at different levels of (100%, 75%, 50% and 25% of field capacity). Different letters indicate significant difference based on Tukey test at 1% of probability level.

شدید، روند کاهش داشتند. همچنین برای صفات پرولین، مالون دی آلدئید و آنزیم پلی فنول اکسیداز تحت شرایط تنش شدید، روند افزایش فعالیت آنزیمها به خوبی مشاهده شد. با توجه به نتایج به دست آمده از بررسی تمامی ژنوتیپهای مورد مطالعه لوبیا در سطوح مختلف تنش رطوبتی، می توان ژنوتیپ COS-16 را به عنوان ژنوتیپ متحمل و رقم خمین را به عنوان ژنوتیپ حساس به تنش خشکی معرفی نمود.

### نتیجه گیری کلی

نتایج به دست آمده حاکی از تاثیر تنش خشکی بر صفات بیوشیمیایی و فعالیت آنزیمهای پاداکسندگی ژنوتیپهای لوبیا بودند؛ به نحوی که در شرایط تنش خشکی شدید، محتوای پروتئین کاهش نشان داد. فعالیت آنزیمهای پاداکسندگی شامل کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز تحت شرایط تنش ملایم، ابتدا روند صعودی و سپس در شرایط تنش

### REFERENCES

1. Abd Allah, A., Shima, A., Badawy, A., Zayed, B. A. & El Gohary, A. A. (2010). The role of root system traits in the drought tolerance of rice (*Oryza sativa* L.). *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 68, 1378-1382.
2. Abdelhamid, M. T., Rady, M., Osman, A. & Abdalla, M. (2013a) Exogenous application of proline alleviates salt-induced oxidative stress in *Phaseolus vulgaris* L. plants. *Journal of Horticulture Science Biotechnology*, 88(4), 439-446.
3. Abdelhamid, M. T., Sadak, M. S. H., Schmidhalter, U. & El-Saady, A. (2013b). Interactive effects of salinity stress and nicotinamide on physiological and biochemical parameters of faba bean plant. *Acta Biologica Colombiana*, 18(3), 499-510.
4. Abdul Jaleel, C., Riadh, K., Gopi, R., Manivannan, P., Ines, J., Al-Juburi, H. J., Chang-Xing, X., Hong-Bo, S. & Panneerselvam, R. (2009). Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31, 427-436.
5. Abedi, T. & Pakniat, H. (2010). Antioxidant Enzyme Changes in Response to Drought Stress in Ten Cultivars of Oilseed Rape (*Brassica napus* L.). *Czech Journal of Genet Plant Breed*, 46(1), 27-34.
6. Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
7. Amini, S., Ghobadi, C. & Yamchi, A. (2015). Proline accumulation and osmotic stress: an overview of P5CS gene in plants. *Journal of Plant Molecular Breeding*, 3(2), 44-55.
8. Anjum, S., Xie, X., Wang, L., Salem, M., Man, C. & Lei, W. (2011). Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6, 2026- 2032.
9. Askary, M., Maghsoudi Moud, A. A. & Saffari, V. R. (2013). Investigation of some physiological characteristics and grain yield of Corn (*Zea mays* L.) hybrids under salinity stress. *Journal of Crop Production and Processing*, 9(3), 93-103. (In Persian)
10. Assefa, T., Wu, J., Beebe, S. E., Rao, I. M., Marcomin, D. & Claude, R. J. (2015). Improving adaptation to drought stress in small red common bean: phenotypic differences and predicted genotypic effects on grain yield, yield components and harvest index. *Euphytica*, 203, 477-489.

11. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
12. Cardenas-Avila, M. L., Verde-Star, J., Maiti, R. K., Foroughbakhch-P, R., Gamez-Gonzalez, H., Martinez-Lozano, S., Nunez-Gonzalez, M. A., Garcia Diaz, G., Hernandez-Pinero, J. L. & Morales-Vallarta, M. R. (2006). Variability in accumulation of free proline on in vitro calli of four bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties exposed to salinity and induced moisture stress. *YTON*, 75, 103-108.
13. Chance, B. & Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidase. *Methods in Enzymology*, 2, 764-775.
14. Dastneshan, S. & Sabokdast, M. (2020). Evaluation of tolerance rate of some genotypes of beans (*Phaseolus Vulgaris* L.) to salinity stress. *Journal of Crop Breeding*, 32(11), 184-194. (In Persian)
15. Dawood, M. G., Abdelhamid, M. T. & Schmidhalter, U. (2014a). Potassium fertiliser enhances the salt-tolerance of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Horticultural Science Biotechnology*, 89(2), 185-192.
16. Dawood, M. G., Taie, H. A. A., Nassar, R. M. A., Abdelhamid, M. T. & Schmidhalter, U. (2014b). The changes induced in the physiological, biochemical and anatomical structure of *Vicia faba* by the exogenous application of proline under seawater stress. *South African Journal of Botany*, 93, 54-63.
17. Ghanbari, A. A., Mousavi, S. H., Mousapour, Gorgi, A. & Rao, I. M. (2013). Effects of water stress on leaves and seeds of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Turkish Journal of Field Crops*, 181, 73-77.
18. Gill, S. S. & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 909-930.
19. Ghorbanli, M., Gafarabad, M., Amirkian, T. & Allahverdi Mamaghani, B. (2013). Investigation of proline, total protein, chlorophyll, ascorbate and dehydro ascorbate changes under drought stress in Akria and Mobil tomato cultivars. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 3 (2), 651 -658.
20. Grigore, M. N., Boscaiu, M. & Vicente, O. (2011) Assessment of the relevance of osmolyte biosynthesis for salt tolerance of halophytes under natural conditions. *Europe Journal of Plant Science Biotechnol*, 5, 12-19.
21. Gunes, A., Inal, A., Alpuslan, M., Fraslan, F., Guneri, E. & Cicek, N. (2007). Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize grown under salinity. *Journal of Plant Physiology*, 164, 728-736.
22. Hasanuzzaman, M., Nahar, K. & Anee, T. I. (2017). Fujita, M. Exogenous silicon attenuates cadmium-induced oxidative stress in *Brassica napus* L. by modulating AsA-GSH pathway and glyoxalase system. *Front Plant Science*, 8, 1061.
23. Israr, M. & Sahi, S. V. (2006). Ant oxidative responses to mercury in the cell cultures of *Sesbania drummondii*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 44, 590-595.
24. Jebara, S., Jebara, M. Limam, F. & Elarbi Aouani, M. (2005). Changes in ascorbate peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase and superoxide dismutase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) nodules under salt stress. *Plant Physiology*, 162, 929-936.
25. Kafi, M., Bagheri, A., Nabati, J., Zare Mehrjerdi, M. & Masoumi, A. (2010). Study of salinity stress effect on some physiological variables of 11 chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes in hydroponic environments. *Journal of Greenhouse Culture Science and Technology*, 4, 55-69. (In Persian)
26. Kar, M. & Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, 57, 315-319.
27. Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S. K. & Becker, D. F. (2013). Proline mechanisms of stress survival. *Antioxid Redox Signal*, 19 (9), 998-1011.
28. Mandal, S. (2010). Induction of phenolics, lignin and key defense enzymes in eggplant (*Solanum melongena* L.) roots in response to elicitors. *Journal of Biotechnology*, 9, 8038-8047.
29. Masood, S. A., Hasanuzzaman, M., Khan, M. I. R. & Anjum, N. A. (2017). Approaches in modulating proline metabolism in plants for salt and drought stress tolerance: Phytohormones, mineral nutrients and transgenic. *Plant Physiology and Biochemistry*, 115, 126-140.
30. Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. & Breusegem, F. V. (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Science*, 9, 490-498.
31. Mombeini, M. & Abbasi, A. (2019). Biochemical Responses of Some Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotypes to Drought Stress. *Journal of Agricultural Science Technology*, 21(2), 407-421.
32. Noctor, G., Mhamdi, A. & Foyer, C. H. (2014). The roles of reactive oxygen metabolism in drought: Not so cut and dried. *Plant Physiology*, 164, 1636-1648.
33. Noreen, Z. & Ashraf, M. (2009). Assessment of variation in antioxidative defense system in salt-treated pea (*Pisum sativum*) cultivars and its putative use as salinity tolerance markers. *Journal of Plant Physiology*, 166, 1764-1774.

34. Parvaiz, A.S. & Satyawati, S. (2008). Salt stress and phyto-biochemical responses of plants- A review. *Plant Soil Environ*, 54, 89–99.
35. Patel, P. K. & Hemantaranjan, A. (2012). Antioxidant defence system in chickpea (*Cicer arietinum* L.) influence by drought stress implement at pre- and post-anthesis stage. *American Journal of Plant Physiology*, 7(4), 164-173.
36. Pavlovic´, I., Ludwig-Mu`ller, J. & Salopek-Sondi, B. (2014). Hormonal profile and antioxidant defense system of *Brassica rapa* plants during drought and recovery period. *Plant Biology*, 6, 21–26.
37. Rasti Sani, M., Ganjeali, A., Lahouti, M. & Mousavi Kouhi, S. M. (2018). Morphological and physiological responses of two common bean cultivars to drought stress. *Journal of Plant Process and Function*, 6 (22), 37-45.
38. Rostami, A. A. & Rahemi, M. (2013). Screening drought tolerance in caprifig varieties in accordance to responses of antioxidant enzymes. *World Applied Sciences Journal*, 21(8), 1213-1219.
39. Sadeghipour, O. (2015). Magnetized water alleviates drought damages by reducing oxidative stress and proline accumulation in mung bean (*vigna radiata* L. wilczek). *Environ Pharmacology Life Science*, 4(8), 62-69.
40. Saglam, A., Saruhan, N., Terzi, R. & Kadioglu, A. (2011). The relations between antioxidant enzymes and chlorophyll fluorescence parameters in common bean cultivars differing in sensitivity to drought stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 58(1), 60-68.
41. Sayfzadeh, S., Habibi, D., Taleghani, D. F., Kashani, A., Vazan, S., Sadre Qaeni, S. H., Khodaei, A. H., Boojar, M. M. A. & Rashidi, M. (2011). Response of antioxidant enzyme activities and root yield in sugar beet to drought stress. *International Journal of Agriculture & Biology*, 1560-8530, ISSN Online, 1814-9596.
42. Semida, W. M., Taha, R. S., Abdelhamid, M. T. & Rady, M. M. (2014). Foliar-applied a-tocopherol enhances salt-tolerance in *Vicia faba* L. plants grown under saline conditions. *South African Journal of Botany*, 95, 24–31.
43. Semida, W. M., Rady, M. M., Abd El-Mageed, T. A., Howladar, S. M. & Abdelhamid, M. T. (2015). Alleviation of cadmium toxicity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants by the exogenous application of salicylic acid. *Journal of Horticultural Science Biotechnol*, 90(1), 83–91.
44. Svetleva, D., Krastev, V., Dimova, D., Mitrovska, Z., Miteva, D., Parvanova, P. & Chankova, S. (2012). Drought tolerance of Bulgarian common bean genotypes, characterized by some biochemical markers for oxidative stress. *Journal of Central European Agriculture*, 13(2), 349-361.
45. Szabados, L. & Saviouré, A. (2010). Proline: A multifunctional amino acid. *Trends Plant Science*, 15, 89–97.
46. Talaat, N. B., Ghoniem, A. E., Abdelhamid, M. T. & Shawky, B. T. (2015). Effective microorganisms improve growth performance, alter nutrients acquisition and induce compatible solutes accumulation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants subjected to salinity stress. *Plant Growth Regular*, 75(1), 281–295.
47. Terzi, R., Saglam, A., Kutlu, N., Nar, H. & Kadioglu, A. (2010). Impact of soil drought stress on photochemical efficiency of photosystem II and antioxidant enzyme activities of *Phaseolus vulgaris* cultivars. *Turkish Journal of Botany*, 34, 1-10.
48. Vanai, S., Siosemardeh, A. & Haidari, G. R. (2011). The effects of cold stress during seed germination and seedling antioxidant enzyme activities and some physiological traits in pea (*Cicer arietinum*). *Iranian Journal of Field Crops Research*, 9(3), 514-524.
49. Verbruggen, N. & Hermans, C. (2008). Proline accumulation in plants: A review. *Amino Acids*, 35, 753–759.
50. Yasar, F., Ellialtiogluand, S. & Yildiz, K. (2008). Effect of salt stress on antioxidant defense systems, lipid peroxidation and chlorophyll content in green bean. *Russian Journal Plant Physic*, 55(6), 782-786.
51. Yasar, F., Uzal, O. & Ozpay, T. (2010). Changes of the lipid peroxidation and chlorophyll amount of green bean genotypes under drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 5(19), 2705-2709.
52. Zadehbagheri, M., Kamelmanesh, M. M., Javanmardi, S. & Sharafzadeh, S. (2012). Effect of drought stress on yield and yield components, relative leaf water content, proline and potassium ion accumulation in different white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. *African Journal of Agricultural Research*, 7(4), 5661-5670.