



Effect of Brassinosteroid and Melatonin on Antioxidant Enzymes and Grain Yield of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Under Drought Stress Conditions

Neda Pakgohar¹ | Ali Akbar Maghsoudi Mood¹ | Hassan Farahbakhsh¹ | Amin Pasandipour¹

1. Department of Genetic and Plant Production, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

✉Corresponding Author: Hfarahbakhsh@uk.ac.ir

Keywords:

Drought stress, Foliar application, Growth regulator, Quinoa, Malondialdehyde.

Received:

18 August 2026

Revised:

27 August 2026

Accepted:

02 September 2026

Extended Abstract

Introduction

Feeding the ever-increasing global population under conditions of limited arable land and environmental degradation is one of the greatest challenges of the 21st century. Among abiotic stresses, drought is the most critical factor limiting crop productivity worldwide, causing yield losses of up to 50% and exacerbating food insecurity. Plants respond to drought by activating antioxidant defense systems, including enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and ascorbate peroxidase (APX), which help detoxify reactive oxygen species (ROS). However, severe drought increases lipid peroxidation and malondialdehyde (MDA) accumulation, leading to membrane damage and reduced photosynthetic capacity. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) has emerged as a resilient crop with exceptional nutritional value. Its high protein content, balanced amino acid profile, and rich micronutrient composition have led the FAO to recognize it as a “plant-based caviar.” Quinoa’s adaptability to harsh conditions makes it a promising candidate for food security in drought-prone regions. Recent studies have highlighted the role of growth regulators, such as brassinosteroids (BRs) and melatonin, in enhancing drought tolerance. Exogenous application of BRs enhances antioxidant activity, osmotic adjustment, and membrane stability, while melatonin acts as a direct ROS scavenger, boosting antioxidant defenses and photosynthetic efficiency. These strategies offer promising tools to enhance crop resilience under water-limited environments.

How to cite this article:

Pakgohar, N., Maghsoudi Mood, A.A., Farahbakhsh, H. & Pasandipour, A. (2026). Effect of Brassinosteroid and Melatonin on antioxidant enzymes and grain yield of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) under drought stress conditions. *Journal of Drought and Climate change Research (JDCR)*, 4(15), 267-286. [10.22077/jdcr.2025.9942.1163](https://doi.org/10.22077/jdcr.2025.9942.1163).



Materials and Methods

A field experiment was conducted during 2019–2021 at Shahid Bahonar University of Kerman, Iran (30°14'36" N, 57°07'13" E; 1774 m a.s.l.), using a split-plot design based on a randomized complete block with three replications. The main factor was irrigation at three levels (100, 75, and 50% of field capacity), while the sub-factor was nine foliar spray treatments: control, melatonin (0.5 and 1 μM), brassinosteroid (0.25 and 0.5 μM), and their various combinations. Soil samples (0–30 and 30–60 cm) were analyzed before sowing, and fertilization was applied according to soil test results (100 kg ha⁻¹ triple superphosphate and 150 kg ha⁻¹ urea in three splits). Weed control was performed with trifluralin (2 L ha⁻¹). Quinoa cultivar *Titicaca* was sown in early August in 3-m plots with 40-cm row spacing, later thinned to 7.5 cm plant spacing (≈ 33 plants m⁻²). Irrigation was furrow-based, with 6440 m³ ha⁻¹ applied for the 100% field capacity treatment, calculated using gravimetric and TDR methods. Foliar sprays were applied twice: at panicle initiation and grain filling, early in the morning. Stress treatments were imposed after the first foliar spray. Physiological measurements included lipid peroxidation (MDA content, Buege & Aust, 1978) and antioxidant enzyme activities: catalase (CAT), peroxidase (POD), and polyphenol oxidase (PPO), using spectrophotometric methods. Protein content was determined via the Bradford assay. Yield was estimated by harvesting the central rows, measuring biomass, and grain weight. Data were statistically analyzed using SAS 9.1 with ANOVA and Duncan's test at the 5% significance level.

Results and Discussion

ANOVA revealed significant main effects of drought, foliar spraying, and their interaction on leaf malondialdehyde (MDA), soluble protein, catalase (CAT), peroxidase (POD), and yield, whereas polyphenol oxidase (PPO) was significantly affected only by drought. MDA increased with drought severity, peaking under no-spray $\times$ 50% FC, at 52.36% compared with no-spray $\times$ 100% FC. Foliar sprays at 75% and 50% FC significantly reduced MDA relative to unsprayed plots. Soluble protein declined with increasing drought; the minimum occurred under no-spray $\times$ 50% FC, 22% lower than no-spray $\times$ 100% FC, while melatonin and/or brassinosteroid (BR) mitigated losses. CAT activity was highest with melatonin 0.5 μM + BR 0.5 μM at 75% FC, not different from melatonin 1 μM + BR 0.5 μM or melatonin 0.5 μM + BR 0.25 μM ; the lowest CAT occurred in no-spray $\times$ 50% FC. POD activity was significantly enhanced by foliar melatonin 0.5 μM + BR 0.5 μM at 75% and 50% FC (modest increases), indicating strengthened antioxidant capacity. PPO increased with drought ($\approx 25\%$ at 50% vs 100% FC); numerical increases under some foliar treatments (e.g., melatonin 1 μM $\times$ BR 0.5 μM , melatonin 1 μM) were not consistently significant. Yield exhibited significant effects of drought, foliar spraying, drought $\times$ spray, and year $\times$ drought. The highest yields occurred at 100% FC; the lowest at 50% FC (year 2). Under 75% FC, melatonin 1 μM $\times$ BR 0.5 μM increased yield by 8.50% over no-spray; under 50% FC, by 64.97%, comparable to melatonin 0.5 μM $\times$ BR 0.5 μM . These findings align with the literature that drought elevates ROS and MDA, while BRs and melatonin enhance antioxidant defenses and yield.

Conclusion

Overall, reduced irrigation increased malondialdehyde and antioxidant enzyme activity (CAT, POD, PPO) while decreasing leaf protein and grain yield, indicating that quinoa's intrinsic defenses were insufficient under severe drought. However, exogenous melatonin and brassinosteroids improved physiological responses and mitigated yield losses, particularly under moderate stress. Notably, a 0.5 μM brassinosteroid treatment at 75% field capacity yielded only 3.73% less than the well-watered control. Thus, these regulators represent effective strategies to enhance drought resilience in quinoa.



اثر براسینواسستروئید و ملاتونین بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و عملکرد دانه گیاه کینوا (*Chenopodium quinoa Willd*) در شرایط تنش خشکی

ندا پاک‌گوهر^۱ | علی اکبر مقصودی مود^۱ | حسن فرح‌بخش^۱ | امین پسندی‌پور^۱

۱- گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

نویسنده مسئول: Hfarahbakhsh@uk.ac.ir

چکیده

به منظور بررسی اثر محلول‌پاشی برون‌زای براسینواسستروئید و ملاتونین بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و عملکرد دانه کینوا رقم تیتیکاکا تحت تنش خشکی، آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار طی سال‌های ۱۳۹۸-۱۳۹۹ و ۱۴۰۰-۱۳۹۹ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان اجرا شد. تیمارها شامل سه سطح آبیاری (۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و نه سطح محلول‌پاشی بودند. نتایج نشان داد تنش خشکی، محلول‌پاشی و اثر متقابل آن‌ها بر صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه اثر معنی‌دار داشتند. با افزایش شدت خشکی، غلظت مالون‌دی‌آلدهید و فعالیت پلی‌فنل‌اکسیداز افزایش و محتوای پروتئین برگ کاهش یافت. بیشترین MDA در آبیاری ۵۰٪ و بدون محلول‌پاشی ($1/743 \mu\text{Mg}^{-1}\text{fw}$) مشاهده شد، درحالی‌که محلول‌پاشی در سطوح ۵۰ و ۷۵٪ موجب کاهش آن گردید. بیشترین فعالیت کاتالاز در تیمار ترکیبی ملاتونین و براسینواسستروئید با آبیاری ۷۵٪ ثبت شد، درحالی‌که کمترین آن در ۵۰٪ و بدون محلول‌پاشی بود. همچنین محلول‌پاشی ترکیبی سبب افزایش پراکسیداز (تا حدود ۰/۸۳ درصد) شد. عملکرد دانه در آبیاری ۱۰۰٪ بیشترین ($303/4 \text{ g m}^{-2}$) و در ۵۰٪ کمترین ($201/3 \text{ g m}^{-2}$) مقدار را داشت. استفاده از ترکیب ملاتونین و براسینواسستروئید، به‌ویژه در سطوح ۷۵ و ۵۰٪، عملکرد را تا ۶۵٪ نسبت به شاهد مربوطه افزایش داد و غلظت بالاتر در تنش شدید اثربخشی بیشتری داشت. در نهایت، تیمار ۵/۰ میکرومولار براسینواسستروئید در تنش ملایم به‌عنوان گزینه مناسب توصیه می‌شود، زیرا با وجود مصرف آب کمتر، عملکردی نزدیک به شرایط نرمال آبیاری فراهم نمود.

واژه‌های کلیدی:

تنش خشکی،
تنظیم‌کننده رشد،
کینوا، مالون‌دی
آلدهید، محلول‌پاشی.

تاریخ دریافت:

۱۴۰۴/۰۵/۲۷

تاریخ بازنگری:

۱۴۰۴/۰۶/۰۵

تاریخ پذیرش:

۱۴۰۴/۰۶/۱۱

مقدمه

رشد سریع جمعیت جهان، محدودیت اراضی قابل کشت و تخریب منابع طبیعی از چالش‌های اساسی در تأمین امنیت غذایی محسوب می‌شوند (Gupta, 2019). در چنین شرایطی تنش‌های زنده و غیرزنده، به‌ویژه وقوع هم‌زمان و غیر قابل پیش‌بینی آن‌ها، می‌توانند اثرات مخربی بر رشد و عملکرد محصولات کشاورزی داشته باشند (He et al., 2018).

در میان این عوامل، خشکی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین محدودکننده‌های کمی و کیفی تولیدات گیاهی شناخته می‌شود (Zhang et al., 2018) و پیامدهای آن نه تنها جنبه‌های فیزیولوژیکی بلکه ابعاد اقتصادی و اجتماعی را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد. کاهش عملکرد ناشی از خشکسالی می‌تواند منجر به افزایش قیمت مواد غذایی و تشدید ناامنی غذایی، به‌ویژه در جوامع وابسته به کشاورزی شود. برآوردها حاکی از آن است که خشکسالی در برخی محصولات می‌تواند عملکرد را تا ۵۰٪ کاهش دهد (Kafi & Damghani, 2000).

گیاهان برای مقابله با خشکی، سامانه‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی را فعال می‌کنند که شامل آنزیم‌هایی همچون سوپراکسید دیسموتاز^۱ (SOD)، کاتالاز^۲ (CAT) و آسکوربات پراکسیداز^۳ (APX) است (Shaffique et al., 2024). این آنزیم‌ها با خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن^۴ (ROS) مانع از آسیب اکسیداتیو به غشاهای سلولی می‌شوند. شاخص اصلی این آسیب، مالون‌دی‌آلدئید (MDA) است که در اثر پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی ایجاد می‌شود (Antonioni et al., 2017).

مطالعات نشان داده‌اند که افزایش شدت خشکی منجر به کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش سطح MDA می‌شود (Rezayian et al., 2020; Bai et al., 2006). این تغییرات باعث تجمع H₂O₂، تخریب ساختارهای فتوسنتزی و کاهش پایداری غشا شده و در نهایت افت

عملکرد محصول را به دنبال دارد. در پاسخ به نیاز جهانی برای محصولات مقاوم و مغذی، سازمان ملل متحد سال ۲۰۱۳ را به‌عنوان «سال بین‌المللی کینوا» معرفی کرد (Sepahvand & Najafian, 2015).

کینوا (*Chenopodium quinoa*) گیاهی است از خانواده Amaranthaceae و به دلیل مقاومت بالا در شرایط محیطی سخت و ارزش غذایی ممتاز، در بسیاری از نقاط جهان کشت می‌شود (Sánchez et al., 1998).

این گیاه با دارابودن پروتئین بالا (۱۳/۸۱ تا ۲۱/۹٪)، تعادل مناسب اسیدهای آمینه ضروری مانند لیزین، و مقادیر قابل توجه ریزمغذی‌ها و ویتامین‌ها، از محدود غلاتی است که می‌تواند به طور مؤثر در رفع سوءتغذیه نقش آفرین باشد (Bhargava et al., 2007).

سازمان خواربار جهانی (FAO) از کینوا به‌عنوان «خاویار گیاهی» یاد می‌کند (Lilian, 2009). یکی از راهبردهای مؤثر برای بهبود مقاومت گیاهان در برابر خشکی، استفاده از هورمون‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی است.

براسینواستروئیدها (BRs) و ملاتونین، دو تنظیم‌کننده کلیدی رشد هستند که اثرات مهمی بر پاسخ‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان دارند (Shojaei Baghini & Naghi Zadeh, 2024).

براسینواستروئیدها، به‌ویژه ۲۴-اپی‌براسینولید، توانسته‌اند از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، بهبود تعادل هورمونی و حفظ اسمزی سلول، اثرات منفی خشکی را کاهش دهند (Khamsuk et al., 2018; Behnamnia et al., 2009; Hafeez et al., 2021). این هورمون‌ها همچنین باعث کاهش نشت یونی، افزایش پرولین و پروتئین، و بهبود رشد کلی گیاه تحت تنش شده‌اند (Tang et al., 2016; Nawaz et al., 2017).

تحقیقات نشان می‌دهد که ۲۴-اپی‌براسینولید می‌تواند سطح پراکسید هیدروژن را در ریشه‌ها ۱۵/۲۰ تا ۴۴/۴۴٪ و در برگ‌ها ۳۱/۶۳ تا ۵۹/۰۳٪ کاهش دهد و سطح MDA

³ Ascorbate Peroxidase⁴ Reactive Oxygen Species¹ Super Oxide Dismutase² Catalase

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه

آزمایش در سال‌های ۱۳۹۹ - ۱۳۹۸ و ۱۴۰۰ - ۱۳۹۹ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان با طول جغرافیایی ۷۵ درجه و ۷ دقیقه و ۱۳ ثانیه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۱۴ دقیقه و ۳۶ ثانیه شمالی و ارتفاع ۱۷۷۴ متر از سطح دریا به صورت کرت‌های خردشده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا گردید.

در این آزمایش، سه سطح آبیاری (۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) و نه سطح محلول‌پاشی (شاهد، ملاتونین ۰/۵ میکرومولار، ملاتونین یک میکرومولار، براسینواستروئید ۰/۲۵ میکرومولار، براسینواستروئید ۰/۵ میکرومولار و ترکیب ملاتونین ۰/۵ میکرومولار و براسینواستروئید ۰/۲۵ میکرومولار، ترکیب ملاتونین یک میکرومولار و براسینواستروئید ۰/۲۵ میکرومولار، ترکیب ملاتونین ۰/۵ میکرومولار و براسینواستروئید ۰/۵ میکرومولار و ترکیب ملاتونین یک میکرومولار و براسینواستروئید ۰/۵ میکرومولار) به ترتیب به عنوان عوامل اصلی و فرعی در نظر گرفته شدند.

در هر دو سال آزمایش، قبل از کاشت نمونه‌گیری از خاک در عمق‌های صفر تا ۳۰ سانتی‌متر و ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متر انجام و افزودن مواد غذایی به خاک بر اساس نتایج آزمون خاک (جدول ۱) انجام گردید.

کود فسفر از منبع سوپر فسفات تریپل و به میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار به صورت پایه و کود نیتروژن به میزان ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار از منبع اوره و در سه مرحله، به صورت پایه، در مرحله شش‌برگی و اواسط گلدهی در اختیار گیاه قرار داده شد.

میانگین هفتگی دمای حداقل و حداکثر طی مدت اجرای آزمایش در دو سال زراعی ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ در شکل ۱ نشان داده شده است.

را به طور متناسب پایین آورد که نشان‌دهنده کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب غشایی است (Zhou et al., 2024).

افزون بر این، افزایش محتوای اسمولیت‌ها مانند پرولین و پروتئین‌های محلول، در تنظیم اسمزی و حفاظت گیاه تحت خشکی نقش بسزایی دارند. همچنین، استفاده از براسینواستروئیدها در گیاهانی مانند کینوا و گندم باعث افزایش وزن خشک، شاخص برداشت و عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی شده است (Pereira-Netto, 2012).

ملاتونین به عنوان یک ایندول آمین با خواص آنتی‌اکسیدانی قوی، قادر است با خنثی‌سازی مستقیم ROS، پراکسیداسیون لیپیدی و سطح MDA را کاهش دهد (Ahmad et al., 2023; Himanshu et al., 2024).

این ترکیب علاوه بر بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کارایی فتوسنتز، مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با استرس را نیز تعدیل کرده و موجب حفظ یکپارچگی غشا و سلامت گیاه در شرایط خشکی می‌شود.

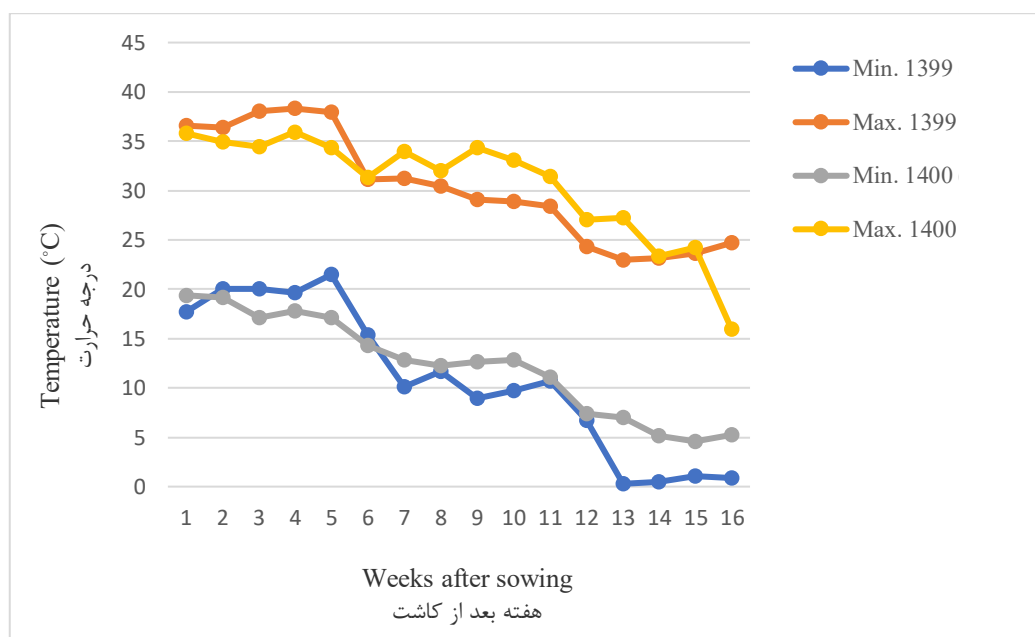
استفاده هم‌زمان یا جداگانه از براسینواستروئیدها و ملاتونین می‌تواند با فعال‌سازی سازوکارهای دفاعی گیاه، کاهش آسیب اکسیداتیو و بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیکی، نقش مهمی در افزایش تحمل خشکی و بهبود عملکرد محصولات کشاورزی ایفا کند.

با توجه به اهمیت روزافزون مدیریت تنش خشکی، بررسی جامع اثرات این ترکیبات در گیاهان راهبردی مانند کینوا می‌تواند افق‌های نوینی در کشاورزی پایدار نمایان سازد.

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش در سال‌های ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰

Table 1: Soil physical and chemical characteristics of experimental location in 2020 and 2021

Soil depth				Soil properties
Year 1400/2021		Year 1399/2020		
30-60	0-30	30-60	0-30	
Loam	Loam	Loam	Loam	Soil texture
0.07	0.06	0.055	0.05	Nitrogen (%)
8.30	7.44	8.00	7.05	Phosphorus (ppm)
320	310	295	290	Potassium (ppm)
2.2	2.5	2.1	2.3	EC (dS m-1)
7.65	7.5	7.5	7.4	pH
0.44	0.46	0.4	0.42	Organic matter (%)



شکل ۱. میانگین هفتگی دمای حداقل و حداکثر طی مدت اجرای آزمایش در دو سال زراعی ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰

Fig 1. Average weekly minimum and maximum temperatures during the experiment in the 2020 and 2021 years

و تراکم ۳۳ بوته در مترمربع حاصل شد. آبیاری به صورت جوی و پشته و با استفاده از لوله و کنتور حجمی صورت گرفت، به طوری که میزان آب مصرفی برای تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه، آبیاری نرمال ۶۴۴۰ مترمکعب در هکتار محاسبه گردید. پس از کاشت تا زمان سبز شدن و استقرار بوته‌ها، آبیاری به صورت کامل انجام شد. محلول پاشی در دو مرحله رشدی، یکبار در شروع خوشه دهی و یکبار در شروع دانه بندی و در دو نوبت در اوایل صبح و قبل از طلوع آفتاب با استفاده از سم پاش دستی انجام شد. تیمارهای تنش پس از اولین مرحله

کنترل علف‌های هرز با استفاده از علف کش ترفلان و به میزان دو لیتر در هکتار انجام شد. علف کش ذکر شده پس از کاربرد در محل مورد نظر به کمک دیسک با خاک مخلوط گردید.

بذور کینوا، رقم Titicaca، در اول مردادماه به صورت خطی و در کرت‌هایی به طول سه متر و فاصله ردیف ۴۰ سانتی‌متر کاشت و بلافاصله آبیاری شدند. در هر کرت فرعی، شش خط با تراکم بالا کشت و در مرحله سه تا چهاربرگی و جهت دستیابی به تراکم مورد نظر، با عملیات تنک فاصله بوته‌ها در روی ردیف به ۷/۵ سانتی‌متر تنظیم

یکبار در شروع خوشه‌دهی و یکبار در شروع دانه‌بندی و در دو نوبت در اوایل صبح و قبل از طلوع آفتاب با استفاده از سم‌پاش دستی انجام شد. تیمارهای تنش پس از اولین مرحله محلول‌پاشی اعمال شدند. برای سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، غلظت مالون دال‌دئید (MDA) و سایر آلدئیدها که محصولات اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع هستند، اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری غلظت مالون دی آلدئید به روش Buege and Aust (1978) انجام شد. طبق این روش ۰/۲ گرم از بافت تازه برگ، نمونه‌گیری شده در شروع گلدهی و انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه در ازت مایع، در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید^۲ (TCA) ۰/۱ درصد سائیده شد. عصاره حاصل با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه در $g \times 10000$ سانتریفیوژ شد. به یک میلی‌لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ، ۵ میلی‌لیتر محلول TCA ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد اسیدتیوباربیتوریک^۳ (TBA) بود، اضافه شد.

مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حمام آب‌گرم حرارت داده شد. سپس بلافاصله در حمام یخ سرد گردید و دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در $g \times 10000$ سانتریفیوژ گردید.

شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر (SHIMADZU-1800 ساخت ژاپن) در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. ماده مورد نظر برای جذب در این طول موج کمپلکس قرمز رنگ MDA-TBA است. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر شد. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل $10^{-5} \times 1/55$ معکوس مول در معکوس سانتی‌متر استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه گردید. برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها عصاره پروتئینی تهیه شد.

محلول‌پاشی اعمال شدند.

جهت اعمال تیمارهای آبیاری، ابتدا در مزرعه، کرتی به ابعاد یک متر در یک متر در نظر گرفته شد و خاک آن اشباع گردید. سپس سطح خاک برای جلوگیری از تبخیر سطحی با نایلون پوشانده شد.

در بازه‌های زمانی ۸ ساعت، از خاک نمونه‌برداری و رطوبت آن به روش وزنی تعیین شد. پس از تغییر اندک رطوبت بین دو بازه متوالی، رطوبت مربوطه به عنوان رطوبت ظرفیت زراعی محسوب گردید. هم‌زمان، با دستگاه بازتاب‌سنجی حوزه زمان^۱ (TDR) هم رطوبت تعیین گردید. طی زمان کاشت، با استفاده از دستگاه TDR رطوبت اندازه‌گیری و حجم آب مورد نیاز با استفاده از رابطه‌های ۱ و ۲ در هر آبیاری تعیین گردید. حجم آب مصرفی با استفاده از کنترلر آب کنترل شد.

$$H = \rho_b(\theta_{FC} - \theta_m)D \quad (1)$$

$$V = H \times A \quad (2)$$

در رابطه ۱ و ۲، H نشان‌دهنده ارتفاع آب داخل کرت، ρ_b جرم مخصوص ظاهری خاک، θ_{FC} رطوبت در حد ظرفیت زراعی، θ_m رطوبت جرمی کرت مورد نظر در زمان آبیاری، D عمق توسعه ریشه (از طریق ایجاد پروفیل خاک در محل آزمایش در شرایط نرمال آبیاری و بدون محلول‌پاشی، بررسی عمق نفوذ و اندازه‌گیری با خط کش و با دقت ۰/۱ سانتی‌متر در زمان آبیاری)، V حجم آب آبیاری در کرت و A مساحت کرت است.

آبیاری به صورت جوی و پشته و با استفاده از لوله و کنترلر حجمی صورت گرفت، به طوری که میزان آب مصرفی برای تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه، آبیاری نرمال ۶۴۴۰ مترمکعب در هکتار محاسبه گردید.

پس از کاشت تا زمان سبز شدن و استقرار بوته‌ها، آبیاری به صورت کامل انجام شد. محلول‌پاشی در دو مرحله رشدی،

³Thiobarbituric Acid

¹Time Domain Reflectometr

² Three Color Acetic Acid

بدین منظور ۰/۵ گرم از برگ تازه گیاه در ۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH=۷/۵) که حاوی پلی وینیل پیرولیدین (PVP) ۱ درصد، EDTA ۱ میلی مولار و PMSF ۱ میلی مولار بود سائیده شد. تمام مراحل استخراج در یخ انجام گرفت. سپس عصاره ها به مدت ۲۰ دقیقه در ۲۰۰۰۰g و در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شدند. از محلول شفاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه کاهش جذب H_2O_2 (کاهش مقدار H_2O_2) در ۲۴۰ نانومتر انجام شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH=۷) و پروکسید هیدروژن ۱۵ میلی مولار می باشد. با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به مخلوط ذکر شده، واکنش شروع می شود.

میزان H_2O_2 موجود در مخلوط واکنش پس از ۱ دقیقه با استفاده از ضریب خاموشی ($\epsilon = 40 \text{ mMol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) و فرمول $A = \epsilon bc$ محاسبه شد که نشان دهنده میزان فعالیت آنزیم کاتالاز می باشد. A معادل جذب خوانده شده، ϵ ضریب خاموشی، c غلظت H_2O_2 و b طول کوت (۱ سانتی متر) می باشد (Kar and Mishra, 1976).

فعالیت آنزیم به صورت واحد آنزیمی بر حسب مقدار پروتئین کل (میلی گرم) موجود در ۱۰۰ میکرولیتر عصاره (به دست آمده از روش برادفورد (Bradford, 1976))، در یک دقیقه محاسبه گردید. یک واحد آنزیمی کاتالاز مقدار آنزیمی است که ۱ میلی مول H_2O_2 را در یک دقیقه تجزیه می کند. سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از گایاکول و اندازه گیری میزان جذب تترایاکول تشکیل شده از گایاکول در نتیجه فعالیت پراکسیداز، در ۴۷۰ نانومتر انجام گرفت. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با pH=7، پروکسید هیدروژن (۳/۰٪) و گایاکول (۱٪) می باشد. واکنش با افزودن ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به مخلوط واکنش در ۲۵ درجه سانتی گراد آغاز

گردید. میزان جذب تترایاکول (حاصل از اکسید شدن گایاکول) در ۴۷۰ نانومتر در لحظه شروع واکنش پس از اضافه نمودن عصاره آنزیمی و پس از یک دقیقه خوانده شد. با استفاده از تغییرات جذب در یک دقیقه در ۴۷۰ نانومتر، ضریب خاموشی تترایاکول ($\epsilon = 25/5 \text{ mMol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) و فرمول $A = \epsilon bc$ ، مقدار تترایاکول تشکیل شده محاسبه شد (Kar and Mishra, 1976). فعالیت آنزیم بر حسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل (میلی گرم) موجود در ۲۰ میکرولیتر عصاره (به دست آمده از روش Bradford, 1976) گزارش شد.

برای سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز^۱ (PPO) مخلوط واکنش شامل بافرتریس ۰/۲ مولار با pH=7.6 و پیروگال ۰/۰۲ مولار بود. واکنش با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی شروع شد. در حضور آنزیم پلی فنل اکسیداز، پیروگال موجود در مخلوط واکنش، به پورپوروگالین تبدیل می شود. تغییر در جذب پیروگال در ۴۲۰ نانومتر، پس از ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نسبت به زمان شروع واکنش محاسبه شد. تغییرات جذب در مدت ۱ دقیقه محاسبه شد. سپس با استفاده از ضریب خاموشی پیروگالول ($\epsilon = 6.2 \text{ mMol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) و فرمول $A = \epsilon bc$ ، مقدار برجای مانده پیروگالول در مخلوط واکنش به دست آمد. یک واحد آنزیمی پلی فنل اکسیداز شامل مقدار پیروگالولی است که در مدت ۱ دقیقه به پورپوروگالین تبدیل می شود (Kar and Mishra, 1976).

فعالیت آنزیمی بر حسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل (میلی گرم) موجود در ۱۰۰ میکرولیتر عصاره به دست آمده از روش برادفورد (Bradford, 1976)، محاسبه گردید. برای سنجش غلظت پروتئین به روش برادفورد، به لوله های آزمایش حاوی ۱۰۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی، ۵ میلی لیتر معرف بیوره افزوده شد و سریعاً ورتکس گردید.

¹ Poly Phenol Oxidase

افزوده شد. بیشترین میزان مالون دی آلدئید از تیمار عدم محلول پاشی در سطح آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به دست آمد، به طوری که میزان مالون دی آلدئید در تیمار عدم محلول پاشی در سطح آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی افزایش ۵۲/۳۶ درصدی را نسبت به تیمار عدم محلول پاشی در سطح آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی را نشان داد.

نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش خشکی و محلول پاشی نشان داد که تیمارهای محلول پاشی در سطوح آبیاری ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی سبب کاهش معنی دار میزان مالون دی آلدئید نسبت به تیمار عدم محلول پاشی در این سطوح آبیاری گردیدند (شکل ۲).

تحقیقات نشان می دهد که با افزایش شدت تنش خشکی، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کاهش یافته و سطح مالون دی آلدئید افزایش می یابد. این وضعیت به تجمع H_2O_2 و افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی منجر می شود. پراکسیداسیون لیپیدها تخریب ساختارهای فتوسنتزی و تنفسی را تسریع کرده و کاهش محصولات کشاورزی را در پی دارد (Bai et al., 2016). افزایش مالون دی آلدئید و کاهش پایداری غشای سلول در گیاهانی مانند گندم، لوبیا، و Cowpea تحت تنش خشکی گزارش شده است.

براسینواستروئیدها (BRs) نقش مهمی در کاهش استرس اکسیداتیو در گیاهان ایفا می کنند که مستقیماً بر سطح مالون دی آلدئید تأثیر می گذارد. با کاهش سطح مالون دی آلدئید و بهبود تحمل به استرس، براسینواستروئیدها به گیاهان کمک می کنند تا رشد و عملکرد فیزیولوژیکی خود را در شرایط نامساعد حفظ کنند که منجر به افزایش عملکرد محصولات می شود. این نقش براسینواستروئیدها در کاهش استرس و بهبود عملکرد به خوبی مستند شده است و پتانسیل آن ها برای استفاده در کشاورزی پایدار را برجسته می کند (Vardhini et al., 2010). تأثیرات حفاظتی ملاتونین به توانایی آن در افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی مختلف، بهبود کارایی فتوسنتز و تنظیم

لوله های آزمایش حاوی ۱۰۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی، ۵ میلی لیتر معرف بیوره افزوده شد و سریعاً ورتکس گردید.

پس از ۲۵ دقیقه جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید.

برای تهیه معرف بیوره ۰/۱ گرم رنگ کو ماسی برلیانت بلو در ۵۰ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد به مدت یک ساعت حل گردید، سپس ۱۰۰ میلی لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصد قطره قطره به آن افزوده شد. در پایان حجم کل محلول به کمک آب مقطر به یک لیتر رسانده شد و محلول حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید.

به منظور رسم منحنی استاندارد مقدار ۱/۴ گرم پروتئین آلبومین گاوی در یک لیتر آب مقطر حل شد و از این محلول غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۷۰۰ میلی گرم بر لیتر آلبومین ساخته شد. کلیه مراحل کار بر روی آن ها توسط معرف، همانند نمونه های مجهول انجام گرفت و جذب نمونه ها در ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. منحنی جذب بر حسب غلظت رسم و معادله خط آن محاسبه گردید (Bradford, 1976).

جهت اندازه گیری عملکرد در واحد سطح پس از در نظر گرفتن حاشیه، کل گیاهان چهار ردیف میانی به طول دو متر برداشت شدند و وزن خشک کل بوته ها (بعد از خشک کردن در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد با استفاده از ترازو) به همراه وزن دانه ثبت شد. تجزیه واریانس مرکب با استفاده از نرم افزار SAS v. 9.1 و مقایسه میانگین ها به روش آزمون دانکن و در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس مرکب داده ها نشان داد اثرات تنش خشکی، محلول پاشی و اثر متقابل تنش خشکی و محلول پاشی بر میزان مالون دی آلدئید برگ گیاه کینوا معنی دار بودند (جدول ۲). روند تغییرات میزان مالون دی آلدئید نشان داد که با افزایش تنش خشکی بر میزان مالون دی آلدئید

مجله پژوهش های خشکسالی تغییر اقلیم

کاهش پروتئین‌های محلول می‌شود (Nayer and Reza, 2008). افزایش محتوای پروتئین از طریق کاربرد براسینوستروئید همچنین با بهبود جذب مواد مغذی و متابولیسم مرتبط بوده است.

در یک مطالعه روی گیاهان سویا، غلظت‌های خاصی از براسینوستروئیدها در زمان گل‌دهی به طور قابل توجهی وزن دانه‌ها و عملکرد کلی را افزایش داد که نشان‌دهنده ارتباط مستقیم بین تجمع پروتئین ناشی از براسینوستروئید و عملکرد بهتر محصول تحت تنش است (Kour et al., 2021). علاوه بر این، نشان داده شده است که براسینوستروئیدها پروتئین‌های کلیدی درگیر در متابولیسم نیتروژن را که برای سنتز پروتئین ضروری هستند، افزایش می‌دهند و از این طریق به افزایش محتوای پروتئین در محصولات رشدیافته در شرایط غیر بهینه کمک می‌کنند (Lou et al., 2024).

تأثیر ملاتونین بر محتوای پروتئین محلول تحت تنش خشکی در محصولات مختلف متفاوت است. در سویا، تیمار با ملاتونین در نهال‌های تحت تنش خشکی باعث افزایش غلظت پروتئین‌های محلول در مقایسه با شاهد شد (Cao et al., 2022).

مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با استرس نسبت داده می‌شود. ملاتونین به عنوان یک خنثی‌کننده مستقیم گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) عمل می‌کند و بنابراین استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش می‌دهد (Ahmad et al., 2023).

• پروتئین

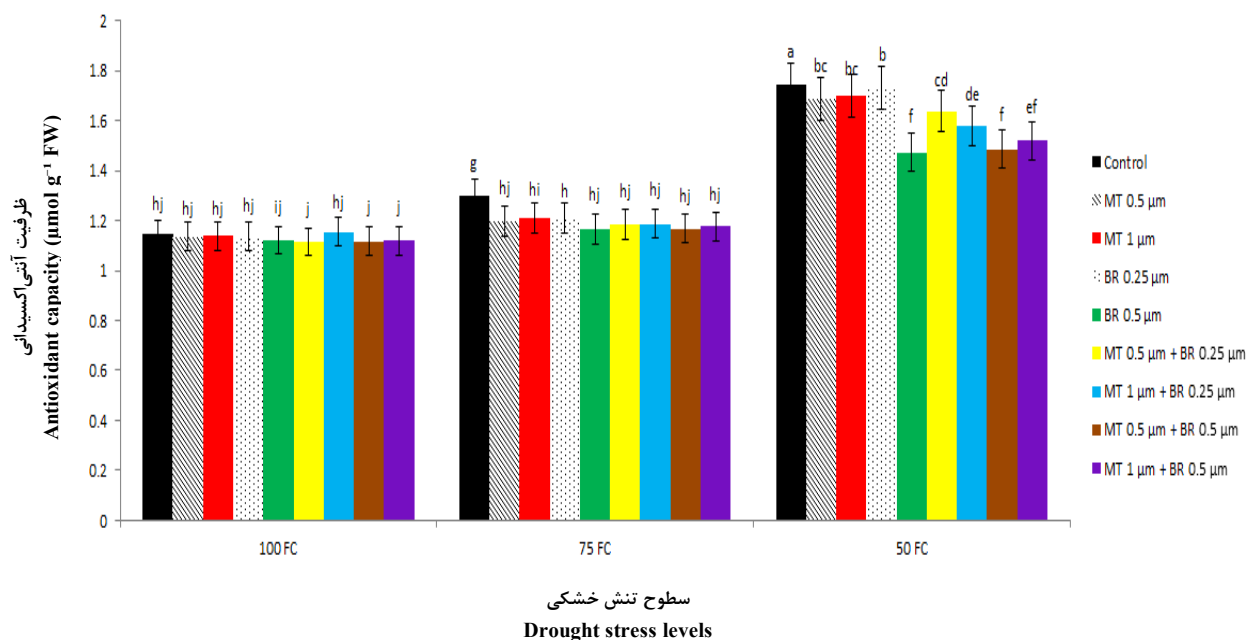
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که میزان پروتئین برگ گیاه کینوا به طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش خشکی، محلول‌پاشی و اثر متقابل تنش خشکی و محلول‌پاشی قرار گرفت (جدول ۲). روند تغییرات میزان پروتئین نشان داد که با افزایش میزان تنش خشکی از میزان پروتئین برگ کاسته شد به نحوی که کمترین میزان پروتئین برگ گیاه در تیمار عدم محلول‌پاشی و در سطح آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت مشاهده گردید. عدم محلول‌پاشی در سطح آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی سبب کاهش ۲۲ درصدی میزان پروتئین برگ نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی در سطح آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی گردید (شکل ۳). مطالعات نشان داده‌اند که تنش خشکی در ذرت باعث افت فتوسنتز، کاهش پیش‌ماده‌های پروتئینی و در نهایت

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس آنزیم‌های اندازه‌گیری شده و عملکرد گیاه کینوا

Table 2. Variance analysis results of measured enzymes and yield of quinoa

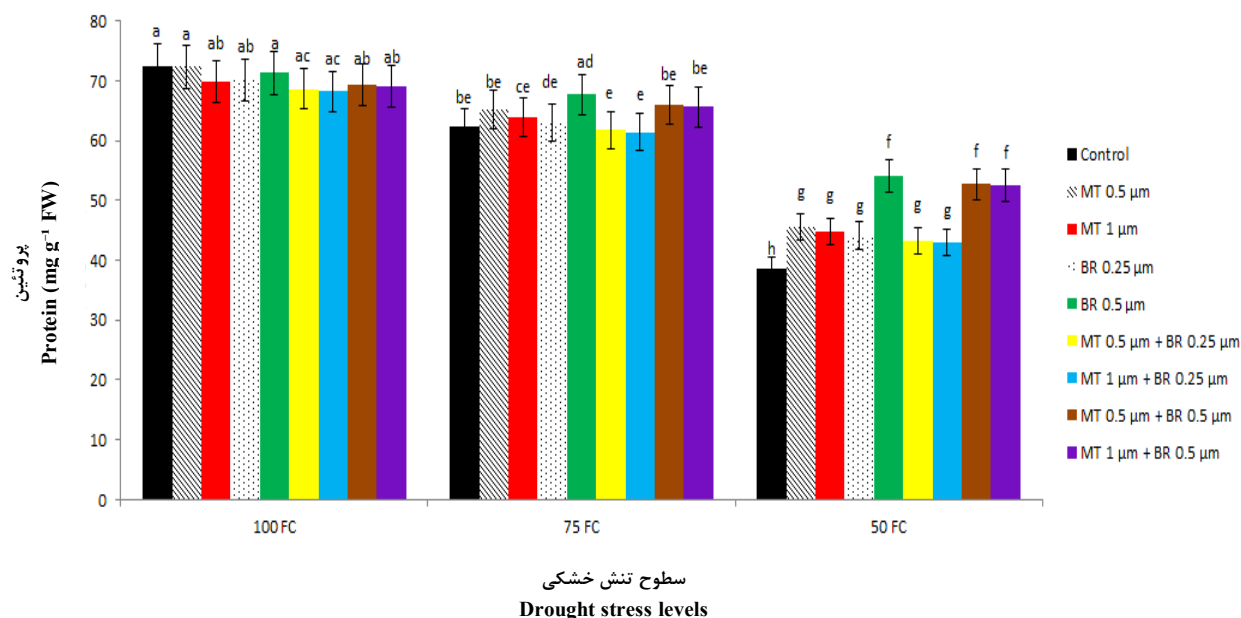
S.o.V	df	Malondialdehyde	Protein	Catalase activity	Peroxidase activity	P. phenol oxidase activity	Grain yield
Year (Y)	1	0.03 ns	0.32 ns	0.000009 ns	0.0000001 ns	0.0045 ns	5143.46 ns
Error Y	4	0.08	36.26	0.0010	0.001	0.003	676.02
Drought (a)	2	4.90**	8218.13**	0.010**	0.194**	0.092**	121464.71**
a × Y	2	0.03 ns	0.32 ns	0.00007 ns	0.000002**	0.002 ns	2043.42*
Error a	8	0.01	2.59	0.0006	0.0004	0.002	251.51
Foliar application (b)	8	0.20**	101.88**	0.00007**	0.000002**	0.003 ns	2754.57**
Y × b	8	0.002 ns	0.31 ns	0.000001 ns	0.00000005 ns	0.002 ns	37.85 ns
a × b	16	0.11*	55.45**	0.000005**	0.0000002**	0.002 ns	1139.24**
Y × a × b	16	0.002 ns	0.32 ns	0.000004**	0.00000008 ns	0.002 ns	17.01 ns
Error	96	0.06	14.09	0.000002	0.00000005	0.002	33.48
CV (%)	—	0.03	6.21	9.38	0.12	14.32	2.18

*ns, ** and ***: Non-significant and significant at the 1% and 5% probability levels, respectively.



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی $\times$ محلول‌پاشی تنظیم‌کننده رشد بر میزان مالون دی آلدئید (آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۵٪)

Fig 2. Comparison of mean drought stress $\times$ foliar application of growth regulators on malondialdehyde content (Duncan multiple range test, $p \leq 5\%$)



شکل ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی $\times$ محلول‌پاشی تنظیم‌کننده رشد بر میزان پروتئین (آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۵٪)

Fig 3. Comparison of means of drought stress $\times$ foliar application of growth regulators on protein content (Duncan's multiple range test, $p \leq 5\%$)

• کاتالاز

تأثیر تنش خشکی، محلول‌پاشی، اثر متقابل تنش خشکی و محلول‌پاشی و اثر متقابل سال و تنش خشکی و محلول‌پاشی بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش خشکی و محلول‌پاشی روی فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به محلول‌پاشی ترکیب ملاتونین ۰/۵ میکرومولار و براسینواسترئوئید ۰/۵ میکرومولار در سطح آبیاری ۷۵ درصد ظرفیت زراعی بود که اختلاف معنی‌داری با تیمارهای محلول‌پاشی ترکیب ملاتونین یک میکرومولار و براسینواسترئوئید ۰/۵ میکرومولار و محلول‌پاشی ترکیب ملاتونین ۰/۵ میکرومولار و براسینواسترئوئید ۰/۲۵ میکرومولار در این سطح از آبیاری نداشت. کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به تیمار عدم محلول‌پاشی در سطح آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی بود (شکل ۴).

کاتالازها به‌عنوان مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث احیاء پراکسید هیدروژن و تجزیه آن به آب و اکسیژن می‌شوند (Veljovic-Jovanovic et al., 2001) و به‌عنوان اصلی‌ترین آنزیم‌های جاروبرگر پراکسید هیدروژن در گیاهان شناخته می‌شوند که می‌توانند مستقیماً باعث دیسموتاسیون پراکسید هیدروژن شده و یا با اکسیدکردن سوپستراهایی مانند متانول، اتانول، فرمالدهید و اسید فرمیک باعث تجزیه پراکسید هیدروژن شوند. فعالیت کاتالاز به میزان کمی به منگنز، مس و روی وابسته است (Van Breusegem et al., 2001).

براسینواسترئوئیدها فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مختلف مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، و پراکسیداز را افزایش می‌دهند که این امر به کاهش سطح گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و بهبود پایداری غشا کمک می‌کند (F. Yang et al., 2009).

افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نه‌تنها به حذف گونه‌های

فعال اکسیژن کمک می‌کند، بلکه غشاهای سلولی را تقویت کرده و منجر به کاهش نشت یون‌ها می‌شود. به‌عنوان مثال، گیاهان تحت تیمار براسینوستروئید در شرایط تنش، نشت یون کمتری نسبت به نمونه‌های شاهد نشان می‌دهند که نشان‌دهنده یکپارچگی بهتر غشای سلولی است (Tang et al., 2016).

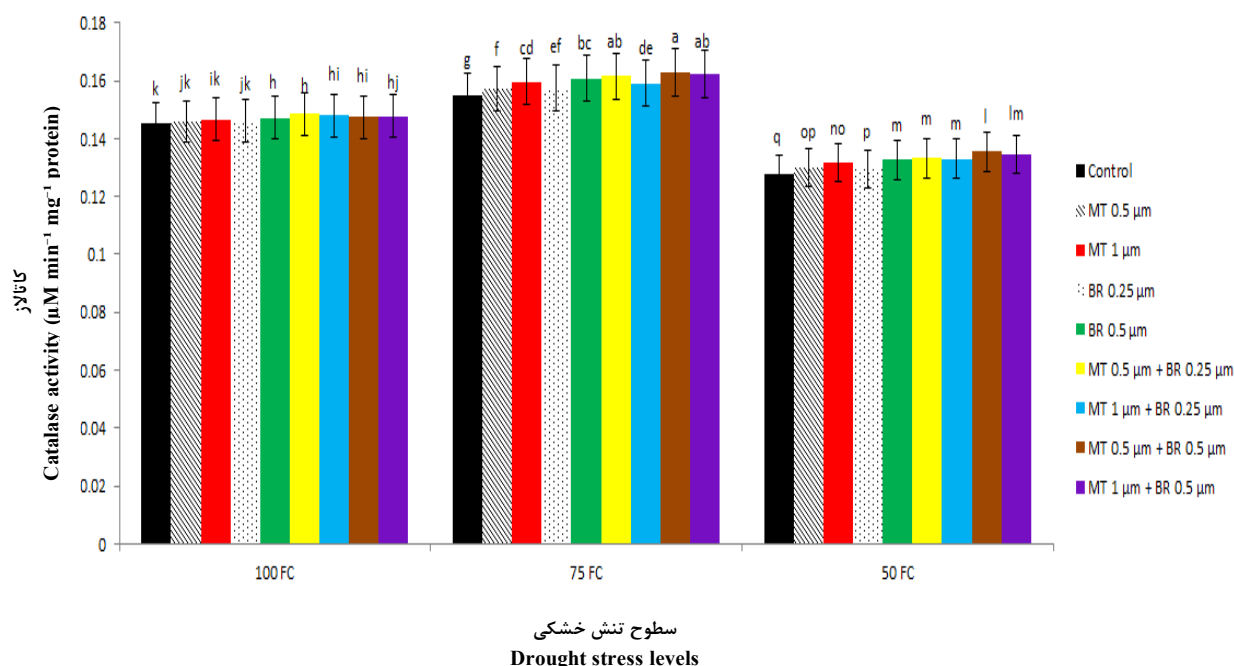
نشان داده است که کاربرد ملاتونین، به‌عنوان یک مولکول چندمنظوره، بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کلیدی را افزایش می‌دهد و مقاومت گیاه را در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از خشکی تقویت می‌کند.

مطالعات نشان می‌دهند که تیمار ملاتونین به طور قابل‌توجهی سطح فعالیت کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز را افزایش می‌دهد که به کاهش تجمع رادیکال‌های آزاد و بهبود تحمل خشکی در محصولات کمک می‌کند (Shaffique et al., 2024).

• پراکسیداز

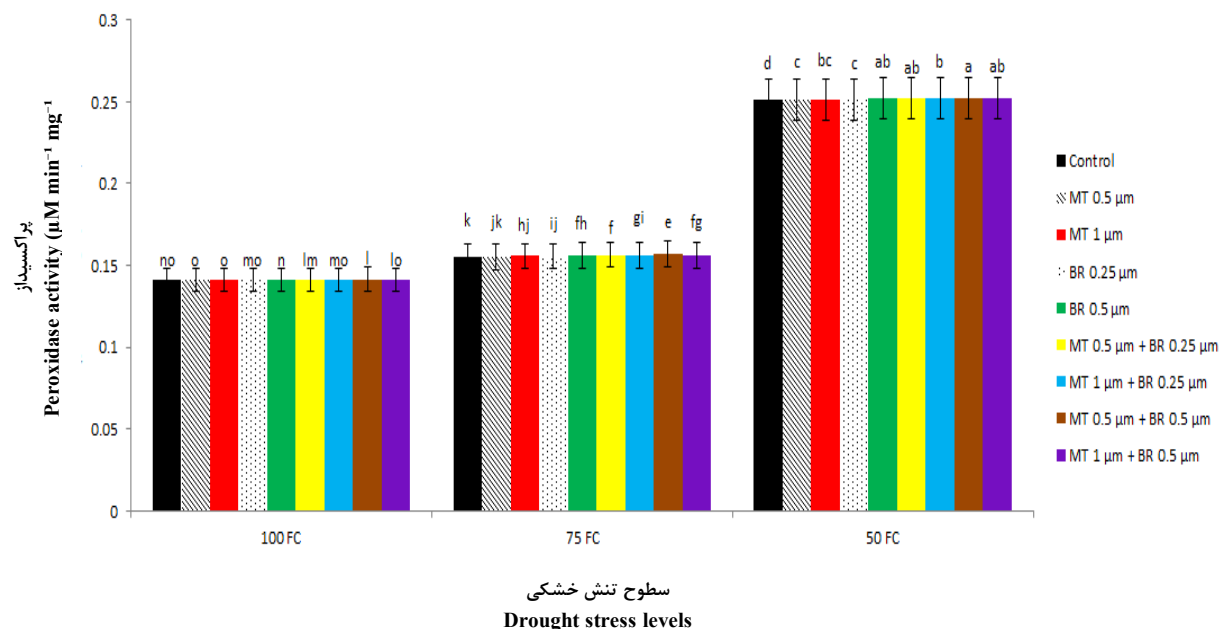
تنش خشکی، محلول‌پاشی، سال $\times$ تنش خشکی و تنش خشکی $\times$ محلول‌پاشی به طور معنی‌داری ($P < 0.01$) میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز را تحت تأثیر قرار دادند (جدول ۲). مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل نشان داد که محلول‌پاشی ملاتونین ۰/۵ μm و براسینواسترئوئید ۰/۵ μm سبب افزایش ۰/۸۳ و ۰/۵۱ درصدی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به ترتیب در سطوح آبیاری ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی در آن سطوح از آبیاری گردید (شکل ۵).

افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز تحت شرایط تنش در کلزا (Ashraf and Ali, 2008) گزارش شده است. تحقیقات نشان داده‌اند که تیمار با براسینوستروئید منجر به افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز می‌شود که با بهبود کارایی فتوسنتزی و نمود رشدی در محصولات کشاورزی مرتبط است (Zhang et al., 2024).



شکل ۴. مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی × محلول پاشی تنظیم کننده رشد بر میزان کاتالاز (آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۵٪)

Fig 4. Mean comparison of drought stress × foliar application of growth regulators on catalase activity (Duncan multiple range test, $p \leq 5\%$)



شکل ۵. مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی × محلول پاشی بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۵٪)

Fig 5. Comparison of mean drought stress × foliar application of growth regulators on peroxidase activity (Duncan's multiple range test, $p \leq 5\%$)

در دوره‌های تنش خشکی، افزایش ترکیبات فنلی طبیعی است، اما تنش‌های شدید می‌توانند آن‌ها را کاهش دهند، زیرا کاهش فتوسنتز باعث کاهش متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Hosseini and Heidari, 2025). افزایش فنل تام در برخی گیاهان مانند زیره و فلفل قرمز گزارش شده است (Kim et al., 2012; Castellarin et al., 2007).

مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از ملاتونین به صورت اسپری برگی می‌تواند فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز را در محصولات کشاورزی افزایش دهد، بنابراین تجمع ترکیبات فنلی را که به عنوان آنتی اکسیدان عمل می‌کنند و از استرس اکسیداتیو ناشی از خشکی محافظت می‌کنند، را ارتقا دهد (Jafari and Shahsavari, 2021).

• عملکرد دانه

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثرات تنش خشکی، محلول پاشی و اثر دوگانه تنش خشکی در محلول پاشی و اثر متقابل سال در تنش خشکی بر عملکرد گیاه کینوا معنی دار است (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل سال و تنش خشکی نشان داد که بیشترین میزان عملکرد (g m⁻²) ۳۰۳/۴ در هر دو سال آزمایش مربوط به تیمار آبیاری در سطح ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی بود در حالی که کمترین میزان عملکرد (g m⁻²) ۲۰۱/۳ از سطح آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی در سال دوم حاصل شد (شکل ۷).

میزان عملکرد به طور معنی داری تحت تأثیر اثر متقابل تنش خشکی و محلول پاشی قرار گرفت، به نحوی که بیشترین میزان عملکرد در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی با محلول پاشی ملاتونین ۰/۵ میکرومولار × براسینواستروئید ۰/۵ میکرومولار و محلول پاشی ملاتونین یک میکرومولار × براسینواستروئید ۰/۵ میکرومولار به دست آمد.

در شرایط آبیاری ۷۵ درصد ظرفیت زراعی محلول پاشی ملاتونین یک میکرومولار × براسینواستروئید ۰/۵ میکرومولار سبب افزایش ۸/۵۰ درصدی میزان عملکرد نسبت به تیمار

تأثیر براسینواستروئیدها بر فعالیت آنزیم پراکسیداز قابل توجه است؛ زیرا این اثر به طور مستقیم منجر به افزایش تولید محصول در شرایط تنش خشکی می‌شود (Zhang et al., 2024). کاربرد خارجی ملاتونین نه تنها سطح آنزیم پراکسیداز را افزایش می‌دهد، بلکه سنتز متابولیت‌های ثانویه را نیز تقویت نموده که عملکردهای حفاظتی اضافی در برابر استرس اکسیداتیو ارائه می‌دهند (Shaffique et al., 2024).

• پلی فنول اکسیداز

نتایج نشان داد که فقط اثر تنش خشکی روی میزان فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز گیاه کینوا معنی دار بود (جدول ۲). با افزایش تنش خشکی میزان فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز نسبت به شاهد افزایش معنی داری یافت به طوری که بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز در تیمار ۵۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده گردید که نسبت به تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی ۲۵ درصد افزایش داشته است (شکل ۶).

محلول پاشی سبب افزایش فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز نسبت به تیمار شاهد گردید به نحوی که محلول پاشی ملاتونین یک میکرومولار × براسینواستروئید ۰/۵ میکرومولار و محلول پاشی ملاتونین یک میکرومولار به ترتیب سبب افزایش ۱۱/۷۶ و ۲/۹۴ درصدی میزان فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز نسبت به تیمار عدم محلول پاشی گردیدند؛ اما تفاوت معنی داری با تیمارهای محلول پاشی ترکیب ملاتونین ۰/۵ میکرومولار و براسینواستروئید ۰/۵ میکرومولار و محلول پاشی ملاتونین ۰/۵ میکرومولار و براسینواستروئید ۰/۲۵ میکرومولار و محلول پاشی براسینواستروئید ۰/۵ میکرومولار نداشتند (شکل ۶).

ترکیبات فنلی با فعالیت آنتی اکسیدانی قوی، نقش کلیدی در دفاع علیه گونه‌های اکسیژن فعال، به ویژه زمانی که فتوسنتز تحت تأثیر تنش‌های محیطی قرار می‌گیرد، ایفا می‌کنند (Sharma, et al., 2019).

نخواهد بود (Yadav et al., 2004). در یک تحقیق بر روی گندم در شرایط تنش خشکی، مشخص شد که کاهش سرعت رشد دانه به دلیل کاهش سطح ساکارز سینتاز است. در عین حال، توقف رشد دانه به علت غیر فعال شدن آدنوزین دی فسفات، گلوکز و پیروفسفریلاز رخ می دهد (Ahmadi and Baker, 2001).

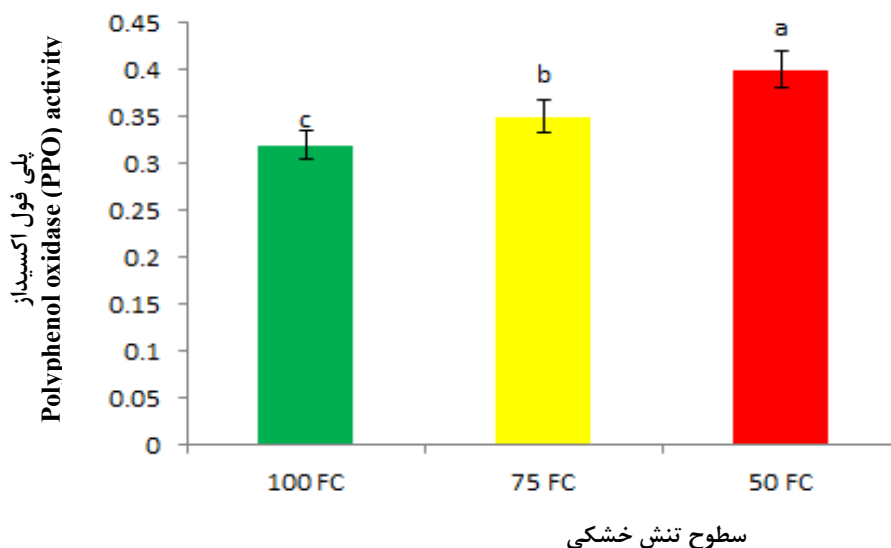
استفاده از ملاتونین می تواند تأثیر چشمگیری بر عملکرد دانه و شاخص برداشت در محصولات تحت تنش خشکی داشته باشد. در سویا، تیمار با ملاتونین باعث افزایش فعالیت آنزیم های مرتبط با متابولیسم کربن و نیتروژن شده و در نتیجه به تجمع بیشتر ماده خشک و بهبود عملکرد منجر گردید (Cao et al., 2023).

مطالعات نشان داده اند که براسینواسستروئید با کمک به تغذیه بهتر و راندمان بالاتر انتقال کربوهیدرات از منبع به مخزن، تعداد و وزن دانه را به طور مثبت تنظیم و در نتیجه باعث افزایش عملکرد می شود (Wu et al., 2008).

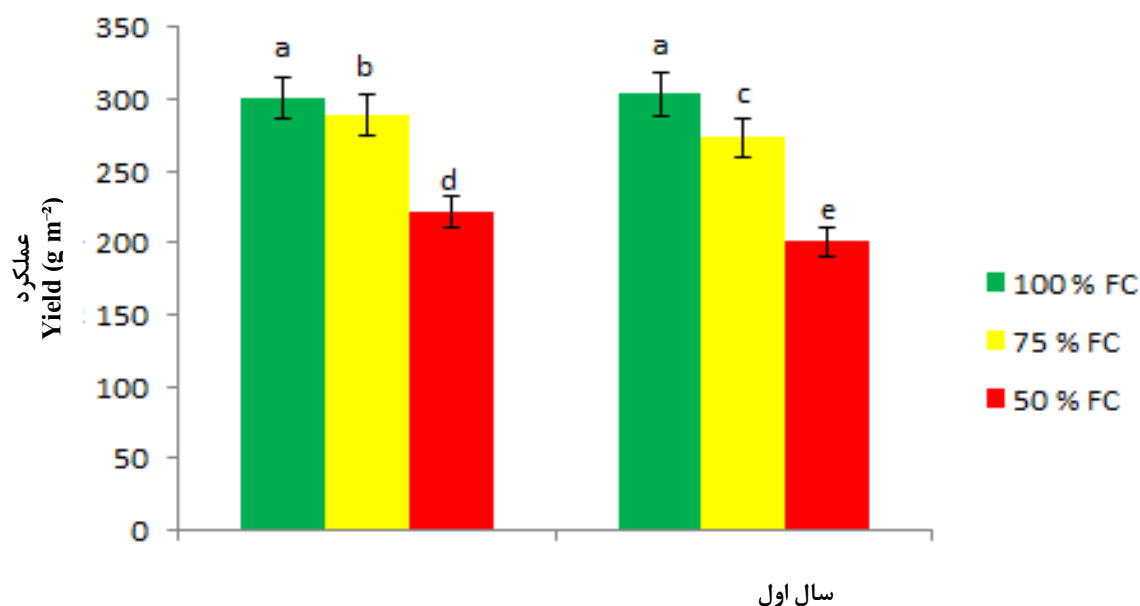
عدم محلول پاشی تنظیم کننده رشد در این سطح از آبیاری گردید. محلول پاشی ملاتونین یک میکرومولار $\times$ براسینواسستروئید ۰/۵ میکرومولار سبب افزایش ۶۴/۹۷ درصدی میزان عملکرد نسبت به تیمار عدم محلول پاشی در سطح آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی گردید که اختلاف معنی داری با محلول پاشی ترکیب ملاتونین ۰/۵ میکرومولار و براسینواسستروئید ۰/۵ میکرومولار نداشت (شکل ۸).

پرشدن دانه به دلیل فعالیت منبع، توزیع مواد پرورده و آنزیم های تولید کننده نشاسته اتفاق می افتد. در شرایط تنش خشکی، فعالیت آنزیم های فسفوانول پیروات کربوکسیلاز، رابیسکو، پیروات اورتوفسفات دی کیناز و فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات کاهش می یابد، همچنین پتانسیل آب در برگ ها نیز کاهش پیدا می کند. در نتیجه، فرایند فتوسنتز تحت تأثیر قرار می گیرد و کاهش می یابد (Farooq et al., 2009).

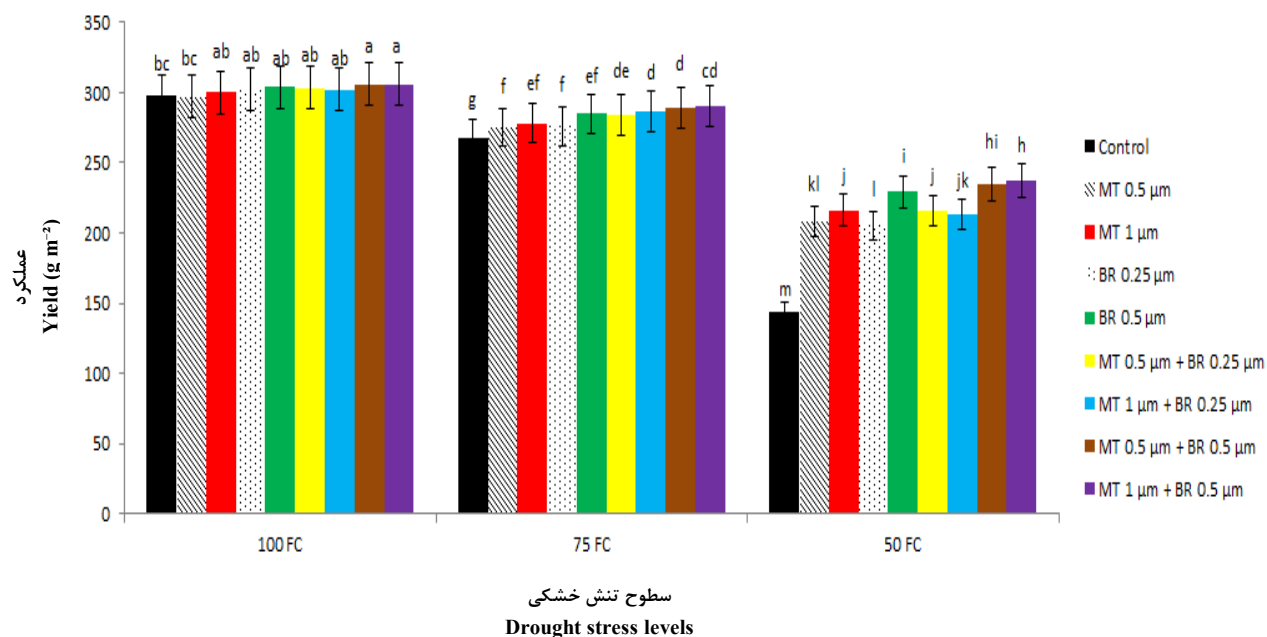
تنش خشکی در زمان گلدهی باعث کاهش انتقال مواد پرورده به نواحی در حال رشد می شود. به همین دلیل، مقدار مواد پرورده ای که به دانه می رسد برای رشد مناسب آن کافی



شکل ۶. اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز (آزمون چند دامنه ای دانکن، در سطح احتمال ۵٪)
 Fig 6. Effect of different levels of drought stress on polyphenol oxidase enzyme activity (Duncan multiple range test, $p \leq 5\%$)



شکل ۷. مقایسه میانگین اثر متقابل سال × تنش خشکی بر عملکرد دانه (آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۵٪)
 Fig 7. Comparison of mean drought stress × year on grain yield (Duncan's multiple range test, $p \leq 5\%$)



شکل ۸. مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی × محلول‌پاشی تنظیم‌کننده رشد بر عملکرد دانه (آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۵٪)
 Fig 8. Comparison of means of drought stress × foliar application of growth regulators on grain yield (Duncan multiple range test, $p \leq 5\%$)

Antoniou, C., Chatzimichail, G., Xenofontos, R., Pavlou, J. J., Panagiotou, E., Christou, A., & Fotopoulos, V. (2017). Melatonin systemically ameliorates drought stress-induced damage in *Medicago sativa* plants by modulating nitro-oxidative homeostasis and proline metabolism. *Journal of Pineal Research*, 62(4), e12401. <https://doi.org/10.1111/jpi.12401>

Ashraf, M., & Ali, Q. (2008). Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 63(1-3), 266-273. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.11.008>

Bai, J., Zheng, Y., Wang, G., & Liu, P. (2016). Protective effect of D-limonene against oxidative stress-induced cell damage in human lens epithelial cells via the p38 pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 5962832. <https://doi.org/10.1155/2016/5962832>

Bai, L. P., Sui, F. G., Ge, T. D., Sun, Z. H., Lu, Y. Y., & Zhou, G. S. (2006). Effect of soil drought stress on leaf water status, membrane permeability, and enzymatic antioxidant system of maize. *Pedosphere*, 16(3), 326-332. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(06\)60059-3](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(06)60059-3)

Behnamnia, M., Kalantari, K. M., & Ziaie, J. (2009). The effects of brassinosteroid on the induction of biochemical changes in *Lycopersicon esculentum* under drought stress. *Turkish Journal of Botany*, 33(6), 417-428. <https://doi.org/10.3906/bot-0806-12>

Bhargava, A., Shukla, S., Rajan, S., & Ohri, D. (2007). Genetic diversity for morphological and quality traits in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54(1), 167-173. <https://doi.org/10.1007/s10722-005-3011-0>

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

Buege, J. A., & Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. In S. Fleischer & L. Packer (Eds.), *Methods in Enzymology* (Vol. 52, pp. 302-310). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(78\)52032-6](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(78)52032-6)

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج نشان داد که کاهش سطح آبیاری از ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و افزایش شدت تنش خشکی موجب افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدهید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز) و در مقابل کاهش محتوای پروتئین برگ و عملکرد دانه گردید.

کاهش عملکرد در سطوح بالای تنش حاکمی از آن بود که سامانه دفاعی ذاتی گیاه به‌تنهایی توان مقابله با شرایط محدودیت شدید آب را ندارد. با این حال، کاربرد برونی براسینواستروئید و ملاتونین با بهبود شاخص‌های فیزیولوژیک یادشده، توان گیاه را افزایش داده و از افت شدید عملکرد در شرایط تنش ملایم جلوگیری نمود. به‌ویژه تیمار ۵/۰ میکرومولار براسینواستروئید در سطح آبیاری ۷۵ درصد ظرفیت زراعی، عملکردی معادل ۲۸۴/۸ گرم بر متر مربع تولید کرد که تنها ۳/۳۷ درصد کمتر از تیمار شاهد (آبیاری کامل بدون محلول پاشی) بود. بنابراین، با توجه به موقعیت کشور و بروز دوره‌های مکرر خشکسالی، استفاده از این تنظیم‌کننده‌های رشد می‌تواند به‌عنوان رویکردی مؤثر در کاهش اثرات منفی تنش خشکی و بهبود تولیدات زراعی به‌ویژه در گیاهان متحملی مانند کینوا پیشنهاد شود.

منابع

- Ahmad, R., Alsahli, A. A., Alansi, S., & Altaf, M. A. (2023). Exogenous melatonin confers drought stress tolerance by promoting plant growth, photosynthetic efficiency, and the antioxidant defense system of pea (*Pisum sativum* L.). *Scientia Horticulturae*, 322, 112431. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112431>
- Ahmadi, A., & Baker, D. A. (2001). The effect of water stress on the activities of key regulatory enzymes of the sucrose to starch pathway in wheat. *Plant Growth Regulation*, 35(1), 81-91. <https://doi.org/10.1023/A:1013827600528>

- Cao, L., Qin, B., Gong, Z., & Zhang, Y. (2022). Melatonin improves nitrogen metabolism during grain filling under drought stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 28(10), 1879–1890. <https://doi.org/10.1007/s12298-022-01219-y>
- Castellarin, S. D., Matthews, M. A., Di Gaspero, G., & Gambetta, G. A. (2007). Water deficits accelerate ripening and induce changes in gene expression regulating flavonoid biosynthesis in grape berries. *Planta*, 227(1), 101–112. <https://doi.org/10.1007/s00425-007-0606-6>
- Farooq, M., Basra, S. M. A., Wahid, A., Ahmad, N., & Saleem, B. A. (2009). Improving the drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) by exogenous application of salicylic acid. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 195(4), 237–246. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2009.00365.x>
- Gupta, G. S. (2019). Land degradation and challenges of food security. *Review of European Studies*, 11(1), 63. <https://doi.org/10.5539/res.v11n1p63>
- Hafeez, M. B., Zahra, N., Zahra, K., Raza, A., Khan, 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>
- He, M., He, C. Q., & Ding, N. Z. (2018). Abiotic stresses: General defenses of land plants and chances for engineering multistress tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1717. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01771>
- Himanshu, Sharma, S., Rana, V. S., Thakur, V., Kumar, A., Thakur, S., & Sharma, N. (2024). Unlocking the sustainable role of melatonin in fruit production and stress tolerance: A review. *CABI Agriculture and Bioscience*, 5, 9. <https://doi.org/10.1186/s43170-024-00309-z>
- Hosseini, S. A., & Heidari, P. (2025). Phenolic compounds, antioxidant enzymes, and oxidative stress in barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes under field drought-stress conditions. *BMC Plant Biology*, 25, 709. <https://doi.org/10.1186/s12870-025-06750-0>
- Jafari, M., & Shahsavar, A. (2021). The effect of foliar application of melatonin on changes in secondary metabolite contents in two citrus species under drought stress conditions. *Frontiers in Plant Science*, 12, 692735. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.692735>
- Kafi, M., & Mahdavi Damghani, A. (2000). *Resistance mechanisms of plants to environmental stresses* (p. 476). Ferdowsi University of Mashhad Press. (in Persian)
- Kar, M., & Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, 57(2), 315–319. <https://doi.org/10.1104/pp.57.2.315>
- Khamsuk, O., Sonjaroon, W., Suwanwong, S., Jutamane, K., & Suksamrarn, A. (2018). Effects of 24-epibrassinolide and the synthetic brassinosteroid mimic on chili pepper under drought. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40(6), 109. <https://doi.org/10.1007/s11738-018-2682-z>
- Kim, S. M., Park, Y. J., Kwon, D. Y., & Choi, J. (2023). Identification of drought-responsive phenolic compounds and their biosynthetic regulation under drought stress in *Ligularia fischeri*. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1140509. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1140509>
- Kour, J., Kohli, S. K., Khanna, K., Bakshi, P., Sharma, P., Singh, A. D., Ibrahim, M., Devi, K., Sharma, N., Ohri, P., Skalicky, M., Brestic, M., Bhardwaj, R., Landi, M., & Sharma, A. (2021). Brassinosteroid signaling, crosstalk, and physiological functions in plants under heavy metal stress. *Frontiers in Plant Science*, 12, 608061. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.608061>
- Lilian, E. (2009). Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): Composition, chemistry, nutritional, and functional properties. In *Advances in Food and Nutrition Research* (Vol. 58, pp. 1–31). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(09\)58001-1](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(09)58001-1)
- Lou, S., Jiang, H., Li, J., Tian, L., Du, M., Ma, T., Zhang, L., & Zhang, P. (2024). Effects of exogenous brassinosteroid and reduced leaf source on source–sink relationships and boll setting in Xinjiang cotton. *Agronomy*, 14(6), 1168. <https://doi.org/10.3390/agronomy14061168>
- Luo, C., Min, W., Akhtar, M., Lu, X., Bai, X., Zhang, Y., Tian, L., & Li, P. (2022). Melatonin enhances drought tolerance in rice seedlings by modulating antioxidant systems, osmoregulation, and corresponding gene expression. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(20), 12075. <https://doi.org/10.3390/ijms232012075>
- Nawaz, F., Naeem, M., Zulfikar, B., Akram, A., Ashraf, M. Y., Raheel, M., Shabbir, R. N., Hussain, R. A., Anwar, I., & Aurangzaib, M. (2017). Understanding brassinosteroid-regulated mechanisms

- to improve stress tolerance in plants: A critical review. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(19), 15959–15975. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9163-6>
- Nayer, M., & Reza, H. (2008). Drought-induced accumulation of soluble sugars and proline in two maize varieties. *World Applied Sciences Journal*, 3(3), 448–453. <https://www.researchgate.net/publication/239920515>
- Nie, W., Gong, B., Wen, D., Qiao, P., Guo, H., & Shi, Q. (2025). Brassinosteroid enhances cucumber stress tolerance to NaHCO_3 by modulating nitrogen metabolism, ionic balance, and phytohormonal response. *Plants*, 14(1), 80. <https://doi.org/10.3390/plants14010080>
- Pereira-Netto, A. B. (2012). Brassinosteroids: Practical applications in agriculture and human health. In *Brassinosteroids: Practical applications in agriculture and human health* (pp. 72–83). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0189-2_5
- Rezayian, M., Ebrahimzadeh, H., & Niknam, V. (2020). Nitric oxide stimulates the antioxidant system and osmotic adjustment in soybean under drought stress. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20(3), 1122–1132. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00198-x>
- Sánchez, F. J., Manzanares, M., De Andrés, E. F., Tenorio, J. L., & Ayerbe, L. (1998). Turgor maintenance, osmotic adjustment, and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crops Research*, 59(3), 225–235. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(98\)00125-7](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(98)00125-7)
- Sepahvand, N. A., & Najafian, G. (2015). *Introduction to the quinoa plant*. Technical Assistance Project for Institutionalizing Quinoa. Seed and Plant Improvement Institute.
- Shaffique, S., Shah, A. A., Kang, S. M., Injamum-Ul-Hoque, M., Shahzad, R., Al Azzawi, T. N. I., Yun, B. W., & Lee, I. J. (2024). Melatonin: Dual players mitigating drought-induced stress in tomatoes via modulation of phytohormones and antioxidant signaling cascades. *BMC Plant Biology*, 24, 57. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05752-8>
- Sharma, A., Shahzad, B., Rehman, A., Bhardwaj, R., Landi, M., & Zheng, B. (2019). Response of the phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. *Molecules*, 24(13), 2452. <https://doi.org/10.3390/molecules24132452>
- Shojaei Baghini, M. H., & Naghi Zadeh, M. (2024). Evaluation of the effect of brassinosteroid and melatonin foliar application on some physiological parameters, seed yield, and essential oil percentage of cumin (*Cuminum cyminum* L.) under drought stress conditions. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 4(10), 155–173.
- Tang, J., Han, Z., & Chai, J. (2016). Q&A: What are brassinosteroids, and how do they act in plants? *BMC Biology*, 14, 113. <https://doi.org/10.1186/s12915-016-0340-8>
- Van Breusegem, F., Vranová, E., Dat, J. F., & Inzé, D. (2001). The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Science*, 161(3), 405–414. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00452-6](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00452-6)
- Vardhini, B. V., Anuradha, S., Sujatha, E., Seeta, S., & Rao, R. (2010). Role of brassinosteroids in alleviating various abiotic and biotic stresses—A review. *Plant Stress*, 4, 55–61.
- Veljovic-Jovanovic, S. D., Pignocchi, C., Noctor, G., & Foyer, C. H. (2001). Low ascorbic acid in the *vtc-1* mutant of *Arabidopsis* is associated with decreased growth and intracellular redistribution of the antioxidant system. *Plant Physiology*, 127(2), 426–435. <https://doi.org/10.1104/pp.010141>
- Wu, C. Y., Trieu, A., Radhakrishnan, P., Kwok, S. F., Harris, S., Zhang, K., Wang, J., Wan, J., Zhai, H., Takatsuto, S., Matsumoto, S., Fujioka, S., Feldmann, K. A., & Pennell, R. I. (2008). Brassinosteroids regulate grain filling in rice. *The Plant Cell*, 20(8), 2130–2145. <https://doi.org/10.1105/tpc.107.055087>
- Yadav, R. S., Hash, C. T., Bidinger, F. R., Devos, K. M., & Howarth, C. J. (2004). Genomic regions associated with grain yield and aspects of post-flowering drought tolerance in pearl millet across stress environments and tester background. *Euphytica*, 136(3), 265–277. <https://doi.org/10.1023/B:EUPH.0000032711.34599.3a>
- Yang, F., Hu, J., Li, J., Wu, X., & Qian, Y. (2009). Chitosan enhances leaf membrane stability and antioxidant enzyme activities in apple seedlings under drought stress. *Plant Growth Regulation*, 58(2), 131–136. <https://doi.org/10.1007/s10725-009-9361-4>

- Zhang, Z., Ma, X., Tang, D., Chen, Y., Chen, G., Zou, J., Tan, L., Tang, Q., & Chen, W. (2024). Effects of brassinosteroid on the physiological changes of two varieties of tea plants under salt stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(24), 13445. <https://doi.org/10.3390/ijms252413445>
- Zhou, Y. L., You, X. Y., Wang, X. Y., Cui, L. H., Jiang, Z. H., & Zhang, K. P. (2024). Exogenous 24-epibrassinolide enhanced drought tolerance and promoted *BRASSINOSTEROID-INSENSITIVE2* expression in quinoa. *Plants*, 13(6), 873. <https://doi.org/10.3390/plants13060873>