

## مطالعه رنگدانه‌های فتوسنتزی و ترکیب‌های فنولی گلرنگ در واکنش به محلول‌پاشی ملاتونین در شرایط تنش کمبود آب

سیاوش حشمتی<sup>۱</sup>، غلامعباس اکبری<sup>۱\*</sup>، الیاس سلطانی<sup>۱</sup>، مجید امینی دهقی<sup>۲</sup>، کیوان فتحی امیرخیز<sup>۲</sup>  
و کیوان ملکی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، تهران

<sup>۲</sup> گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۳۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۰۸/۰۶)

### چکیده

جهت بررسی تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین بر ترکیب رنگدانه‌های فتوسنتزی، ترکیب‌های فنولی و قندهای محلول گیاهان حاصل از بذور با کیفیت مختلف گلرنگ، در شرایط کمبود آب، آزمایش مزرعه‌ای در سال‌های زراعی ۱۳۹۵-۹۶ و ۱۳۹۶-۹۷ در مزرعه پردیس ابوریحان دانشگاه تهران انجام گرفت. طرح آزمایشی به صورت اسپلیت-فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام گرفت. عوامل مورد استفاده عبارت بودند از دو سطح تنش خشکی (۱- آبیاری معمول یا بدون تنش و ۲- آبیاری پس از تخلیه ۸۵ درصد رطوبت از ظرفیت مزرعه در مرحله گلدهی یا تنش خشکی) که در کرت‌های اصلی قرار گرفتند. کرت‌های فرعی، شامل چهار تیمار بودند که عبارت بودند از کیفیت بذر (۱- بذور انبارشده و ۲- بذور تازه برداشت‌شده) و محلول‌پاشی (۱- شاهد: محلول‌پاشی با آب مقطر و ۲- محلول‌پاشی ملاتونین ۰/۲ میلی‌مولار). نتایج این آزمایش نشان داد که محلول‌پاشی ملاتونین باعث افزایش میزان کلروفیل a به مقدار ۳۳/۳۳ درصد در گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت‌شده گردید. همچنین نتایج مشخص کرد که در شرایط بدون تنش، محلول‌پاشی ملاتونین میزان فلاونوئیدها را در هر دو نوع کیفیت بذر افزایش داد اما در شرایط تنش، محلول‌پاشی میزان فلاونوئیدها را کاهش داد. نتایج این آزمایش نشان داد که محلول‌پاشی با ملاتونین در هر دو شرایط تنش خشکی و بدون تنش موجب کاهش میزان قندهای محلول گردید. به نظر می‌رسد محلول‌پاشی ملاتونین با کاهش شدت تنش به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانتی خود، محیطی بدون تنش برای گیاه ایجاد کرده است تا نیازی به افزایش متابولیت‌هایی که به‌طور معمول در شرایط تنش خشکی افزایش می‌یابند، اقدام نکند.

واژه‌های کلیدی: خشکی، دانه‌های روغنی، کربوهیدرات، کلروفیل، کیفیت بذر

### مقدمه

تنش خشکی نه تنها به‌طور جدی به کلروفیل و رنگدانه‌های فتوسنتزی آسیب می‌رساند، بلکه منجر به زوال غشاهای تیلاکوئیدی نیز می‌شود (Chakhchar et al., 2018). بنابراین کاهش در ظرفیت فتوسنتزی در گیاهان قرار گرفته در

براساس مدل‌های تغییرات اقلیمی پیش‌بینی می‌شود که وقوع خشکی در مناطقی مانند ایران که هم اکنون خشک و نیمه هستند، افزایش یابد (IPCC, 2014; Sadeghi and Delaviz, 2014).

\* نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: ghakbari@ut.ac.ir

به‌عنوان مولکول آنتی‌اکسیدانت مستقیم و هم تحریک‌کننده پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاهان است (Zhang *et al.*, 2015). مدارک نشان می‌دهد که تنش‌های محیطی می‌توانند سطح ملاتونین داخلی در گیاهان را به‌عنوان پاسخ‌های حفاظتی افزایش دهند (Paredes *et al.*, 2009). به تازگی گزارش شده است که محلول‌پاشی با ملاتونین تنظیم‌اسمزی و حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن را بهبود داد و در نهایت اثرهای مضر تنش خشکی بر فتوسنتز کاهش داد و رشد و عملکرد گیاه را بازیابی کرد (Zou *et al.*, 2019). همچنین در مورد تأثیر پرایمینگ بذر بر رنگدانه‌های فتوسنتزی، نشان داده شده است که پرایمینگ بذر منجر به افزایش میزان کاروتنوئیدها گردید (Munne-Bosch and Penuelas, 2003). همچنین مشخص شده است که ژن‌های مسیر بیوسنتز آنتوسیانین توسط استفاده از ملاتونین افزایش چشمگیر یافتند (Zhang *et al.*, 2016; Liang *et al.*, 2018). همچنین گزارش شده است که ملاتونین رونویسی ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش را افزایش داد و قندهای محلول از قبیل ساکارز را در آرابیدوپسیس در شرایط شاهد و تنش تجمع داد (Shi *et al.*, 2015). گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) یک گیاه دانه روغنی مهم در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان است و یکی از گیاهان بومی ایران است و در اغلب مناطق خشک، کارکرد خوبی را نشان می‌دهد (Singh *et al.*, 2016). همچنین گلرنگ توانایی زیادی برای تطابق با شرایط محیطی مختلف نشان داده است (Zaoui *et al.*, 2016). با توجه به اینکه تا کنون مطالعه‌ای در رابطه با تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین بر برخی صفات بیوشیمیایی گلرنگ در شرایط تنش خشکی انجام نگرفته است. بنابراین هدف از انجام این تحقیق بررسی اثرات تنش خشکی و محلول‌پاشی ملاتونین بر رنگدانه‌های فتوسنتزی، ترکیب‌های فنلی و قندهای محلول است.

#### مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین بر ترکیب رنگدانه‌های فتوسنتزی، ترکیب‌های فنولی و قندهای محلول،

معرض تنش خشکی قابل انتظار است (Ashraf and Harris, 2013). مشخص شده است که در پاسخ به تنش اکسیداتیو، در گیاهان، ترکیب‌هایی مانند فلاونونوئیدها و آنتوسیانین‌ها جهت به حداقل رساندن آسیب سلولی، تولید می‌شود (Pollastri and Tattini, 2011). فلاونونوئیدها توانایی زیادی در پاکسازی گونه‌های اکسیژن واکنشی (ROS) دارند (Tattini *et al.*, 2004). همچنین پژوهش‌های متعددی گزارش کرده‌اند که تجمع آنتوسیانین‌ها به‌طور مستقیم با تحمل به خشکی در گونه‌های گیاهی متعدد همراه است (Fleming *et al.*, 2019). کربوهیدرات‌ها محصولات اصلی فتوسنتز هستند و همچنین فرم اصلی کربنی هستند که انتقال می‌یابد و در داخل گیاهان اختصاص می‌یابد (Andrade *et al.*, 2016). با در نظر گرفتن اینکه تنش خشکی بر فتوسنتز اثر می‌گذارد، تغییر در سطوح کربوهیدرات‌ها شامل نشاسته و قندهای محلول اغلب تحت شرایط تنش رخ می‌دهد (Nishizawa *et al.*, 2008). همچنین گزارش شده که افزایش در محتوای قندها به حفظ سیستم فتوسنتزی سالم و تعادل آبی در گیاه کمک می‌کند (Khan *et al.*, 2019). قندها به‌طور معمول در گیاهان تحت تنش تجمع می‌یابند و سطح تجمع به تحمل به تنش آبی گیاه وابسته است (Bowne *et al.*, 2012). قندها در تنظیم‌اسمزی تأثیر دارند و بنابراین به تنظیم جذب آب گیاه و حفظ تورژسانس سلول تحت شرایط کمبود آب و نیز در پایدار کردن غشاها کمک می‌کنند (Sami *et al.*, 2016).

کاربرد خارجی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه (از قبیل محافظان اسمزی، ترکیبات آنتی‌اکسیدان و تحریک‌کننده‌های رشد) به‌عنوان روشی مؤثر برای بالابردن تحمل به تنش خشکی در تولید گیاه زراعی در نظر گرفته می‌شوند (Ye *et al.*, 2016). نقش ملاتونین (N-استیل-۵-متوکسی تریپتامین) یکی از مشتقات تریپتوفان در گیاهان به‌عنوان یک عامل محافظت‌کننده گیاهان در برابر عوامل ایجادکننده انواع تنش‌های زیستی و غیرزیستی به‌طور کامل پذیرفته شده است (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2015; Wang *et al.*, 2018). پتانسیل اصلی ملاتونین، به‌عنوان تیمار خارجی، در نتیجه نقش دوگانه آن هم

۱ آورده شده است. در مورد شرایط آب‌وهوا طی دو سال زراعی مشخص شد که متوسط درجه حرارت در سال دوم کمتر از سال اول بود (۱/۱۷ درجه سانتی‌گراد خنک‌تر). متوسط درجه حرارت در خرداد سال اول که مطابق بود با زمان گلدهی گلرنگ، حدود ۲/۷۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌تر از خرداد در سال دوم بود. همچنین متوسط میزان بارندگی در سال دوم، ۵۲/۳۶٪ کمتر از کمتر بود نسبت به سال اول. میزان بارندگی در هر دو سال در ماه خرداد ناچیز بود. بنابراین بعد از آبیاری تا رسیدن به ۸۵ درصد تخلیه رطوبت از ظرفیت زراعی، باران مؤثری در طی گلدهی رخ نداد و دوره تنش خشکی القا شده طی دو سال زراعی به وسیله بارندگی، تحت تأثیر قرار نگرفت. در نتیجه در سال دوم، شرایط تنش محیطی از جمله فقدان بارندگی در طی دوره گلدهی و گرده افشانی در سال دوم از سال اول بیشتر بود. بنابراین برای جلوگیری از تکرار، این موضوع در ارائه نتایج مربوط به صفات مورد بررسی قید نخواهد شد.

در کل آزمایش‌های انجام گرفته، ۲ توده بذری شامل بذور گلرنگ رقم گلدشت، انبارشده و نیز بذور تازه برداشت‌شده مورد استفاده قرار گرفت. در سال اول کشت (۱۳۹۵) جهت تیمار بذور انبارشده از بذور گلرنگ تولیدشده در سال ۱۳۸۷ استفاده گردید و برای تیمار بذور تازه برداشت‌شده از بذور تولید سال ۱۳۹۵ تهیه‌شده از بخش دانه‌های روغنی مؤسسه اصلاح نهال و بذور استفاده گردید. همچنین در سال دوم کشت (۱۳۹۶) جهت تیمار بذور انبارشده از بذور تولیدشده در سال ۱۳۸۸ استفاده گردید و نیز جهت تیمار بذور تازه برداشت‌شده از بذور تولیدشده سال ۱۳۹۶ حاصل از برداشت محصول سال اول، استفاده گردید. بذور انبارشده گلرنگ رقم گلدشت، به مدت ۸ سال در شرایط انبارداری طبیعی نگهداری شده بودند. شرایط انبار عبارت بود از دمای ۲۰-۲۸ درجه سانتی‌گراد، و رطوبت نسبی ۵۵ تا ۶۰ درصد. همچنین ماده ملاتونین (N-استیل-۵-متوکسی تریپتامین) استفاده شده متعلق به شرکت سیگما آلدریخ بود.

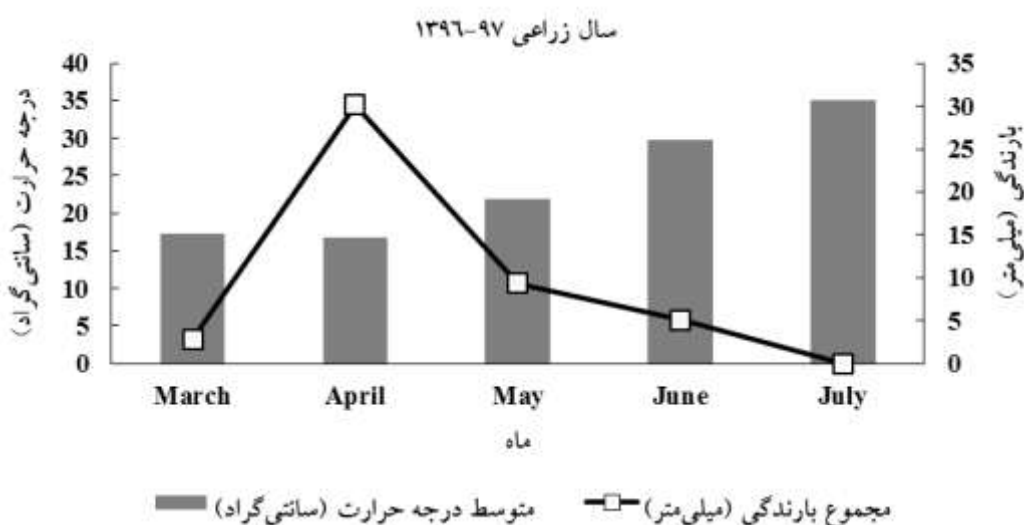
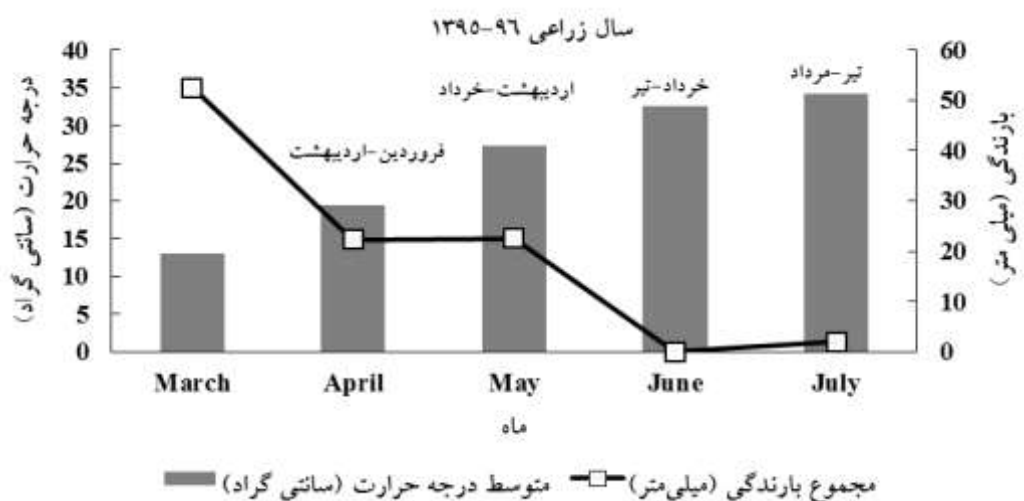
برای تعیین مراحل فنولوژیک رشد گلرنگ، از مقیاس BBCH مطرح‌شده برای گلرنگ، استفاده گردید (Flemmer et

بذور با کیفیت مختلف گلرنگ، در شرایط کمبود آب، آزمایشی به صورت مزرعه‌ای در دو سال زراعی ۱۳۹۵-۹۶ و ۱۳۹۶-۹۷ در مزرعه آموزشی پژوهشی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران انجام گرفت. همچنین آزمایش‌های بیوشیمیایی در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد انجام گرفت. طرح آزمایشی به صورت اسپلیت-فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام گرفت. عوامل مورد استفاده عبارت بودند از دو سطح تنش خشکی (آبیاری معمولی یا آبیاری بعد از ۵۰ درصد تخلیه رطوبت از ظرفیت زراعی خاک) و آبیاری بعد از ۸۵ درصد تخلیه رطوبت از ظرفیت زراعی خاک در مرحله گلدهی) که در کرت‌های اصلی قرار گرفتند. کرت‌های فرعی، شامل چهار تیمار بودند که عبارت بودند از از کیفیت بذر (بذور انبارشده و بذور تازه برداشت‌شده) و محلول پاشی (۱- شاهد: محلول پاشی با آب مقطر و ۲- محلول پاشی ملاتونین ۰/۲ میلی‌مولار).

مزرعه آموزشی-پژوهشی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران واقع در منطقه قزلاق از توابع شهرستان پاکدشت در عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۲۸ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۳۶ دقیقه شرقی قرار دارد. این منطقه طبق طبقه‌بندی اقلیمی دومارتن جز مناطق خشک محسوب می‌شود که در آن میانگین بارندگی سالیانه ۱۴۱ میلی‌متر، دمای متوسط سالانه ۱۵/۶ درجه سانتیگراد و متوسط ارتفاع از سطح دریا در آن حدود ۱۰۲۰ متر است. مشخصات فیزیکی-شیمیایی خاک مکان آزمایش در جدول ۱ آورده شده است. اندازه‌گیری میزان نیتروژن کل در خاک با استفاده از روش کج‌دال (Bremner, 1960)، اندازه‌گیری میزان فسفر قابل دسترس در خاک با استفاده از روش اولسن (Olsen et al., 1954)، پتاسیم قابل دسترس در خاک با استفاده از روش فلیم فتومتری (Mehlich, 1953) انجام گرفت. برای اندازه‌گیری عناصر آهن، روی، منگنز و مس از روش جذب اتمی استفاده گردید (Tandon, 2005). میزان کربن آلی خاک نیز با استفاده از اسید سولفوریک و بر طبق روش والکی-بلک اندازه‌گیری گردید (Walkley and Black, 1934). همچنین وضعیت آب و هوای دوساله در شکل

جدول ۱- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

کربن آلی %	منگنز	مس	روی	آهن	پتاسیم قابل جذب	فسفر قابل جذب	نیترژن کل %	EC ds/m	pH	بافت خاک
۱/۴	۸/۹	۰/۸۳	۲/۳	۴/۲۳	۷۳۲	۷۹	۰/۱۴	۷/۵۷	۸/۲۱	لومی-رسی



شکل ۱- تغییرات آب و هوایی مزرعه قزلاق در طی دو سال آزمایش مزرعه‌ای

اعمال تنش خشکی در این مرحله انجام گرفت به طوری که کرت‌های شاهد تا پایان دوره رشد زمانی آبیاری شدند که ۵۰ درصد رطوبت از ظرفیت مزرعه تخلیه شده بود اما کرت‌های تنش خشکی، زمانی آبیاری شدند که ۸۵ درصد رطوبت از ظرفیت مزرعه تخلیه شده بود. میزان رطوبت خاک براساس منحنی رطوبت خاک تعیین شد که نشان‌دهنده ارتباط بین

جهت اعمال تنش خشکی، به دلیل اینکه مرحله گلدهی حساس‌ترین مرحله نسبت به کم آبی است، این مرحله به عنوان زمان اعمال تنش خشکی مدنظر قرار گرفت.

مطابق نظام کددهی BBCH، مرحله گلدهی در گلرنگ زمانی بود که ۵۰ درصد گل‌های گلرنگ باز می‌شوند که حدود ۷۵ روز پس از کاشت بود (کد ۶۵) که بر این اساس، زمان

$$a = \text{کلروفیل} = [12.7 (D663) - 2.69 (D645)] \times \frac{V}{1000W}$$

$$b = \text{کلروفیل} = [22.9 (D645) - 4.68 (D663)] \times \frac{V}{1000W}$$

$$\text{کلروفیل کل} = [20.2 (D645) - 8.02 (D663)] \times \frac{V}{1000W}$$

غلظت کاروتنوئید نیز طبق روش (Lichtenthaler, 1987)،

با استفاده از فرمول زیر، محاسبه شد:

$$\text{کاروتنوئید} = A_{470-1/8} / 198 - A_{645-0/2} / 198$$

جهت اندازه‌گیری غلظت فلاونوئیدهای برگ، ۰/۲ گرم بافت گیاهی با ۳ میلی‌لیتر اتانول اسید (که شامل اتانول و استیک اسید به نسبت ۹۹ به ۱ است) ساییده و سپس سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از سرد شدن توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر OPTIZEN 3220UV ساخت کشور کره جنوبی در سه طول‌موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت، از ضریب خاموشی ( $33000 \text{ cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$ ) استفاده گردید (Krizek *et al.*, 1993). جهت سنجش غلظت آنتوسیانین، مقدار ۰/۲ گرم از برگ را برداشته و در ۳ میلی‌لیتر متانول اسیدی که شامل متانول و کلریدریک اسید به نسبت ۹۹ به ۱ است به‌طور کامل ساییده شد، سپس عصاره حاصل سانتریفیوژ شده و محلول رویی به مدت یک شب در تاریکی قرار گرفت. سپس میزان جذب در ۵۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت، از ضریب خاموشی ( $33000 \text{ cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$ ) استفاده گردید (Wagner, 1979).

برای اندازه‌گیری قندهای محلول نمونه‌های برگ منجمد به میزان ۰/۲ گرم در ۳ میلی‌لیتر آب مقطر در هاون چینی، عصاره‌گیری شده و سپس محلول همگن حاصل به کمک کاغذ صافی صاف شد. برای اندازه‌گیری قند نمونه، به ۵۰ میکرولیتر از همگن صاف شده ۰/۵ میلی‌لیتر فنل ۵٪ و ۲/۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸٪ اضافه گردید. بلافاصله بعد از افزودن اسید سولفوریک، یک واکنش گرمازا همراه با تولید رنگ نارنجی ایجاد می‌شود که تولید حرارت زیادی می‌کند. بنابراین ضروری است بعد از افزودن اسید، مخلوط واکنش ۱۰ دقیقه در دمای

پتانسیل آب خاک و محتوای رطوبت خاک بود (Saxton *et al.*, 1986). مطابق این روش، مقدار رطوبت خاک در ظرفیت مزرعه ۰/۳۱۶۸ و رطوبت خاک در نقطه پژمردگی، ۰/۱۵۸۴ گرم در متر مکعب تعیین شد. همچنین محلول‌پاشی ملاتونین در مزرعه، در کد ۶۵ نظام BBCH، انجام گرفت. محلول‌پاشی به‌صورت یکبار اعمال انجام گردید، برای اطمینان از نفوذ محلول به برگ‌ها و نیز افزایش قدرت نفوذ، از سورفاکتانت توپین ۲۰ با غلظت ۱۰ درصد استفاده گردید. برای اندازه‌گیری رطوبت خاک از روش وزنی استفاده شد (Jones, 2007; Carter and Gregorich, 2008). بدین منظور، ۴۸ ساعت بعد از آبیاری، اقدام به برداشت نمونه خاک از عمق توسعه ریشه (صفر تا ۳۰ و ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متر) گردید. نمونه‌های برداشت شده بلافاصله وزن و جهت تعیین درصد رطوبت، به آن به دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد، منتقل شد. بنابراین قبل از آبیاری مجدد، اجازه داده شد تا رطوبت خاک در عمق ریشه به ۸۵ درصد تخلیه رطوبت ظرفیت زراعی برسد. بنابراین زمان آبیاری برای سطوح آبیاری ۵۰ و ۸۵ درصد تخلیه از حد رطوبت ظرفیت زراعی به ترتیب، زمانی بود که رطوبت خاک در عمق ۳۰-۶۰ سانتی‌متر، به ۱۱/۵ و ۵/۷۵ درصد و در عمق ۶۰-۳۰ سانتی‌متر، به ۱۴ و ۷ درصد رسید. پس از پایان مرحله گلدهی و قبل از شروع مرحله پرشدن دانه (BBCH= 71) نمونه‌برداری برگ‌گی جهت اندازه‌گیری خصوصیات بیوشیمیایی انجام گرفت. برای سنجش غلظت کلروفیل ۰/۲ گرم نمونه برگ‌گی در استون ۸۰٪ عصاره‌گیری شد (Lichtenthaler, 1987). سپس عصاره حاصل را با استفاده از محلول استون ۸۰٪ در داخل استوانه مدرج به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. جذب نوری کلروفیل a و b به ترتیب در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر در دستگاه اسپکتروفوتومتر OPTIZEN 3220UV ساخت کشور کره جنوبی خوانده شد و با استفاده از روابط مربوطه غلظت کلروفیل a، b و کلروفیل کل برحسب میلی‌گرم بر گرم برگ تازه به‌دست آمد.

غلظت کلروفیل‌های a و b از روابط زیر به‌دست آمد (Lichtenthaler, 1987):

اتاق خنک شود. منحنی استاندارد با استفاده از غلظت‌های مختلف گلوکز، زایلوز و مانوز از صفر تا ۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر ترسیم گردید (Dubois et al., 1956). به منظور انجام محاسبات آماری از نرم‌افزار آماری (9.4) SAS استفاده گردید. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از روش برش‌دهی اثر متقابل (LSMEANS) توسط دستور PDIFF انجام گردید.

### نتایج و بحث

نتایج برش‌دهی اثر متقابل تنش  $\times$  بذر نشان داد که با وقوع تنش خشکی، میزان کلروفیل a در گیاهان حاصل از بذر تازه برداشت‌شده به‌طور معنی‌داری کاهش یافت به‌طوری‌که در مقایسه با گیاهان حاصل از بذر انبارشده، ۲۹/۳۳ درصد افت نشان داد (جدول ۲). همچنین برش‌دهی اثر متقابل سه‌گانه در سال دوم نیز نشان داد که در شرایط بدون تنش در گیاهان حاصل از بذر انبارشده، تفاوت معنی‌داری در محلول‌پاشی ملاتونین با عدم محلول‌پاشی آن مشاهده نشد اما بذر تازه برداشت‌شده به محلول‌پاشی پاسخ مثبت دادند به‌طوری‌که محلول‌پاشی ملاتونین، باعث افزایش میزان کلروفیل a به مقدار ۳۳/۳۳ درصد در مقایسه با شاهد (محلول‌پاشی با آب) شد (جدول ۵).

نتایج برش‌دهی اثر متقابل تنش  $\times$  محلول‌پاشی در سال دوم نیز نشان داد که در شرایط بدون تنش، تفاوت معنی‌داری بین محلول‌پاشی ملاتونین عدم مصرف آن وجود نداشت اما با وقوع تنش خشکی، محلول‌پاشی ملاتونین، باعث کاهش کلروفیل b شد به‌طوری‌که در مقایسه با شاهد، میزان کلروفیل b را ۳۳/۰۱ درصد کاهش داد (جدول ۴). همچنین برش‌دهی اثر متقابل بذر  $\times$  محلول‌پاشی مشخص کرد که در گیاهان حاصل از بذر انبارشده، تفاوت معنی‌داری از لحاظ محلول‌پاشی ملاتونین و عدم مصرف آن وجود نداشت اما در گیاهان حاصل از بذر تازه برداشت‌شده، محلول‌پاشی ملاتونین باعث کاهش ۲۵/۶۴ درصدی محتوای کلروفیل b شد (جدول ۴).

برش‌دهی اثر متقابل تنش  $\times$  بذر در سال اول مشخص کرد

که در شرایط بدون تنش، تفاوت معنی‌داری بین بذر انبارشده و تازه برداشت‌شده وجود نداشت اما با وقوع تنش خشکی، گیاهان حاصل از بذر تازه برداشت‌شده دارای مقدار کمتری کلروفیل کل بودند به‌طوری‌که در مقایسه با بذر انبارشده، به میزان ۲۴/۷۸ درصد، میزان کلروفیل کل کمتر بود (جدول ۲). برش‌دهی اثر متقابل سه‌گانه در سال دوم نشان داد که در شرایط بدون تنش، در هر دو نوع کیفیت بذر، تفاوت معنی‌داری از لحاظ محلول‌پاشی ملاتونین و عدم مصرف آن وجود نداشت. با وقوع تنش خشکی در گیاهان حاصل از بذر انبارشده، با وجود بالاتر بودن میزان کلروفیل کل با محلول‌پاشی ملاتونین، اما تفاوت معنی‌داری با عدم مصرف ملاتونین مشاهده نشد اما در گیاهان حاصل از بذر تازه برداشت‌شده، محلول‌پاشی ملاتونین به شدت میزان کلروفیل کل را کاهش داد به‌طوری‌که در مقایسه با شاهد، ۴۴/۸۵ درصد، میزان کلروفیل کل کاهش نشان داد (جدول ۵).

همچنین در سال اول، محلول‌پاشی با ملاتونین، میزان کاروتنوئیدهای محلول برگ را افزایش داد اما در سال دوم، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. برش‌دهی اثر متقابل تنش  $\times$  بذر در سال اول نشان داد که در شرایط بدون تنش، تفاوت معنی‌داری بین دو نوع کیفیت بذر از لحاظ میزان کاروتنوئیدهای محلول برگ وجود نداشت اما با وقوع تنش خشکی در گیاهان حاصل از بذر تازه برداشت‌شده، میزان کاروتنوئیدهای محلول با ۲/۹۱۵ (میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) کمتر از گیاهان حاصل از بذر انبارشده بود به‌طوری‌که در مقایسه با بذر انبارشده، مقدار کاروتنوئیدهای محلول را ۲۱/۹۱ درصد کاهش داده بود (جدول ۲).

برش‌دهی اثر متقابل سه‌گانه در سال دوم نشان داد که در شرایط بدون تنش، در هر دو نوع کیفیت بذر، تفاوت معنی‌داری بین محلول‌پاشی ملاتونین و عدم مصرف آن وجود نداشت. در زمان وقوع تنش خشکی نیز گیاهان حاصل از بذر انبارشده پاسخی به محلول‌پاشی ملاتونین ندادند اما در گیاهان حاصل از بذر تازه برداشت‌شده، محلول‌پاشی با ملاتونین، میزان کاروتنوئیدهای محلول برگ را تا ۴۶/۸۱ درصد در

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرهای متقابل دو گانه صفات بیوشیمیایی محلول‌پاشی ملاتونین در سال اول

تنش	کیفیت بذر	محلول‌پاشی	کاروتنوئید	کلروفیل کل	کلروفیل a
بدون تنش	انبارشده	۲/۸۰۶ <sup>a</sup>	۱/۲۸۴ <sup>a</sup>	۰/۸۷۸ <sup>a</sup>	
	تازه برداشت‌شده	۲/۷۵۰ <sup>a</sup>	۱/۲۶۸ <sup>a</sup>	۰/۹۱۴ <sup>a</sup>	
تنش خشکی	انبارشده	۳/۷۳۳ <sup>a</sup>	۱/۷۱۱ <sup>a</sup>	۱/۲۲۷ <sup>a</sup>	
	تازه برداشت‌شده	۲/۹۱۵ <sup>b</sup>	۱/۲۸۷ <sup>b</sup>	۰/۸۶۷ <sup>b</sup>	
		فلاوونوئید ۳۳۰		فلاوونوئید ۳۰۰	
بدون تنش	شاهد (آب مقطر)	۰/۰۵۰۲ <sup>b</sup>	۰/۰۵۱۱ <sup>b</sup>		
	ملاتونین	۰/۰۸۸۳ <sup>a</sup>	۰/۰۹۰۵ <sup>a</sup>		
تنش خشکی	شاهد (آب مقطر)	۰/۱۴۶ <sup>a</sup>	۰/۱۵۰۵ <sup>a</sup>		
	ملاتونین	۰/۱۳۱ <sup>a</sup>	۰/۱۳۴۲ <sup>a</sup>		

در هر ستون و هر سطح، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون برش‌دهی اثر متقابل در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند. واحد کاروتنوئید، کلروفیل کل و کلروفیل a: میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ. واحد فلاوونوئیدها: میکرومول بر گرم وزن تر برگ

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرهای متقابل سه گانه صفات بیوشیمیایی محلول‌پاشی ملاتونین در سال اول

تنش	کیفیت بذر	محلول‌پاشی	آنتوسیانین	مانوز	فلاوونوئید ۲۷۰
بدون تنش	انبارشده	شاهد (آب مقطر)	۰/۸۲۸ <sup>b</sup>	۶/۸۲۸ <sup>b</sup>	۰/۰۴۹ <sup>a</sup>
	تازه برداشت‌شده	ملاتونین	۱/۳۷۳ <sup>a</sup>	۱۲/۶۰۴ <sup>a</sup>	۰/۰۵۸ <sup>a</sup>
تنش خشکی	انبارشده	شاهد (آب مقطر)	۰/۷۰۸ <sup>b</sup>	۷/۰۱۳ <sup>a</sup>	۰/۱۷۷ <sup>a</sup>
	تازه برداشت‌شده	ملاتونین	۰/۹۹۴ <sup>a</sup>	۷/۹۶۲ <sup>a</sup>	۰/۱۵۸ <sup>a</sup>
بدون تنش	انبارشده	شاهد (آب مقطر)	۱/۱۴۳ <sup>b</sup>	۸/۲۱۷ <sup>a</sup>	۰/۰۶۳ <sup>b</sup>
	تازه برداشت‌شده	ملاتونین	۱/۲۹۴ <sup>a</sup>	۸/۷۰۳ <sup>a</sup>	۰/۱۳۸ <sup>a</sup>
تنش خشکی	انبارشده	شاهد (آب مقطر)	۰/۹۰۳ <sup>b</sup>	۵/۸۴۴ <sup>a</sup>	۰/۲۰۹ <sup>a</sup>
	تازه برداشت‌شده	ملاتونین	۱/۰۵۲ <sup>a</sup>	۷/۲۲۲ <sup>a</sup>	۰/۱۶۳ <sup>b</sup>

در هر ستون و هر سطح، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون برش‌دهی اثر متقابل در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند. واحد آنتوسیانین و فلاوونوئید و مانوز: میکرومول بر گرم وزن تر برگ

فقط تحت شرایط تنش خشکی شدید تحت تأثیر قرار می‌گیرد که شدت تنش بسته به نوع گونه گیاهی و میزان تحمل آن متفاوت است (Flexas et al., 2002).

نتایج مشخص کرد که محلول‌پاشی ملاتونین در تنش خشکی موجب کاهش میزان کلروفیل b گردید. به نظر می‌رسد غلظت زیاد ملاتونین در کاهش میزان کلروفیل نقش داشته

مقایسه با شاهد، کاهش داد (جدول ۵). گزارش‌های زیادی در مورد کاهش کلروفیل تحت تنش خشکی است (Din et al., 2011; Mona et al., 2017; Dugasa et al., 2019). همچنین گزارش‌هایی نیز موجود است مبنی بر اینکه محتوای کلروفیل برگ به‌طور معنی‌داری در طی دوره تنش خشکی تغییر نکرد (Ping et al., 2015). پیش‌تر گزارش شده که محتوای کلروفیل

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرهای متقابل دو گانه صفات بیوشیمیایی محلول پاشی ملاتونین در سال دوم

تنش	کیفیت بذر	پاشی محلول	مانوز	زایلوز
بدون تنش	انبارشده		۷/۸۷۶ <sup>b</sup>	۶/۶۶ <sup>b</sup>
تنش خشکی	تازه برداشت شده		۱۰/۵۷۸ <sup>a</sup>	۹/۰۰۴ <sup>a</sup>
	انبارشده		۱۲/۱۳۵ <sup>a</sup>	۱۰/۶۹۶ <sup>a</sup>
	تازه برداشت شده		۱۲/۰۰۸ <sup>a</sup>	۱۰/۳۱۳ <sup>a</sup>
			مانوز	زایلوز
بدون تنش	شاهد (آب مقطر)		۱۰/۲۲۵ <sup>a</sup>	۸/۷۵۸ <sup>a</sup>
	ملاتونین		۸/۲۲۹ <sup>b</sup>	۷/۱۰۷ <sup>a</sup>
تنش خشکی	شاهد (آب مقطر)		۱۴/۷۱۶ <sup>a</sup>	۱۲/۹۰۱ <sup>a</sup>
	ملاتونین		۹/۴۲۷ <sup>b</sup>	۸/۱۰۷ <sup>b</sup>
			کلروفیل b	فلاوونوئید ۲۷۰
	انبارشده	شاهد (آب مقطر)	۰/۲۵۰ <sup>a</sup>	۰/۳۵۳ <sup>a</sup>
		ملاتونین	۰/۳۰۷ <sup>a</sup>	۰/۳۵۵ <sup>a</sup>
	تازه برداشت شده	شاهد (آب مقطر)	۰/۳۰۶ <sup>a</sup>	۰/۴۹۹ <sup>a</sup>
		ملاتونین	۰/۲۳۹ <sup>a</sup>	۰/۳۹۸ <sup>b</sup>

در هر ستون و هر سطح، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون برش‌دهی اثر متقابل در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند. واحد کلروفیل b: میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ. واحد فلاوونوئیدها، مانوز و زایلوز: میکرومول بر گرم وزن تر برگ

کیفیت بذر نقش تعیین‌کننده‌ای در شرایط تنش خشکی داشت به طوری که در شرایط تنش خشکی محلول پاشی ملاتونین موجب کاهش میزان کاروتنوئیدها در گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت شده گردید اما گیاهان حاصل از بذور انبار شده، واکنشی نشان ندادند. کاروتنوئیدها به وسیله پخش کردن انرژی برانگیخته اضافی به صورت گرما، حافظ دستگاه فتوسنتزی هستند (Verma and Mishra, 2005). همچنین کاروتنوئیدها ممکن است نقش ویژه‌ای در تحمل به اثرات زیان‌بار تنش خشکی به وسیله حفظ فعالیت‌های فتوسنتزی ضروری برای رشد گیاه ایفا کنند (Abid et al., 2018). گزارش شده است که بیشترین میزان کاروتنوئید در گیاهان قرار گرفته در معرض تنش کمبود آب مشاهده گردید (Slama et al., 2015). کاروتنوئید مشخص شده است که به عنوان یک آنتی‌اکسیدانت غیرآنزیمی، توانایی پاکسازی اکسیژن منفرد را

است. مشخص شده است که کاربرد ملاتونین بسیار وابسته است به غلظت مورد استفاده (Campos et al., 2019). در همین رابطه، گزارش شده است که غلظت زیاد ملاتونین موجب کاهش میزان کلروفیل می‌شود (Sarpoulou et al., 2012). میزان بیش از اندازه ملاتونین ممکن است موجب پراکسیداسیون کلروپلاست‌ها و تخریب ساختار و عملکرد آنها شود (Sarpoulou et al., 2012). به علاوه پیشنهاد شده است که ملاتونین ممکن است نقش ویژه‌ای در فعالیت آنزیم تجزیه کننده کلروفیل داشته باشد، آنزیم کلروفیلاز و فتوفورید-آ-اکسیژناز (Sarpoulou et al., 2012). نتایج مشابهی نیز قبلاً گزارش شده است (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2019). گزارش‌های دیگری هم مبنی بر تحت تأثیر قرار نگرفتن کلروفیل تحت تنش خشکی وجود دارد (Gurumurthy et al., 2019).



جدول ۵- مقایسه میانگین اثرهای متقابل سه گانه صفات بیوشیمیایی محلول‌پاشی ملاتونین در سال دوم

تنش	کیفیت بذر	محلول‌پاشی	فلاونونوئید ۳۳۰	فلاونونوئید ۳۰۰	آنتوسیانین	کاروتنوئید	کلروفیل کل	کلروفیل a	گلوز
بدون تنش	انبارشده	شاهد (آب‌مقطر)	۰/۲۵۶ <sup>a</sup>	۰/۲۶۹ <sup>a</sup>	۰/۰۷۸ <sup>a</sup>	۰/۶۴۰ <sup>a</sup>	۰/۳۳۴ <sup>a</sup>	۰/۱۱۷ <sup>a</sup>	۱۱/۵۳۹ <sup>a</sup>
	تازه برداشت‌شده	ملاتونین	۰/۲۹۲ <sup>a</sup>	۰/۲۹۷ <sup>a</sup>	۰/۰۸۲ <sup>a</sup>	۰/۷۰۷ <sup>a</sup>	۰/۴۱۲ <sup>a</sup>	۰/۱۴۲ <sup>a</sup>	۱۱/۰۵۹ <sup>a</sup>
تنش خشکی	انبارشده	شاهد (آب‌مقطر)	۰/۴۰۹ <sup>a</sup>	۰/۴۱۷ <sup>a</sup>	۰/۰۷۹ <sup>a</sup>	۰/۹۳۶ <sup>a</sup>	۰/۴۳۷ <sup>a</sup>	۰/۱۵۳ <sup>a</sup>	۲۳/۰۶۲ <sup>a</sup>
	تازه برداشت‌شده	ملاتونین	۰/۲۸۳ <sup>b</sup>	۰/۲۹۷ <sup>b</sup>	۰/۰۸۳ <sup>a</sup>	۰/۹۹۲ <sup>a</sup>	۰/۴۷۹ <sup>a</sup>	۰/۱۳۴ <sup>a</sup>	۱۳/۶۴۲ <sup>b</sup>
بدون تنش	انبارشده	شاهد (آب‌مقطر)	۰/۳۸۲ <sup>a</sup>	۰/۳۸۳ <sup>a</sup>	۱/۳۰۶ <sup>a</sup>	۱/۱۳۲ <sup>a</sup>	۰/۶۱۶ <sup>a</sup>	۰/۲۲۰ <sup>a</sup>	۲۰/۸۲۷ <sup>a</sup>
	تازه برداشت‌شده	ملاتونین	۰/۳۱۴ <sup>b</sup>	۰/۳۱۵ <sup>b</sup>	۰/۰۶۹ <sup>b</sup>	۰/۶۰۲ <sup>b</sup>	۰/۳۳۹ <sup>b</sup>	۰/۱۱۷ <sup>b</sup>	۱۴/۴۰۳ <sup>b</sup>

در هر ستون و هر سطح، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون برش‌دهی اثر متقابل در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند. واحد کلروفیل a، کلروفیل کل و کاروتنوئید: میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ. واحد فلاونونوئیدها، آنتوسیانین و گلوز: میکرومول بر گرم وزن تر برگ

بذور تازه برداشت‌شده نیز محلول‌پاشی با ملاتونین باعث کاهش ۶۷/۹۹ درصدی میزان آنتوسیانین گردید (جدول ۵).

نتایج برش‌دهی اثر متقابل سه گانه در سال اول نشان داد که در شرایط بدون تنش در گیاهان حاصل از بذور انبارشده، تفاوت معنی‌داری بین دو سطح محلول‌پاشی وجود نداشت اما در گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت‌شده، محلول‌پاشی ملاتونین باعث افزایش ۱۱۹/۵۳ درصدی میزان فلاونونوئید ۲۷۰ نانومتر در مقایسه با شاهد (محلول‌پاشی با آب) گردید (جدول ۳). با وقوع تنش خشکی، در گیاهان حاصل از بذور انبارشده، تفاوت معنی‌داری بین دو سطح محلول‌پاشی وجود نداشت اما در گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت‌شده، محلول‌پاشی با ملاتونین موجب کاهش میزان فلاونونوئید ۲۷۰ نانومتر شد به طوری که میزان این فلاونونوئید در مقایسه با شاهد، ۲۱/۸۴ درصد کاهش نشان داد (جدول ۳). برش‌دهی اثر تنش x محلول‌پاشی در سال دوم نیز نشان داد که در شرایط بدون تنش، تفاوت معنی‌داری بین سطوح محلول‌پاشی وجود نداشت اما با وقوع تنش خشکی، محلول‌پاشی با ملاتونین باعث کاهش میزان فلاونونوئید ۲۷۰ نانومتر گردید (جدول ۴).

نتایج نشان داد که در هر دو سال آزمایش، محلول‌پاشی ملاتونین تأثیری در میزان فلاونونوئید ۳۰۰ نانومتر نداشت.

دارد (Mittler, 2017). گزارش شده است که به طور جالبی، غلظت بالای ملاتونین غلظت کاروتنوئیدها، آنتی‌اکسیدانت‌های قابل حل در چربی که در کلروپلاست یافت می‌شود را افزایش داد (Munne-Bosch and Penuelas, 2003). بنابراین ملاتونین تا حد زیادی می‌تواند بیوستتزی کاروتنوئید را برای کاهش آسیب اکسیداتیو نوری القا کند (Liang et al., 2019).

نتایج برش‌دهی اثرهای متقابل سه‌گانه نشان داد که در شرایط بدون تنش، در گیاهان حاصل از بذور انبارشده در سال اول، محلول‌پاشی با ملاتونین با ۱/۳۷۳ (میکرومول بر گرم وزن تر برگ) بیشترین مقدار را داشت که در مقایسه با شاهد، میزان آنتوسیانین را ۶۵/۷۲ درصد افزایش داده بود (جدول ۳). اما در سال دوم، با وجود بیشتر بودن میزان آنتوسیانین با محلول‌پاشی ملاتونین، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۵). در بذور تازه برداشت‌شده نیز در سال اول، محلول‌پاشی ملاتونین مؤثر بود و باعث افزایش میزان آنتوسیانین در مقایسه با شاهد شد اما در سال دوم، تفاوت معنی‌داری دیده نشد. با وقوع تنش خشکی، در سال اول، در دو نوع کیفیت بذر، روند قبل تکرار شد و محلول‌پاشی با ملاتونین، باعث افزایش میزان آنتوسیانین شد اما در سال دوم، در گیاهان حاصل از بذور انبارشده، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و در گیاهان حاصل از

میزان آنتوسیانین را افزایش داد. مشخص شده که تنش آب می‌تواند گیاهان را برای تولید مواد غیرآنزیمی مانند آنتوسیانین‌ها را تحریک کند (Tahkokorpi *et al.*, 2007). گزارش‌های زیادی وجود دارد از اینکه بیوستز آنتوسیانین‌ها به‌طور فعال در شرایط تنش خشکی القا می‌شود (Chakhchar *et al.*, 2018). همچنین نویسندگان زیادی وجود دارند که بیان کرده‌اند که تجمع آنتوسیانین‌ها به‌طور مستقیم با تحمل به خشکی در گونه‌های گیاهی متعدد مرتبط است (Nakabayashi *et al.*, 2014; Yuan *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2019). آنتوسیانین رنگدانه‌ای است با ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی که در حفاظت گیاهان در برابر تنش‌های مختلف نقش دارد (Slama *et al.*, 2015). مشخص شده است که سطوح بیان ژن‌های مسیر بیوستز آنتوسیانین به‌وسیله تیمار با ملاتونین افزایش یافتند (Zhang *et al.*, 2016).

نتایج این آزمایش نشان داد که در شرایط بدون تنش، محلول‌پاشی ملاتونین میزان فلاوونوئیدها را در هر دو نوع کیفیت بذر افزایش داد اما در شرایط تنش، محلول‌پاشی میزان فلاوونوئیدها را کاهش داد. طبق نتایج ما گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت میزان فلاوونوئید کمتر بود. همچنین در شرایط بدون تنش، پاسخ خاصی دیده نشد و در شرایط تنش خشکی واکنش‌ها نمود بیشتری پیدا کردند. به‌نظر می‌رسد در گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت شده، ملاتونین موجب شده تا شرایط تنش خشکی برای گیاه تسهیل شود و به نوعی گیاه تنش را کمتر حس کند، به دلیل تأثیرهای بیان‌شده در فعالیت ملاتونین و گیاه به دلیل اینکه تنش را حس نکرده، دلیلی برای افزایش دادن میزان فلاوونوئیدهای خود در پاسخ به تنش خشکی را ندیده است. همانطور که گزارش شده بعد از آبیگری مجدد و رفع تنش، میزان فلاوونوئیدها کاهش یافت (Ahmed *et al.*, 2015) یعنی حالت عادی برای گیاه، در شرایط بدون تنش، کم بودن میزان فلاوونوئیدهاست.

گزارش شده است که فلاوونوئیدها به‌طور معنی‌داری در دو ژنوتیپ پنبه تحت تنش خشکی افزایش یافتند (Ibrahim *et al.*, 2019). مشخص شده است که ترکیبات فنولیک در خشتی

بررسی برش‌دهی اثر متقابل تنش  $\times$  محلول‌پاشی نشان داد که در سال اول در شرایط بدون تنش، محلول‌پاشی با ملاتونین باعث افزایش میزان فلاوونوئید ۳۰۰ نانومتر در مقایسه با شاهد شد اما با وقوع تنش خشکی، تفاوت معنی‌داری بین محلول‌پاشی با ملاتونین و شاهد (محلول‌پاشی با آب) وجود نداشت (جدول ۲). همچنین برش‌دهی اثر متقابل سه‌گانه در سال دوم مشخص کرد که در شرایط بدون تنش، در هر دو نوع کیفیت بذر، پاسخی به محلول‌پاشی با ملاتونین داده نشد و تفاوت معنی‌داری بین محلول‌پاشی ملاتونین و شاهد وجود نداشت اما به محض وقوع تنش خشکی، در هر دو نوع کیفیت بذر، محلول‌پاشی با ملاتونین باعث کاهش میزان فلاوونوئید ۳۰۰ نانومتر شد، به‌طوری‌که محلول‌پاشی با ملاتونین در گیاهان حاصل از بذور انبارشده به میزان ۲۸/۸۰ درصد و در بذور جدید، ۱۷/۷۴ درصد کاهش در مقایسه با شاهد داشت (جدول ۵).

بررسی برش‌دهی اثر متقابل تنش  $\times$  محلول‌پاشی در سال اول نشان داد که در شرایط بدون تنش، محلول‌پاشی ملاتونین با ۰/۰۸۸۳ (میکرومول بر گرم وزن تر برگ) به‌طور معنی‌داری میزان بیشتری فلاوونوئید ۳۳۰ نانومتر در مقایسه با شرایط شاهد (محلول‌پاشی با آب) داشت، به‌طوری‌که در مقایسه با شاهد، میزان فلاوونوئید ۳۳۰ نانومتر ۳۳۰ را تا ۷۵/۸۹ درصد افزایش داد اما با وقوع تنش خشکی، تفاوت معنی‌داری بین سطوح محلول‌پاشی دیده نشد (جدول ۲). همچنین برش‌دهی اثر متقابل سه‌گانه در سال دوم نشان داد که در شرایط بدون تنش، در هر دو نوع کیفیت بذر، تفاوت معنی‌داری بین سطوح محلول‌پاشی وجود نداشت اما در شرایط تنش خشکی، محلول‌پاشی با ملاتونین، در هر دو نوع کیفیت بذر، میزان فلاوونوئید ۳۳۰ نانومتر را به‌طور معنی‌داری کاهش داد (جدول ۵).

نتایج نشان داد که در شرایط بدون تنش، محلول‌پاشی ملاتونین موجب افزایش میزان آنتوسیانین شد. در شرایط تنش خشکی نیز محلول‌پاشی ملاتونین میزان آنتوسیانین را افزایش داد. محلول‌پاشی ملاتونین در سال اول در شرایط مختلف،

برش‌دهی اثر متقابل در سال دوم نشان داد که در شرایط بدون تنش، در گیاهان حاصل از بذور انبارشده، تفاوت معنی‌داری بین استفاده و عدم استفاده از ملاتونین وجود نداشت اما در گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت‌شده، محلول‌پاشی ملاتونین، میزان زایلوز را ۲۵/۵۴ درصد در مقایسه با شاهد (محلول‌پاشی با آب مقطر)، کاهش داد. با وقوع تنش خشکی، در هر دو نوع کیفیت بذر، محلول‌پاشی ملاتونین موجب کاهش میزان زایلوز شد، به طوری که در گیاهان حاصل از بذور انبارشده، میزان زایلوز ۱۳/۶۴ (میکرومول در گرم وزن تر برگ) و در بذور انبارشده، ۱۴/۴۰۳ (میکرومول در گرم وزن تر برگ) بود که در مقایسه با شاهد، به ترتیب ۴۰/۸۴ و ۳۰/۸۴ درصد، میزان زایلوز کاهش داد (جدول ۴).

بررسی برش‌دهی اثر متقابل تنش × بذر در سال دوم نشان داد که در شرایط بدون تنش، گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت‌شده دارای مقدار بیشتری مانوز بودند اما با وقوع تنش خشکی، تفاوت معنی‌داری بین دو نوع کیفیت بذر وجود نداشت. همچنین در بررسی برش‌دهی اثر متقابل تنش × محلول‌پاشی، نشان داد که در هر دو شرایط تنش و بدون تنش، محلول‌پاشی ملاتونین موجب کاهش میزان مانوز گردید (جدول ۴).

گزارش شده است که در شرایط تنش خشکی، قندهای محلول ابتدا افزایش و سپس کاهش یافتند و هر چه شدت تنش بیشتر شد، محتوای قند نیز بیشتر شد (اما بعد از آبیاری و رفع تنش، قندها کاهش یافتند (Wang et al., 2019)). در طی تنش خشکی، فشار اسمزی سلول‌ها نقش کلیدی در حفظ پتانسیل آب گیاه ایفا می‌کند (Osakabe et al., 2014). گزارش‌های متعددی از افزایش قندهای محلول تحت تنش خشکی و ارتباط مستقیم با تحمل به خشکی وجود دارد (Sperdouli and Moustakas, 2012; Khan et al., 2019). به طور کلی، در شرایط تنش‌های غیرزنده، قندها به عنوان محافظت‌کننده‌های اسمزی و همچنین پایدارکننده غشاها عمل می‌کنند (Sami et al., 2016). گزارش شده است که علاوه بر فروکتوز، گلوکز، ساکارز و قندهای محلول با محلول‌پاشی مواد

سازی رادیکال‌های آزاد، مهارکردن اکسیژن منفرد، یا در تجزیه پراکسیدها نقش حیاتی ایفا می‌کنند (Slama et al., 2015). گزارش‌هایی از کاهش در ترکیب‌های فنولی تحت تنش خشکی وجود دارد (Slama et al., 2015). این پاسخ می‌تواند شرح داده شود به دلیل این حقیقت که تنش کمبود آب موجب تخریب گسترده متابولیسم کلی گیاه از قبیل فتوستتزی، تجمع نشاسته و سنتز پروتئین می‌شود (Hessini et al., 2008). در تضاد با این گزارش‌ها، مشخص شده که بعد از آبیاری مجدد و رفع تنش، میزان فلاوونوئیدها کاهش یافت (Ahmed et al., 2015). با توجه به اینکه زمانی که تنش خشکی وجود نداشته باشد، میزان ترکیب‌های فنولی در سطح پایین است و تنش خشکی موجب می‌شود تا این ترکیب‌ها افزایش یابد، به نظر می‌رسد دلیل کاهش میزان فلاوونوئیدها با استفاده از ملاتونین به دلیل خصوصیات پاک‌کنندگی رادیکال‌های آزاد توسط ملاتونین باشد که شرایط خوبی را برای گیاه فراهم کرده و به نوعی شرایط تنش را خنثی کرده است و گیاه نیازی به تولید ترکیبات فنولیک ندیده است. ثابت شده است که ملاتونین می‌تواند از موجودات در برابر گونه‌های واکنشی اکسیژن حفاظت کند (Gong et al., 2017).

بررسی برش‌دهی اثر متقابل سه‌گانه نشان داد که در سال دوم در شرایط بدون تنش در گیاهان حاصل از بذور انبارشده، تفاوت معنی‌داری بین سطوح محلول‌پاشی مشاهده نشد اما در گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت‌شده، میزان گلوکز تا ۲۵/۵۴ درصد کاهش پیدا کرد. با وقوع تنش خشکی، در هر دو نوع کیفیت بذر، محلول‌پاشی ملاتونین به شدت میزان گلوکز را کاهش داد به طوری که محلول‌پاشی با ملاتونین در بذور انبارشده، ۴۰/۸۴ و در بذور تازه برداشت‌شده، ۳۰/۸۴ درصد میزان گلوکز را در مقایسه با شاهد کاهش داد (جدول ۵). نتایج این آزمایش نشان داد که در سال اول، مقدار زایلوز در خشکی به طور معنی‌داری کمتر از شرایط بدون تنش بود. اما در سال دوم، به طور معکوس، میزان زایلوز در شرایط تنش خشکی، در جایگاه بالاتری بود. در هر دو سال، بین دو نوع کیفیت بذر، تفاوت معنی‌داری از لحاظ میزان زایلوز وجود نداشت.

محلول‌پاشی با غلظت ۰/۲ میلی‌مولار طبق اصول آمار، اکتفا کردیم. بسیاری از پاسخ‌های متفاوت در آزمایش ما ممکن است ناشی از غلظت ملاتونین باشد. به دلیل اینکه ملاتونین ماده‌ای فوق‌العاده وابسته به غلظت است. در مورد کلروفیل a و b در شرایط تنش خشکی، محلول‌پاشی ملاتونین موجب کاهش میزان هر دو کلروفیل در گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت شده گردید و گیاهان حاصل از بذور انبارشده، واکنشی نشان ندادند. به دلیل استفاده از یک غلظت، ممکن است به دلیل واکنش کلروفیل به غلظت‌های مختلف ملاتونین باشد چون همانطور که نشان دادیم، غلظت‌های بالای ملاتونین اثر تخریبی بر کلروفیل دارد. برخلاف گزارش‌های مختلف، میزان فلاوونوئیدها و قندهای محلول با محلول‌پاشی ملاتونین در آزمایش ما کاهش یافت. در این بین نقش کیفیت بذر به طور شاخصی نمود یافت به‌طوری‌که گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت‌شده به ملاتونین واکنش نشان دادند. به‌طور کلی به‌نظر می‌رسد استفاده از ملاتونین می‌تواند با ملایم‌کردن شدت آسیب تنش خشکی، باعث شود گیاه شرایط خوبی جهت ادامه زندگی خود در شرایط سخت داشته باشد. به دلیل اینکه آزمایش ما اولین گزارش در مورد تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین در شرایط مزرعه‌ای است، نیاز است تا غلظت‌های مختلفی از ملاتونین مورد آزمایش قرار گیرد تا برخی از پاسخ‌های متفاوت در آزمایش ما، مورد بررسی بیشتر قرار گیرد.

تنظیم‌کننده رشد، تحت شرایط خشکی افزایش یافتند (Percival and Sacre, 2014). همچنین گزارش‌هایی مبنی بر کاهش میزان قندهای محلول تحت تنش خشکی است (Khan *et al.*, 2019). برخلاف نتایج ما، گزارش شده است که ملاتونین رونویسی ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش متعددی مانند (COR15A, RD22, KIN1) افزایش داد و قندهای محلول از قبیل ساکارز را در آرآبیدوپسیس در شرایط شاهد و تنش تجمع داد (Shi *et al.*, 2015). نتایج آزمایش محلول‌پاشی نیز حاکی از کاهش میزان قندهای محلول با استفاده از محلول‌پاشی با ملاتونین بود. به‌طوری‌که محلول‌پاشی با ملاتونین در هر دو شرایط تنش خشکی و بدون تنش موجب کاهش میزان قندهای محلول گردید. به‌نظر می‌رسد، مقدار کم قندهای محلول در اثر محلول‌پاشی ملاتونین به‌ویژه در شرایط تنش خشکی، به دلیل تسکین شرایط تنش توسط ملاتونین باشد که با ایجاد شرایطی، تأثیر تنش خشکی را بر روی گلرنگ ملایم کرده تا گلرنگ تنش را درک نکند و نیازی به افزایش میزان قندهای خود در پاسخ به تنش خشکی نبیند.

### نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه تا کنون هیچ مطالعه‌ای در رابطه با تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین بر صفات بیوشیمیایی گلرنگ تحت شرایط تنش خشکی در ایران انجام نگرفته است، به همین دلیل تنها به دو سطح یعنی شاهد (محلول‌پاشی با آب مقطر) و

### منابع

- Abid, M., Hakeem, A., Shao, Y., Liu, Y., Zahoor, R., Fan, Y., Suyu, J., Ata-Ul-Karim, S. T., Tian, Z., Jiang, D. and Snider, J. L. (2018) Seed osmopriming invokes stress memory against post-germinative drought stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Environmental and Experimental Botany* 145: 12-20.
- Ahmed, I. M., Nadira, U. A., Bibi, N., Cao, F., He, X., Zhang, G. and Wu, F. (2015) Secondary metabolism and antioxidants are involved in the tolerance to drought and salinity, separately and combined, in Tibetan wild barley. *Environmental and Experimental Botany* 111: 1-12.
- Andrade, E. R., Ribeiro, V. N., Azevedo, C. V., Chiorato, A. F., Williams, T. C. and Carbonell, S. A. (2016) Biochemical indicators of drought tolerance in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Euphytica* 210: 277-289.
- Arnao, M. B. and Hernandez-Ruiz, J. (2019) Melatonin: a new plant hormone and/or a plant master regulator? *Trends in Plant Science* 24: 38-48.
- Arnao, M. B. and Hernandez-Ruiz, J. (2015) Functions of melatonin in plants: a review. *Journal of Pineal Research* 59: 133-150.
- Ashraf, M. H. P. J. C. and Harris, P. J. (2013) Photosynthesis under stressful environments: an overview. *Photosynthetica* 51: 163-190.

- Bowne, J. B., Erwin, T. A., Juttner, J., Schnurbusch, T., Langridge, P., Bacic, A. and Roessner, U. (2012) Drought responses of leaf tissues from wheat cultivars of differing drought tolerance at the metabolite level. *Molecular Plant* 5: 418-429.
- Bremner, J. M. (1960) Determination of nitrogen in soil by the kjeldahl method. *The Journal of Agricultural Science* 55: 11-33.
- Campos, C. N., Avila, R. G., de Souza, K. R. D., Azevedo, L. M. and Alves, J. D. (2019) Melatonin reduces oxidative stress and promotes drought tolerance in young *Coffea arabica* L. plants. *Agricultural Water Management* 211: 37-47.
- Carter, M. R. and Gregorich, E. G. (2008) *Soil sampling and methods of analysis*. 2<sup>nd</sup> edition. CRC Press.
- Chakhchar, A., Lamaoui, M., Aissam, S., Ferradous, A., Wahbi, S., El Mousadik, A., Ibensouda-Koraichi, S., Filali-Maltouf, A. and El Modafar, C. (2018) Using chlorophyll fluorescence, photosynthetic enzymes and pigment composition to discriminate drought-tolerant ecotypes of *Argania spinosa*. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* 152: 356-367.
- Din, J., Khan, S. U., Ali, I. and Gurmani, A. R. (2011) Physiological and agronomic response of canola varieties to drought stress. *Journal of Animal and Plant Sciences* 21: 78-82.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-356.
- Dugasa, M. T., Cao, F., Ibrahim, W. and Wu, F. (2019) Differences in physiological and biochemical characteristics in response to single and combined drought and salinity stresses between wheat genotypes differing in salt tolerance. *Physiologia Plantarum* 165: 134-143.
- Fleming, T. R., Fleming, C. C., Levy, C. C., Repiso, C., Hennequart, F., Nolasco, J. B. and Liu, F. (2019) Biostimulants enhance growth and drought tolerance in *Arabidopsis thaliana* and exhibit chemical priming action. *Annals of Applied Biology* 174: 153-165.
- Flemmer, A. C., Franchini, M. C. and Lindström, L. I. (2015) Description of safflower (*Carthamus tinctorius*) phenological growth stages according to the extended BBCH scale. *Annals of Applied Biology* 166: 331-339.
- Flexas, J. and Medrano, H. (2002) Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Annals of Botany* 89: 183-189.
- Gong, X., Shi, S., Dou, F., Song, Y. and Ma, F. (2017) Exogenous melatonin alleviates alkaline stress in *Malus hupehensis* Rehd. by regulating the biosynthesis of polyamines. *Molecules* 22: 1542.
- Gurumurthy, S., Sarkar, B., Vanaja, M., Lakshmi, J., Yadav, S. K. and Maheswari, M. (2019) Morpho-physiological and biochemical changes in black gram (*Vigna mungo* L. Hepper) genotypes under drought stress at flowering stage. *Acta Physiologiae Plantarum* 41: 42.
- Hessini, K., Ghandour, M., Albouchi, A., Soltani, A., Werner, K. H. and Abdelly, C. (2008) Biomass production, photosynthesis, and leaf water relations of *Spartina alterniflora* under moderate water stress. *Journal of Plant Research* 121: 311-318.
- Ibrahim, W., Zhu, Y. M., Chen, Y., Qiu, C. W., Zhu, S. and Wu, F. (2019) Genotypic differences in leaf secondary metabolism, plant hormones and yield under alone and combined stress of drought and salinity in cotton genotypes. *Physiologia Plantarum* 165: 343-355.
- IPCC, 2014. *Climate Change*. (2014) Synthesis report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (eds. Team, R. K., Pachauri and Meyer, L. A.). Pp. 151. IPCC, Geneva, Switzerland.
- Jones, H. G. (2007) Monitoring plant and soil water status: established and novel methods revisited and their relevance to studies of drought tolerance. *Journal of Experimental Botany* 58: 119-130.
- Khan, M. N., Zhang, J., Luo, T., Liu, J., Ni, F., Rizwan, M., Fahad, S. and Hu, L. (2019) Morpho-physiological and biochemical responses of tolerant and sensitive rapeseed cultivars to drought stress during early seedling growth stage. *Acta Physiologiae Plantarum* 41: 25.
- Krizek, D. T., Kramer, G. F., Upadhyaya, A. and Mirecki, R. M. (1993) UV-B response of cucumber seedlings grown under metal halide and high pressure sodium/deluxe lamps. *Physiologia Plantarum* 88: 350-358.
- Liang, B., Ma, C., Zhang, Z., Wei, Z., Gao, T., Zhao, Q., Ma, F. and Li, C. (2018) Long-term exogenous application of melatonin improves nutrient uptake fluxes in apple plants under moderate drought stress. *Environmental and Experimental Botany* 155: 650-661.
- Liang, D., Ni, Z., Xia, H., Xie, Y., Lv, X., Wang, J., Lin, L., Deng, Q. and Luo, X. (2019) Exogenous melatonin promotes biomass accumulation and photosynthesis of kiwifruit seedlings under drought stress. *Scientia Horticulturae* 246: 34-43.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. In *Methods in Enzymology*, Academic Press 148: 350-382.
- Mehlich, A. (1953) Determination of P, Ca, Mg, K, Na, NH<sub>4</sub>. In *Short Test Methods Used in Soil Testing Division*. North Carolina Soil Test Division 23-89.

- Mittler, R. (2017) ROS are good. *Trends in Plant Science* 22: 11-19.
- Mona, S. A., Hashem, A., Abd\_Allah, E. F., Alqarawi, A. A., Soliman, D. W. K., Wirth, S. and Egamberdieva, D. (2017) Increased resistance of drought by *Trichoderma harzianum* fungal treatment correlates with increased secondary metabolites and proline content. *Journal of Integrative Agriculture* 16: 1751-1757.
- Munne-Bosch, S. and Penuelas, J. (2003) Photo- and antioxidative protection, and a role for salicylic acid during drought and recovery in field-grown *Phillyrea angustifolia* plants. *Planta* 217: 758-766.
- Nakabayashi, R., Yonekura-Sakakibara, K., Urano, K., Suzuki, M., Yamada, Y., Nishizawa, T., Matsuda, F., Kojima, M., Sakakibara, H., Shinozaki, K. and Michael, A. J. (2014) Enhancement of oxidative and drought tolerance in *Arabidopsis* by overaccumulation of antioxidant flavonoids. *The Plant Journal* 77: 367-379.
- Nishizawa, A., Yabuta, Y. and Shigeoka, S. (2008) Galactinol and raffinose constitute a novel function to protect plants from oxidative damage. *Plant Physiology* 147: 1251-1263.
- Olsen, S. R., Cole, C. V., Watanabe, F. S. and Dean, L. A. (1954) Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. U.S. Dept. of Agriculture. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300436954>. Accessed 12 October 2019.
- Osakabe, Y., Osakabe, K., Shinozaki, K. and Tran, L. S. P. (2014) Response of plants to water stress. *Frontiers in Plant Science* 5: 86.
- Paredes, S. D., Korkmaz, A., Manchester, L. C., Tan, D. X. and Reiter, R. J. (2009) Phyto-melatonin: a review. *Journal of Experimental Botany* 60: 57-69.
- Percival, G. C. and Sacre, K. (2014) The influence of soluble carbohydrates, slow-release nitrogen and a plant growth regulator on transplant survival of trees. *Arboricultural Journal: The International Journal of Urban Forestry* 36: 140-160.
- Ping, M. A., Bai, T. H. and Wang, X. Q. (2015) Effects of light intensity on photosynthesis and photoprotective mechanisms in apple under progressive drought. *Journal of Integrative Agriculture* 14: 1755-1766.
- Pollastri, S. and Tattini, M. (2011) Flavonols: old compounds for old roles. *Annals of Botany* 108: 1225-1233.
- Sadeghi, H. and Delaviz, M. (2016) Response of three new *Atriplex* species (*Atriplex* spp.) to drought and its recovery. *Acta Ecologica Sinica* 36: 212-217.
- Sami, F., Yusuf, M., Faizan, M., Faraz, A. and Hayat, S. (2016) Role of sugars under abiotic stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 109: 54-61.
- Sarropoulou, V., Dimassi-Theriou, K., Therios, I. and Koukourikou-Petridou, M. (2012) Melatonin enhances root regeneration, photosynthetic pigments, biomass, total carbohydrates and proline content in the cherry rootstock PHL-C (*Prunus avium* × *Prunus cerasus*). *Plant Physiology and Biochemistry* 61: 162-168.
- Saxton, K. E., Rawls, W., Romberger, J. S. and Papendick, R. I. (1986) Estimating generalized soil-water characteristics from texture 1. *Soil Science Society of America Journal* 50: 1031-1036.
- Shi, H., Jiang, C., Ye, T., Tan, D. X., Reiter, R. J., Zhang, H., Liu, R. and Chan, Z. (2015) Comparative physiological, metabolomic, and transcriptomic analyses reveal mechanisms of improved abiotic stress resistance in bermudagrass [*Cynodon dactylon* (L.) Pers.] by exogenous melatonin. *Journal of Experimental Botany* 66: 681-694.
- Singh, S., Angadi, S. V., Grover, K., Begna, S. and Auld, D. (2016) Drought response and yield formation of spring safflower under different water regimes in the semiarid Southern High Plains. *Agricultural Water Management* 163: 354-362.
- Slama, I., M'Rabet, R., Ksouri, R., Talbi, O., Debez, A. and Abdelly, C. (2015) Water deficit stress applied only or combined with salinity affects physiological parameters and antioxidant capacity in *Sesuvium portulacastrum*. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 213: 69-76.
- Sperdoui, I. and Moustakas, M. (2012) Differential response of photosystem II photochemistry in young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* to the onset of drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 34: 1267-1276.
- Tahkokorpi, M., Taulavuori, K., Laine, K. and Taulavuori, E. (2007) After-effects of drought-related winter stress in previous and current year stems of *Vaccinium myrtillus* L. *Environmental and Experimental Botany* 61: 85-93.
- Tandon, H. L. S. (2005) Methods of analysis of soils, plants, waters, fertilisers and amp; organic manures. Methods of analysis of soils, plants, waters, fertilisers and amp; organic manures. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20063011024>. Accessed 12 October 2019.
- Tattini, M., Galardi, C., Pinelli, P., Massai, R., Remorini, D. and Agati, G. (2004) Differential accumulation of flavonoids and hydroxycinnamates in leaves of *Ligustrum vulgare* under excess light and drought stress. *New Phytologist* 163: 547-561.
- Verma, S. and Mishra, S. N. (2005) Putrescine alleviation of growth in salt stressed *Brassica juncea* by inducing antioxidative defense system. *Journal of Plant Physiology* 162: 669-677.
- Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiology* 64: 88-93.
- Walkley, A. and Black, I. A. (1934) An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37: 29-38.

- Wang, Y., Reiter, R. J. and Chan, Z. (2018) Phytomelatonin: a universal abiotic stress regulator. *Journal of Experimental Botany* 69: 963-974.
- Wang, X., Liu, H., Yu, F., Hu, B., Jia, Y., Sha, H. and Zhao, H. (2019) Differential activity of the antioxidant defence system and alterations in the accumulation of osmolyte and reactive oxygen species under drought stress and recovery in rice (*Oryza sativa* L.) tillering. *Scientific Reports* 9: 8543.
- Ye, J., Wang, S., Deng, X., Yin, L., Xiong, B. and Wang, X. (2016) Melatonin increased maize (*Zea mays* L.) seedling drought tolerance by alleviating drought-induced photosynthetic inhibition and oxidative damage. *Acta Physiologiae Plantarum* 38: 48.
- Yuan, Y., Qi, L., Yang, J., Wu, C., Liu, Y. and Huang, L. (2015) A *Scutellaria baicalensis* R2R3-MYB gene, SbMYB8, regulates flavonoid biosynthesis and improves drought stress tolerance in transgenic tobacco. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 120: 961-972.
- Zaoui, S., Gautier, H., Bancel, D., Chaabani, G., Wasli, H., Lachaal, M. and Karray-Bouraoui, N. (2016) Antioxidant pool optimization in *Carthamus tinctorius* L. leaves under different NaCl levels and treatment durations. *Acta Physiologiae Plantarum* 38: 187.
- Zhang, N., Sun, Q., Li, H., Li, X., Cao, Y., Zhang, H., Li, S., Zhang, L., Qi, Y., Ren, S. and Zhao, B. (2016) Melatonin improved anthocyanin accumulation by regulating gene expressions and resulted in high reactive oxygen species scavenging capacity in cabbage. *Frontiers in Plant Science* 7: 197.
- Zhang, N., Sun, Q., Zhang, H., Cao, Y., Weeda, S., Ren, S. and Guo, Y. D. (2015) Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants. *Journal of Experimental Botany* 66: 647-656.
- Zou, J. N., Jin, X. J., Zhang, Y. X., Ren, C. Y., Zhang, M. C. and Wang, M. X. (2019) Effects of melatonin on photosynthesis and soybean seed growth during grain filling under drought stress. *Photosynthetica* 57: 512-520.

## A study on the photosynthetic pigments and phenolic compounds of safflower in response to foliar application of melatonin under water deficit condition

Siavash Heshmati<sup>1</sup>, Gholam Abbas Akbari<sup>1\*</sup>, Elias Soltani<sup>1</sup>, Majid Amini Dehaghi<sup>2</sup>, Kayvan Fathi Amirkhiz<sup>2</sup> and Keyvan Maleki<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Agronomy and Plants Breeding Sciences, Aburaihan Campus, University of Tehran, Pakdasht, Tehran

<sup>2</sup> Department of Agronomy and Plants Breeding, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran  
(Received: 20/07/2020, Accepted: 27/10/2020)

### Abstract

In order to study the effect of melatonin foliar application on photosynthetic pigments' composition, phenolic compounds and soluble sugars on plants grown from different seeds quality of safflower under water deficit condition, two field trials were conducted at Aburaihan Campus, University of Tehran in 2017 and 2018 growing seasons. The experimental design was split-factorial randomized complete block design with four replicates. The treatments consisted of two levels of drought stress (1- normal irrigation (no-stress) and 2- irrigation after reaching 85% of soil moisture depletion of field capacity at flowering stage (drought stress)) were randomized to the main plots. Subplots were 4 treatments in number and consisted of a factorial combination of seed quality (1-stored seed and 2-recently harvested seeds) and foliar application (1-control (distilled water foliar application) and, 2- melatonin foliar application at 0.2 Mm concentration). The results showed that plant grown from recently harvested seed positively responded to melatonin foliar application and this led to an increase in chlorophyll a content by 33.33 % in comparison with the control (distilled water foliar application). Also, the results indicated that melatonin foliar application was successful to increase the flavonoids content only under non-stress condition over two seed quality treatments but on the contrary decreased flavonoids content under water deficit condition. The results demonstrated that melatonin foliar application decreased soluble sugars over both water deficit treatments. It seemed that melatonin foliar application ameliorated the severity of stress because of its antioxidative characteristic and provided an unstressed environment for plant so that there was no need to increase the level of metabolites that usually increased under drought condition.

**Key Words:** Carbohydrate, Chlorophyll, Drought, Oilseeds, Seed quality

Corresponding author, Email: ghakbari@ut.ac.ir