مقاله پژوهشی

اثرات تنش شوری در گل همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) با کاربرد خارجی ملاتونین

میلاد چراغی[۱]، علی اصغر حاتم‌نیا[۱*] و فردین قنبری[۲]

[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

[۲] گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

(تاریخ دریافت:۱۴۰۱/۰۴/۲۹، تاریخ پذیرش نهایی:۱۴۰۱/۰۷/۱۹)

چکیده

همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) گیاهی یک ساله از خانواده کاسنی است که دارای کاربردهای دارویی، غذایی و زینتی می‌باشد. به منظور بررسی اثرات ملاتونین بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه همیشه بهار تحت تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. در این مطالعه اثرات پنج سطح شوری (صفر، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰ و ۱۶۰ میلی-مولار کلرید سدیم) و دو سطح محلول‌پاشی برگی ملاتونین (صفر و ۱۰۰ میکرومولار) بررسی شد. نتایج نشان داد که تنش شوری سبب کاهش همه پارامترهای مورد بررسی در گیاه همیشه بهار تحت تنش شوری شده است. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنش شوری اثر معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۱) بر روی همه پارامترهای اندازه‌گیری شده به غیر از کلروفیل **b** و آنتوسیانین دارد. با این حال، ملاتونین موجب افزایش معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) تعدادی از ویژگی‌های مورفولوژیکی (تعداد برگ، تعداد گل، طول شاخساره، وزن تر و خشک شاخساره) و فیزیولوژیکی (محتوی نسبی آب، کلروفیل **a**، کلروفیل کل، کاروتنوئیدها، پروتئین کل و فنول کل) شد. نتایج این مطالعه نشان داد که تنش شوری سبب کاهش ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی نسبت به شاهد شده درحالی‌که کاربرد ملاتونین سبب بهبود ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه همیشه بهار شده است و می‌توان از ملاتونین جهت تعدیل اثرات منفی تنش‌ها استفاده کرد.

کلمات کلیدی: ملاتونین، رنگیزه‌های کلروفیلی، پرولین، فنول کل

مقدمه

تنش شوری از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که تأثیر قابل توجهی بر بسیاری از ویژگی‌های ظاهری و همچنین صفات فیزیولوژیک گیاهان دارد و با تأثیر منفی بر رشد و نمو گیاهان، عملکرد و کیفیت نهایی محصول را تحت تأثیر قرار می‌دهد (آزاد و همکاران، ۱۳۹۷). بیش از یک قرن است که تنش شوری موضوع بسیاری از تحقیقات است که نشان‌دهنده اهمیت این تنش می‌باشد (Kafi, 2008). پاسخ گیاهان به شوری به نوع گیاه، مرحله نموی گیاه، شدت و مدت تنش بستگی دارد (Manchanda and Garg, 2008). کاهش پایداری غشای سلولی، کاهش فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی، کاهش فتوسنتز، کاهش آماس سلول‌ها و در نتیجه کاهش توسعه برگ‌ها، اختلال در جذب یون‌ها و به‌ویژه تجمع یون‌های سدیم و کلر در برگ و در نهایت کاهش رشد رویشی و عملکرد اقتصادی از اثرات تنش شوری بر گیاهان زراعی است (Munns, 2002). اثر منفی شوری گیاه، می‌تواند نتیجه کاهش

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: hatamnia@ilam.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.2.2]

پتانسیل اسمزی محیط ریشه، سمیت ویژه یونی و کمبود یون‌های غذایی باشد (Manchanda and Garg, 2008). تحمل پذیری گیاهان نسبت به شوری متفاوت است، اما در نهایت شوری سبب کاهش رشد آن‌ها خواهد شد. این کاهش به‌طور عمده در ارتباط با کاهش ظرفیت فتوسنتزی بوده که خود می‌تواند به علت در محتوای کلروفیل باشد (Viera Santos, 2004). گیاهانی که در شرایط شوری رشد می‌کنند از سه طریق اساسی تحت تنش قرار می‌گیرند: کاهش پتانسیل آبی در ناحیه ریشه که منجر به کم آبی می‌شود، سمیت یونی یون‌هایی مثل Na و Cl و عدم تعادل تغذیه‌ای که با کاهش جذب و یا انتقال به اندام هوایی صورت می‌گیرد (Gama *et al*., 2007).

راه‌کارهای مختلف بیوشیمیایی و فیزیولوژی گیاهان برای مقابله با شوری شامل تجمع و خروج انتخابی یون‌ها، کنترل جذب یون‌ها از ریشه و انتقال آنها به برگ‌ها، جایگزینی ویژه یون‌ها در سطح سلول و در کل گیاه، سنتز مواد سازگار، تغییر در مسیر فتوسنتزی، تغییر در ساختار غشایی تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و تولید هورمون‌های گیاهی هستند (Ashraf and McNielly, 2004).

نقش ملاتونین به عنوان یکی از مشتقات تریپتوفان در گیاهان به عنوان یک عامل محافظت‌کننده گیاهی در برابر عوامل ایجادکننده انواع تنش‌های زیستی و غیرزیستی به‌طور کامل پذیرفته شده است (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2015; Wang *et al*., 2018). ملاتونین از گیاهان در برابر خسارات ایجادشده به‌واسطه تنش‌های محیطی مانند خشکی، نوسانات دمایی (دماهای بالا و پایین)، فلزات سنگین و اشعه ماوراءبنفش حفاظت می‌کند، همچنین پیری برگ را به تأخیر می‌اندازد (Wang *et al*., 2012; Arnao and Hernandez-Ruiz, 2009). پتانسیل اصلی ملاتونین، به عنوان تیمار خارجی، در نتیجه نقش دوگانه آن هم به‌عنوان مولکول آنتی‌اکسیدانت مستقیم و هم تحریک‌کننده پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاهان است (Zhang *et al*., 2014). در بین تمامی تنظیم‌کننده‌های رشد، ملاتونین دارای بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی است و به مثابه قوی‌ترین مولکول با ویژگی آنتی‌اکسیدانی شناخته شده است (Zhang and Zhang, 2014). استفاده از ملاتونین خارجی نیز می‌تواند در ایجاد مقاومت در برابر تنش تأثیرگذار باشد زیرا گیاهان می‌توانند ملاتونین خارجی را جذب و ذخیره کنند (Zhang *et al*., 2014).

پیش‌تیمار ملاتونین قبل از اعمال تنش شوری، سبب کاهش اثرات منفی شوری شده و از کاهش رشد سیب جلوگیری می‌کند (Tan *et al*., 2007). مشاهده شده که کاربرد خارجی ملاتونین در گیاه ذرت تحت تنش شوری، موجب افزایش نرخ خالص فتوسنتز و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش نشت یونی غشا می‌شود (Jiang *et al*., 2016).

گیاه دارویی همیشه بهار با نام علمی (*Calendula officinalis* L.) یکی از گیاهان با اهمیت از تیره کاسنی (Asteracea) است. گیاهی علفی، یکساله و به ندرت دوساله با ساقه منشعب و سفت است که منشأ آن نواحی مدیترانه‌ای بوده که علاوه بر کاربرد زینتی، جهت مصارف دارویی نیز سابقه دیرینه داشته و خواص درمانی زیادی برای آن ذکر گردیده است (Cromack and Smith, 1998; ابراهیمی و همکاران، ۱۳۹۶).

این پژوهش با هدف بررسی تأثیر فیتوهورمون ملاتونین بر مقاومت به تنش شوری در گیاه دارویی همیشه‌بهار و تأثیر آن بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی همیشه بهار تحت سطوح مختلف تنش شوری است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در قالب آزمایشی فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام در سال ۱۴۰۰ انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل شوری با پنج سطح (صفر، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰ و ۱۶۰ میلی‌مولار) و محلول‌پاشی برگی با دو سطح ملاتونین (صفر و ۱۰۰ میکرومولار) بود (نقی‌زاده و همکاران، ۱۴۰۰). بذرهای گل همیشه‌بهار در گلدان‌هایی با قطر دهانه ۱۴ سانتی‌متر که به

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.2.2]

نسبت ۲: ۱: ۱ از خاک زراعی، کود دامی پوسیده و ماسه‌بادی پر شده بودند، کاشته شدند و بعد از سبز شدن و استقرار کامل گیاهچه‌ها اقدام به تنک کردن گیاهچه‌ها شد. تا مرحله چهار برگی گیاهان با آب معمولی آبیاری شدند و وقتی که گیاهچه‌های همیشه بهار به مرحله چهار برگی رسیدند اقدام به اعمال تیمار شوری در سطوح مختلف شد و گیاهچه‌ها هفته‌ای دو بار با تیمارهای شوری مورد نظر، به‌صورت زه‌آب آبیاری می‌شدند. لازم به ذکر است که به‌منظور جلوگیری از تجمع نمک هر دو هفته یکبار گلدان‌ها با آب معمولی آبیاری می‌شدند، همچنین اعمال تیمار شوری همراه با زه آب بود و به این ترتیب تجمع نمک در گلدان‌ها به حداقل رسید. همچنین تیمار ملاتونین در طول دوره رشد دو بار به‌صورت محلول‌پاشی بعد از اعمال شوری (یک بار در مرحله چهار برگی و یک بار در مرحله غنچه‌دهی) اعمال گردید (نقی‌زاده و همکاران، ۱۴۰۰). پس از پایان دوره اعمال تیمارها، صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه (تعداد برگ، تعداد گل، ارتفاع بوته، وزن تر شاخساره، وزن خشک شاخساره، نشت یونی، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید محتوای نسبی آب برگ و میزان پرولین) به روش‌های زیر اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری طول بخش هوایی و ریشه با استفاده از خط‌کش طول شاخساره و ریشه از طوقه اندازه‌گیری و بر حسب سانتی‌متر گزارش شد.

بـرای انـدازه‌گیری وزن تر شاخساره و ریشه، شاخساره و ریشه گیاه از محل طوقه قطع شـده و جداگانه توزین شدند.

برای انـدازه‌گیـری وزن خشک شاخساره و ریشه، شاخسـاره‌ها و ریشه‌های جدا شده در پاکت‌هـای کاغذی قرار داده شدند و در آون با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند تا کاملاً خشک شوند و سپس اقدام به توزین وزن خشک شاخساره و ریشه شد.

برای سنجش میزان رنگیزه‌های کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل از روش Porra (۲۰۰۲)، کاروتنوئید از روش Lichtenthaler و Wellburn (۱۹۸۳) و آنتوسیانین از روش Sims و Gamon (۲۰۰۲) استفاده شد. در این روش ابتدا مقدار ۰/۱ گرم از برگ‌های تازه گیاه در پنج میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در داخل هاون چینی ساییده شد. سپس عصاره استخراج‌شده به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس یک میلی‌لیتر از محلول رویی را برداشته و با ۴ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط شد. پس از آن میزان جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج‌های ۴۷۰، ۵۳۷، ۶۴۷، ۶۶۳، ۶۶۳/۶ و ۶۴۶/۶ نانومتر خوانده شد. برای صفر نمودن دستگاه، از استون ۸۰ درصد استفاده شد. و در نهایت غلظت رنگیزه‌های کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید و آنتوسیانین با استفاده از روابط زیر محاسبه شدند.

$$\text{Chl a} = (12.25 \times A663.6 - 2.55 \times A646.6)$$
$$\text{Chl b} = (20.31 \times A646.6 - 4.91 \times A663.6)$$
$$\text{Total Chl} = (17.76 \times A646.6 + 34 \times A663.6)$$
$$\text{Car} = (1000 \times A470 - 3.27 \times \text{chl a} - 104 \times \text{chl b}) / 227$$
$$\text{Anthocyanin} = (0.08173 \times A537 - 0.00697 \times A647 - 0.002228 \times A663)$$

در این رابطه Chla، Chlb، Total Chl، Car، anthocyanin به ترتیب بیانگر میزان کلروفیل a، کاروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید و آنتوسیانین هستند و A نیز میزان جذب خوانده شده توسط دستگاه اسپکترومتر در طول‌موج‌های معین شده است.

برای ارزیابی میزان نفوذپذیری غشا، میزان نشت یونی برگ ارزیابی شد (Lutts *et al*., 1996). برای این منظور تعداد شش دیسک برگی به صورت تصادفی از گیاهان هر تیمار از جوان‌ترین برگ‌های کاملاً توسعه یافته، به لوله‌های آزمایش با حجم ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر انتقال یافت و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و شدت نور کم قرار داده شدند. هدایت الکتریکی آب مقطر همراه نمونه‌ها (EC1) توسط دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد. سپس لوله‌های آزمایش در حمام آب جوش (۹۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند و پس از سرد شدن EC2 آنها مجدداً اندازه‌گیری شد و در نهایت نشت الکترولیتی با معادله زیر محاسبه گردید.

$$EL\% = [EC1/EC2] \times 100$$

در این رابطه نشت الکترولیتی EC، EC1 و EC2 هدایت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.2.2]

الکترولیتی به ترتیب قبل و بعد از حمام آب جوش.

به‌منظور اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC) پس از آنکه برگ‌های تازه وزن شدند، آنها را در دمای ثابت ۳۰ درجه سانتی‌گراد و زیر نور چراغ با شدت روشنایی ۶۰۰ تا ۷۰۰ لوکس در داخل آب قرار داده شدند تا برگ به اندازه نیاز آب جذب نماید و پس از ۴ تا ۶ ساعت به حالت آماس درآید. آنگاه برگ‌های آماس شده را با کاغذ صافی خشک نموده و وزن آماس شده آن‌ها اندازه‌گیری شد. پس از توزین، برگ‌ها در دمای ۷۰ درجه آون به مدت ۲۴ ساعت خشک می‌شوند. وزن برگ‌ها پس از خشک شدن نیز اندازه‌گیری و مقدار محتوای نسبی آب برگ از معادله زیر حساب خواهد شد.

$$RWC = (F_W-D_W) / (T_W-D_W) \times 100$$

در این رابطه، F_W: وزن تر برگ، D_W: وزن خشک برگ و T_W: وزن آماس شده برگ است.

به‌منظور اندازه‌گیری محتوای پرولین برگ از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده خواهد شد. ابتدا ۵۰۰ میلی‌گرم بافت زنده گیاهی در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد اسید سولفوسالیسیلیک در هاون ساییده، سپس مخلوط را با کاغذ صافی تصفیه و ۲ میلی‌لیتر از عصاره حاصله را در لوله آزمایش ریخته و ۲ میلی‌لیتر معرف اسید نین‌هیدرین (حاصل از افزودن ۱/۲۵ گرم نین‌هیدرین به ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال) و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به آن اضافه گردید. در مرحله بعد لوله‌ها به مدت یک ساعت در بن‌ماری و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند، پس از خروج، نمونه‌ها در حمام یخ به‌مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شده و سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به محتوای هر لوله اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه به‌وسیله ورتکس مخلوط گردیدند. لوله‌ها مدتی در دمای اتاق ثابت قرار گرفته و در این مرحله دو لایه مجزا ایجاد و سرانجام جذب نوری لایه رنگی فوقانی در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از تولوئن به‌عنوان تیمار شاهد به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده و مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد تعیین گردید.

به‌منظور اندازه‌گیری پروتئین، عصاره آنزیمی، از ساییده شدن ۰/۲ گرم بافت تازه گیاهی در ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با اسیدیته ۶/۸) تهیه شد و سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. فاز رویی برای اندازه‌گیری پروتئین محلول استفاده شد. برای اندازه‌گیری پروتئین به روش برادفورد (Bradford, 1976) به یک میلی‌لیتر از معرف برادفورد، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه شد و پس اختلاط کامل در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده و جذب آن در طول‌موج ۵۹۵ نانومتر ثبت گردید. غلظت پروتئین بر حسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه با استفاده از منحنی استاندارد در غلظت‌های ۲۰ تا ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر که توسط آلبومین گاوی تهیه شده بود، محاسبه گردید.

برای اندازه‌گیری مقدار فنول کل از روش فولین- سیوکالته استفاده شد (Singleton and Rossi, 1965). به این منظور ۰/۱ گرم نمونه برگی با اضافه کردن سه میلی‌لیتر متانول ۸۵ درصد کوبیده شد و پس از صاف کردن آن با کاغذ صافی، ۳۰۰ میکرولیتر آن برداشته شد و به آن ۱۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین ۱۰ درصد اضافه گردید و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. سپس به آن ۱۲۰۰ میکرولیتر کربنات ۷ درصد اضافه شده و پس از دو ساعت تکان دادن روی شیکر در دمای اتاق، جذب محلول در طول‌موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. با استفاده از استاندارد اسید گالیک که در غلظت‌های صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۴۸ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر تهیه شده بود و در نظر گرفتن نسبت رقیق شدن، مجموع فنول به صورت میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم وزن تازه بیان شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد. اختلاف‌ها با استفاده از آنالیز واریانس تک‌سویه (ANOVA) و تست Tukey در سطح آماری ۵ درصد ($P<۰/۰۵$) آنالیز و معنی‌دار گردید و برای تجزیه واریانس از روش GLM (General Linear Model) استفاده شد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.2.2]

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر ملاتونین، تنش شوری و اثر متقابل آنها بر ویژگی‌های مورفولوژی همیشه بهار

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		تعداد برگ	تعداد گل	طول شاخساره	وزن تر شاخساره	وزن خشک شاخساره	طول ریشه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه
ملاتونین	۱	۵۴۱۳/۶۲۳**	۱۵۸/۷۰۰**	۴۸۸/۵۳۳**	۱۶۱۵۵/۵۳**	۷۴۶/۰۰۵**	۲۰/۸۳۳	۰/۰۲۱	۰/۱۲۰
تنش شوری	۴	۴۰۲۶/۳۸۳**	۳۷۷/۳۰۰**	۹۸۸/۸۶۱**	۲۳۵۲۵/۶۴**	۳۹۹/۸۲۸**	۴۲۲/۲۸۳**	۱۰۷/۸۵**	۲/۴۳**
ملاتونین×شوری	۴	۱۲/۳۸۳	۸/۸۶۷	۲۱/۸۶۷	۱۱۸۰/۸۷۷*	۴۱/۵۱۹**	۵۷/۴۱۷**	۱/۵۵	۰/۱۳۵**
اثر خطا	۲۰	۳۳/۰۳۳	۵/۵۰۰	۹/۱۰۰	۳۳۹/۵۲۶	۴/۰۷۳	۱۰/۸۳۳	۱/۹۹	۰/۰۲۶
ضریب تغییرات		۱/۹۳	۴/۶۳	۲/۰۶	۳/۴۳	۲/۷۰	۲/۴۷	۴/۲۰	۲/۷۰

*** و ** به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد**

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ملاتونین بر همه شاخص‌های مورفولوژیکی بجز طول ریشه، وزن تر ریشه و وزن خشک ریشه دارای تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد است، همچنین تنش شوری دارای تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بر روی همه ویژگی‌های مورفولوژیکی می‌باشد. با این حال، اثر متقابل ملاتونین و تنش شوری بر روی شاخص‌های وزن خشک شاخساره، طول ریشه و وزن خشک ریشه در سطح احتمال ۱ درصد و بر روی وزن تر ریشه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بوده و بر روی بقیه شاخص-های مورفولوژیکی معنی‌دار نمی‌باشد (جدول ۱).

نتایج نشان داد که تعداد برگ‌ها با افزایش میزان شوری کاهش معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد دارند. با این حال، تعداد برگ‌ها در نمونه‌هایی که تحت تأثیر ملاتونین قرار گرفته-اند نسبت به نمونه‌های فاقد ملاتونین افزایش معنی‌داری داشته است. تعداد گل‌ها همانند تعداد برگ‌ها با افزایش میزان تنش شوری کاهش یافته، به‌طوری‌که در سطح شوری ۱۶۰ میلی-مولار کلرید سدیم گل‌ها کامل از بین می‌روند. نتایج نشان داده که کاربرد ملاتونین باعث تعدیل اثرات تنش شوری شده، به-طوری‌که نمونه‌هایی که تحت تیمار ملاتونین قرار گرفته‌اند حتی در سطح شوری ۱۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم نیز گل می‌دهند (جدول ۲).

نتایج مربوط به طول، وزن تر و خشک شاخساره در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج مربوط به مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که طول شاخصاره با افزایش سطح شوری کاهش یافته (از ۴۳/۳۳ سانتی‌متر در سطح شوری صفر تا ۵/۶۶ سانتی‌متر در سطح شوری ۱۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم)، با این حال کاربرد ملاتونین سبب تعدیل اثرات تنش شوری شده به‌طوری‌که با کاربرد ملاتونین طول شاخساره از ۴۵/۱۵ سانتی‌متر (در سطح شوری صفر یا کنترل) تا ۱۶/۶۶ سانتی‌متر (سطح شوری ۱۶۰ میلی‌مولار) متغییر است. همچنین مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش سطح شوری کاهش معنی‌داری در سطح ۵ درصد در میزان وزن تر و خشک شاخساره مشاهده شده است که میزان این کاهش در نمونه‌هایی که تحت تیمار ملاتونین قرار نگرفته‌اند، مشهودتر است (جدول ۲).

نتایج مربوط به میانگین داده‌های مربوط به طول، وزن تر و خشک ریشه در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که طول ریشه با افزایش سطح شوری دارای کاهش معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بوده و از ۳۶/۶۶ سانتی‌متر (سطح شوری صفر) تا ۹/۲۱ سانتی‌متر (سطح شوری ۱۶۰ میلی‌مولار) کاهش یافته است. کاربرد ملاتونین باعث کاهش اثرات شوری شده است و نتایج نشان داد که تحت تیمار ملاتونین طول ریشه از ۳۳/۳۵ سانتی‌متر (سطح شوری صفر) تا ۲۰/۰۶

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.2.2]

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر ملاتونین بر ویژگی‌های مورفولوژیک گیاه همیشه بهار تحت تنش شوری

	سطح شوری	تعداد برگ	تعداد گل	طول شاخساره	وزن تر شاخساره
عدم کاربرد ملاتونین	۰	۷۶/۶۶ ±۱/۶۶^{b}	۱۷ ±۲/۵۱^{b}	۴۳/۳۳ ±۱/۶۶^{a}	۱۴۷/۵۰ ±۱۷/۱۵^{b}
	۴۰	۵۳/۳۳ ±۳/۳۳^{cd}	۱۰ ±۱/۱۵^{cd}	۲۸/۳۳ ±۱/۶۶^{bc}	۱۰۱/۹۷ ±۳/۵۱^{bcd}
	۸۰	۳۸/۳۳ ±۱/۶۶^{de}	۵/۳۳ ±۱/۴۵^{def}	۲۳/۳۳ ±۱/۶۶^{cd}	۸۰/۲۳ ±۵/۲۲^{cde}
	۱۲۰	۲۳/۳۳ ±۳/۳۳^{ef}	۲/۳۳ ±۰/۶۶^{ef}	۱۲/۳۳ ±۱/۴۵^{ef}	۳۰/۹۳ ±۱۳/۰۷^{ef}
	۱۶۰	۱۲/۳۳ ±۱/۳۳^{f}	۰^{f}	۵/۶۶ ±۲/۹۶^{f}	۱۲/۵۲ ±۱/۴^{f}
کاربرد ملاتونین	۰	۱۰۶/۶۶ ±۶/۶۶^{a}	۲۴/۶۶ ±۲/۴۰^{a}	۴۵/۱۵ ±۱/۴۰^{a}	۲۴۰/۵۳ ±۲۱/۵۱^{a}
	۴۰	۷۸/۳۳ ±۱/۶۶^{b}	۱۶/۶۶ ±۰/۸۸^{bc}	۳۶/۶۶ ±۱/۶۶^{ab}	۱۳۱/۹۳ ±۳/۴۲ ^{bc}
	۸۰	۶۳/۳۳ ±۳/۳۳^{bc}	۸/۶۶ ±۰/۶۶^{de}	۳۱/۶۶ ±۱/۶۶^{bc}	۱۰۰/۳۷ ±۷/۵۶^{bcd}
	۱۲۰	۵۳/۳۳ ±۳/۳۳^{cd}	۵/۶۶ ±۰/۸۸^{def}	۲۳/۳۳ ±۱/۶۶^{cd}	۷۷/۲۴ ±۵/۹۹^{de}
	۱۶۰	۳۶/۶۶ ±۳/۳۳^{e}	۵/۶۶ ±۰/۸۸^{ef}	۱۶/۶۶ ±۱/۶۶^{de}	۵۵/۱۳ ±۷/۵۳^{def}

میانگین با حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.

ادامه جدول ۲-

	سطح شوری	وزن خشک شاخساره	طول ریشه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه
عدم کاربرد ملاتونین	۰	۱۶/۳۰ ±۱/۸۱^{cd}	۳۶/۶۶ ±۳/۳۳^{a}	۱۱/۸۳ ±۰/۹۵^{a}	۲/۱۳ ±۰/۱۲^{a}
	۴۰	۱۱/۱۶ ±۰/۷۱^{de}	۳۰/۱۱ ±۰/۴۱^{ab}	۷/۵۳ ±۰/۳۸^{b}	۱/۶۰ ±۰/۱۰^{bc}
	۸۰	۸/۹۰ ±۰/۶۶^{ef}	۲۶/۶۶ ±۰/۸۸^{bc}	۶/۶۰ ±۰/۲۰^{bc}	۱/۲۰ ±۰/۰۵^{cd}
	۱۲۰	۴/۳۰ ±۰/۲۵^{fg}	۱۵/۰۸ ±۲/۸۸^{de}	۴/۲۰ ±۰/۵۵^{bcd}	۰/۸۳ ±۰/۰۳^{def}
	۱۶۰	۲/۳۶ ±۰/۱۶^{g}	۹/۲۱ ±۱/۱۲^{e}	۰/۳۳ ±۰/۰۶^{d}	۰/۱۰ ±۰/۰۱^{g}
کاربرد ملاتونین	۰	۳۴/۱۳ ±۱/۴۹^{a}	۳۳/۳۵ ±۳/۳۶^{ab}	۱۲/۵۰ ±۲/۱۵^{a}	۱/۸۰ ±۰/۲۰^{ab}
	۴۰	۲۳/۳۶ ±۲/۰۲^{b}	۲۸/۳۵ ±۱/۶۶^{abc}	۷/۶۰ ±۰/۳۶^{b}	۱/۲۰ ±۰/۰۵^{cd}
	۸۰	۱۷/۸۶ ±۰/۴۴^{bc}	۲۴/۱۲ ±۱/۱۱^{bcd}	۵/۵۶ ±۰/۲۷^{bc}	۱/۰۶ ±۰/۰۳^{de}
	۱۲۰	۱۰/۶۶ ±۱/۳۱^{de}	۲۰/۱۱ ±۰/۵۲^{cd}	۳/۰۶ ±۰/۳۱^{cd}	۰/۷۰ ±۰/۰۵^{ef}
	۱۶۰	۶/۸۶ ±۰/۹۸^{def}	۲۰/۰۶ ±۰/۱۵^{cd}	۱/۵۰ ±۰/۳۷^{d}	۰/۴۶ ±۰/۰۸^{fg}

میانگین با حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.

سانتی‌متر (سطح شوری ۱۶۰ میلی‌مولار) کاهش یافته است که میزان این کاهش نسبت به نمونه‌هایی که تحت تیمار ملاتونین قرار نگرفته‌اند، کمتر می‌باشد. همچنین کاهش معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد در وزن تر و خشک ریشه با افزایش سطح شوری مشاهده گردید، که میزان این کاهش در نمونه‌هایی که تحت تیمار ملاتونین قرار نگرفته‌اند، مشهودتر است (جدول ۲).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ملاتونین و تنش شوری دارای تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بر کلروفیل a، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها است. ولی اثر متقابل ملاتونین و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.2.2]

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر ملاتونین، تنش شوری و اثر متقابل آنها بر رنگیزه‌های مختلف همیشه بهار

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئیدها	آنتوسیانین
ملاتونین	۱	۲۷/۶۹۸**	۱/۶۶۰	۴۲/۹۲**	۱/۹۲**	۰/۰۰۰۵۳۰
تنش شوری	۴	۱۶/۷۱۸**	۲/۱۸۰	۲۸/۵۳**	۱/۰۶**	۰/۰۰۴۸۸
ملاتونین × شوری	۴	۱/۴۵۳	۰/۵۸۵	۳/۶۷	۰/۱۲۳	۰/۰۰۱۳۰
اثر خطا	۲۰	۰/۷۸۰	۰/۹۷۴	۵/۲۰	۰/۰۸۹	۰/۰۰۲۹۶
درصد ضریب تغییرات		۵/۱۲	۷/۶۳	۵/۷۶	۴/۸۲	۱۲/۵

** **معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱**

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر ملاتونین بر ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه همیشه بهار تحت تنش شوری

	سطح شوری	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئیدها	آنتوسیانین
عدم کاربرد ملاتونین	۰	۶/۷۷ ±۱/۱۱^{ab}	۳/۲۰ ±۰/۵۰^{a}	۹/۹۷ ±۱/۵۹^{a}	۱/۴۲ ±۰/۲۶^{abc}	۰/۰۱۲۹ ±۰/۰۰۳۴^{a}
	۴۰	۴/۱۹ ±۱/۰۹^{abc}	۲/۱۱ ±۰/۹۳^{a}	۵/۳۱ ±۲/۰۲^{ab}	۰/۸۸ ±۰/۱۲^{cd}	۰/۰۰۸۱ ±۰/۰۰۱۱^{a}
	۸۰	۳/۱۳ ±۰/۲۴^{bc}	۱/۳۰ ±۰/۱۵^{a}	۴/۴۳ ±۰/۱۱^{ab}	۰/۷۲ ±۰/۱۰^{cd}	۰/۰۰۴۰ ±۰/۰۰۱۳^{a}
	۱۲۰	۳/۷۷ ±۰/۷۹^{abc}	۲/۴۶ ±۰/۵۳^{a}	۶/۲۳ ±۱/۳۲^{ab}	۰/۹۵ ±۰/۱۶^{bcd}	۰/۰۱۱۱ ±۰/۰۰۲۳^{a}
	۱۶۰	۱/۶۲ ±۰/۴۱^{c}	۱/۵۲ ±۰/۴۸^{a}	۳/۱۵ ±۰/۹۰^{b}	۰/۳۳ ±۰/۰۵^{d}	۰/۰۰۷۷ ±۰/۰۰۲۵^{a}
کاربرد ملاتونین	۰	۷/۴۳ ±۱/۳۶^{a}	۳/۰۱ ±۰/۶۹^{a}	۱۰/۴۵ ±۰/۰۴^{a}	۱/۸۰ ±۰/۲۸^{ab}	۰/۰۰۹۵ ±۰/۰۰۱۳^{a}
	۴۰	۷/۵۱ ±۰/۷۳^{a}	۳/۲۱ ±۰/۵۱^{a}	۱۰/۷۲ ±۱/۲۴^{a}	۱/۸۶ ±۰/۱۸^{a}	۰/۰۰۸۳ ±۰/۰۰۰۸^{a}
	۸۰	۴/۹۸ ±۰/۲۴^{abc}	۱/۷۲ ±۰/۵۹^{a}	۶/۷۰ ±۰/۳۳^{ab}	۱/۳۱ ±۰/۰۷^{abc}	۰/۰۰۳۲ ±۰/۰۰۰۲^{a}
	۱۲۰	۵/۲۶ ±۰/۰۴^{abc}	۲/۳۷ ±۰/۴۱ ^{a}	۷/۶۴ ±۰/۴۶^{ab}	۱/۲۳ ±۰/۱۶^{abc}	۰/۰۰۷۴ ±۰/۰۰۰۹^{a}
	۱۶۰	۳/۹۱ ±۰/۶۷^{abc}	۲/۶۴ ±۰/۸۰ ^{a}	۶/۵۶ ±۱/۴۳^{ab}	۰/۶۵ ±۰/۱۲^{cd}	۰/۰۱۱۳ ±۰/۰۰۲۱^{a}

میانگین با حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.

شوری فاقد تأثیر معنی‌داری بر روی رنگیزه‌های مختلف بود (جدول ۳).

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش سطح شوری کاهش معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد در رنگیزه‌های کلروفیلی و کاروتنوئیدی مشاهده شده است. نتایج نشان داد که تیمار ملاتونین سبب کاهش اثرات منفی تنش شوری شده است، به‌طوری‌که میزان کاهش رنگیزه‌های کاروفیلی و کاروتنوئیدی در نمونه‌های تحت تیمار ملاتونین نسبت به نمونه‌های رشد کرده در شرایط عدم کاربرد ملاتونین کاهش کمتری را نشان می‌دهند. (جدول ۴).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تنش شوری دارای تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بر روی تمامی فاکتورهای فیزیولوژیکی اندازه‌گیری شده است. همچنین ملاتونین دارای تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بر روی محتوی نسبی آب، پروتئین کل و فنول کل می‌باشد. با این حال، اثر متقابل ملاتونین و شوری دارای دارای تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر فنول کل است (جدول ۵).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.2.2]

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر گونه، ملاتونین، تنش شوری و اثر متقابل آنها بر ویژگی‌های فیزیولوژی همیشه بهار

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		محتوی نسبی آب	درصد نشت یونی	پرولین	پروتئین کل	فنول کل
ملاتونین	۱	۴۹۰/۴۴۹**	۸۹/۹۱۱	۸۹/۶۱	۸۸/۳۲۴**	۲۴/۷۶۴**
تنش شوری	۴	۱۲۵۴/۹۰۷**	۱۴۲۲/۴۲۴**	۵۴۸/۰۰۲**	۱۲۶/۵۷۶**	۱/۱۶۲۰**
ملاتونین × شوری	۴	۲۱/۰۹۶	۳۱/۴۴۸	۱۷۸/۳۶	۳/۷۳۰	۰/۳۷۰*
اثر خطا	۲۰	۱۴/۱۷۷	۳۳/۲۳۹	۹۱/۶۷	۵/۱۲۹	۰/۱۲۹
درصد ضریب تغییرات		۰/۹۶	۱/۲۳	۴/۹۶	۱/۳۹	۰/۶۸

* و ** به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

نتایج نشان داد که محتوی نسبی آب با افزایش سطح شوری کاهش معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد داشته، ولی میزان این کاهش در نمونه‌هایی که تحت تیمار ملاتونین قرار گرفته بودند کمتر می‌باشد. برعکس، درصد نشت یونی با افزایش سطح شوری افزایش معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد داشته است. با این حال، کاربرد ملاتونین سبب شده که درصد نشت یونی نسبت به نمونه‌های دیگر کمتر باشد. با افزایش سطح شوری میزان پرولین افزایش یافته است، چنان‌چه بیشترین میزان پرولین مربوط به سطح شوری ۱۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم همراه با کاربرد ملاتونین (۵۶/۱۰ میکروگرم بر گرم وزن تر) است (جدول ۶).

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کاربرد خارجی ملاتونین و شوری تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر میزان پروتئین کل دارد به‌طوری‌که بیشترین میزان پروتئین کل در سطح شوری صفر میلی‌مولار کلرید سدیم و ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین (۳۵/۲۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کمترین میزان پروتئین کل در سطح شوری ۱۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و صفر میکرومولار ملاتونین (۱۹/۰۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد. نتایج نشان داد که افزایش سطح شوری و کاربرد خارجی ملاتونین باعث افزایش سطح فنول کل شده است. چنان‌چه بیشترین میزان فنول کل در سطح شوری ۱۶۰ میلی-مولار کلرید سدیم و ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین (۱۱/۴۲ میلی-گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد (جدول ۶).

تنش شوری عموماً صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و آناتومیک گیاه را به‌طور نامطلوبی تحت تأثیرقرار می‌دهد (Qasim *et al.*, 2003). کم شدن پتانسیل آب محیط ریشه، سمیت برخی یون‌ها همانند Na^{+} و Cl^{-} و نیز عدم تعادل عناصر غذایی در بخش هوایی به واسطه بر هم خوردن جذب عناصر غذایی از عوامل مهم کاهش رشد گیاهان در این شرایط به شمار می‌رود (Marschner, 1995). کاربرد ملاتونین می‌تواند آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش شوری را کاهش دهد و چنین مکانیزمی در تنش شوری ممکن است نقش مهمی در حفاظت از گیاهان در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش شوری داشته باشد (Wang *et al.*, 2016).

نتایج این آزمایش نشان داد با افزایش میزان شوری طول شاخساره و طول ریشه گیاه به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. ارتفاع گیاه یکی از خصوصیات مورفولوژیکی است که به‌شدت تحت تأثیر شوری قرار می‌گیرد و در گیاهان تحت تنش شوری، عدم تورژسانس مناسب سلول‌ها و تخصیص بیشتر مواد سنتز شده جهت مقابله با تنش، کوتاه شدن دوره رشد گیاه و نیز مکانیزم‌های فرار از تنش همگی می‌توانند مانع از توسعه عادی سلول‌ها و در نتیجه کاهش ارتفاع گیاه شوند (Munns and Tester, 2008). شوری از طریق افزایش غلظت نمک‌های محلول محیط رشد ریشه سبب منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی محیط، کاهش جذب و در نهایت منجر به کاهش تقسیم و طویل شدن سلول‌ها در منطقه رشد می‌گردد (Hasegawa *et al.*, 2000; Manchanda and Garg, 2008). از

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.2.2]

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر ملاتونین بر ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه همیشه بهار تحت تنش شوری

	سطح شوری	محتوی نسبی آب	درصد نشت یونی	پرولین	پروتئین کل	فنول کل
عدم کاربرد ملاتونین	۰	۸۸/۲۳ ±۵/۸۸^{b}	۶۸/۸۲ ±۷/۳۱^{de}	۲۷/۵۹ ±۳/۱۶^{b}	۳۲/۰۶ ±۰/۵۳^{ab}	۸/۴۹ ±۰/۰۲۷^{c}
	۴۰	۷۰/۰۸ ±۰/۲۲^{c}	۸۰/۱۵ ±۰/۹۹^{bcd}	۲۰/۰۸ ±۵/۱۰^{b}	۳۰/۸۲ ±۰/۲۳^{abc}	۸/۵۷ ±۰/۰۰۶^{c}
	۸۰	۶۰/۹۳ ±۰/۰۵^{cd}	۹۰/۶۱ ±۳/۳۳^{abc}	۴۲/۸۰ ±۴/۷۸^{ab}	۲۹/۰۲ ±۰/۵۳^{abc}	۸/۶۶ ±۰/۰۱۳^{c}
	۱۲۰	۶۰/۴۳ ±۰/۱۲^{cd}	۹۷/۵۴ ±۰/۲۹^{a}	۴۰/۶۷ ±۶/۸۸^{ab}	۲۷/۴۸ ±۰/۳۰^{bc}	۸/۷۷ ±۰/۰۴۴^{c}
	۱۶۰	۵۵/۵۲ ±۲/۳۵^{d}	۹۹/۲۵ ±۰/۱۱^{a}	۳۹/۴۶ ±۳/۰۰^{ab}	۱۹/۰۷ ±۲/۷۸^{d}	۹/۰۳ ±۰/۰۹۶^{c}
کاربرد ملاتونین	۰	۱۰۰ ±۰^{a}	۵۵/۶۹ ±۴/۳۰^{e}	۳۰/۲۶ ±۳/۰۱^{ab}	۳۵/۲۴ ±۰/۴۷^{a}	۹/۵۰ ±۰/۰۳۲^{bc}
	۴۰	۸۱/۶۱ ±۰/۱۶^{b}	۷۷/۱۱ ±۵/۰۶^{cd}	۲۸/۳۴ ±۰/۴۱^{b}	۳۲/۸۴ ±۰/۴۱^{ab}	۱۰/۴۹ ±۰/۰۰۵^{ab}
	۸۰	۶۹/۵۵ ±۰/۱۰^{c}	۹۱/۷۷ ±۰/۱۳^{abc}	۲۹/۵۸ ±۸/۶۵^{ab}	۳۲/۶۲ ±۰/۵۳^{ab}	۱۰/۵۵ ±۰/۰۲۳^{a}
	۱۲۰	۶۳/۹۲ ±۲/۶۳^{cd}	۹۵/۱۱ ±۰/۹۰^{ab}	۴۳/۶۱ ±۷/۸۵^{ab}	۳۰/۸۷ ±۰/۰۹^{abc}	۱۰/۶۶ ±۰/۰۱۳^{a}
	۱۶۰	۶۰/۵۵ ±۰/۲۷^{cd}	۹۷/۳۷ ±۰/۱۳^{a}	۵۶/۱۰ ±۶/۶۴^{a}	۲۵/۰۳ ±۲/۸۰^{cd}	۱۱/۴۲ ±۰/۶۴۴^{a}

میانگین با حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.

نظر فیزیولوژیکی، در تنش شوری دستگاه هورمونی گیاه نیز دچار اختلال شده و ساخت و انتقال تعدادی از هورمون‌ها مانند سیتوکینین‌ها، از ریشه به بخش‌های فوقانی گیاه محدود می‌شود (رسول‌زادگان، ۱۳۷۰). کاهش انتقال سیتوکنین هم ممکن است دلیل دیگری بر کاهش ارتفاع گیاهان تحت تنش شوری باشد. در تحقیق دیگری بر روی گیاه همیشه‌بهار مشاهده شد که متناسب با افزایش میزان شوری ارتفاع گیاه به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا می‌کند (مرادی و پورقاسمیان، ۱۳۹۷) که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. ملاتونین از طریق تأثیر بر افزایش ترشح هورمون‌های محرک رشد مانند ایندول استیک اسید، سیتوکینین، جیبرلین، اکسین، ترکیبات آنتی‌اکسیدانت و کاروتنوئیدها و کاهش بیوسنتز بازدارنده‌های رشد از جمله اتیلن، میزان تقسیم سلولی بافت‌های مریستمی را افزایش می‌دهد (Li *et al*., 2015; Janas and Posmyk, 2013; Wang *et al*., 2014; Zhang *et al*., 2015). در گیاه باقلای مصری نیز استفاده از ملاتونین موجب تحریک رشد ریشه و اندام هوایی شد (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2014) که با نتایج حاصل از این تحقیق همخوانی دارد. در گیاه سویا نیز استفاده از ملاتونین در شرایط تنش‌های شوری و خشکی، باعث افزایش ارتفاع شد (Wei *et al*., 2015).

در تحقیقی که بر روی گیاه لوبیا تحت تنش شوری انجام شده است، مشاهده شده که تنش شوری موجب کاهش تعداد برگ در این گیاه می‌شود (Jebara *et al*., 2005)، که با نتایج حاصل از این تحقیق بر روی گونه گل همیشه‌بهار همخوانی دارد. طبق نتایج این تحقیق اثرات اصلی و متقابل ملاتونین در شوری موجب افزایش تعداد برگ در گیاه همیشه‌بهار شد، که با نتایج حاصل از تاثیر ملاتونین بر روی گیاه باقلا تحت تنش شوری و گیاه جو همسو است (El-Ghany and Attia, 2020). این افزایش در تعداد برگ با استفاده از ملاتونین را می‌توان به نقش ثابت شده ملاتونین در افزایش تقسیم سلولی نسبت داد که موجب افزایش تعداد برگ‌ها شده است (Murch and Saxena, 2002).

نتیجه تنش شوری، کاهش قابل توجه وزن تر و خشک برگ‌ها، ساقه‌ها و ریشه‌هاست (Parida and Dasa, 2005). که مشاهدات حاصل از نتایج این تحقیق نیز مؤید همین موضوع بود. به هم خوردن تنظیم اسمزی، کاهش آب قابل دسترس، عدم تعادل عناصر غذایی، سمیّت یون‌های کلر و سدیم سبب

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.2.2]

کاهش وزن خشک گیاهان می‌شوند (Setayeshmehr and Esmaeilzadeh, 2013; Munns, 2005; Sofo *et al*., 2005). نتایج نشان داد که استفاده از ملاتونین موجب افزایش میزان وزن تر و وزن خشک شاخساره و ریشه در گیاه همیشه بهار می‌شود. ثابت شده است که ترکیبات ایندولی (از جمله ملاتونین) با تأثیر بر فرآیندهایی مانند فتوسنتز، تنفس، جذب یون، نفوذپذیری غشا، فعالیت آنزیم‌ها و هورمون‌ها میزان رشد و تولید زی‌توده (وزن خشک کل) را تحت تأثیر قرار می دهند (Li *et al*., 2015; Janas and Posmyk, 2013; Zhang *et al*., 2015). در پژوهشی برروی گیاه باقلا (El-Ghany and Attia, 2020) و گیاه جو دوسر (Gao *et al*., 2019) تحت تنش شوری، استفاده از ملاتونین موجب افزایش وزن تر و خشک شد. استفاده از ملاتونین در گیاهان گوجه‌فرنگی، سیب و شیرین بیان نیز موجب افزایش وزن خشک شد (Liu *et al*., 2015; Wang *et al*., 2007; Afreen *et al*., 2006). در این تحقیق نیز اثرات اصلی ملاتونین موجب افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک و اثر متقابل ملاتونین بر شوری موجب افزایش معنی‌دار وزن خشک شد، که با نتایج حاصل از تحقیقات مذکور همخوانی دارد.

همچنین نتایج این تحقیق نشان داد افزایش میزان شوری موجب کاهش تعداد گل در گیاه همیشه‌بهار می‌شود. ارسال پیام‌های هورمونی از ریشه به شاخه‌ها و در نتیجه، کاهش توانایی جذب آب گیاه، می‌تواند باعث کاهش میزان رشد و شاخه‌دهی گیاه شود (Chartzoulakis *et al*., 2002). نتایج حاصل از تحقیق دیگری بر روی گیاه همیشه‌بهار نشان داد که در شرایط تنش شوری وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه و تعداد گل به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (عسگریان و همکاران، ۱۴۰۰) که با نتایج حاصل از این تحقیق همخوانی داشت. در این تحقیق اثر اصلی ملاتونین و همچنین اثر متقابل آن بر شوری موجب افزایش معنی‌دار تعداد گل شده است، که این افزایش در تعداد گل توسط ملاتونین، می‌تواند نتیجه تأثیر این فیتوهورمون بر بهبود سایر صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاه باشد.

نتایج کاهش محتوای نسبی آب را تحت تنش شوری نشان می‌دهد که می‌تواند به علت افزایش میزان تعرق بیش از جذب آب توسط گیاه در زمان تنش باشد و در نتیجه با به هم خوردن تعادل آبی گیاه، محتوای نسبی آب برگ‌ها کاهش می‌یابد (Lawlor and Cornic, 2002). چنان‌چه محتوای نسبی آب برگ بالا باشد گیاه تورم سلولی خود را حفظ کرده و رشد آن تداوم می‌یابد (Rao and Mendham, 1991). تنش شوری سبب کاهش محتوای رطوبت نسبی برگ در گیاه ذرت نیز شد (El-Khallal *et al*., 2009) که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. استفاده از پیش‌تیمار ملاتونین در نشا خربزه خاتونی نیز به‌طور معنی‌داری باعث افزایش درصد رطوبت نسبی نسبت به شاهد گردید (نستری نصرآبادی و صابرعلی، ۱۳۹۹). ملاتونین با کاهش پراکسیداسیون لیپیدها، انواع اکسیژن فعال و حفظ پایداری غشا می‌تواند موجب بهبود محتوی نسبی آب شود (Farouk and Al-Amri, 2019). در این تحقیق نیز استفاده از ملاتونین موجب بهبود محتوی نسبی آب در گونه همیشه‌بهار شد.

نتایج نشان داد که تنش شوری سبب افزایش میزان پرولین در گیاه همیشه‌بهار می‌شود. تجمع چشمگیر پرولین در بسیاری از انواع تنش‌ها مانند تنش خشکی، شوری و تنش یون‌های فلزی ناشی از افزایش سنتز و کاهش تخریب پرولین است که این موضوع در بیشتر گیاهان به اثبات رسیده است (Kishor *et al*., 1995; Cicek and Cakirlar, 2002). در اکثر موارد مکانیسم افزایش پرولین در گیاهان به هنگام تنش، نوعی سازوکار دفاعی است که پرولین با چندین سازوکار مانند تنظیم اسمزی، جلوگیری از تخریب آنزیم، حفظ و سنتز پروتئین مقاومت گیاه را در برابر تنش‌ها افزایش می‌دهند (غلامی و همکاران، ۱۳۹۲). نتایج حاصل از تحقیق دیگری نیز نشان داد، که میزان پرولین در شرایط تنش شوری نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (عسگریان و همکاران، ۱۴۰۰). در تحقیقی بر روی گیاه دارویی آگاستاکه در شرایط تنش کم‌آبی مشاهده شد، استفاده از ملاتونین موجب افزایش میزان پرولین در این گیاه می‌شود (محمدی و همکاران، ۱۴۰۰). طبق نتایج

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.2.2]

این تحقیق نیز استفاده از، ملاتونین موجب افزایش میزان پرولین شد. نقش ملاتونین در افزایش پرولین به علت نقش آن در حفظ آب سلول و محافظت از غشا و پروتئین از بین رونده ROS و خواص آنتی‌اکسیدانی آن است (Turk *et al*., 2014).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که افزایش سطح شوری موجب کاهش رنگیزه‌ها می‌شود. کاهش در سطوح کلروفیل در گیاهان تحت تنش می‌تواند به افزایش فعالیت آنزیم تخریب‌کننده کلروفیل (کلروفیلاز) مربوط باشد (چاپارزاده و زرندی میاندوآب، ۱۳۹۰). برخی تنظیم کننده‌های رشد مانند اسید آبسیزیک و اتیلن موجب تحریک این آنزیم می‌شوند و در اثر تنش غلظت این مواد افزایش می‌یابد (Drazkiewicz, 1994). و یا کاهش بیوسنتز کلروفیل به دلیل کاهش پیش‌ساز بیوسنتز کلروفیل (گلوتامات و ۵ آمینو لوولنیک اسید) در شرایط تنش بوده که نشان‌دهنده اثر مخرب شوری بر بیوسنتز کلروفیل نسبت به تجزیه آن است (Reddy and Vora, 1986). کاهش کاروتنوئیدها در شرایط شور و شرایطی که در آن گیاه با کمبود آب مواجه است می‌تواند ناشی از تخریب کاروتنوئیدها یا تبدیل بتاکاروتن به ویوالزآنتین و سپس تشکیل زآزانتین در چرخه گزانتوفیل باشد (Sultana *et al*., 1999). در تحقیق دیگری نیز نتایج نشان داد شوری غلظت رنگیزه‌ها را در گیاه همیشه‌بهار کاهش می‌دهد (بنی‌اسدی و همکاران، ۱۳۹۴). استفاده از ملاتونین موجب افزایش در میزان رنگیزه‌ها در مقابله با تنش شوری شد. کلروفیلاز و آنزیم Pheophorbide-a oxygenase دو آنزیم کلیدی در تجزیه کلروفیل محسوب می‌شوند که تیمار ملاتونین از فعالیت آنها جلوگیری به عمل می‌آورد (Wang *et al*., 2014; Turk *et al*., 2014) و در نتیجه موجب حفظ و افزایش محتوای کلروفیل، به تعویق انداختن پیری برگ، حفظ ثبات و عملکرد PS II و در نهایت افزایش سرعت فتوسنتز تحت شرایط تنش اسمزی خواهد شد (Turk *et al*., 2014). گزارش شده است که به‌طور 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 بیوسنتز کاروتنوئید را برای کاهش آسیب اکسیداتیو نوری القا کند (Liang *et al*., 2019). القای سنتز کاروتنوئیدها در شرایط تنش توسط ملاتونین می‌تواند به‌دلیل نقش حفاظتی آنها در تشکیلات فتوسنتزی باشد. زیرا این رنگیزه‌ها مسئول خاموش کردن رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و در نهایت کاهش تنش اکسیداتیو می‌شدند (Yin *et al*., 2013). ملاتونین موجب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در ذرت (Jiang *et al*., 2016) و باقلا (Dawood and EL-Awad, 2014) تحت تنش شوری نیز شده است که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد.

نتایج همچنین نشان داد که متناسب با افزایش شوری نشت یونی نیز بیشتر می‌شود. در واقع تنش‌های محیطی از طریق ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن در داخل سلول، موجب کاهش پایداری غشا و افزایش نشت مواد سیتوپلاسمی شده است و در نتیجه افزایش نسبت نشت الکترولیت را به دنبال دارد. نتایج حاصل از تحقیق دیگری نیز نشان داد تنش شوری سبب افزایش نشت یونی در گیاه همیشه بهار می‌شود (Bayat and Sepehri, 2012). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد استفاده از ملاتونین موجب کاهش نشت یونی می‌شود. ملاتونین نفوذپذیری غشاهای پلاسما و پراکسیداسیون لیپید در غشاها را کاهش می‌دهد و باعث حفظ یکپارچگی و عملکرد غشا در گیاه در تنش شوری می‌شود، به این ترتیب سمیت مواد معدنی را کاهش داده و رشد گیاه را بهبود می‌بخشد (Wang *et al*., 2016). در تحقیقی بر روی گیاه هندوانه نیز، استفاده از پیش تیمار برگی ملاتونین باعث کاهش نشت الکترولیت تحت تنش شوری شد (Dongxiao *et al*., 2017). در تحقیق دیگری نیز، کاربرد ملاتونین میزان نشت یونی را در گیاه خربزه خاتونی به‌طور معنی‌داری کاهش داد (نستری نصرآبادی و صابرعلی، ۱۳۹۹) که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارند.

پروتئین‌های محلول برگ تحت تنش شوری در نتیجه واکنش با رادیکال‌های آزاد، تغییر اسیدهای آمینه، افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین‌ها، کاهش سنتز

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.2.2]

پروتئین‌ها، تخریب مکانیسم‌های رونویسی و ترجمه mRNA کاهش می‌یابد (Ranjan *et al*., 2001; Singh and Pal, 1995). میزان پروتئین کل در گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری کاهش یافت که مطابق با نتایج حاصل از این تحقیق بود (Debouba *et al*., 2006). در این تحقیق نتایج نشان می‌دهد که استفاده از ملاتونین موجب حفظ بیشتر پروتئین در گیاهان تحت تنش شده است، در تحقیق دیگری نیز، که بر روی گیاهچه‌های جعفری آفریقایی تحت تنش شوری انجام شد، پیش‌تیمار با ملاتونین موجب افزایش محتوای پروتئین در شرایط تنش شوری شد (زارع‌زینلی و همکاران، ۱۳۹۹) که با نتایج حاصل از این تحقیق همسو است. تأثیر ملاتونین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدانت در مقابل تنش‌های مختلف، با از بین بردن گونه‌های اکسیژن فعال، از اکسیداسیون پروتئین‌ها جلوگیری کرده و موجب حفظ ساختار و عملکرد پروتئین‌ها می‌شود (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2014; Zhang *et al*., 2015; Jiang *et al*., 2016).

ترکیبات فنولی یکی از مکانیسم‌های دفاعی غیر آنزیمی در مقابله با تنش‌های محیطی هستند، که به جمع‌آوری پراکسید هیدروژن در سلول‌های گیاهی کمک می‌کنند (Vogt, 2010). ترکیبات فنولی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کرده و رادیکال‌های گروه هیدروکسیل و پروکسیل را از بین برده و از اکسید شدن چربی‌ها جلوگیری می‌کنند (Boscaiu *et al*., 2010). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تنش شوری موجب افزایش میزان فنول کل در گیاه همیشه‌بهار می‌شود. در پژوهشی دیگر نیز، میزان فنول کل با اعمال تنش شوری در گیاهان بادرنجبویه افزایش یافت (دهجی‌پور حیدرآبادی و همکاران، ۱۴۰۰). در این تحقیق گیاهان تحت تیمار ملاتونین محتوی فنل بیشتری نسبت به گیاهان شاهد داشتند، در تحقیق دیگری نیز، کاربرد ملاتونین باعث افزایش معنی‌دار ترکیبات فنلی تحت شرایط تنش در نشا خربزه خاتونی شد (نستری نصرآبادی و صابرعلی، ۱۳۹۹) که با نتایج حاصل از این تحقیق همخوانی دارد. کاربرد ملاتونین به‌عنوان تعدیل‌کننده اثرات تنش‌های محیطی، با افزایش میزان فنل در گیاهان تحت تنش، باعث حفظ آب درون سلول‌ها و حفظ ساختار سلولی آن‌ها می‌شود (Zhang *et al*., 2017). تیمار ملاتونین با تنظیم بیان ژن‌های مسیر فنیل پروپانوئید مانند paL باعث افزایش ترکیبات فنلی می‌شود (Zhang *et al*., 2015).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تنش شوری آثار منفی بر پارامترهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه همیشه بهار دارد. با افزایش سطح شوری پارامترهای رشدی، محتوای کلروفیل، کاروتنوئید و رطوبت نسبی کاهش یافته و نشت یونی و پرولین روند افزایشی نشان داد. کاربرد ملاتونین با تأثیر بر فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه آثار تنش شوری بر گیاه همیشه بهار را کاهش داده و سبب بهبود رشد آن در شرایط تنش شوری شد.

منابع

ابراهیمی، م.، زمانی، غ. ر. و علیزاده، ز. (۱۳۹۶) مطالعه اثر تنش خشکی بر صفات فیزیولوژیک و عملکردی همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.). دوماهنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۳: ۵۰۸-۴۹۲.

آزاد، م.، رستمی، م.، قبولی، م. و موحدی، ز. (۱۳۹۷) برهم‌کنش تنش شوری و اسید سالیسیلیک بر صفات فیزیولوژیک بالنگو (*Lallemantia royleana*). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران) ۲: ۲۲۰-۲۰۸.

بنی‌اسدی، ف.، صفاری، و. ر. و مقصودی‌مود، ع. ا. (۱۳۹۴) تأثیر پوترسین و شوری بر ویژگی‌های مورفولوژیک، بیوشیمیایی و رنگیزه‌های گیاه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.). علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای ۲۱: ۱۳۳-۱۲۵.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.2.2]

چاپارزاده، ن. و زرندی میاندوآب، ل. (۱۳۹۰) اثر شوری بر محتوای رنگدانه‌ای و رشد دو رقم گیاه کلزا (*Brassica napus*). زیست شناسی گیاهی ۹: ۲۶-۱۳.

دهجی‌پور حیدرآبادی، م.، دهقانی، م. ر.، مرادی اندوهجردی، ف.، ملک‌زاده، خ. و سروش، ف. (۱۴۰۰) تأثیر پیش‌تیمار اسید استیک بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی و مولکولی گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) تحت تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی ۱۰: ۲۴۹-۲۲۹.

رسول‌زادگان، ی. (۱۳۷۰) میوه‌کاری در مناطق معتدله. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان.

زارع‌زینلی، م.، نصیبی، ف.، منوچهری‌کلانتری، خ. و احمدی‌موسوی، ع. (۱۳۹۹) اثر پیش‌تیمار ملاتونین بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی و کاهش تنش اکسیداتیو در گیاهچه‌های جعفری زینتی تحت تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی ۹: ۱۲۵-۱۱۵.

عسگریان، ه.، عبدوسی، و.، دانایی، ا. و لادن‌مقدم، ع. ر. (۱۴۰۰) تأثیر کاربرد توأم اسید هیومیک و سلنیوم بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) تحت تنش شوری. نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۴: ۶۱۱-۵۹۶.

غلامی، ر.، کاشفی، ب. و سعیدی سار، س. (۱۳۹۲) تأثیر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در کاهش اثرات تنش شوری بر صفات رشدی گیاه مریم گلی (*Salvia limbata* L.). مجله اکوفیزیولوژی گیاهی ۱۵: ۷۳-۶۳.

محمدی، ح.، مرادی، ش. و آقایی، ا. (۱۴۰۰) ملاتونین بر ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه دارویی آگاستاکه در شرایط تنش کم‌آبی. فرآیند و کارکرد گیاهی ۱۰: ۵۷-۴۵.

مرادی، ر. و پورقاسمیان، ن. (۱۳۹۷) اثر سالیسیلیک اسید بر کاهش اثرهای منفی تنش خشکی در گیاه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.). نشریه دانش آب و خاک ۲: ۲۸-۱۵.

نستری نصرآبادی، ح. و صابرعلی، س. ف. (۱۳۹۹) اثر پیش‌تیمار پلی‌اتیلن گلیکول و ملاتونین بر مقاومت به سرما در نشا خربزه خاتونی (*Cucumis melo* L.). نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی) ۳۴: ۴۹۱-۴۸۱.

نقی‌زاده، م.، کبیری، ر. و مقصودی، ک. (۱۴۰۰) ارزیابی تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین و اسید آسکوربیک بر عملکرد دانه و موسیلاژ *Plantago ovate* Forssk. نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۳۷: ۹۱۹-۹۰۸.

Afreen, F., Zobayed, S. M. A. and Kozai, T. (2006) Melatonin in *Glycyrrhiza uralensis*: Response of plant roots to spectral quality of light and UV-B radiation, Journal of Pineal Research 41: 108-115.

Arnao, M. B. and Hernandez-Ruiz, J. (2009) Protective effect of melatonin against chlorophyll degradation during the senescence of barley leaves. Journal of Pineal Research 46: 58-63.

Arnao, M. B. and Hernandez-Ruiz, J. (2014) Melatonin: Plant growth regulator and/or biostimulator during stress? Trends in Plant Science 19: 789-797.

Arnao, M. B. and Hernandez-Ruiz, J. (2015) Functions of melatonin in plants: A review. Journal of Pineal Research 59: 133-150.

Ashraf, M. and McNeilly, T. (2004) Salinity tolerance in Brassica oilseeds. Critical Reviews in Plant Sciences 23: 157-174.

Bayat, S. and Sepehri, A. (2012) Paclobutrazol and salicylic acid application ameliorates the negative effect of water stress on growth and yield of maize plants. Journal of research in Agricultural Science 8: 127-139.

Bates, L. S. Waldran, R. P. and Tear, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water studies. Plant and soil 39: 205-208.

Boscaiu, M., Sanchez, M., Bautista, I., Donat, P., Lidon, A., Llinares, J., Llul, C., Mayoral, O. and Vicente, O. (2010) Phenolic compounds as stress markers in plants from gypsum habitats. Bulletin UASVM Horticulture 67: 44-49.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for qantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Chartzoulakis, K., Loupassaki, M., Bertaki, M. and Androulakis, I. (2002) Effects of NaCl salinity on growth, ion content and CO_2 assimilation rate of six olive cultivars. Scientia Horticulturae 96: 235-247.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.2.2]

Cicek, N. and Cakirlar, H. (2002) The effect of salinity on some physiological parameters in two maize cultivars. Bulgarian Journal of Plant Physiology 28: 66-74.

Cromack, H. T. H. and Smith, J. M. (1998) *Calendula officinalis*-production potential and crop agronomy in southern England. Industrial Crops and Products 7: 223-229.

Dawood, M. G. and EL-Awad, M. E. (2014) Alleviation of salinity stress on *Vicia faba* L. plants via seed primin with melatonin. Acta Biologica Colombiana 20: 223-235.

Debouba, M., Gouia, H., Valadier, M. H., Ghorbel, M. H. and Suzuki, A. (2006) Salinity-induced tissue-specific diurnal changes in nitrogen assimilatory enzymes in tomato seedlings grown under high or low nitrate medium. Plant Physiology and Biochemistry 44: 409-419.

Dongxiao, L. I., Zhang, D., Hongguang, W. A. N. G., Yanming, L. I. and Ruiqi, L. I. (2017) Physiological response of plants to polyethylene glycol (PEG-6000) by exogenous melatonin application in wheat. Zemdirbyste-Agriculture 104: 219-228.

Drazkiewicz, M. (1994) Chlorophyllase: Occurrence, functions, mechanism of action, effects of external and internal factors. Photosythetica 30: 321-331.

El-Ghany, M. F. A. and Attia, M. (2020) Effect of exopolysaccharide-producing bacteria and melatonin on faba bean production in saline and non-saline soil. Agronomy 10: 316.

El-Khallal, S. M., Hathout, T. A., Ashour, A. E. A. and Kerrit, A. A. A. (2009) Brassinolide and salicylic acid induced growth, biochemical activities and productivity of maize plants grown under salt stress. Journal of Agriculture and Biological Science 5: 380-390.

Farouk, S. and Al-Amri, S. M. (2019) Ameliorative roles of melatonin and/or zeolite on chromium-induced leaf senescence in marjoram plants by activating antioxidant defense, osmolyte accumulation, and ultrastructural modification. Industrial Crops and Products 142: 111823.

Gama, P. B. S., Inanana, S., Tanaka, K. and Nakazawa, R. (2007) Physiological responses of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings to salinity stress. African Journal of Biotechnology 6: 79-88.

Gao, W., Feng, Z., Bai, Q., He, J. and Wang, Y. (2019) Melatonin-mediated regulation of growth and antioxidant capacity in salt-tolerant naked oat under salt stress. International Journal of Molecular Sciences 20: 1176.

Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K. and Bohnert, H. J. (2000) Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology 51: 463-499.

Janas, K. M. and Posmyk, M. M. (2013) Melatonin, an underestimated natural substance with great potential for agricultural application. Acta Physiologiae Plantarum 35: 3285-3292.

Jebara, S., Jebera, M., Limam, F. and Aouani, M. (2005) Changes in ascorbate peroxidase, catalase. guaiacol peroxidase and superoxide dismutase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris*) nodules under salt stress. Journal of Plant Physiology 162: 929-936.

Jiang, Ch., Cui, Q., Feng, K., Xu, D., Li, Ch. and Zheng, Q. (2016) Melatonin improves antioxidant capacity and ion homeostasis and enhances salt tolerance in maize seedlings. Acta Physiologiae Plantarum 20: 38-82.

Kafi, M. and Ajmal Khan, M. (2008) Crop and Forage Production Using Saline Waters. Daya publishers House, Delhi.

Kishor, P. B. K., Hong, Z., Miao, G. H., Hu, C. A. A. and Verma, D. P. S. (1995) Overexpression of [delta]-pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. Plant Physiology 108: 1387-1394.

Lawlor, D. W. and Cornic, G. (2002) Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficit in higher plants. Plant Cell and Environment 25: 275-294.

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.

Li, C., Tan, D. X., Liang, D., Chang, C., Jia, D. and Ma, F. (2015) Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behaviour in two Malus species under drought stress. Journal of Experimental and Botany 66: 669-680.

Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1983) Determination of total carotenoids and chlorophyll a and b of leaf extract in different solvents. Biochemical Society Transactions 11: 591-592.

Lutts, S., Kinet, J. M. and Bouharmont, J. (1996) NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. Annals of Botany 78: 389-398.

Manchanda, G. and Garg, N. (2008) Salinity and its effects on the functional biology of legumes. Acta Physiologiae Plantarum 30: 595-618.

Marschner, H. (1995) Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press, London.

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.

Munns, R. (2005) Genes and salt tolerance: Bringing them together. New Phytologist 167: 645-663.

Munns, R. (2002) Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell and Environment 25: 239-250.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.2.2]

Munns, R. and Tester, M. (2008) Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology 59: 651-681.
Murch, S. J. and Saxena, P. K. (2002) Melatonin: A potential regulator of plant growth and development? In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant 38: 531-536.
Parida, A. K. and Dasa, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants. A review. Ecotoxicology and Environmental Safety 60: 324-349.
Porra, R. J. (2002) The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. Photosynthesis Research 73: 149-156.
Qasim, M., Ashraf, M., Jamil, M. A., Ashraf, M. Y., Rehman, S. U. and Rha, E. S. (2003) Water relations and gas exchange properties in some elite canola (*Brassica napus* L.) lines under salt stress. Annals of Applied Biology 142: 307-316.
Ranjan, R., Bohra, S. P. and Jeet, A. M. (2001) Book of Plant Senescence. Jodhpur Agrobios, New York.
Rao, M. S. S. and Mendham, N. J. (1991) Soil–plant–water relations of oilseed rape (*Brassica napus* and *B. campestris*). The Journal Agricultural Science 117: 197-205.
Reddy, M. P. and Vora, A. B. (1986) Changes in pigment composition. Hill reaction activity and saccharides metabolism in bajra (*Penisetum typhoides* S and H) leaves under NaCl salinity. Photosynthica 20: 50-55.
Setayeshmehr, Z. and Esmaeilzadeh, S. (2013) Effect of salt stress on some phonological and biochemical characteristics in *Coriandrum sativum* L. Journal of Plant Production 20: 111-128.
Sims, D. A. and Gamon., J. A. (2002) Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. Remote Sensing of Environment 81: 337-354.
Singh, L. and Pal, B. (1995) Effect of water salinity on yield and yield attributing characters of blond Psyllium (*Plantago ovata*). Indian Journal of Agricultural Sciences 65: 503-505.
Singleton, V. L. and Rossi, J. A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture 16: 144-158.
Sofo, A., Tuzio, A. C., Dichio, B. and Xiloyannis, C. (2005) Influence of water deficit and rewatering on the components of the ascorbate–glutathione cycle in four interspecific Prunus hybrids. Plant Science 169: 403-412.
Sultana, N., Ikeda, T. and Itoh, R. (1999) Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. Environmental and Experimental Botany 42: 211-220.
Tan, D. X., Manchester, L. C., Helton, P. and Reiter, R. J. (2007) Phytoremediative capacity of plants enriched with melatonin. Plant Signaling and Behavior 2: 514-516.
Turk, H., Erdal, S., Genisel, M., Atici, O., Demir, Y. and Yanmis, D. (2014) The regulatory effect of melatonin on physiological, biochemical and molecular parameters in cold-stressed wheat seedlings. Plant Growth Regulation 74: 139-152.
Viera Santos, C. (2004) Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. Scientia Horticulturae 103: 93-99.
Vogt, T. (2010) Phenyl propanoid biosynthesis. Molecular Plant 3: 2-20.
Wang, Y. L., Wang, X. D., Zhao, B. and Wang, Y. C. (2007) Reduction of hyperhydricity in the culture of *Lepidium meyenii* shoots by the addition of rare earth elements. Plant Growth Regulation 52: 151-159.
Wang, L. Y., Liu, J. L., Wang, W. X. and Sun, Y. (2016) Exogenous melatonin improves growth and photosynthetic capacity of cucumber under salinity-induced stress. Photosynthetica 54: 19-27.
Wang, Y., Reiter, R. J. and Chan, Z. (2018) Phytomelatonin: A universal abiotic stress regulator. Journal of Experimental Botany 69: 963-974.
Wang, P., Sun, X., Xie, Y., Li, M., Chen, W., Zhang, S., Liang, D. and Ma, F. (2014) Melatonin regulates proteomic changes during leaf senescence in *Malus hupehensis*. Journal of Pineal Research 57: 291-307.
Wang, P., Yin, L., Liang, D., Li, C., Ma, F. and Yue, Z. (2012) Delayed senescence of apple leaves by exogenous melatonin treatment: Toward regulating the ascorbate-glutathione cycle. Journal of Pineal Research 53: 11-20.
Wei, W., Li, Q. T., Chu, Y. N., Reiter, R. J., Yu, X. M., Zhu, D. H., Zhang, W. K., Ma, B., Lin, Q. and Zhang, J. S. (2015) Melatonin enhances plant growth and abiotic stress tolerance in soybean plants. Journal of Experimental Botany 66: 695-707.
Yin, L., Wang, P., Li, M., Ke, X., Li, C., Liang, D., Wu, S., Ma, X., Li, C. and Zou, Y. (2013) Exogenous melatonin improves M alus resistance to M arssonina apple blotch. Journal of Pineal Research 54: 426-434.
Zhang, N., Sun, Q., Zhang, H., Cao, Y., Weeda, S., Ren, S. and Gou, Y. D. (2014) Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants. Journal of Experimental Botany 66: 647-656.
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.
Zhang, H. M. and Zhang, Y. (2014) Melatonin: A well-documented antioxidant with conditional pro-oxidant actions. Journal of Pineal Research 57: 131-146.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.2.2]

Zhang, Y. P., Xu, S., Yang, S. J. and Chen, Y. Y. (2017) Melatonin alleviates cold-induced oxidative damage by regulation of ascorbate–glutathione and proline metabolism in melon seedlings (*Cucumis melo* L.). The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 92: 313-324.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.2.2]

Effects of salinity stress on calendula (*Calendula officinalis* L.) by exogenous application of melatonin

Milad cheraghi[1], Ali Asghar Hatamnia[1*], Fardin Ghanbari[2]

[1] Department of Biology, Faculty of Science, Ilam University, Ilam, Iran
[2] Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran
(Received: 20/07/2022, Accepted: 11/10/2022)

Abstract

Calendula officinalis L. is an annual plant of the Asteraceae family that has medicinal, food and ornamental uses. In order to evaluate the effect of melatonin on some morphological and physiological characteristics of *Calendula officinalis* L. under salt stress, a factorial experiment was conducted using a completely randomized design with three replications. In this study, the effects of 5 levels of salinity (0, 40, 80, 120 and 160 mM sodium chloride) and two levels of foliar spraying of melatonin (0 and 100 µM) were evaluated. The results showed that salinity stress caused a decrease in all the investigated parameters in *C. officinalis* L. under salinity stress. The results of variance analysis of the data showed that salinity stress has a significant effect ($p \geq 0.01$) on all measured parameters except chlorophyll b and anthocyanin. However, melatonin caused a significant increase ($p \geq 0.01$) in a number of morphological (number of leaves, number of flowers, length of shoots, fresh and dry weight of shoots) and physiological parameters (relative water content, chlorophyll a, total chlorophyll, carotenoids, total protein and total phenol). The results of this study showed that salinity stress reduced the morphological and physiological characteristics compared to control, while the use of melatonin improved the morphological and physiological characteristics of the *Calendula officinalis* L., and melatonin can be used to moderate the negative effects of stress.

Keywords: Melatonin, Chlorophyll Pigments, Proline, Total phenol

Corresponding author, Email: a.hatamnia@ilam.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.2.2]