

تأثیر ملاتونین بر ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه دارویی آگاستاکه در شرایط تنش کم‌آبی

حمید محمدی^{۱*}، شهلا مرادی^۲ و احمد آقایی^۳

^۱ دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، ^۲ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۰۹، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۱۲/۱۲)

چکیده

در تحقیق حاضر اثر ملاتونین بر ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک آگاستاکه در شرایط تیمارهای مختلف آبیاری در یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تجاری واقع در ارومیه در سال ۱۳۹۸ مورد بررسی قرار گرفته است که در آن عامل اول سطوح تنش کم‌آبی (عدم تنش، تنش کم‌آبی با تخلیه ۴۰ و ۷۰ درصد رطوبت ظرفیت گلدانی) و عامل دوم غلظت‌های مختلف محلول‌پاشی ملاتونین (عدم محلول‌پاشی، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) بود. نتایج نشان داد که اعمال تنش متوسط سبب افزایش رنگدانه‌های گیاهی، محتوای پرولین، قندهای محلول کل، تعداد و طول شاخه‌های جانبی و وزن خشک اندام‌های هوایی گردید. کاربرد غلظت‌های مختلف ملاتونین به‌ویژه غلظت ۱۰۰ میکرومولار به‌صورت محلول‌پاشی سبب افزایش ۱۱/۵۸ درصدی محتوی کاروتنوئیدها و ۴۳/۳۵ درصدی پرولین بخش هوایی و کاهش ۲۹/۲۳ درصدی محتوای پراکسید هیدروژن گردید. ملاتونین احتمالاً با محافظت در برابر آسیب اکسیداتیو و پاکسازی رادیکال‌های آزاد از طریق تحریک سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی منجر به افزایش تحمل گیاه آگاستاکه در برابر تنش کم‌آبی و در نتیجه افزایش رشد و عملکرد شده است.

کلید واژه‌ها: آسیب اکسیداتیو، عملکرد، گل مکزیکی، ملاتونین

مقدمه

به متیل کایکول است. از ترکیبات این گیاه در صنایع دارویی و بهداشتی استفاده می‌شود. از این گیاه داروهای برای معالجه بیماری‌های ریوی و سرفه تهیه می‌شود. اسانس آگاستاکه، خاصیت ضدباکتریایی و ضدقارچی دارد و گل‌های آن جاذب زنبور عسل است (Omidbaigi, 2007).

خشکسالی یک عامل مهم غیرزیستی تعیین‌کننده بهره‌وری محصولات زراعی در سراسر جهان است. هنگامی که گیاهان در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرند، روند رشد محدود شده و باعث دگرگونی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک متعددی در

امروزه کشت‌وکار گیاهان دارویی به‌علت وجود متابولیت‌های ثانویه که خاصیت دارویی و درمانی دارند و در بسیاری از صنایع مورد استفاده قرار می‌گیرند، رواج بیشتری پیدا کرده است. آگاستاکه یا گل مکزیکی (*Agastache foeniculum* [Pursh] Kuntze) گیاهی علفی و چندساله از تیره نعناع (Lamiaceae) است (Omidbaigi, 2007; Raouf Fard et al., 2014). پیکر رویشی آگاستاکه حاوی اسانس (۱/۴ تا ۲ درصد) است. بیش‌ترین مقدار ترکیب اسانس در گیاه آگاستاکه مربوط

گیاهان می‌شود. خشکی طولانی مدت عوارض جدی‌تری مانند پژمردگی، نکروز سطحی و مرگ گیاه را به همراه دارد (Li et al., 2018). تحمل به تنش یک ویژگی پیچیده‌ای است و گیاهان برای مقابله با محیط نامطلوب رویکردهای متفاوتی را نشان می‌دهند (Chan and Shi, 2015). در شرایط تنش خشکی، ارتفاع بوته و سطح برگ گیاه آویشن دناپی کاهش می‌یابد و باعث کاهش وزن تر، خشک گیاه و در نهایت منجر به کاهش عملکرد می‌شود (Bahreininejad et al., 2013). از آنجا که کشور ما دارای آب‌وهوای خشک و نیمه‌خشک است و در بسیاری از فصول شاهد کمبود بارش‌ها هستیم، کشت گیاهان مقاوم به خشکی اهمیت زیادی دارد. گزارش شده است که تنش خشکی باعث کاهش ویژگی‌های مورفولوژیک و عملکرد گیاه رازیانه شده است (Mohamed and Abdu, 2004). تأثیر رژیم‌های متفاوت رطوبتی بر رزماری و نعناع نشان داد شدت بیشتر تنش خشکی باعث کاهش میزان فتوسنتز و ماده خشک می‌شود (Delfine et al., 2005).

کاهش اثرات آسیب‌رسان تنش خشکی و یا افزایش تحمل گیاهان به تنش خشکی می‌تواند نقش مهمی در غلبه بر موانع تولید محصولات زراعی در مناطق خشک و نیمه‌خشک داشته باشد. ملاتونین، فیتوهورمونی با مشتقاتی از یک آمینواسید ضروری است که اولین بار از غدد صنوبری گاو جداسازی شده است و به‌عنوان N-استیل-۵-متوکسی-تریپتامین معرفی شده است (Lerner et al., 1958). چندین عملکرد فیزیولوژیکی ملاتونین از جمله تنظیم نمو، افزایش راندمان فتوسنتزی، بهبود سیستم دفاعی، تنظیم بیان ژن‌های واکنش‌گر به تنش‌های غیرزیستی و افزایش تحمل به تنش‌های غیرزیستی شناسایی شده است (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2015). همچنین مشخص شده که ملاتونین از بین‌برنده رادیکال‌های آزاد است (Tan et al., 2002). علاوه بر آن، ملاتونین در مهره‌داران، باکتری‌ها، موجودات تک سلولی، قارچ‌ها و گیاهان نیز یافت می‌شود (Poeggeler et al., 1991; Manchester et al., 2001). ملاتونین یک مولکول آمفی‌پاتیک است که می‌تواند به آسانی از طریق

غشای سلولی به درون سیتوپلاسم انتشار یابد و به اجزاء درون سلولی وارد شود. ملاتونین نقش‌های متنوعی در گیاهان آوندی ایفاء می‌کند. یکی از مهم‌ترین نقش‌های آن این است که به‌عنوان آنتی‌اکسیدانت عمل می‌کند و گیاهان را در مقابل تنش‌های زیستی و غیرزیستی محافظت می‌کند (Tan et al., 2012). همچنین ملاتونین توانایی تنظیم رشد گیاه و افزایش تولید محصول را در گیاهان دارد (Hernandez-Ruiz et al., 2005). در شرایط خشکی زیاد، گیاهان از رشد، میزان فتوسنتز و محتوای کلروفیل کمتری برخوردار هستند. تنش آب همچنین باعث کاهش جوانه‌زنی بذر و وزن خشک ریشه می‌شود. با این حال، تیمار با ملاتونین از طریق تأثیر بر طول ساقه، تعداد برگ، سیستم ریشه، ظرفیت فتوسنتزی و تولید زیست‌توده به‌طور قابل‌توجهی این بازدارندگی را کاهش می‌دهد (Zhang et al., 2015). نتایج آزمایش روی گیاه شنبلله تحت تنش خشکی نشان می‌دهد که با افزایش میزان کم‌آبی، طول بوته کاهش می‌یابد. در مقابل، وزن ریشه به‌عنوان یک مکانیسم دفاعی برای مقابله با تنش افزایش می‌یابد. میزان پرولین نیز با افزایش تنش خشکی افزایش یافته است. در این مطالعه، یافته‌ها نشان داد که غلظت ۱۰۰ و ۳۰۰ میکرومولار ملاتونین در افزایش رشد گیاه مؤثر است. در گیاهان تیمار شده با ملاتونین که تحت شرایط تنش خشکی قرار دارند، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برگ گیاهان تحت تنش افزایش بیشتری را نشان داد (Zamani et al., 2020). نتایج تحقیق دیگری نیز نشان داد تنش آبی باعث کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئیدها می‌شود، درحالی‌که کاربرد ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین باعث افزایش محتوای ترکیبات فنلی و فعالیت PAL در شرایط تنش می‌شود (Naghizadeh et al., 2019).

با در نظر گرفتن احتمال وقوع تنش خشکی و با توجه به نقش ملاتونین در افزایش مقاومت گیاهان به تنش خشکی و بهبود ویژگی‌های رشدی گیاه، تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر ملاتونین بر رشد و ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه دارویی آگاستاکه در شرایط تنش کم‌آبی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر به صورت یک آزمایش گلدانی در سال ۱۳۹۸ در یک گلخانه تجاری واقع در ارومیه، به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی و در سه تکرار اجرا شد که در آن عامل اول سطوح مختلف تنش کم‌آبی (عدم تنش، تنش کم‌آبی با تخلیه ۴۰ درصد رطوبت ظرفیت گلدانی و تنش کم-آبی با تخلیه ۷۰ درصد رطوبت ظرفیت گلدانی) و عامل دوم غلظت‌های متفاوت محلول‌پاشی ملاتونین (شاهد، محلول‌پاشی یا آب مقطر، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) روی گیاه دارویی آگاستاکه بود. در مطالعه حاضر، بذور آگاستاکه از پژوهشکده گیاهان دارویی واقع در کرج و ملاتونین به صورت پودر سفید رنگ با درصد خلوص بیش از ۹۸ درصد از شرکت Sigma-Aldrich تهیه گردید. تعداد پنج عدد بذر در گلدان‌هایی با اندازه دهانه ۲۳ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۱/۵ سانتی‌متر، محتوی ۲۹ درصد رس، ۴۰ درصد سیلت و ۳۱ درصد شن با بافت خاک لوم رسی، pH برابر با ۷/۰۲، هدایت الکتریکی ۲/۲ دسی‌زیمنس بر متر و ماده آلی ۲/۷۶ کشت شدند و بعد از استقرار سه عدد بوته نگهداری شد. گیاهان در گلخانه به مدت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی به ترتیب در دمای ۲۹ و ۱۷ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۸۰-۷۰ درصد و میزان نور ۲۷۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه رشد یافتند.

زمان اعمال تیمارها (اعمال تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی ملاتونین) قبل از مرحله گل‌دهی (۹۰ روز بعد از کاشت) بود. در این آزمایش برای اندازه‌گیری رطوبت خاک هر یک از گلدان‌ها از روش وزنی استفاده شد، بدین ترتیب که ابتدا تمامی گلدان‌ها وزن شده و گیاهان تا مرحله طویل شده ساقه به خوبی در حد ۹۰ ظرفیت مزرعه‌ای آبیاری شدند و از قبل از گلدهی تا مراحل ابتدایی گلدهی (زمانی که ۵۰ درصد بوته‌ها وارد این مرحله شدند) تنش کم‌آبی با توقف آبیاری تا زمانی که محتوای رطوبتی خاک تقریباً به حدوداً ۶۰-۳۰ درصد ظرفیت مزرعه برسد اعمال شد. برای اندازه‌گیری رطوبتی خاک از دستگاه رطوبت‌سنج (Time-domain reflectometer TDR) مدل PMS-714، تایوان استفاده شد. همچنین در گلدان‌های

بدون تنش نیز محتوای رطوبتی خاک در حد ۹۰ درصد حفظ شد. محلول‌پاشی با استفاده از محلول‌پاش دستی در زمان غروب آفتاب طی سه روز متوالی بر روی بوته‌ها تا زمانی که از برگ‌ها، محلول شروع به چکه‌کردن کند صورت گرفت. گلدان‌های شاهد (بدون محلول‌پاشی با ملاتونین) نیز فقط با آب مقطر اسپری شدند. در مرحله گل‌دهی کامل (کد ۶۵ مطابق با مقیاس BBCH)، بوته مربوط به هر تیمار را از گلدان خارج کرده و بخشی از نمونه‌های اندام‌های هوایی برای اندازه‌گیری‌های صفات مورفولوژیک (تعداد شاخه‌های فرعی، طول شاخه‌های جانبی و وزن خشک بخش هوایی) و محتوای قندهای محلول کل در نظر گرفته شد. بخشی دیگر نیز به سرعت در نیتروژن مایع قرار داده شد و برای اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک (مثل رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای مالون دآلدئید، پرولین و پراکسید هیدروژن) به فریزر ۷۰- درجه سلسیوس در آزمایشگاه منتقل شد.

محتوای پرولین آزاد مطابق روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. ۰/۱ گرم ماده تر گیاهی را با هاون خرد کرده و درون یک تیوب ریخته شد، سپس ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۰/۳ به آن اضافه گردید. تیوب‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شدند. ۲ میلی‌لیتر از محلول شناور سانتریفیوژ شده را درون لوله‌های آزمایش ریخته و ۲ میلی‌لیتر اسید ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به آن اضافه گردید. محلول حاصل به مدت ۱ ساعت در حمام آب گرم و در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. سپس برای پایان یافتن واکنش، لوله‌های آزمایش در داخل بستر یخی قرار گرفته و ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هر لوله اضافه گردید. لوله‌های آزمایش مربوطه به مدت ۲۰ ثانیه با دستگاه ورتکس به هم زده شد. اندازه‌گیری میزان پرولین با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (PG Instrument LTD T80+ UV/VIS, UK) در طول موج ۵۲۰ نانومتر تعیین شد و با منحنی استاندارد مقدار پرولین بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه شد.

برای آنالیز مالون دآلدئید از روش Heath و Packer

سپس بخش رویی به یک بالن ژوزه ۱۰۰ میلی‌لیتری انتقال یافت و حجم آن با آب مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. به دو میلی‌لیتر از هر یک از محلول‌های به‌دست آمده به ترتیب ۱ میلی‌لیتر فنل ۵٪ و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک خالص اضافه شد و در نهایت، جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد براساس میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بیان شد.

محتوای رنگیزه‌های فتوستتزی به روش Lichtenthaler و Wellburn (۱۹۸۳) انجام گرفت. بدین صورت که ۰/۱ گرم ماده تر گیاهی توزین و در هاون چینی به کمک ازت مایع پودر شدند. نمونه‌ی گیاهی خردشده را درون تیوب ریخته و سپس ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به آن اضافه گردید و برای دستیابی به مخلوطی کاملاً همگن، از ورتکس استفاده شد. سپس تیوب‌ها در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و با دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. میزان جذب نور روشناور با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۰ نانومتر برای برآورد مقدار کاروتنوئیدها استفاده شد و در نهایت بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برآورد شدند.

آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار SAS نسخه 9.1 انجام شد. برای مقایسه میانگین داده‌ها از روش دانکن در سطح احتمال خطای ۵ درصد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

محتوای کلروفیل: تنش کم‌آبی تأثیر معنی‌داری بر محتوای رنگیزه‌های فتوستتزی داشت (جدول ۱). تنش کم‌آبی در ۶۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای منجر به افزایش محتوای کلروفیل a و b و کل گردید درحالی‌که تنش کم‌آبی شدید با ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای باعث کاهش شدید در محتوای کلروفیل a، b و کل شد. نتایج نشان داد که محتوای کلروفیل a در تنش کم‌آبی متوسط، افزایش ۱۸/۵۱ درصدی را نشان داد و محتوای کلروفیل b و کل به ترتیب افزایش ۱۲/۴۴ و ۱۴/۹۴ درصدی را نشان دادند ولی تنش کم‌آبی شدید، محتوای کلروفیل a، b و

(۱۹۶۸) استفاده شد. از نمونه‌های تر فریزشده ۰/۱ گرم توزین کرده و داخل هاون چینی ریخته و توسط نیتروژن مایع خرد و یکنواخت شدند. سپس نمونه‌ها را درون تیوب ریخته و به آن ۱/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید ۰/۱ درصد اضافه کرده و به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ با دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ گردید. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از روشناور را برداشته و به آن یک میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید ۲۰ درصد حاوی ۰/۵ درصد تیوباریتوریک اسید اضافه شد. مخلوط به‌دست آمده به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم (۹۵ درجه سلسیوس) انکوبه گردید. سپس مخلوط حاصل را بلافاصله در حمام یخ قرار داده تا سرد شود و در سرعت ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. محتوای MDA با استفاده از جذب در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر سنجش شد.

میزان پراکسید هیدروژن با روش Alexieva و همکاران (۲۰۰۱) تعیین شد. ۰/۱ گرم نمونه را خرد کرده به آن ۵ میلی‌لیتر محلول اسید تری‌کلرو استیک یک درصد (w/v) اضافه گردید. نمونه هموزنیزه‌شده در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی سانتریفیوژ شده به ۰/۵ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار (pH=7) و یک میلی‌لیتر محلول یک مولار از KI اضافه گردید. محتوی H₂O₂ با توجه به نمودار استاندارد و تعیین جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-VIS در طول موج ۳۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

محتوای قند کل از روش فنل-اسید سولفوریک (Sheligl, 1986) اندازه‌گیری شد. نمونه گیاهی پس از توزین و همگن شدن با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰٪ در بالن مخصوص مبرد در حمام آب در حال جوش به مدت ۱۵ دقیقه حرارت داده شد. پس از خارج کردن مبرد و سرد شدن آن، محتویات بالن با کاغذ واتمن شماره ۲ و قیف شیشه‌ای صاف گردید. ته بالن و روی قیف چندین بار با آب مقطر شسته و از صافی عبور داده شد. برای جدا کردن ناخالصی‌ها، ۵ میلی‌لیتر هیدروکسید باریم ۰/۳ نرمال و ۵ میلی‌لیتر سولفات روی ۵ درصد اضافه شد. مخلوط فوق در سرعت ۵۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید.

جدول ۱- تجزیه واریانس برخی صفات مورفولوژیک آگاستاکه تحت تأثیر محلول پاشی ملاتونین و تنش کم آبی

میانگین مربعات				درجه آزادی	منبع تغییرات
محتوای کاروتنوئید	محتوای کلروفیل کل	محتوای کلروفیل b	محتوای کلروفیل a		
۰/۰۹۹**	۰/۱۳۲**	۰/۰۵۵**	۰/۰۱۶۵**	۲	بلوک
۰/۴۰۰**	۰/۱۷۳**	۰/۰۶۲**	۰/۰۲۹۲**	۲	رژیم رطوبتی (a)
۰/۰۲۴**	۰/۰۱۷**	۰/۰۱۲**	۰/۰۰۰۶ ^{ns}	۲	ملاتونین (b)
۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۳ ^{ns}	۴	اثر متقابل رژیم رطوبتی × ملاتونین
۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۳	۱۶	اشتباه آزمایشی
۴/۷۴	۵/۲۱	۵/۷۷	۴/۴۳		ضریب تغییرات (درصد)

*, ** به ترتیب معنی داری در سطح پنج و یک درصد؛ ^{ns}، عدم اختلاف معنی دار

ملاتونین از طریق افزایش غلظت یون منیزیم، کاروتنوئیدها، آنتوسیانین و فلاونوئید که مطلوب برای بیوسنتز کلروفیل است کلروفیل را از انواع اکسیژن فعال حفاظت کند و منجر به بهبود وزن خشک گیاه شود (Farouk and Al-Amri, 2019). مطالعات دیگری نیز نشان می‌دهد که کاربرد ملاتونین باعث القا و کاهش قابل توجه در بیان ژن فنوفورید اکسیداز (ژن کلیدی در فرایند تجزیه کلروفیل)، ژن مرتبط با پیری (SAG12) و بیان ژن کلروفیلز می‌شود (Wang et al., 2013; Weeda et al., 2014).

محتوای کاروتنوئید: نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد محتوای کاروتنوئید به واسطه تنش کم آبی تأثیر معنی داری نشان داد (جدول ۱). به طوری که با تنش کم آبی متوسط و شدید به ترتیب افزایش ۱۳/۳۴ و کاهش ۳۹ درصدی را نشان داد (جدول ۲). افزایش محتوای کاروتنوئیدها تحت تنش کم آبی متوسط (۴۰ درصد تخلیه رطوبت ظرفیت گلدانی) احتمالاً مربوط به این باشد که کاروتنوئیدها به عنوان محافظت کننده‌های نوری می‌توانند نقش مهمی در حفاظت کلروفیل‌ها تحت شرایط تنش داشته باشند (Farouk and Al-Amri, 2019). کاهش آن نیز در شرایط کم آبی شدید (۷۰ درصد تخلیه رطوبت ظرفیت گلدانی) می‌تواند مرتبط با افزایش تنش اکسیداتیو و تولید انواع اکسیژن فعال (ROS) تحت شرایط تنش باشد (Mittler, 2002). افزایش غلظت ملاتونین نیز تأثیر

کل را نسبت به شاهد به ترتیب ۹/۰۵، ۱۵/۹۷ و ۱۳/۳۲ درصدی کاهش داد (جدول ۲). پژوهش‌ها نشان می‌دهد افزایش غلظت کلروفیل در شرایط تنش کم آبی متوسط ممکن است ناشی از افزایش غلظت کاروتنوئیدها و حفظ غلظت آنها تحت شرایط تنش باشد. شرایط تنش کم آبی شدید از طریق بازداری سنتز کلروفیل (Munne-Bosch et al., 2007) باعث از دست رفتن کلروفیل شده و همچنین مطالعات نشان می‌دهد که از دست رفتن کلروفیل ممکن است مربوط به آسیب‌های پیری برگ در شرایط تنش خشکی باشد (Fu and Huang, 2001). تنش کم آبی شدید از طریق افزایش تولید انواع اکسیژن فعال (ROS) و القاء تنش اکسیداتیو باعث افزایش در پراکسیداسیون لیپیدها و اکسیداسیون پروتئین‌ها شده و در نهایت منجر به تجزیه کلروفیل و کاهش غلظت آن می‌شود (Palma et al., 2002). نتایج نشان داد که محلول پاشی برگی ملاتونین در هر دو غلظت منجر به افزایش محتوای کلروفیل b و کل گردید که این میزان افزایش در غلظت ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین بیشتر بود به طوری که در کلروفیل b و کل به ترتیب ۱۳/۳۹ و ۸/۸۸ درصدی را گیاهان تجربه کردند (جدول ۳). مطالعات نشان می‌دهد که اثرات ملاتونین روی رنگیزه‌های فتوسنتزی ممکن است مرتبط با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها یا افزایش ظرفیت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهان باشد (Xalxo and Keshavkant, 2019). از طرفی دیگر ممکن است کاربرد

جدول ۲- مقایسه میانگین محتوای رنگیزه‌ها، مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن گیاه آگاستاکه تحت تنش کم‌آبی

رژیم رطوبتی	کاروفیل				
	a	b	کل	کاروتنوئید	مالون دی‌آلدئید (نانو مول بر گرم وزن تر)
بدون تنش	۰/۴۰ ^b ± ۰/۰۱	۰/۵۸ ^b ± ۰/۰۲	۰/۹۸ ^b ± ۰/۰۴	۰/۹۹ ^b ± ۰/۰۳	۰/۳۰ ^c ± ۰/۰۴
تخلیه ۴۰ درصد رطوبت ظرفیت گلدانی	۰/۴۷ ^a ± ۰/۰۱	۰/۶۵ ^a ± ۰/۰۳	۱/۱۳ ^a ± ۰/۰۳	۱/۱۲ ^a ± ۰/۰۳	۱/۰۴ ^b ± ۰/۰۹
تخلیه ۷۰ درصد رطوبت ظرفیت گلدانی	۰/۳۶ ^c ± ۰/۰۲	۰/۴۹ ^c ± ۰/۰۳	۰/۸۵ ^c ± ۰/۰۵	۰/۷۱ ^c ± ۰/۰۵	۳/۷۱ ^a ± ۰/۲۹

مقادیر با حروف یکسان در هر ستون، فاقد اختلاف معنی‌دار آماری براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

جدول ۳- مقایسه میانگین محتوای رنگیزه‌ها و پراکسید هیدروژن گیاه آگاستاکه تحت تأثیر محلول پاشی ملاتونین

ملاتونین	کاروفیل			پراکسید هیدروژن (میکرومول بر گرم وزن تر)
	b	کل	کاروتنوئید	
شاهد	۰/۵۴ ^b ± ۰/۰۴	۰/۹۵ ^b ± ۰/۰۵	۰/۸۹ ^c ± ۰/۰۷	۱/۶۹ ^a ± ۰/۰۲
۵۰ میکرومولار	۰/۵۷ ^b ± ۰/۰۳	۰/۹۷ ^b ± ۰/۰۵	۰/۹۴ ^b ± ۰/۰۸	۱/۲۷ ^b ± ۰/۰۱۱
۱۰۰ میکرومولار	۰/۶۲ ^a ± ۰/۰۴	۱/۰۴ ^a ± ۰/۰۶	۰/۹۹ ^a ± ۰/۰۶	۱/۲۰ ^b ± ۰/۰۹

مقادیر با حروف یکسان در هر ستون، فاقد اختلاف معنی‌دار آماری براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

به افزایش معنی‌دار این صفت در بخش هوایی شد (جدول ۲). هر چند که ملاتونین تأثیر معنی‌داری نداشت ولی با مشاهده داده‌ها مشخص شد که غلظت بالای ملاتونین می‌تواند از میزان MDA بکاهد. پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهد که تنش‌های محیطی منجر به پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی شده که دو محصول حاصل از فرایند پراکسیداسیون شناخته شده شامل مالون دی‌آلدئید و ۴-هیدروکسی نونال است که این دو ترکیب با مولکول‌های زیستی حیاتی واکنش داده و منجر به آسیب جدی به این ساختارها می‌شود (Ma et al., 2016).

محتوای پراکسید هیدروژن بخش هوایی: محتوای پراکسید هیدروژن بخش هوایی تحت تأثیر متقابل کم‌آبی و ملاتونین قرار نگرفت اما اثرات اصلی کم‌آبی و ملاتونین به تنهایی منجر به تأثیرات معنی‌دار این صفت گردید (جدول ۴). محتوای پراکسید هیدروژن بخش هوایی در شرایط تنش متوسط و شدید به ترتیب افزایش ۱۴۴/۷۵ و ۴۶۰/۱۰ درصدی

معنی‌داری بر محتوای کاروتنوئید داشت (جدول ۱). به طوری که با افزایش غلظت ملاتونین (۱۰۰ میکرومولار)، محتوای کاروتنوئید، افزایش ۱۱/۵۸ درصدی را تجربه کرد (جدول ۳) که این مورد نشان‌دهنده این مطلب است که ملاتونین می‌تواند باعث افزایش تجمع کاروتنوئیدها شود و از این طریق می‌تواند بر بهبود ساختار و افزایش غلظت کلروفیل مؤثر باشد (Farouk and Al-Amri, 2019). همچنین در بررسی دیگر نیز نشان داده شد که ملاتونین باعث بهبود فتوسنتز و عملکرد از طریق افزایش راندمان فتوسنتزی، محتوای کلروفیل، کاروتنوئید می‌شود (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2015).

محتوای مالون دی‌آلدئید (MDA) بخش هوایی: محتوای مالون دی‌آلدئید بخش هوایی تحت تأثیر متقابل کم‌آبی و کاربرد ملاتونین قرار نگرفت (جدول ۴). تنش کم‌آبی تأثیر معنی‌داری بر MDA بخش هوایی در سطح یک درصد داشت ولی ملاتونین تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۴). تنش کم‌آبی منجر

جدول ۴- تجزیه واریانس برخی صفات مورفولوژیک آگاستاکه تحت تأثیر محلول پاشی ملاتونین و تنش کم آبی

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		مالون دآلدئید	پراکسید هیدروژن	پرولین
بلوک	۲	۱/۸۷۹**	۱/۲۸۰**	۲/۶۳۶**
رژیم رطوبتی (a)	۲	۲۸/۹۲۱**	۱۰/۵۲۰**	۹/۲۴۸**
ملاتونین (b)	۲	۰/۰۲۷ ^{ns}	۰/۶۴۲**	۱/۴۸۷**
اثر متقابل رژیم رطوبتی × ملاتونین	۴	۰/۰۲۴ ^{ns}	۰/۱۲۰ ^{ns}	۰/۴۱۱*
اشتباه آزمایشی	۱۶	۰/۱۶۱	۰/۰۹۳	۰/۱۰۳
ضریب تغییرات (درصد)		۲۳/۸۱	۲۱/۹۴	۱۳/۳۲
قند کل				۰/۰۵۴**
				۱۸۷/۳۸۱**
				۰/۳۵۶**
				۰/۰۱۴**
				۰/۰۰۲
				۰/۳۰

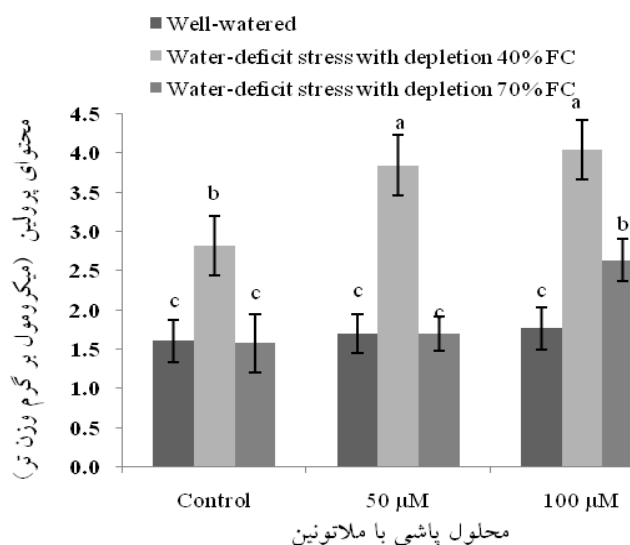
*، ** به ترتیب معنی داری در سطح پنج و یک درصد؛ ^{ns}، عدم اختلاف معنی دار

را تجربه کرد (جدول ۲). پراکسید هیدروژن پایدارترین واسطه حاصل از فرایند احیاء اکسیژن است که در شرایط تنش‌های محیطی با فرایندهای بیوشیمیایی انتقال متوالی الکترون تولید شده و دارای حداقل واکنش پذیری است و گونه‌ای است که به راحتی قابل شناسایی است. آن ممکن است به‌طور مستقیم از طریق احیای دو ظرفیتی اکسیژن یا احیای تک ظرفیتی رادیکال سوپراکسید، توسط آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تولید گردد. این ترکیب قادر است باعث پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع به اکسیداسیون گروه‌های تیول (-SH) و متیونین در پروتئین‌ها شود. نتایج نشان داد که کاربرد خارجی ملاتونین در غلظت بالا باعث کاهش ۲۹/۲۳ درصدی پراکسید هیدروژن بخش هوایی شد (جدول ۳). به‌نظر می‌رسد کاهش محتوای پراکسید هیدروژن به‌واسطه کاربرد ملاتونین ناشی از تجمع بسیار زیاد ترکیبات فنلی مثل فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها و یا از طریق افزایش سیستم پاکسازی به‌واسطه آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی و غیرآنزیمی باشد (Tan et al., 2007; Ma et al., 2016).

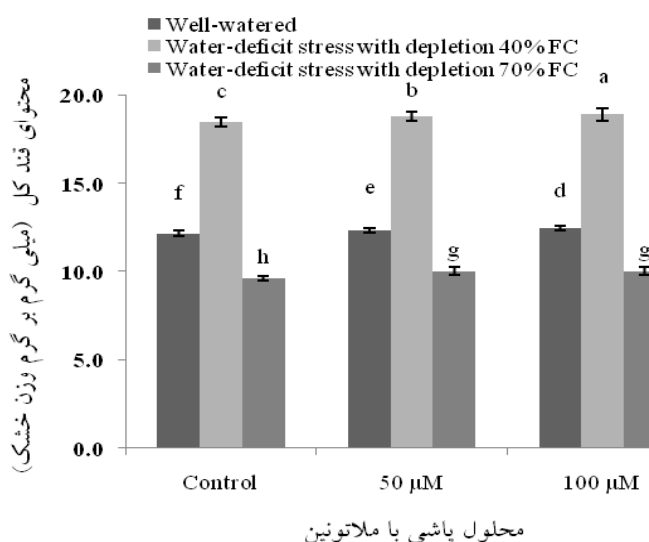
محتوای پرولین بخش هوایی: اثرات متقابل تنش کم آبی و ملاتونین بر محتوای پرولین بخش هوایی معنی دار شد (جدول ۴). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که پرولین بخش هوایی در شرایط تنش کم آبی متوسط و کاربرد ملاتونین بیشترین میزان را داشت اما تنش کم آبی و ملاتونین در غلظت کم تأثیر معنی داری نشان نداد فقط کاربرد ملاتونین با غلظت بالا توانست باعث

افزایش اندک این ترکیب در شرایط تنش کم آبی شدید شد (شکل ۱). پرولین شناخته‌ترین محلول سازگار بوده که در فرایندهای سازگاری به خشکی در تنظیم اسمزی دخالت دارد و علاوه بر آن نقش، نقش‌های دیگری مثل اثر حفاظتی بر ساختارهای سلول، عمل آنتی‌اکسیدانتی، انتقال انرژی، ذخیره کربن و نیتروژن که برای پایداری سلول لازم است می‌تواند برای پرولین گزارش کرد. همچنین مطالعات نشان می‌دهد که کاربرد خارجی ملاتونین منجر به افزایش پرولین می‌شود (Campos et al., 2019). پرولین یک محافظت‌کننده اسمزی است که به‌عنوان پایدارکننده ساختار دیواره سلولی عمل می‌کند و باعث حفظ پایین‌ترین سطح ضروری هیدراسیون در درون سلول‌ها می‌شود (Rejeb et al., 2014).

قندهای محلول کل: محتوای قندهای کل تحت تأثیر متقابل کم آبی و ملاتونین قرار گرفت (جدول ۴). مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که تنش کم آبی متوسط منجر به افزایش قند کل به‌ویژه با کاربرد خارجی ملاتونین می‌شود. اما تنش کم آبی شدید، میزان قند کل را کاهش داد و ملاتونین تا حدودی توانست این کاهش را جبران کند (شکل ۲). مطالعات نشان می‌دهد با خشک شدن خاک پتانسیل آب گیاه منفی تر شده و گیاهان به‌منظور غلبه بر این شرایط از سازوکارهای متفاوتی بهره می‌گیرند که از جمله آن می‌توان به تنظیم اسمزی اشاره نمود که در طی تنظیم اسمزی در سلول‌ها یکسری ترکیبات مثل اسیدهای آلی و قندها در سیتوسول افزایش می‌یابد و



شکل ۱- اثر متقابل تنش کم آبی و محلول پاشی با ملاتونین بر محتوای پرولین. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی دار براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است.



شکل ۲- تأثیر متقابل تنش کم آبی و محلول پاشی با ملاتونین بر محتوای قند کل. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی دار براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است.

معنی داری تحت تأثیر متقابل تنش کم آبی و ملاتونین قرار گرفت (جدول ۵). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش کم آبی متوسط باعث بهبود وزن خشک بخش هوایی می‌شود ولی تنش خشکی شدید باعث کاهش معنی دار آن گردید. از طرفی دیگر ملاتونین در تمامی سطوح تنش کم آبی باعث بهبود و افزایش وزن خشک بخش هوایی گردید (جدول ۶). نتایج نشان داد که احتمالاً تنش خشکی متوسط با بهبود صفاتی مثل

باعث می‌شود که این گیاهان پتانسیل آب خود را در سطح پایین نگه دارند و این منجر به حفظ تورم سلولی و ادامه فتوسنتز می‌شود (Campos *et al.*, 2019) و تحت این شرایط، قندهای کل می‌تواند به عنوان اسکلت کربنی یا منبع انرژی برای گیاهان مورد استفاده قرار گیرد تا این که ترکیبات آلی سنتز شوند (Farouk and Al-Amri, 2019).

وزن خشک بخش هوایی: وزن خشک بوته به طور

جدول ۵- نتیجه تجزیه واریانس و برش‌دهی اثر متقابل صفات مورفولوژیک

مجموع مربعات			درجه آزادی	منبع تغییر
طول شاخه‌های جانبی	تعداد شاخه‌های جانبی	وزن خشک بخش هوایی		
۱۸/۳۷**	۱۸/۰۰**	۶/۸۶**	۲	بلوک
۱۴۱/۱۸**	۳۴/۶۶**	۱۴۷/۲۷**	۲	رژیم رطوبتی (A)
۱/۷۷**	۴/۶۶**	۳۱/۶۷**	۲	ملاتونین (B)
۱/۸۰**	۱/۳۳**	۸/۷۰**	۴	اثر متقابل رژیم رطوبتی × ملاتونین
۰/۰۰۰۰۰۰۰۶	۰/۰۰۰۰۰۰۰۶	۴/۹۱	۱۶	اشتباه آزمایشی
۱/۳۸	۱/۲۱	۷/۶۰		ضریب تغییرات (درصد)
برش‌دهی اثر متقابل: مجموع مربعات سطوح B (ملاتونین) در هر سطح A (رژیم رطوبتی)				
سطح A			درجه آزادی	
طول شاخه‌های جانبی	تعداد شاخه‌های جانبی	وزن خشک بخش هوایی		
۰/۹۶**	۱/۹۹**	۱۷/۸۵**	۲	بدون تنش
۲/۵۴**	۱/۹۷**	۲۰/۸۰**	۲	تخلیه ۴۰ درصد رطوبت ظرفیت گلدانی
۰/۰۷**	۱/۹۶**	۱/۷۱	۲	تخلیه ۷۰ درصد رطوبت ظرفیت گلدانی
برش‌دهی اثر متقابل: مجموع مربعات سطوح A (رژیم رطوبتی) در هر سطح B (ملاتونین)				
سطح B			درجه آزادی	
طول شاخه‌های جانبی	تعداد شاخه‌های جانبی	وزن خشک بخش هوایی		
۳۵/۰۴**	۱۳/۹۸**	۲۵/۷۳**	۲	شاهد
۴۷/۰۰**	۸/۰۰**	۶۱/۸۲**	۲	۵۰ میکرومولار
۶۰/۹۴**	۱۴/۰۰**	۶۸/۴۱**	۲	۱۰۰ میکرومولار

*، ** به ترتیب معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد

در تنش خشکی متوسط تفاوت آنچنانی با شرایط شاهد نداشت ولی تنش خشکی شدید آن را به شدت کاهش داد. از طرفی دیگر محلول‌پاشی با ملاتونین توانست تا حدی اثرات تنش کم‌آبی را کاهش دهد. همچنین نتایج نشان داد که طول شاخه‌های جانبی در شرایط تنش کم‌آبی متوسط، با افزایش غلظت ملاتونین افزایش یافت ولی در شرایط خشکی شدید به شدت میزان طول شاخه‌های جانبی کاهش یافت (جدول ۶). احتمالاً تنش خشکی از طریق کاهش آماس سلولی، کاهش فعالیت‌های پروتوپلاسمی موجب تغییرات در انواع و مقادیر کربوهیدرات‌های گیاهان شده و از این طریق تأثیر خود را بر روی شاخه‌های جانبی می‌گذارد. از طرفی ملاتونین ممکن است از طریق بهبود هدایت روزنه‌ای، راندمان فتوسنتزی،

رنگیزه‌های فتوسنتزی توانسته وزن خشک گیاه را حفظ و بهبود بخشد. اما تنش خشکی شدید علاوه بر کاهش رنگیزه‌ها موجب کاهش سریع رشد گیاه و بنابراین وزن خشک بوته شد (جدول ۳). از طرفی ملاتونین از طریق اثرات حفاظتی که روی گیاه دارد به واسطه کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و انواع اکسیژن فعال و حفظ پایداری غشا می‌تواند منجر به بهبود RWC، تورم سلولی و ساختارهای سلولی گردد و نهایتاً باعث بهبود و حفظ وزن خشک بوته گردد (Farouk and Al-Amri, 2019; Wang et al., 2016).

شاخه‌های جانبی: تعداد و طول شاخه‌های جانبی گیاه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر اثرات متقابل کم‌آبی و کاربرد برگی ملاتونین قرار گرفتند (جدول ۵). تعداد شاخه‌های جانبی

جدول ۶- مقایسه میانگین برخی صفات در رژیم‌های متفاوت رطوبتی و محلول‌پاشی با ملاتونین

تعداد شاخه‌های جانبی	طول شاخه‌های جانبی (سانتی‌متر)	وزن خشک بخش هوایی (گرم)	رژیم‌های رطوبتی
۶/۳۳ ^a ± ۰/۵۸	۴/۸۱ ^b ± ۰/۴۷	۸/۰۰ ^b ± ۰/۵۵	بدون تنش
۵/۶۶ ^b ± ۰/۵۴	۷/۱۸ ^a ± ۰/۶۶	۹/۷۲ ^a ± ۰/۵۸	تخلیه ۴۰ درصد رطوبت ظرفیت گلدانی
۳/۶۶ ^c ± ۰/۵۱	۱/۶۰ ^c ± ۰/۲۵	۴/۱۳ ^c ± ۰/۴۶	تخلیه ۷۰ درصد رطوبت ظرفیت گلدانی
محلول‌پاشی با ملاتونین			
۴/۶۶ ^c ± ۰/۴۴	۴/۲۱ ^c ± ۰/۳۷	۵/۷۹ ^c ± ۰/۴۵	شاهد
۵/۳۳ ^b ± ۰/۵۱	۴/۵۵ ^b ± ۰/۴۶	۷/۷۲ ^b ± ۰/۵۹	۵۰ میکرومولار
۵/۶۶ ^a ± ۰/۶۱	۴/۸۳ ^a ± ۰/۴۵	۸/۳۳ ^a ± ۰/۵۶	۱۰۰ میکرومولار

مقادیر با حروف یکسان در هر ستون، فاقد اختلاف معنی‌دار آماری براساس آزمون دانکن هستند.

می‌شود. عملکرد مستقیم ملاتونین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان باعث سم‌زدایی شیمیایی، تثبیت غشا و ترمیم سیالیت غشا می‌شود. پاسخ ملاتونین به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد گیاه به غلظت آن بستگی دارد که در دوز کم باعث رشد شاخه می‌شود. همچنین منجر به کاهش محتوای پراکسید هیدروژن بخش هوایی و تا حدودی محتوای MDA شد. کاربرد ملاتونین می‌تواند باعث پاکسازی انواع اکسیژن فعال از طریق تحریک سیستم آنتی‌اکسیدان‌تی آنزیمی و غیرآنزیمی و همچنین القاء مواد تنظیم‌کننده اسمزی شود و از این طریق موجب افزایش رشد و نهایتاً منجر به افزایش عملکرد در گیاه شود. از آنجایی که ملاتونین یک ماده‌ی ایمن و سازگار با محیط‌زیست است می‌تواند یک روش کاربردی برای بهبود و تحمل گیاه آگاستاکه به تنش کم‌آبی به‌عنوان محرک زیستی در نظر گرفته شود.

وضعیت آبی گیاه و تورم سلولی منجر به اثرات مثبت در این صفت گردد (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2015; Farouk and Al-Amri, 2019; Taiz and Zeiger, 2010).

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که تنش خشکی متوسط می‌تواند از طریق بهبود صفات رنگیزه‌هایی مثل کلروفیل a, b و کل، کاروتنوئیدها و محلول‌های سازگار مثل پرولین و قند کل باعث افزایش تعداد و طول شاخه‌های جانبی و درنهایت موجب افزایش وزن خشک بخش هوایی می‌شود. از طرفی دیگر محلول‌پاشی با ملاتونین نیز توانست این اثر بهبود بخشی را در صفات ذکر شده افزایش دهد. ملاتونین به‌عنوان یک محرک زیستی از تخریب کلروفیل و همچنین افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی زیست‌توده جلوگیری کرده و غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار باعث افزایش صفات مورفولوژیکی آگاستاکه در شرایط تنش کم‌آبی

منابع

- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. and Karanov, E. (2001) The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell and Environment* 24: 1337-1344.
- Arnao, M. B. and Hernandez-Ruiz, J. (2015) Functions of melatonin in plants: A review. *Journal of Pineal Research* 59: 133-150.
- Bahreininejad, B., Razmjoo, J. and Mirza, M. (2013) Influence of water stress on morphophysiological and phytochemical traits in *Thymus daenensis*. *International Journal of Plant Production* 7: 155-166.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.

- 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.
- Chan, Z. and Shi, H. (2015) Improved abiotic stress tolerance of bermuda grass by exogenous small molecules. *Plant Signaling and Behavior* 10: e991577.
- Delfine, S., Loreto, F., Pinelli, P., Tognetti, R. and Alvino, A. (2005) Isoprenoids content and photosynthetic limitations in rosemary and spearmint plants under water stress. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 106: 243-252.
- 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
- Fu, J. and Huang, B. (2001) Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Environmental and Experimental Botany* 45: 105-114.
- Hardeland, R. (1999) Melatonin and 5-methoxytryptamine in non-metazoans. *Reproduction Nutrition Development* 39: 399-408.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
- Hernandez-Ruiz, J., Cano, A. and Arnao, M. B. (2005) Melatonin acts as a growth-stimulating compound in some monocot species. *Journal of Pineal Research* 39: 137-142.
- Lerner, A. B., Case, J. D. and Takahashi, Y. (1958) Isolation of melatonin, a pineal factor that lightens melanocytes. *Journal of the American Chemical Society* 80: 2587.
- Li, X., Wei, J. P., Scott, E. R., Liu, J. W., Guo, S., Li, Y. and Han, W. Y. (2018) Exogenous melatonin alleviates cold stress by promoting antioxidant defense and redox homeostasis in *Camellia sinensis* L. *Molecules* 23: 165.
- Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1983) Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11: 591-602.
- Ma, Q., Zhang, T., Zhang, P. and Wang, Z. Y. (2016) Melatonin attenuates postharvest physiological deterioration of cassava storage roots. *Journal of Pineal Research* 60: 424-434.
- Manchester, L. C., Poeggeler, B., Alvares, F. L., Ogden, G. B. and Reiter, R. J. (1995) Melatonin immunoreactivity in the photosynthetic prokaryote, *Rhodospirillum rubrum*: Implications for an ancient antioxidant system. *Cellular and Molecular Biology Research* 41: 391-395.
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7: 405-410.
- Mohamed, M. A. and Abdu, M. (2004) Growth and oil production of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill): Effect of irrigation and organic fertilization. *Biological Agriculture and Horticulture* 22: 31-39.
- Munne-Bosch, S. (2007) Aging in perennials. *Critical Reviews in Plant Sciences* 26: 123-138.
- Naghizadeh, M., Kabiri, R., Hatami, A., Oloumi, H., Nasibi, F. and Tahmasei, Z. (2019) Exogenous application of melatonin mitigates the adverse effects of drought stress on morpho-physiological traits and secondary metabolites in Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica*). *Physiology and Molecular Biology of Plants* 25: 881-894.
- Omidbaigi, R. (2007) Production and Processing of Medicinal Plants. 2nd Ed. Astan Ghods Razavi Publication, Iran.
- Palma, J. M., Sandalio, L. M., Corpas, F. J., Romero-Puertas, M. C., McCarthy, I. and Del Rio, L. A. (2002) Plant proteases, protein degradation, and oxidative stress: Role of peroxisomes. *Plant Physiology and Biochemistry* 40: 521-530.
- Poeggeler, B., Balzer, I., Hardeland, R. and Lerchl, A. (1991) Pineal hormone melatonin oscillates also in the *Gonyaulax dinoflagellate* polyedra. *Naturwissenschaften* 78: 268-269.
- Raouf Fard, F., Sharifi, M., Omidbaigi, R., Sefidkon, F., Behmanesh, M. and Ahmadi, N. (2014) Effect of methyl jasmonate on metabolic enzymes and phenolics in *Agastache foeniculum* [Pursh] Kuntze. *Iranian Journal of Medicinal Aromatic Plants* 30: 361-369.
- Reiter, R. J. (1991) Pineal melatonin: Cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocrine Reviews* 12: 151-180.
- Reiter, R. J., Tan, D. X., Burkhardt, S. and Manchester, L. C. (2001) Melatonin in plants. *Nutrition Reviews* 59: 286-290.
- Rejeb, K. B., Abdelly, C. and Savoure, A. (2014) How reactive oxygen species and proline face stress together. *Plant Physiology and Biochemistry* 80: 278-284.
- Sheligl, H. Q. (1986) Die verwertung orgngischer souren durch chlorella lincht. *Planta* 47-51.
- Taiz, L. and Zeiger, E. (2010) *Plant Physiology*. Sinauer Association Inc., Publishers Sunderland, Massachusetts, USA.
- Tan, D. X., Manchester, L. C., Terron, M. P., Flores, L. J. and Reiter, R. J. (2007) One molecule, many derivatives: A never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? *Journal of Pineal Research* 42: 28-42.
- Tan, D. X., Hardeland, R., Manchester, L. C., Korkmaz, A., Ma, S., Rosales-Corral, S. and Reiter, R. J. (2012) Functional roles of melatonin in plants, and perspectives in nutritional and agricultural science. *Journal of*

- Experimental Botany 63: 577-597.
- Tan, D. X., Reiter, R. J., Manchester, L. C., Yan, M. T., El-Sawi, M., Sainz, R. M., Mayo, J. C., Kohen, R., Allegra, M. and Hardeland, R. (2002) Chemical and physical properties and potential mechanisms: Melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 2: 181-197.
- 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, P., Sun, X., Li, C., Wei, Z., Liang, D. and Ma, F. (2013) Long-term exogenous application of melatonin delays drought-induced leaf senescence in apple. *Journal of Pineal Research* 54: 292-302.
- Weeda, S., Zhang, N., Zhao, X., Ndip, G., Guo, Y., Buck, G. A. and Ren, S. (2014) Arabidopsis transcriptome analysis reveals key roles of melatonin in plant defense systems. *PloS One* 9.
- Xalxo, R. and Keshavkant, S. (2019) Melatonin, glutathione and thiourea attenuate lead and acid rain-induced deleterious responses by regulating gene expression of antioxidants in *Trigonella foenum graecum* L. *Chemosphere* 221: 1-10.
- Zamani, Z., Amiri, H. and Ismaili, A. (2020) Improving drought stress tolerance in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) by exogenous melatonin. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* 1-13.
- 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.

Effect of melatonin on morphological and physiological parameters of Anise hyssop under water deficit stress conditions

Hamid Mohammadi^{*1}, Shahla Moradi¹ and Ahmad Aghae²

¹ Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

² Department of Biology, Faculty of Science, University of Maragheh, Iran

(Received: 08/01/2018, Accepted: 21/08/2018)

Abstract

In the present study to investigate the effect of melatonin on morphological and physiological parameters of *Agastache* under different water-deficit stresses used factorial experiment in the form of Randomized Completely Block Design with three replications an experiment was carried out in the commercial greenhouse, Urmia in 2019. The first factor was the levels of water deficit stress (non-stress, water deficit stress with depletion 40% and 70% FC) and the second factor was the different concentrations of melatonin (0, 50, and 100 μM) on *Agastache*. Results indicated that applying stress, especially moderate stress, increased plant pigments, proline content, total sugar, number and length of lateral branches, and ultimately increased the dry weight of shoot. Foliar application of various melatonin concentrations, especially 100 μM , caused an increase of 11.58% in carotenoids and 43.35% in shoot proline content, and a decrease of 29.23% H_2O_2 contents. Melatonin may have increased *Agastache* tolerance to water deficit stress by protecting against oxidative damage and scavenging free radicals through stimulating the enzymatic and non-enzymatic systems, resulting in an increased growth and yield.

Keywords: *Agastache foeniculum*, Melatonin, Oxidative damage, Yield.

Corresponding author, Email: hmohammadi@azaruniv.ac.ir; hm34476@yahoo.com