

## ملاتونین: تنظیم‌کننده رشد و آنتی‌اکسیدان قوی در گیاهان

حکیمه علومی<sup>۱\*</sup> و عفت السادات احمدی موسوی<sup>۲</sup><sup>۱</sup> گروه اکولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان<sup>۲</sup> بخش زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۱۷، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۰۴/۱۴)

## چکیده

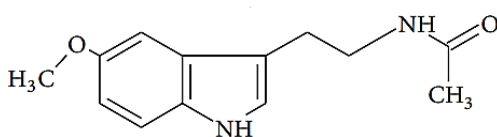
ملاتونین (ان-استیل ۵-متوکسی تریپتامین) یک ترکیب ایندولی مشتق از تریپتوفان بوده و در کلروپلاست و میتوکندری سلول‌های گیاهی سنتز می‌شود. ملاتونین در تمام گونه‌های گیاهی یافت می‌شود و مقدار آن به اندام یا بافت گیاهی بستگی دارد. از آنجایی که این مولکول دارای عملکردهای متعددی در گیاه است، به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد گیاهی در نظر گرفته می‌شود. از عملکردهای مهم ملاتونین، تأثیر قابل-توجه آن بر هورمون‌های اکسین، جیبرلین، سیتوکینین و اسید آبسزیک است. ملاتونین دارای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و مشابه اکسین در گیاهان است. ملاتونین دارای نقش‌های متعددی در پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه مانند بهبود جوانه‌زنی بذر و رشد جنین، فتوسنتز (مقدار رنگیزه‌ها، تنفس نوری، هدایت روزنه‌ای و مصرف آب)، تولید بذر و میوه، تنظیم اسمزی و متابولیسم است. ملاتونین در افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های غیرزیستی مانند خشکسالی، سرما، گرما، شوری، آلاینده‌های شیمیایی، علف‌کش‌ها و اشعه ماوراء بنفش نقش دارد. اثرات متنوع ملاتونین در بروز پاسخ‌های فیزیولوژیکی را به ویژگی آنتی‌اکسیدانی آن نسبت می‌دهند. ملاتونین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان در بسیاری از فعالیت‌های سلولی عمل کرده و در گیاهان به‌عنوان یک روبشگر عالی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و گونه‌های فعال نیتروژن (RNS) است. همچنین ملاتونین موجب فعال‌شدن پاسخ آنتی‌اکسیدانی سلول و فاکتورهای رونویسی مختلف شده، در نتیجه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و آنزیم‌های چرخه آسکوربات-گلوتاتیون فعال می‌شوند. این ترکیب، همچنین به‌عنوان تنظیم‌کننده ریتم شبانه‌روزی، محافظ و محرک رشد سلول، در ریشه‌زایی و محافظت در برابر عوامل تنش‌زا نقش دارد. بنابراین، با توجه به ویژگی‌های ذکرشده می‌توان از ملاتونین برای بهبود کیفی محصولات زراعی و باغی در برابر شرایط نامساعد محیطی و تنش‌های غیرزیستی استفاده کرد.

کلمات کلیدی: ملاتونین، آنتی‌اکسیدان‌ها، تنظیم‌کننده رشد گیاه، تنش غیرزیستی، مقاومت گیاهی

## مقدمه

ملاتونین در گیاهان تک‌لپه و دولپه نیز در سال ۱۹۹۵ جداسازی و شناسایی شد. این ترکیب ایندول آمین در موجودات مختلف از قبیل باکتری‌ها، جلبک‌های تک‌سلولی و

ملاتونین (ان-استیل ۵-متوکسی تریپتامین) یک ایندول آمین است که اولین بار توسط Lerner و همکاران در سال ۱۹۵۸ از غده پینه‌آل گاوی جداسازی و شناسایی شد (شکل ۱).



Melatonin

(N-acetyl-5-methoxytryptamine)

شکل ۱- ساختار مولکولی ملاتونین (Hardeland, 2016).

استیل تریپتامین به عنوان یک ترکیب حد واسط در این واکنش است. ملاتونین به طور مستقیم هم می تواند از سروتونین تولید شود. در این واکنش ۵- متوکسی تریپتامین به عنوان یک محصول حد واسط عمل می کند. این مسیر توسط آنزیم های HIOMT و SNAT کatalیز می شود (شکل ۲) (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2014a).

مقدار ملاتونین نه تنها در گونه های مختلف گیاهی و جانوری متفاوت است، بلکه در رقم های مربوط به یک گونه هم فرق دارد. علاوه بر این مقدار ملاتونین در یک گیاه به ویژه در شرایط تنش زا، به شرایط محیطی و مراحل نموی آن بستگی دارد (Sturtz et al., 2011).

مطالعات ثابت کرده اند در انسان، سطح ملاتونین بستگی به سن دارد به طوری که در افراد جوان سطح آن بالاتر بوده و با افزایش سن به تدریج کاهش می یابد. ملاتونین برای تقویت سیستم ایمنی موجود زنده مفید است و مقاومت بدن را در برابر عفونت و عوامل بیماریزا افزایش می دهد. ملاتونین به عنوان یک آنتی اکسیدان، گونه های فعال اکسیژن را بسیار بیشتر از ویتامین E و گلوکاتیون مهار می کند، همچنین نه تنها فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی مانند پراکسیدازها بلکه سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) را افزایش می دهد (Reiter et al., 2007).

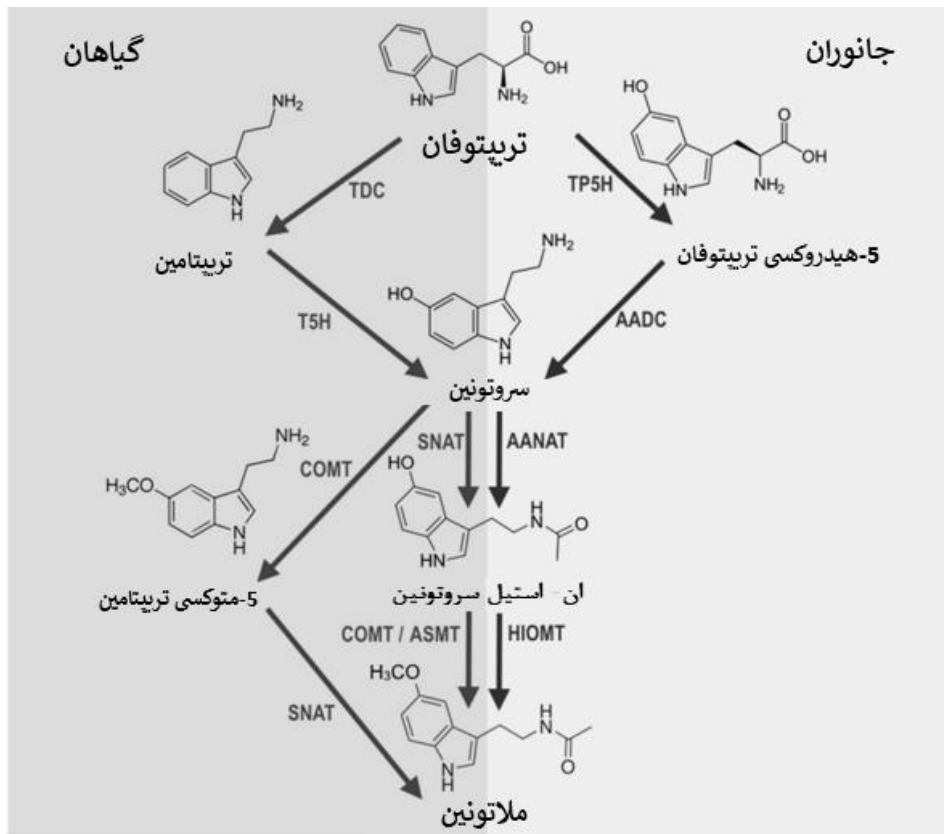
مقدار ملاتونین در گیاهان بسیار بیشتر از جانوران می باشد. با توجه به این که گیاهان در معرض شرایط نامساعد محیطی قرار دارند بنابراین، برای مقابله با این شرایط تغییرات متابولیکی متعددی را نشان می دهند. اسیدآمینو پیش ساز ملاتونین (تریپتوفان) در گیاهان از مسیر اسید شیکیمیک ساخته می شود. بنابراین، گیاهان در مقایسه با حیوانات محدودیتی در

پرسلولی، قارچ ها، گیاهان عالی، مهره داران و بی مهرگان یافت شده است (Posmyk and Janas, 2009).

### بیوسنتز ملاتونین در گیاهان و حیوانات

مطالعات نشان داده است که بیوسنتز ملاتونین در موجودات مختلف از طریق مسیر مشابه انجام می شود. پیش ساز ملاتونین در گیاهان و جانوران، L- تریپتوفان است. در ابتدای مسیر بیوسنتز ملاتونین، تریپتوفان توسط آنزیم تریپتوفان ۵- هیدروکسیلاز (TP5H) به ۵- هیدروکسی تریپتوفان تبدیل و در نهایت ۵- هیدروکسی تریپتوفان به سروتونین (۵- هیدروکسی تریپتامین) تبدیل می شود (Falcon et al., 2009). در حیوانات مسیر ۵- هیدروکسی تریپتوفان یک مسیر انحصاری برای تولید سروتونین در غده پینه آل می باشد. در گل راعی (*Hyericum perforatum L.*) هم ۵- هیدروکسی تریپتوفان در سنتز سروتونین نقش دارد (Murch and Saxena, 2006). با این وجود، مشخص شده که در گیاه برنج مسیر تریپتامین (تریپتوفان، تریپتامین، سروتونین) در تولید سروتونین دارای اهمیت بیشتری است. بطور معمول این مسیر در بسیاری از گونه های گیاهی نقش دارد (Park and Back, 2012).

سروتونین توسط آنزیم سروتونین ان- استیل ترانسفرار (SNAT) به ان- استیل سروتونین تبدیل می شود. به دنبال آن آنزیم هیدروکسی ایندول ا- متیل ترانسفرار (HIOMT) عمل کرده و در نهایت ملاتونین تشکیل می شود (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2014a). در برنج این مسیر توسط آنزیم های سروتونین ان- استیل ترانسفرار (SNAT) و تریپتوفان ۵- هیدروکسیلاز (T5H) کatalیز می شود و ان- استیل سروتونین به طور مستقیم از تریپتامین تشکیل می شود. ان-



شکل ۲- مسیرهای بیوسنتزی ملاتونین در حیوانات و گیاهان (Hardeland, 2016)

(*al.*, 2007). محققان پیشنهاد داده‌اند که در ارقام زراعی گیلاس ملاتونین می‌تواند در میوه سنتز شود و همچنین توسط ریشه از خاک جذب و سپس به اندام‌های گیاه از قبیل میوه انتقال داده شود. احتمالاً ملاتونین موجود در گیاه می‌تواند توسط فعالیت میکروارگانیزم‌های خاک (باکتری‌ها، قارچ‌ها و جلبک‌های تک‌سلولی) حاصل شود (Muszynska and Sułkowska- Ziaja, 2012). علاوه بر جذب ملاتونین توسط ریشه، جذب آن توسط لپه گیاه باقلا، برگ جو و بذر خیار هم گزارش شده است (Posmyk *et al.*, 2009; Hernandez-Ruiz and Arnao, 2008).

#### نقش ملاتونین در تنظیم ریتم‌های شبانه روزی

در مهره‌داران ملاتونین به‌طور عمده توسط غدد پینه‌آل تولید می‌شود و به‌عنوان یک هورمون در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی از جمله تنظیم ریتم شبانه‌روزی و دوره‌های نوری نقش دارد (Bano-Otalora *et al.*, 2020). ملاتونین به‌عنوان

تأمین این اسیدآمین به‌عنوان بیوسنتز ملاتونین ندارند. به‌طورکلی این عوامل می‌توانند دلیل بالابودن سطح ملاتونین در گیاهان باشد (Yao *et al.*, 2011). ملاتونین در بسیاری اندام‌های گیاهان عالی از قبیل ریشه، ساقه، برگ، میوه و دانه وجود دارد. بیشترین مقدار این ترکیب در برگ و بذر، و کمترین مقدار آن مربوط به میوه گیاه است (Garcia-Parrilla *et al.*, 2009). مشاهده شده که در بذر آفتابگردان در حال جوانه‌زنی، مقدار ملاتونین افزایش می‌یابد. از آنجایی‌که بافت‌های مریستمی و جوان در برابر آسیب‌های اکسیداتیو بسیار حساس هستند، به نظر می‌رسد که ملاتونین می‌تواند به‌عنوان یک فاکتور مهم در سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان به‌عنوان یک مهارکننده رادیکال‌های آزاد عمل کند (Manchester *et al.*, 2000).

به‌طور معمول غلظت‌های ملاتونین از پیکوگرم تا میکروگرم به‌ازای هر گرم بافت گیاهی متغیر است. ملاتونین برون‌زا هم می‌تواند توسط ریشه گیاه جذب شود و به سمت برگ‌ها که حاوی مقادیر بالایی از ملاتونین هستند هدایت شود (Tan *et*

نقش ملاتونین در تنظیم رشدونمو گیاه: نقش تنظیم‌کنندگی ملاتونین در رشدونمو گیاهان توسط Murch و همکارانش (۱۹۹۷) بیان شد. آنها در بررسی‌های خود مشاهده کردند که در شرایط درون شیشه، افزایش غلظت ملاتونین در گیاه گل راعی موجب افزایش رشد ریشه شد اما تجمع سروتونین (پیش‌ساز ملاتونین) موجب نمو ساقه می‌شود. علاوه بر این گزارش شده است که ریشه‌زایی حاصل از اکسین توسط مهارکننده‌های سروتونین و ملاتونین مهار می‌شود. از طرف دیگر، ساقه‌زایی ناشی از تیمار سیتوکینین نیز با مهار تبدیل سروتونین به ملاتونین تحریک می‌شود (Murch and Saxena, 2002). بدین ترتیب، به‌نظر می‌رسد که ریخت‌زایی گیاه گل راعی در محیط‌کشت بستگی به نسبت سروتونین به ملاتونین دارد که مشابه تأثیر نسبت اکسین به سایر فیتوهورمون‌ها (مانند سیتوکینین) در محیط‌کشت است (Murch and Saxena, 2002; Jones et al., 2007).

مطالعات گیاهی نشان داده است که ملاتونین به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد، کنترل‌کننده رشد ریشه و ساقه، فعال‌کننده ریشه‌زایی و کنترل‌کننده پیری برگ عمل می‌کند. این ترکیب ساختار شیمیایی مشابه با هورمون اکسین دارد و به‌نظر می‌رسد که نقشی مشابه با نقش هورمون اکسین بر رشد گیاه داشته باشد. غلظت کم ملاتونین باعث پاسخ‌های مشابه اکسین بر رشد ریشه‌ها می‌شود، اما غلظت زیاد آن اثر بازدارندگی بر رشد ریشه‌های جانبی و ریشه‌های اولیه دارد. با توجه به مطالعات محدود در زمینه اثر ملاتونین بر رشد گیاهان، اطلاعات اندکی هم در مورد نقش این ترکیب بر رشدونمو گیاه وجود دارد (Sarropoulou et al., 2012).

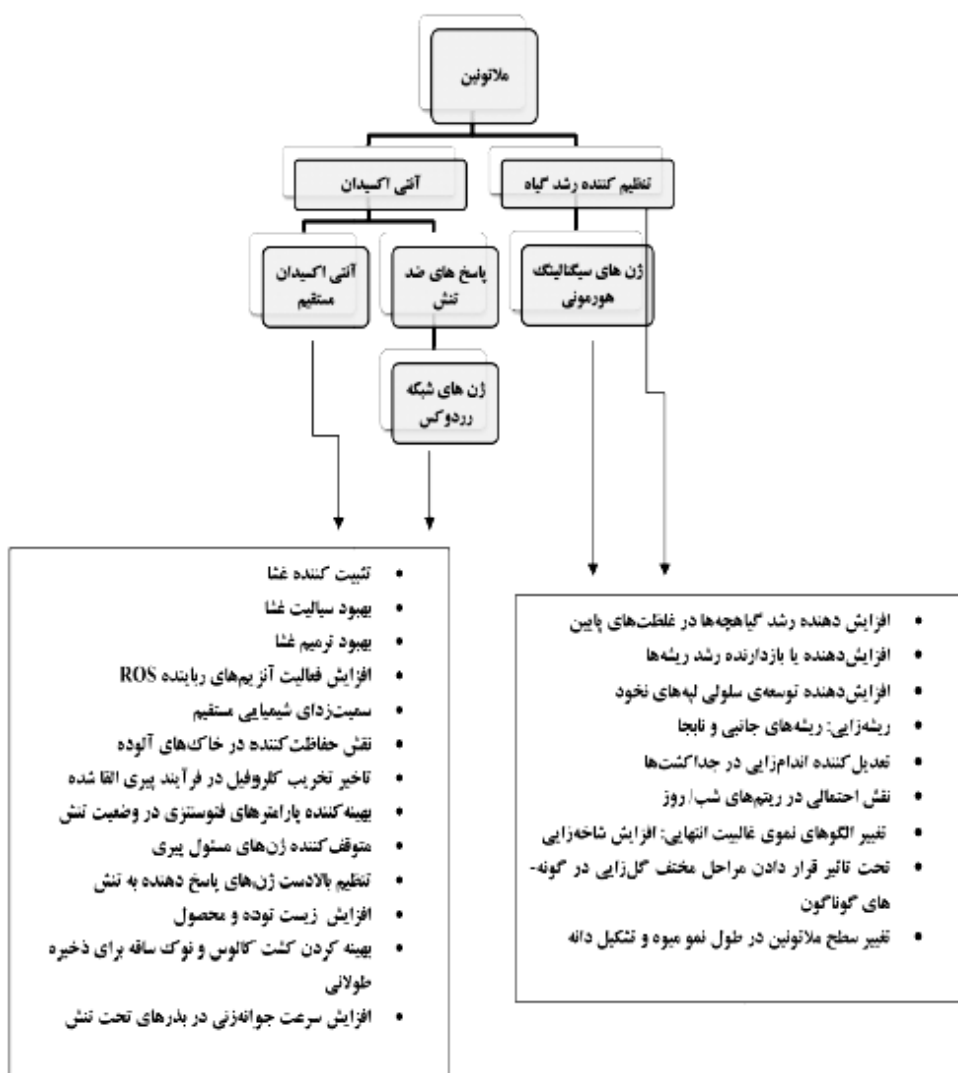
مشخص شده است که ملاتونین مانند ایندول استیک اسید (IAA) می‌تواند موجب تحریک رشد رویشی هیپوکوتیل‌های گیاه لوبین (*Lupinus albus*) شود (Hernández-Ruiz et al., 2004). معمولاً در غلظت‌های بالا، ملاتونین به‌عنوان یک بازدارنده عمل می‌کند، درحالی‌که در غلظت‌های پایین‌تر، موجب افزایش رشد هیپوکوتیل لوبین می‌شود. غلظت بهینه ملاتونین برای تحریک رشد تا  $10 \mu\text{M}$  مشخص شده است.

علامت تاریکی عمل نموده و اطلاعات لازم را به مغز و اندام‌های جانبی می‌رساند، همچنین هماهنگ‌کننده داخلی ریتم‌های فیزیولوژیکی از قبیل خواب-بیداری، تولیدمثل فصلی و چرخه‌های رهاکننده غدد درون‌ریز است. سطح این ترکیب در شب افزایش پیدا کرده و در طول روز کاهش می‌یابد. در نتیجه در حیوانات به‌عنوان هورمون تاریکی شناخته می‌شود. در موجودات زنده تغییر در ریتم تولید ملاتونین معمولاً با بسیاری از بی‌نظمی‌ها همراه است. به‌طورکلی آلزایمر، سندروم پارکینسون، افسردگی، بی‌خوابی، شیزوفرنیا، انواعی از سرطان، بیماری‌های قلبی، پوکی استخوان، سندروم خستگی مزمن و سندروم متابولیک، بیماری‌های حاصل از این بی‌نظمی‌ها در انسان هستند (Li et al., 2019).

ملاتونین در گیاهان نیز فرآیندهای ریتم‌دار فیزیولوژیکی را کنترل می‌نماید. اگرچه گزارش شده است که تأثیر نور بر بیوسنتز ملاتونین در طول پیری برگ برخلاف تأثیر نور بر بیوسنتز ملاتونین در حیوانات است (Byeon et al., 2012). در گیاهان مقدار ملاتونین در بافت‌های جوان و تولیدمثلی بیشتر است و همانند حیوانات، با بالا رفتن سن کاهش پیدا می‌کند. در گیاهچه‌های دو روزه *Pharbitis nil*، مقدار ملاتونین، شش برابر بیشتر از گیاهان بالغ است (Van Tassel and O'Neill, 2001). مطالعات نشان داده است که در گل راعی رشدیافته در نور کم، مقدار ملاتونین در مقایسه با آن دسته از گیاهانی که در نور شدید رشد کرده‌اند، ۱۵ الی ۲۰ برابر بیشتر است (Murch et al., 2002).

مشابه الگوی سنتز ملاتونین در حیوانات، در بسیاری از گونه‌های گیاهی نیز این الگو مشاهده شده است. گزارش شده در بعضی از گونه‌های فتوسنتزکننده این هورمون در طول روز سنتز می‌شود. به‌نظر می‌رسد به علت تولید مقدار زیاد گونه‌های فعال اکسیژن در طی فتوسنتز، این ترکیب در طول روز سنتز می‌شود که در ارتباط با عملکرد آنتی‌اکسیدانی این ایندول آمین است (Posmyk and Janas, 2009).

نقش ملاتونین در گیاهان



شکل ۳- عملکردهای پیشنهاد شده ملاتونین در گیاهان عالی

تقسیم می شوند. در یک دسته ملاتونین به عنوان یک آنتی اکسیدان و در دسته دیگر ملاتونین به عنوان یک تنظیم کننده رشد گیاه عمل می کند (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2015). مطالعات اخیر نشان داده که عملکرد ملاتونین می تواند هم به دلیل نقش میانجی گری به وسیله گیرنده و هم مستقل از گیرنده باشد. بررسی ها نشان داده که این ترکیب ایندول آمینی با اتصال به غشاء و گیرنده های هسته و همچنین تعامل با پروتئین های سیتوسولی از جمله کالمودولین عمل خود را انجام می دهد (Garcla et al., 2014).

مشخص شده که ملاتونین مانند IAA موجب تحریک تشکیل ریشه های جانبی و کاذب گیاه *L. albus* می شود. همچنین گزارش شده که ملاتونین تحریک کننده رشد در کولتوپتیل گندم، جو، علف قناری و جو دوسر است. نکته جالب اینکه ملاتونین مشابه IAA اثر بازدارندگی بر رشد ریشه های گیاهان تک لپه دارد (Hernández-Ruiz et al., 2004). اثرات فیزیولوژیکی ملاتونین: ملاتونین ترکیبی است که در ارتباط با جنبه های مختلف فیزیولوژیکی گیاه است. نقش های ملاتونین که تاکنون گزارش شده اند در شکل ۳ نشان داده شده است. به طور کلی عملکردها و فعالیت ملاتونین به دو دسته

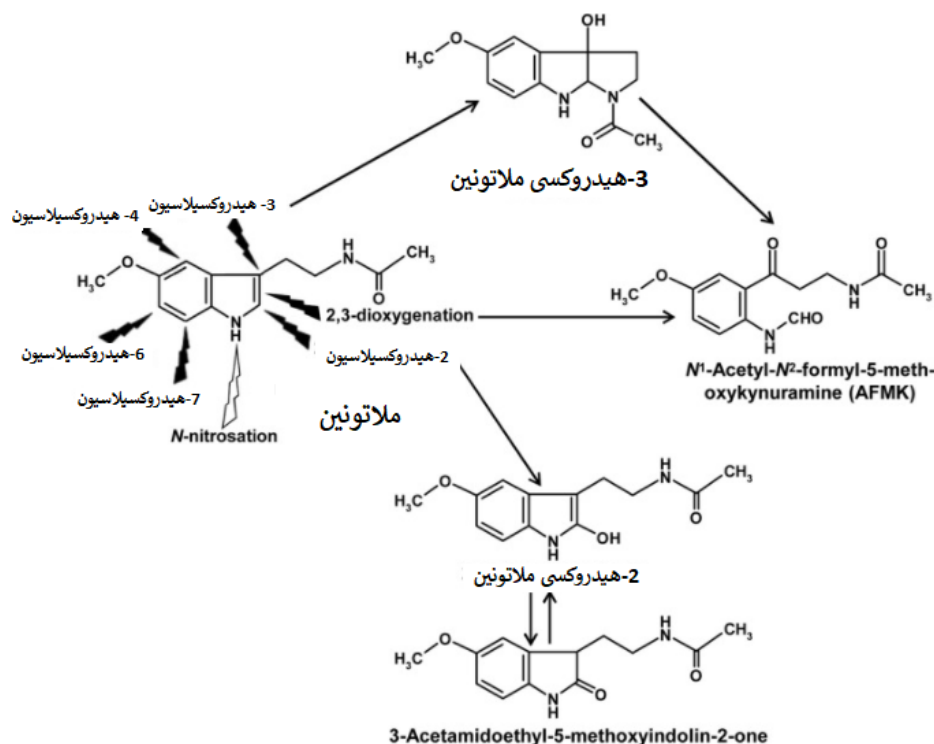
می‌کند، در صورتی که ویتامین‌های فوق فقط به صورت انتخابی جذب می‌شوند (Bonfont-Rousselot and Collin, 2010).

ملاتونین ترکیبی با خاصیت دوگانه محلول در آب و محلول در چربی است و به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان چربی دوست و آب‌دوست عمل می‌کند. از آنجایی که ملاتونین در غلظت‌های پایین در آب و در انواع دیگر مایعات محلول است، می‌توان آن را یک آنتی‌اکسیدان هیدروفیل و هیدروفوب در نظر گرفت. بیان شده که ملاتونین به راحتی بین محفظه‌های سلولی حرکت می‌کند تا از آنها در برابر رادیکال‌های فعال محافظت کند. ملاتونین موجب روبشگری گونه‌های واکنش‌گر سمی، از قبیل رادیکال‌های فعال هیدروکسیل  $\cdot\text{OH}$ ، نیتریک اکسید  $\text{NO}$ ، آنیون پراکسی نیتريت  $\text{ONOO}^-$ ، اکسیژن یکتایی  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ، آنیون سوپراکسید  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ، پراکسید هیدروژن  $\text{H}_2\text{O}_2$  و هیپوکلرواسید  $\text{HOCl}$  می‌شود (Reiter et al., 2009). برهم‌کنش ملاتونین با گونه‌های فعال اکسیژن یک فرایند پیچیده است که طی آن مشتقات فراوانی ایجاد می‌شود. متابولیت اصلی ایجاد شده از این برهم‌کنش ان-استیل ان-فرمیل ۵-متوکسی کینورامین است. متابولیت‌های حاصل از این برهم‌کنش نیز دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند. در میان این متابولیت‌ها ان-استیل ۵-متوکسی کینورامین دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بسیار بالایی است. این متابولیت‌ها باعث ربایش تعدادی از گونه‌های فعال نیتروژن، رادیکال‌های هیدروکسیل و تری کلرومتیل پراکسیل نیز می‌شوند (شکل ۴) (Galano et al., 2013). بنابراین یک مولکول ملاتونین در نهایت ممکن است بیش از هشت و یا بیشتری از رادیکال‌های آزاد را حذف کند. از طرفی ملاتونین و ان-استیل ۵-متوکسی کینورامین بازدارنده آنزیم پرواکسیداتیو، آنزیم القاکننده آنزیم نیتریک اکسید سنتاز، هم هستند. نیتریک اکسید قادر است با آنیون سوپراکسید جفت شده و تشکیل پراکسی نیتريت دهد. بنابراین ملاتونین به واسطه کاهش فعالیت نیتریک اکسید سنتاز تشکیل پراکسی نیتريت را هم محدود می‌کند. به‌علاوه پراکسی نیتريت یک عامل غیررادیکالی است که همانند رادیکال هیدروکسیل بسیار سمی است. امروزه مشخص شده که ظرفیت روبشگری

ملاتونین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان قوی: رادیکال‌های آزاد، محتوی یک یا تعداد بیشتری الکترون‌های جفت‌نشده هستند. این ویژگی باعث می‌شود که این ترکیبات به شدت فعال باشند. گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن از فعال‌ترین رادیکال‌ها می‌باشند. گونه‌های فعال اکسیژن شامل رادیکال‌های اکسیژن از قبیل آنیون سوپراکسید  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ، هیدروکسیل  $\cdot\text{OH}$ ، آلکوکسیل  $\text{RO}\cdot$ ، پراکسیل  $\text{ROO}\cdot$  و هیدروپراکسیل  $\text{HOO}\cdot$  هستند. همچنین پراکسی نیتريت  $\text{ONOO}^-$ ، نیتریک اکسید  $\text{NO}$  و دی‌اکسید نیتروژن  $\text{NO}_2$  جز گونه‌های فعال نیتروژن هستند. گونه‌های فعال اکسیژن یا  $\text{ROS}$  و نیتروژن  $\text{RNS}$  با توجه به غلظت می‌توانند برای موجود زنده مفید یا مضر باشند (Valko et al., 2004).

در موجودات زنده بین تولید و حذف رادیکال‌های آزاد تعادل وجود دارد، در این شرایط رادیکال‌های آزاد اثرات مفیدی بر موجود زنده خواهند داشت. بطوریکه این ترکیبات برای تمایز ساختارهای سلولی ضروری بوده و موجب القای پاسخ‌های میتوزنی سلول می‌شوند. همچنین رادیکال‌های آزاد در سیستم دفاعی سلول نقش دارند، به‌طور مثال فاگوسیت‌ها با رهاکردن رادیکال‌های آزاد تخریب میکروب‌های بیماری‌زا را سبب می‌شوند. به‌علاوه، رادیکال‌های آزاد در سیستم‌های علامت‌دهی سلولی شرکت می‌نمایند و به‌نظر می‌رسد نقش مهمی در آپوپتوزیز سلول‌های معیوب دارند (Galano et al., 2011).

گزارش شده که ملاتونین در شرایط درون شیشه دارای ویژگی روبشگری رادیکال‌های آزاد است، همچنین ثابت شده است که ملاتونین در شرایط "در زیوه"، تخریب اکسیداتیو لپیدها، پروتئین‌ها و DNA میتوکندریایی و هسته را محدود می‌کند (Reiter et al., 2010). از مهمترین عملکردهای شناخته شده ملاتونین می‌توان به ویژگی آنتی‌اکسیدانی آن در برابر گونه‌های سمی اکسیژن و نیتروژن اشاره کرد، به‌طوریکه فعالیت آنتی‌اکسیدانی ملاتونین بسیار بیشتر از ویتامین‌های E، K و C است، این پدیده احتمالاً به این دلیل است که ملاتونین یک آنتی‌اکسیدان قوی بوده و به راحتی درون سلول‌ها نفوذ



شکل ۴- واکنش مونو- و دی- اکسیژنه شدن ملاتونین. ملاتونین در جایگاه‌های مختلف اتم کربن هیدروکسیله می‌شود. واکنش‌های آنزیمی و غیر آنزیمی دی‌اکسیژنه شدن ملاتونین منجر به تشکیل ان-استیل ان فرمیل ۵-متوکسی کینورامین می‌شود (Hardeland, 2016).

همکاران (۲۰۱۰) پیشنهاد دادند که آنتی‌اکسیدان‌های دیگر به‌وسیله ملاتونین حفاظت می‌شوند، بنابراین، این ترکیب نخستین خط دفاعی در برابر تنش‌های اکسیداتیو است (Tan *et al.*, 2010). همچنین بیان شده که تأثیرات ملاتونین بیشتر می‌تواند در نتیجه عملکرد علامت‌دهی آن باشد. علاوه بر این ملاتونین می‌تواند تولید ترکیبات مختلف تحت شرایط تنش را تحریک کند (Szafranska *et al.*, 2012).

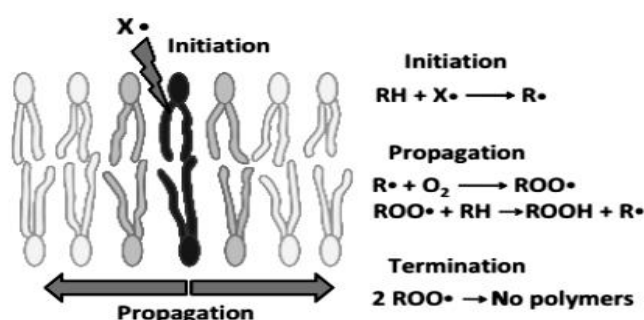
ملاتونین آسیب اکسیداتیو به مولکول‌های مهم را کاسته و فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود را به طرق مختلف نشان می‌دهد:

- ۱- ربایندگی مستقیم رادیکال‌های آزاد
- ۲- افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان
- ۳- تحریک سنتز گلوکوتائون
- ۴- حفاظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در برابر تنش اکسیداتیو
- ۵- افزایش کارایی زنجیره انتقال الکترون میتوکندریایی
- ۶- کاهش نشت الکترون‌ها و تولید رادیکال‌های آزاد (Valko *et al.*, 2004).

نقش ملاتونین در حفظ تمامیت غشاء و جلوگیری از

رادیکال‌های آزاد توسط ملاتونین، به‌وسیله متابولیت‌های دوم، سوم و چهارم آن نیز صورت می‌گیرد. بنابراین واکنش ملاتونین با رادیکال‌های فعال یک فرایند طولانی است. این فرایند به صورت یک واکنش آبشاری، مهار رادیکال‌های آزاد را انجام می‌دهد. ملاتونین حتی در غلظت‌های پایین هم در محافظت از موجودات زنده در برابر تنش اکسیداتیو بسیار مفید است (Garcla *et al.*, 2014).

دانشمندان پیشنهاد کرده‌اند که ربایندگی ملاتونین در برابر رادیکال‌های آزاد به‌شدت وابسته به جایگاه تولید این ترکیبات است و موجب حفاظت لپیدها و پروتئین‌ها در برابر اکسیداسیون می‌شود. البته همکاری ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از قبیل گلوکوتائون، اسید آسکوربیک، پلی-آمین‌ها و ترکیبات دیگر نیز بسیار مهم است (Gitto *et al.*, 2001). گزارش شده است که در سلول‌های گیاهی میتوکندری و کلروپلاست جایگاه‌های اصلی تولید ملاتونین هستند. به‌علاوه در سلول‌های حیوانی بالاترین غلظت ملاتونین در میتوکندری‌ها، هسته و در نهایت در سیتوسل گزارش شده است (Tan *et al.*, 2013). Tan



شکل ۵- فرایند پراکسیداسیون لیپید در غشاهای زیستی. رادیکال آزاد  $X\cdot$  موجب جداسازی اتم هیدروژن از زنجیره اسید چرب  $RH$  شده و تشکیل رادیکال آلکیل  $R\cdot$  می‌نماید. رادیکال آلکیل به سرعت با اکسیژن مولکولی واکنش داده و تولید رادیکال لیپید  $ROO\cdot$  می‌کند. رادیکال پراکسیل موجب جداسازی اتم هیدروژن از یک اسید چرب دیگر شده و تولید هیدروپراکسید لیپید  $ROOH$  و رادیکال آلکیل می‌کند (Halliwell et al., 2014).

می‌شود. این رادیکال‌ها بسیار واکنش‌پذیر بوده و می‌توانند یک اتم هیدروژن از یک اسید چرب اشباع‌نشده دیگر جدا کرده و تشکیل هیدروپراکسید لیپید  $ROOH$  و یک رادیکال آلکیل دیگر بدهند.

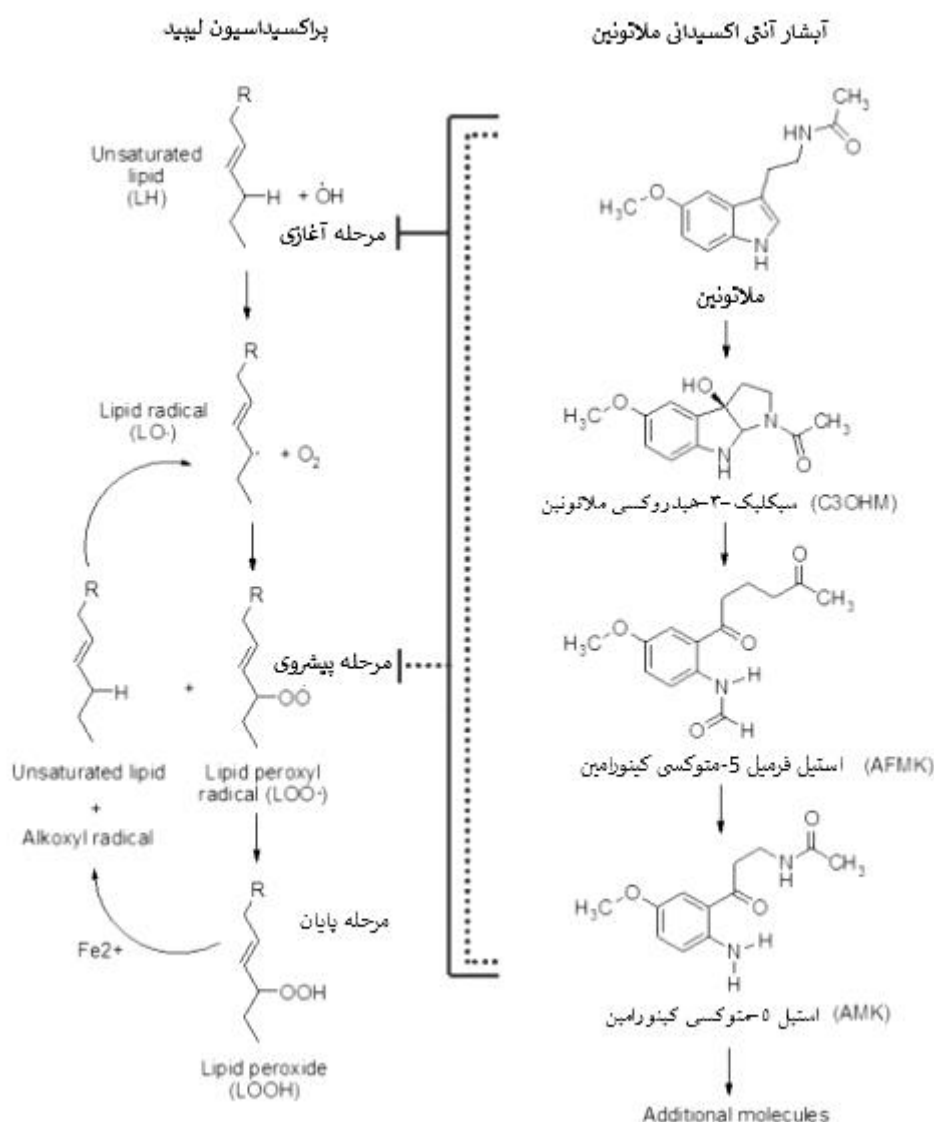
مرحله پایان: در این مرحله دو رادیکال آزاد  $ROO\cdot$  با هم برهمکنش داده و تشکیل ترکیبات غیررادیکالی را می‌دهند (Halliwell et al., 2014).

هیدروپراکسیدهای لیپید ( $ROOH$ ) ایجاد شده می‌توانند به هیدروکربن‌ها، الکل‌ها، اترها، اپوکسیدها و آلدهیدها تبدیل شوند. در بین این ترکیبات مالون دی‌آلدهید ( $MDA$ ) و ۴-هیدروکسی آلکنال‌ها ( $4-HAD$ ) دارای اهمیت ویژه‌ای هستند، این ترکیبات می‌توانند با پروتئین‌ها، فسفولیپیدها و  $DNA$  اتصال برقرار کنند (Esterbauer and Cheeseman, 1990)، در نتیجه در بسیاری از روش‌های آزمایشگاهی، شدت آسیب به غشاهای زیستی ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن با اندازه‌گیری غلظت  $MDA$  برآورد می‌شود. همچنین رادیکال‌های آزاد لیپید می‌توانند اتم هیدروژن را از پروتئین‌های مجاور برداشته و موجب تغییر ساختار و عملکرد پروتئین‌های غشاء شوند (Garcla et al., 2014). گزارش شده است که کاربرد برون‌زای ملاتونین در گیاهان می‌تواند کاهش سطح  $ROS$  و  $MDA$  تحت شرایط تنش  $UV-B$ ، سرما، گرما و تنش کم‌آبی را سبب شود (Wang et al., 2009; Szafranska et al., 2012; Kabiri et al., 2018; Naghizadeh et al., 2019).

**پراکسیداسیون لیپید:** پراکسیداسیون لیپید نتیجه تخریب اکسیداتیو اسیدهای چرب غیراشباع است. این اسیدهای چرب محتوی دو یا تعداد بیشتر پیوندهای دوگانه هستند. غشاهای احاطه‌کننده سلولی و غشاهای اندامک‌های سلولی از قبیل میتوکندری‌ها، لیزوزوم‌ها، پراکسیزوم‌ها غنی از اسیدهای چرب غیر-اشباع هستند، در نتیجه حفاظت این اسیدهای چرب در برابر اکسیداسیون، امری ضروری برای عملکرد بهینه و بقای سلول است. علاوه بر این غشاهای سلولی محتوی پروتئین‌ها هم هستند. مقدار پروتئین‌ها بستگی به عملکرد فیزیولوژیکی خاص سلول دارد. غشای داخلی میتوکندری به علت داشتن حجم بالایی از کمپلکس‌های پروتئینی تنفسی، ۲۰ درصد لیپید دارد. غشاهای تیلاکوئیدی کلروپلاست‌ها نیز به همین نسبت لیپید دارد. متفاوت بودن درصد لیپید در غشاها موجب متفاوت بودن درجه پراکسیداسیون غشاهای اندام‌های مختلف می‌شود (Reiter et al., 2014).

واکنش پراکسیداسیون لیپید یک فرایند بسیار پیچیده است که به سه مرحله متوالی تقسیم می‌شود (شکل ۵):  
 مرحله آغازی: در این مرحله رادیکال‌های آزاد باعث جداسازی یک اتم هیدروژن از زنجیره اسید چرب اشباع‌نشده و ایجاد رادیکال‌های آلکیل  $R\cdot$  می‌شود.  
 مرحله پیشروی: در این مرحله رادیکال‌های آلکیل با مولکول اکسیژن واکنش داده و رادیکال‌های پراکسیل لیپید  $ROO\cdot$  تشکیل





شکل ۶- طرح پراکسیداسیون لیپید و آبشار آنتی اکسیدانی ملاتونین. متابولیت‌های حاصل از ملاتونین از قبیل c3OHM، AFMK و AMK در زمان سمیت‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن یا نیتروژن تولید می‌شوند. ملاتونین و هر یک از متابولیت‌های آن با حذف رادیکال‌های آزاد از قبیل رادیکال هیدروکسیل و پراکسی نیتريت موجب کاهش پراکسیداسیون لیپید در مرحله آغازی می‌شوند، علاوه بر این ملاتونین و متابولیت‌های مرحله پیشروی در حذف رادیکال پراکسیل نیز نقش دارند (Reiter et al., 2014).

دیگر متابولیت‌های حاصل از واکنش ملاتونین با ROSها نیز به خوبی ملاتونین می‌تواند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های شکننده زنجیره عمل کنند (شکل ۶) (Reiter et al., 2014).

**نقش ملاتونین بر دستگاه فتوستزی:** ملاتونین نقش مهمی در فرایند پیری برگ ایفا می‌کند. مشخص شده که ملاتونین در غلظت‌های متفاوت موجب تأخیر در پیری القاشده به‌وسیله تاریکی در برگ‌های گیاه جو می‌شود (Arnao and

ملاتونین باعث کاهش مرحله آغاز پراکسیداسیون لیپید می‌شود. هر چند این ویژگی ملاتونین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان شکننده زنجیره پراکسیداسیون چندان قابل توجه نمی‌باشد، اما تحقیقات جدید نشان داده که ملاتونین به مقدار زیادی حذف رادیکال پراکسیل لیپید را سبب می‌شود. سیکلیک-۳- هیدروکسی ملاتونین (c3OHM) و استیل ۵- متوکسی کینورامین (AMK) نیز رابنده‌های مؤثر رادیکال پراکسیل لیپید هستند. به عبارت

داده شده که تیمار با ترکیباتی مانند روی، پراکسید هیدروژن و کلرید سدیم موجب می‌شود که سطح ملاتونین در گیاه افزایش یابد. افزایش دوازده برابر ملاتونین در گیاه نخود مشاهده شد و بیان شد که این افزایش بستگی به مقدار و غلظت ترکیبات سمی و تنش‌زا دارد. استفاده از ملاتونین برون‌زا نیز در گیاهان جو و نخود، افزایش زیست‌پذیری و بقای گیاه در حضور عوامل تنش‌زا را در پی خواهد داشت (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2013).

Li و همکاران (۲۰۱۲) گیاهچه‌های پنج روزه درخت سیب را با ملاتونین پیش‌تیمار و سپس در معرض تنش شوری قرار دادند، نتایج نشان داد که در گیاهان تیمار شده با ملاتونین ارتفاع ساقه، تعداد برگ، محتوی کلروفیل و نشت یونی به‌طور معنی‌داری کمتر تحت‌تأثیر تنش شوری قرار گرفت. همچنین سطح پراکسید هیدروژن در این گیاهان به مقدار قابل‌توجهی کاهش پیدا کرد. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از قبیل کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز نیز افزایش یافت (Li et al., 2012).

در مطالعه روی گیاهان کاشته‌شده در شرایط مزرعه، مشاهده شده که مقدار ملاتونین در گوجه سه برابر و در گیاه نخود ده برابر گیاهان کاشته شده در اتاق کشت است (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2013). در شرایط مزرعه چندین فاکتور از قبیل نوسانات دمایی، چرخه‌های نور-تاریکی، تابش UV و محدودیت آب وجود دارد. در چنین موقعیتی ملاتونین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان مستقیم عمل کرده و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی را در برابر شرایط تنش‌زای محیطی به راه می‌اندازد (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2014). به‌علاوه مطالعات نشان داده در گیاه بادرشبویه‌ای که تحت تنش کم آبی قرار گرفته و توسط ملاتونین نیز پیش‌تیمار شده بود، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان SOD، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت و در نتیجه منجر به کاهش مقدار  $H_2O_2$  تولیدشده، پایداری غشاء و حفظ کلروفیل‌ها و ماکرومولکول‌ها

(Hernandez-Ruiz, 2009). پیش‌تیمار گیاه با اسید آسبیزیک و کیتین موجب کاهش کلروفیل در گیاه می‌شود که در هر دو مورد حضور ملاتونین از کاهش کلروفیل جلوگیری می‌نماید. این خاصیت ملاتونین برای نخستین بار در سال ۲۰۰۹ شناسایی شد که نشان‌دهنده ویژگی آنتی‌اکسیدانی منحصر به فرد این ترکیب است. حتی پیشنهاد شده که احتمالاً ملاتونین می‌تواند روی ژن‌های مربوط به آنزیم‌های تجزیه‌کننده کلروفیل تأثیر داشته باشد (Weeda et al., 2014). براساس این مشاهدات، تحقیقات بر روی تأثیر احتمالی ملاتونین بر فتوسنتز متمرکز شد. مشخص شد که ملاتونین برون‌زا موجب تأخیر پیری القاشده به‌وسیله تاریکی در برگ‌های گیاه سیب می‌شود که این تأثیر ناشی از افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه است. همچنین کاربرد غلظت‌های بالاتر ملاتونین، افزایش مقدار گلوکاتایون و اسید آسکوربیک را در پی داشت (Wang et al., 2012).

ملاتونین باعث بهبود کارایی فتوسیستم II گیاه تحت شرایط تاریکی و نور می‌شود و اثرات بازدارندگی فتوسنتز تحت تنش خشکی را بهبود می‌بخشد. ملاتونین همچنین آسیمیلایون دی-اکسید کربن و هدایت روزنه‌ای را افزایش می‌دهد (Wang et al., 2013). نتایج مشابهی در گیاهچه‌های خیار تحت تنش خشکی گزارش شده است. پیش‌تیمار ملاتونین موجب کاهش تجزیه کلروفیل، افزایش میزان فتوسنتز و افزایش فعالیت آنزیم‌های رباینده رادیکال‌های آزادشده و در نتیجه اثرات زیان‌بخش تنش خشکی کاهش می‌یابد (Zhang et al., 2013).

#### اثر ملاتونین بر مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های محیطی

شواهد مبتنی بر اهمیت ملاتونین در بهبود اثرات تنش‌های محیطی و غیرزیستی به‌واسطه نقش آن در تخفیف تنش آنتی‌اکسیدان رو به افزایش است. نتایج مطالعات تأییدکننده نقش عمده ملاتونین به‌واسطه ویژگی آنتی‌اکسیدانی آن در گیاهان است که در نتیجه این ویژگی، ملاتونین می‌تواند گیاه را در برابر عوامل نامساعد محیطی حفاظت کند (Heshmati et al., 2013).

درجه افزایش ۲/۵ برابری می یابد (Arnao and Hernandez, 2013). در گیاهان گندم تحت تنش سرما، گونه های فعال اکسیژن و پراکسیداسیون لیپید تجمع می یابد. حضور ملاتونین به واسطه افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان باعث کاهش آسیب های اکسیداتیو ناشی از تنش سرما در این گیاهان می شود (Turk et al., 2014). تحقیقات نشان داده که تیمار گیاه آراییدوپسیس با ملاتونین در گیاهان کاشته شده در دمای چهار درجه سانتی گراد باعث افزایش وزن تر، طول ریشه و ساقه می شود که در این مطالعه ملاتونین موجب تنظیم بالادست ژن های مسیر علامت دهی سرما می شود که شامل موارد زیر است:

۱- CBFها که باعث کنترل بیان حدود ۹۰۰ ژن می شوند. این ژن ها باعث افزایش تحمل گیاه نسبت به تنش انجماد می شوند.

۲- COR15a ژن پاسخ دهنده به سرما است و توسط CBFها کنترل می شود.

۳- CAMTA1 فاکتور رونویسی است. این فاکتور در تحمل تنش خشکی و انجماد نقش دارد و در ارتباط با پروتئین های کلسیم-کالمودولین است.

۴- ZAT10 و ZAT12 دو فعال کننده کلیدی و اصلی رونویسی ژن های آنتی اکسیدانی هستند.

این نتایج نشان می دهد ملاتونین در بالادست ژن های ویژه ی پاسخ دهنده سرما قرار دارد و این نظریه را که این ترکیب نقش حفاظتی در برابر تنش های غیرزیستی در گیاه ایفا می نماید، تأیید می کند (Bajwa et al., 2014). همچنین ملاتونین تأثیر مثبتی بر کشت سوسپانسیون سلول های هویج تحت تنش سرما داشته و گزارش شده که این تأثیر ناشی از سنتز پلی آمین ها است (Lei et al., 2004).

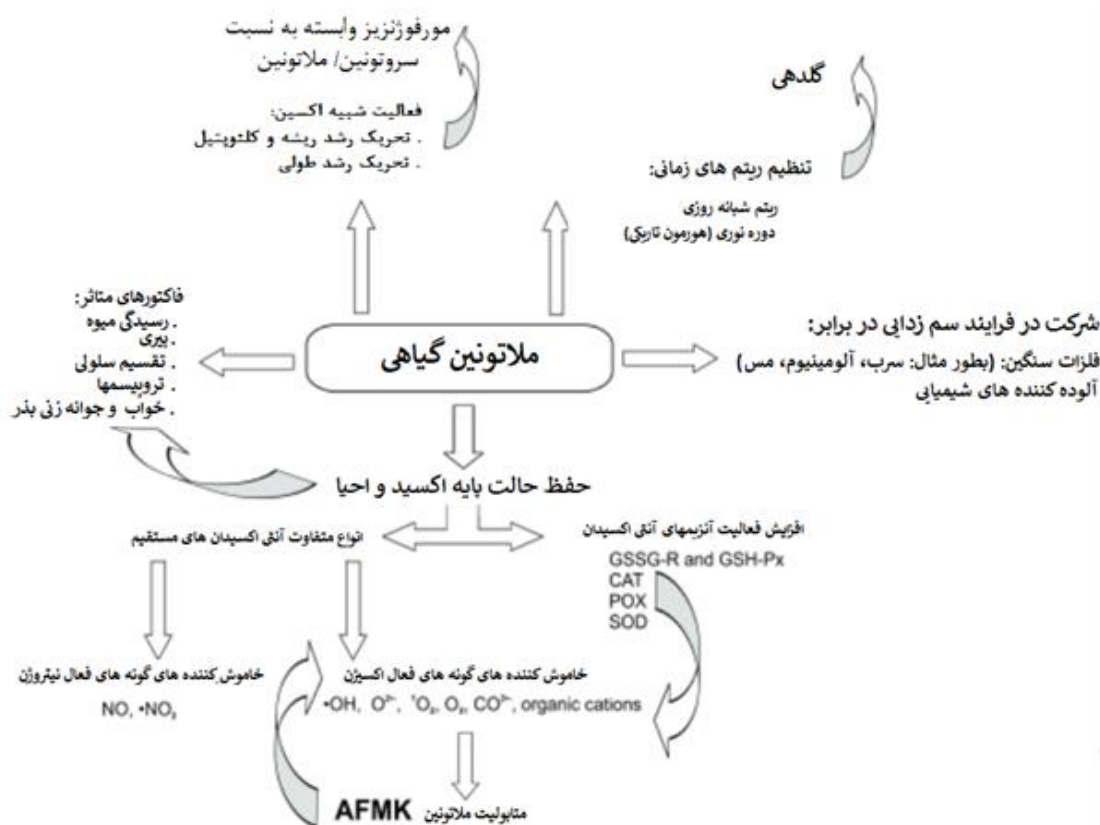
#### سازوکار فیزیولوژیکی ملاتونین در گیاهان

سازوکار عملکرد ملاتونین در گیاهان هنوز به طور کامل شناخته نشده است. در مسیرهای علامت دهی واکنش های سلولی پروتئین های متصل به GTP به نام پروتئین های G نقش دارند

در این گیاهان می شود (Kabiri et al., 2018; Naghizadeh et al., 2019).

در بررسی اثر ملاتونین در شرایط تنش فلز سنگین، مشاهده شد که با کاربرد ملاتونین جوانه زنی بذر افزایش می یابد و رشد گیاهچه های شاهی در تنش کادمیوم به واسطه بالارفتن محتوای رنگدانه های فتوسنتزی و متابولیت های ثانویه مانند آنتوسیانین ها و ترکیبات فنولی بهبود می یابد (Oloumi et al., 2018). Zare و همکاران (۲۰۱۹) گزارش دادند که کاربرد ملاتونین در افزایش مقاومت گیاه گل جعفری در برابر تنش شوری مؤثر است و با کاهش مقدار مالون دآلدئید و سایر آلدئیدها و افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز، موجب حفظ و پایداری غشاء می شود (Zare et al., 2019). مطالعه Barand و همکاران (۲۰۲۰) روی پسته نشان داد که کاربرد برونزای ملاتونین در گیاهچه می تواند خسارت اکسیداتیو ناشی از یخ زدگی را کاهش داده و موجب افزایش مقاومت آن در برابر سرما شود. همچنین، تیمار ملاتونین پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، نشت یونی و تجزیه کلروفیل ناشی از تنش یخ زدگی را در گیاهچه های پسته کاهش و موجب افزایش بیان ژن فتی اسید دسچوراز، تجمع پرولین و قندها و مقدار GABA شد (Barand et al., 2020). براساس این مشاهدات، محققین پیشنهاد کردند که ملاتونین دورنزا نقش حیاتی به عنوان رباینده گونه های فعال اکسیژن ایفا می کند، بنابراین به عنوان نخستین خط دفاعی گیاه در برابر تنش اکسیداتیو محسوب می شود (Pourhanifeh et al., 2019).

تنش های دمایی هم از دیگر عوامل تنش زای غیرزیستی هستند. گزارش شده است که پیش تیمار بذرها ی گیاه خیار با ملاتونین موجب افزایش میزان جوانه زنی در تیمار سرمازدگی می شود که نشان دهنده نقش مثبت ملاتونین در شرایط تنش سرمازدگی است. بررسی ها نشان داده است که تنش سرما باعث افزایش سطح ملاتونین در گیاهان می شود، بطوریکه در گیاهان نخود که در دمای شش درجه سانتی گراد کاشته شده اند، محتوی ملاتونین در مقایسه با گیاهان پرورش یافته در دمای ۲۴



شکل ۷- عملکرد ملاتونین در گیاه و سازوکار عملکرد آن (Posmyk and Janas, 2009).

مشتملات تریپتوفان مثل سروتونین و ملاتونین در سیگنالینگ مورد بررسی قرار گرفته اما نقش آنها به طور کامل مشخص نشده است. اکسین یک تنظیم کننده مهم در رشد و نمو گیاهان و از ترکیبات مهم سیگنالینگ و مشتق تریپتوفان است. اکسین می تواند سلول به سلول انتقال یابد و ویژگی مشابه انتقال دهنده های عصبی دارد. انتقال خارج سلولی آن به وسیله وزیکولی که ترانسپورتر اکسین است صورت می گیرد (Baluska et al., 2003). اکسین رها شده از این وزیکول ها در چند ثانیه موجب ایجاد تغییرات الکتریکی سریع در غشاء می شود (Steffens et al., 2001)، این واکنش الکتریکی سریع در غشاء پلاسمایی می تواند همراه با آبشار سیگنالینگ اکسین خارج سلولی توسط پروتئین متصل شونده به اکسین (ABPI) یا سیگنالینگ سایر گیرنده ها باشد. این آبشار سیگنالینگ احتمالاً با واکنش های تأخیری اکسین که توسط گیرنده های اکسین صورت می گیرند و موجب تغییر بیان ژن می شوند، متفاوت است (Parry and Estelle, 2006). به علاوه، مولکول های اکسین

که موجب انتقال علامت به آنزیم فسفولیپاز C می شوند. فسفولیپاز C در تبدیل فسفولیپیدهای اینوزتول نقش دارد که روی کانال های  $Ca^{2+}$  و پمپ یونی تحت تأثیر گذاشته و منجر به آزادسازی یون  $Ca^{2+}$  از محل های ذخیره درون سلول (واکوئل، میتوکندری و شبکه آندوپلاسمی) به سیتوسول می شود. عوامل محیطی می توانند دیگر علامت های درون سلولی  $Ca^{2+}$  مانند cAMP و cGMP را هم تحریک کنند. مشاهده شده که ملاتونین با گیرنده پروتئین درون سلولی متصل به GTP واقع در غشای واکوئولی، واکنش داده و منجر به خروج پروتون می شود. بنابراین به نظر می رسد که افزایش ریتمی مقدار ملاتونین، با مسیرهای سیگنالینگ cAMP و وابسته به  $Ca^{2+}$  رابطه داشته باشد.

Hernández-Ruiz و همکاران (۲۰۰۴) بیان کردند که ملاتونین یک تنظیم کننده رشد گیاهی است که سازوکار عملکردی مشابه با اکسین دارد، هر چند که این سازوکار به طور واضح مشخص نشده است (شکل ۷). نقش بسیاری از

ترشح شده از وزیکول‌ها با پراکسیدازهای دیواره سلولی واکنش داده و باعث تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن در دیواره سلولی می‌شوند (Kawano *et al.*, 2001). این مولکول‌ها به‌عنوان سیگنالینگ بسیار قوی در گیاهان عمل می‌کنند (Apel and Hirt, 2004). سیگنالینگ اکسین در ارتباط نزدیک با نیتریک اکسید است (Pagnussat *et al.*, 2004).

عملکرد بالا همراه با اسپکترومتری جرمی انجام می‌شود (LC-MS/MS). دکتور فلورومتريک و الکتروشیمیایی هم می‌تواند در شناسایی ملاتونین مفید باشد ولی معمولاً برای سنجش ملاتونین در حیوانات روش‌های ایمنولوژیکی مانند RIA یا ELISA استفاده می‌شود (Van Tassel and O'Neill, 2001).

### جمع بندی و نگاه به آینده

با توجه به مطالعات اخیر، مشاهده شده که ملاتونین باعث افزایش تحمل گیاهان نسبت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌شود. ملاتونین می‌تواند باعث تحریک سنتز فیتوهورمون‌ها، تسهیل جذب مواد تغذیه‌ای، تحریک رشد ریشه و افزایش کیفیت و کمیت محصولات گیاهی شود. گزارش شده ملاتونین موجب افزایش مقاومت گیاهان نسبت به شرایط نامطلوب محیطی از قبیل تنش‌های دمایی، خشکی و سمیت فلز سنگین می‌شود. با توجه به ماهیت غیرسمی این ترکیب و تأثیر آن بر بهبود و تحریک رشد گیاهان، ملاتونین می‌تواند به‌عنوان یک تحریک‌کننده زیستی مؤثر و کارا در بهبود محصولات کشاورزی مورد توجه و استفاده قرار گیرد.

### سپاسگزاری

نویسندگان از قطب آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی دانشگاه اصفهان تشکر می‌نمایند.

### روش استخراج و سنجش ملاتونین

غلظت ملاتونین نه تنها در گونه‌های مختلف گیاهان، بلکه در گونه‌های مشابه هم متفاوت است. این ایندول آمین در بسیاری از اندام‌های گیاهی از جمله ریشه، ساقه، برگ، گل، میوه و بذر یافت می‌شود و محدوده غلظت آن بین پیکوگرم تا نانو گرم بر هر گرم وزن نمونه است. در اندازه‌گیری ملاتونین روش عصاره‌گیری و استخراج آن، از حساسیت بالایی برخوردار است، زیرا ملاتونین در عصاره‌های گیاهی نسبتاً ناپایدار بوده و با توجه به غلظت‌های پایین و حد تشخیص دستگاه ممکن است در اندازه‌گیری آن مشکل ایجاد شده و شناسایی به درستی انجام نشود (Kolar and Machačkov, 2005).

در نمونه گیاهی، معمولاً استخراج ملاتونین در بافت قرار گرفته در ازت مایع و توسط حلال‌های آلی مانند متانول، کلروفرم، اتیل استات، اتر، استن یا اسید پرکلریک صورت می‌گیرد. ملاتونین یک مولکول آمفی‌فیلیک است به همین دلیل از حلال‌های آلی برای استخراج و سنجش آن استفاده می‌شود. استفاده از اولتراسونیک کارایی استخراج را می‌تواند افزایش دهد. سنجش ملاتونین توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با

### منابع

- Apel, K. and Hirt, H. (2004) Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology* 55: 373-399.
- Arnao, M. 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. (2013) Growth conditions determine different melatonin levels in *Lupinus albus* L. *Journal of Pineal Research* 55: 149-155.
- Arnao, M. B. and Hernandez-Ruiz, J. (2014a) Melatonin: Plant growth regulator and/or biostimulator during stress? *Trends in Plant Science* 19: 789-797.
- Arnao, M. B. and Hernandez-Ruiz, J. (2014b) Melatonin: Possible Role as Light-protector in Plants. *UV Radiation: Properties, Effects, and Applications*. Nova Science Publishing, New York.
- Arnao, M. B. and Hernandez-Ruiz J. (2015) Phytomelatonin: Searching for plants with high levels for use as a natural nutraceutical. In: (ed. Atta-ur, R.) Pp. 519-545. *Studies in Natural Products Chemistry*, Elsevier.

- Bajwa, V. S., Shukla, M. R., Sherif, S. M. and Murch, S. J. (2014) Role of melatonin in alleviating cold stress in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Pineal Research* 56: 238-245.
- Baluska, F., Samaj, J. and Menzel, D. (2003) Polar transport of auxin: Carrier-mediated flux across the plasma membrane or neurotransmitter-like secretion? *Trends in Cell Biology* 13: 282-285.
- Bano-Otalora, B., Madrid, J. A. and Rol, M. A. (2020) Melatonin alleviates circadian system disruption induced by chronic shifts of the light-dark cycle in *Octodon degus*. *Journal of Pineal Research* 68: 1-13.
- Barand, A., Nasibi, F., Manouchehri Kalantari, Kh. and Moradi, M. (2020) The effects of foliar application of melatonin on some physiological and biochemical characteristics and expression of fatty acid desaturase gene in pistachio seedlings (*Pistacia vera* L.) under freezing stress. *Journal of Plant Interaction* 257-265.
- Bonnefont-Rousselot, D. and Collin, F. (2010) Melatonin: Action as antioxidant and potential applications in human disease and aging. *Toxicology* 278: 55-67.
- Byeon, Y., Park, S., Kim, Y. S., Park, D. H., Lee, S. and Back, K. (2012) Light-regulated melatonin biosynthesis in rice during the senescence process in detached leaves. *Journal of Pineal Research* 53: 107-111.
- Esterbauer, H. and Cheeseman, K. H. (1990) Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods in Enzymology* 186: 407-421.
- Falcon, J., Besseau, L., Fuentes, M., Sauzet, S., Magnanou, E. and Boeuf, G. (2009) Structural and functional evolution of the pineal melatonin system in vertebrates. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1163: 101-111.
- Galano, A., Tan, D. X. and Reiter, R. J. (2011) Melatonin as natural ally against oxidative stress a physicochemical examination. *Journal of Pineal Research* 51: 1-16.
- Galano, A., Tan, D. X. and Reiter, R. J. (2013) On the free radical scavenging activities of melatonin's metabolites, AFMK and AMK. *Journal of Pineal Research* 54: 245-257.
- Garcia-Parrilla, M. C., Cantos, E. and Troncoso, A. M. (2009) Analysis of melatonin in foods. *Journal of Food Composition and Analysis* 22: 177-183.
- Garcla, J. J., Lopez-Pingarron, L., Almeida-Souza, P., Tres, A., Escudero, P., Garcla-Gil, F. A., Tan, D. X., Reiter, R. J., Ramlrez, J. M. and Bernal-Perez, M. (2014) Protective effects of melatonin in reducing oxidative stress and in preserving the fluidity of biological membranes: A review. *Journal of Pineal Research* 56: 225-237.
- Gitto, E., Tan, D. X., Reiter, R. J., Karbownik, M., Manchester, L. C., Cuzzocrea, S., Fulia, F. and Barberi, I. (2001) Individual and synergistic antioxidative actions of melatonin: Studies with vitamin E, vitamin C, glutathione and desferrioxamine (desferoxamine) in rat liver homogenates. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 53:1393-1401.
- Halliwell, B. (2006) Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology* 141: 312-322.
- Hardeland, R. (2016) Melatonin in plants – diversity of levels and multiplicity of functions. *Front. Plant Science* 198: 1-14.
- Heshmati, S., Akbari, G. A., Soltani, E., Amini, M., Fathi, K. and Maleki, K. (2019) A study on the photosynthetic pigments and phenolic compounds of safflower in response to foliar application of melatonin under water deficit condition. *Journal of Plant Process and Function* 9: 347-358.
- Hernández-Ruiz, J., Cano, A. and Arnao, M. B. (2004) Melatonin: A growth stimulating compound present in lupin tissue. *Planta* 220: 140-144.
- Hernandez-Ruiz, J. and Arnao, M. (2008) Distribution of melatonin in different zones of lupin and barley plants at different ages in the presence and absence of light. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 10567-10573.
- Jones, M. P., Cao, J., O'Brien, R., Murch, S. J. and Saxena, P. K. (2007) The mode of action of thidiazuron: Auxins, indoleamines, and ion channels in the regeneration of *Echinacea purpurea* L. *Plant Cell and Reports* 26: 1481-1490.
- Kabiri, R., Hatami, A., Oloumi, H., Naghizadeh, M., Nasibi, F. and Tahmasebi, Z. (2018) Foliar application of melatonin induces tolerance to drought stress in Moldavian balm plants (*Dracocephalum moldavica*) through regulating the antioxidant system. *Folia Horticulture* 1: 155-167.
- Kawano, T., Kawano, N., Hosoya, H. and Lapeyrie, F. (2001) Fungal auxin antagonist hypaphorine competitively inhibits indole-3-acetic acid-dependent superoxide generation by horseradish peroxidase. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 288: 546-551.
- Kolar, J. and Machackov, I. (2005) Melatonin in higher plants: Occurrence and possible functions. *Journal of Pineal Research* 39: 333-341.
- Lei, X. Y., Zhu, R. Y., Zhang, G. Y. and Dai, Y. R. (2004) Attenuation of cold-induced apoptosis by exogenous melatonin in carrot suspension cells: the possible involvement of polyamines. *Journal of Pineal Research* 36: 126-131.
- Lerner A. B., Case, J. D., Takahashi, Y., Lee, T. H. and Mori, W. (1958) Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *Journal of the American Chemical Society* 80: 2587-2587.

- Li, C., Wang, P., Wei, Z. W., Liang, D., Liu, C. H., Yin, L. J., D. F., Fu, M. Y. and Ma, F. W. (2012) The mitigation effects of exogenous melatonin on salinity-induced stress in *Malus hupehensis*. *Journal of Pineal Research* 53: 298-306.
- Li, T., Jiang, S., Lu, C., Yang, W., Yang, Z., Hu, W., Xin, Z. and Yang, Y. (2019) Melatonin: Another avenue for treating osteoporosis? *Journal of Pineal Research* 66: 1-12.
- Manchester, L. C., Tan, D. X., Reiter, R. J., Park, W., Monis, K. and Qi, W. (2006) High levels of melatonin in the seeds of edible plants—possible function in germ tissue protection. *Life Sciences* 67: 3023-3029.
- Mohammadi, H., Moradi, S. and Aghaee, A. (2020) Effect of melatonin on morphological and physiological parameters of *Anise hyssop* under water deficit stress conditions. *Journal of Plant Process and Function* 10: 45-57.
- Murch, S. J. and Saxena, P. K. (2006) A melatonin-rich germplasm line of St John's wort (*Hypericum perforatum* L.). *Journal of Pineal Research* 41: 284-287.
- 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.
- Murch, S. J., Simmons, C. B. and Saxena, P. K. (1997) Melatonin in feverfew and other medicinal plants. *The Lancet* 350: 1598-1599.
- Muszynska, B. and Sulkowska-Ziaja, K. (2012) Analysis of indole compounds in edible Basidiomycota species after thermal processing. *Food Chemistry* 132: 455-459.
- Naghizadeh, M., Kabiri, R., Hatami, A., Oloumi, H., Nasibi, F. and Tahmasebi, 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 Plants* 25: 881-894.
- Oloumi, H., Nasibi, F. and Mozaffari, H. (2018) Investigation of the growth rate and secondary metabolites content of *Lepidium sativum* under exogenous melatonin treatment. *Nova Biologica Reperta* 5: 144-154.
- Pagnussat, G. C., Lanteri, M. L., Lombardo, M. C. and Lamattina, L. (2004) Nitric oxide mediates the indole acetic acid induction activation of a mitogen-activated protein kinase cascade involved in adventitious root development. *Plant Physiology* 135: 279-286.
- Park, S. and Back, K. (2012) Melatonin promotes seminal root elongation and root growth in transgenic rice after germination. *Journal of Pineal Research* 53: 385-389.
- Parry, G. and Estelle, M. (2006) Auxin receptors: A new role for F-box proteins. *Current Opinion in Cell Biology* 18: 152-156.
- Posmyk, M. M., Balabusta, M., Wiczorek, M., Sliwinska, E. and Janas, K. M. (2009) Melatonin applied to cucumber (*Cucumis sativus* L.) seeds improves germination during chilling stress. *Journal of Pineal Research* 46: 214-223.
- Posmyk, M. M. and Janas, K. M. (2009) Melatonin in plants, scientific and practical aspects. *Acta Physiologia Plantarum* 31: 1-11.
- Pourhanifeh, M., Sharifi, M., Reiter, R., Abdolhossein, D. and Asemi, Z. (2019) Melatonin and non-small cell lung cancer: New insights into signaling pathways. *Cancer Cell International* 19: 1-7.
- Reiter, R. J., Fuentes-Broto, L., Paredes, S. D., Tan, D. X. and Garcia, J. J. (2010) Melatonin and the pathophysiology of cellular membranes. *Marmara Pharmaceutical Journal* 14: 1-9.
- Reiter, R. J., Paredes, S. D., Manchester, L. C. and Tan, D. X. (2009) Reducing oxidative/nitrosative stress: a newly-discovered genre for melatonin. *Critical Review in Biochemistry and Molecular Biology* 44: 175-200.
- Reiter, R. J., Tan, D. X. and Galano, A. (2014) Melatonin reduces lipid peroxidation and membrane viscosity. *Frontier in Physiology* 5: 1-4.
- Reiter, R. J., Tan, D. X., Manchester, L. C., Somopoulos, A. P., Maldonado, M. D., Flores, L. J. and Terron, M. P. (2007) Melatonin in edible plants (phytomelatonin): Identification, concentrations, bioavailability and proposed functions. *World Review in Nutrition and Dietetics* 97: 211-230.
- Sarropoulou, V. N., Therios, I. N. and Dimassi-Theriou, K. N. (2012) Melatonin promotes adventitious root regeneration in in vitro shoot tip explants of the commercial sweet cherry rootstocks CAB-6P (*Prunus cerasus* L.), Gisela 6 (*P. Cerasus* × *P. canescens*), and MxM 60 (*P. Avium* × *P. mahaleb*). *Journal of Pineal Research* 52: 38-46.
- Steffens, B., Feckler, Ch., Palme, K., Christian, M., Bottger, M. and Luthen, H. (2001) The auxin signal for protoplast swelling is perceived by extracellular ABPI. *Plant Journal* 27: 591-599.
- Sturtz, M., Cerezo, A. B., Cantos-Villar, E. and Garcia-Parrilla, M. (2011) Determination of the melatonin content of different varieties of tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) and strawberries (*Fragaria ananassa*). *Food Chemistry* 127: 1329-1334.
- Szafranska, K., Glinska, S. and Janas, K. M. (2012) Changes in the nature of phenolic deposits after re-warming as a result of melatonin pre-sowing treatment of *Vigna radiata* seeds. *Journal of Plant Physiology* 169: 34-40.
- Tan, D. X., Hardeland, R., Manchester, L. C., Paredes, S. D., Korkmaz, A., Sainz, R. M., Mayo, J. C., Fuentes-Broto, L. and Reiter, R. J. (2010) The changing biological roles of melatonin during evolution: from an antioxidant to signals of darkness, sexual selection and fitness. *Biological Reviews* 85: 607-623.

- Tan, D. X., Manchester, L. C., Di Mascio, P., Martinez, G. R., Prado, F. M. and Reiter, R. J. (2007) Novel rhythms of N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine and its precursor melatonin in water hyacinth: importance for phytoremediation. *The FASEB Journal* 21: 1724-1729.
- 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.
- Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C. J. and Telser, J. (2004) Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular Cell Biology* 266: 37-56.
- Van Tassel, D. L. and O'Neill, S. D. (2001) Putative regulatory molecules in plants: Evaluating melatonin. *Journal of Pineal Research* 31: 1-7.
- 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.
- 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.
- Wang, Y., Hao, J., Li, Q. and Jia, J. (2009) Defend effects of melatonin on mung bean UV-B irradiation. *Acta Photonica Sinica* 38: 2629-2633.
- Weeda, S., Zhang, N., Zhao, X., Ndip, G., Guo, Y., Buck, G. A., Fu, C. and Ren, S. (2014) Arabidopsis transcriptome analysis reveals key roles of melatonin in plant defense systems. *Plos One* 9: 1-18.
- Yao, K., Fang, J., Yin, Y., Feng, Z. M., Tang, Z. R. and Wu, G. (2011) Tryptophan metabolism in animals: Important roles in nutrition and health. *Front Biosci (Schol Ed)* 3: 286-297.
- Zare, M., Nasibi, F., Manuchehri Kalantari, Kh. and Ahmadi Mousavi, E. (2019) Effect of melatonin pretreatment on some physiological parameters and reduction of oxidative stress in *Tagetes erecta* seedlings under salt stress. *Journal of Plant Process and Function* 115-125.
- Zhang, N., Zhao, B., Zhang, H. J., Weeda, S., Yang, C., Yang, Z. C., Ren, S. and Guo, Y. D. (2013) Melatonin promotes water-stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Pineal Research* 54: 15-23.



## Melatonin; Growth regulator and strong antioxidant in plants

Hakimeh Oloumi<sup>1\*</sup>, Efat Ahmadi Mousavi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Ecology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman

<sup>2</sup>Biology Department, Faculty of Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman

(Received: 08/11/2021, Accepted: 05/07/2022)

### Abstract

Melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine) is an indole metabolite derived from tryptophan which is synthesized in plant cells in the chloroplasts and mitochondria. Melatonin is present in all plant species, with large variations in its level depending on the plant organ or tissue, and is a molecule endowed with a multitude of functions that makes it worthy to be referred to as a plant growth regulator. One of the main functions of melatonin in plants is its substantial influence on plant hormones such as auxin, gibberellins, cytokinins, and abscisic acid. Melatonin functions in plants are similar to the antioxidant activities of auxin. Melatonin has many beneficial actions, generally improving physiological responses such as seed germination and growth, photosynthesis (pigment content, photorespiration, stomatal conductance, and water economy), seed and fruit yield, osmoregulation, and the regulation of the different metabolic pathways. Its ability to strengthen plants subjected to abiotic stress such as drought, cold, heat, salinity, chemical pollutants, herbicides, and UV radiation makes melatonin an interesting candidate for use as a natural bio-stimulating substance. In addition, melatonin is involved in numerous cellular functions as an antioxidant. It acts as an excellent scavenger of reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) in plants. The studies showed that melatonin act as a direct antioxidant, neutralizing several ROS/RNS and other radical species harmful to the cell, and also acts as an activator of the antioxidant response, up-regulating various transcription factors that triggers the activity of antioxidant enzymes such as superoxide dismutases, catalases, peroxidases, and those involved in the ascorbate-glutathione cycle. Melatonin also acts as a circadian regulator, cyto-protector, and growth promoter, rhizogenesis, cellular expansion, and stress protection, in plants. All these data lead us to the idea that exogenous melatonin treatment might help crops resist under biotic and abiotic stressful environmental conditions.

**Keywords:** Melatonin; Antioxidants; Plant growth regulator; Abiotic stress; Plant resistance

Corresponding author, Email: Oloumi.ha@kgut.ac.ir