

## ارزیابی تأثیر اسید فولویک و ملاتونین بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی توت - فرنگی رقم کاماروسا تحت تنش آبی

محمدصفا عین‌الدین<sup>۱</sup>، علی اکبر شکوهیان<sup>۱\*</sup>، علی رسول‌زاده<sup>۲</sup> و آرش همتی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، ایران

<sup>۲</sup> گروه مهندسی آب، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، ایران

<sup>۳</sup> مدیر شرکت قیزیل تپراق سهند، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۱۶، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۰۳/۳۰)

### چکیده

پیش‌بینی می‌شود که در بسیاری از مناطق جهان دوره‌های خشکسالی گسترش یابد و تولیدات کشاورزی را با مشکل مواجه نماید. بر این اساس از روش‌های مختلف می‌توان برای کاهش اثر تنش خشکی استفاده کرد. به‌منظور بررسی تأثیر اسید فولویک و ملاتونین بر برخی از ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی توت فرنگی رقم کاماروسا تحت تنش آبی، آزمایشی در شهرستان بستان‌آباد و آزمایشگاه گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی در طی سال ۱۴۰۰ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. عوامل آزمایشی شامل سه سطح آبیاری (۱۰۰، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی)، محلول‌پاشی اسید فولویک در سه سطح (شاهد (غلظت صفر)، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و محلول‌پاشی ملاتونین در سه سطح (شاهد (غلظت صفر)، ۷۵ و ۱۵۰ میکرومولار) بودند. نتایج نشان داد محلول‌پاشی اسید فولویک و ملاتونین به‌طور معنی‌داری باعث افزایش میزان کلروفیل، کاروتنوئید، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، پرولین، فنل، فلاونوئید و پروتئین محلول و کاهش میزان مالون دی‌آلدئید در شرایط تنش خشکی گردید. به‌طور کلی تیمار گیاهان با ۲۰۰ میلی‌گرم اسید فولویک و ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین میزان صفات اندازه‌گیری‌شده را به‌میزان بیشتری افزایش دادند و این تیمارها به‌طور معنی‌داری میزان تحمل بوته‌های توت فرنگی را در مقابل تنش خشکی افزایش دادند.

کلمات کلیدی: آنتی‌اکسیدان، پروتئین، پرولین، فنل، مالون دی‌آلدئید

### مقدمه

محلول‌ها را در سیتوسول و ماتریکس‌های خارج سلولی افزایش می‌دهد و در نتیجه، توسعه سلول کاهش می‌یابد که منجر به مهار رشد و عدم موفقیت در تولید مثل می‌شود. این پدیده به وسیله تجمع آبسیزیک اسید و اسمولیت‌های سازگار مانند پرولین دنبال می‌شود، که باعث پژمردگی می‌گردد (Lisar et al., 2012). در این مرحله، تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن

کم‌آبی به‌عنوان یک تنش غیرزیستی در طبیعت دارای چند بعد است و بر روی گیاهان در سطوح مختلف تأثیر می‌گذارد. در واقع، در صورت وجود تنش خشکی طولانی‌مدت، بسیاری از گیاهان از بین می‌روند. تنش خشکی در گیاهان باعث کاهش توانایی آب سلول‌های گیاه و تورژسانس می‌شود که غلظت

\* نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: shokouhiana@yahoo.com

می‌توان رشد و عملکرد گیاه را در این شرایط افزایش داد. در سال‌های اخیر به‌طور قابل توجهی بررسی اثرات ملاتونین بر گیاهان افزایش یافته است. از جمله این مطالعات می‌توان به کاربرد این ماده به‌عنوان یک ماده ضدتنش در برابر کم‌آبی، شوری، درجه حرارت کم و دمای بالا، اشعه ماوراءبنفش و مواد شیمیایی سمی، اشاره کرد. در میان نقش‌های مختلف ملاتونین در گیاه، اثرات آنتی‌اکسیدانی و آغازکنندگی رشد ملاتونین بسیار مهم است (Paredes *et al.*, 2009; Khan *et al.*, 2020). ملاتونین یک مولکول قطبی است (Reiter *et al.*, 2010, 2013). این ماده در سال ۱۹۵۸ به‌عنوان یک نورهورمون که با ترشح به جریان خون در سیستم‌های بیولوژیکی اثر می‌کند، معرفی گردید (Carrillo-Vico *et al.*, 2013). این ماده واسطه‌ای برای تنظیم بسیاری از روابط فیزیولوژیکی مانند ریتم‌های خواب، احساس، دمای بدن، اشتها، رفتارهای جنسی و سیستم ایمنی بدن است. کشف وجود ملاتونین در گیاهان عالی در سال ۱۹۹۵ صورت گرفت (Hatori and Panda, 2010). این ماده به‌طور گسترده‌ای در برگ‌ها، ریشه‌ها، ساقه‌ها، میوه‌ها و بذرها تمامی گونه‌های گیاهی وجود دارد (Reiter *et al.*, 2013; Carrillo-Vico *et al.*, 2013). ملاتونین با ایجاد تغییر در میزان بیان ژن‌ها، باعث افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های زیستی (سرما، گرما، خشکی، غرقابی، شوری، باران اسیدی، فلزات سنگین و اشعه ماورابنفش) و غیرزیستی (باکتری، قارچ، ویروس) می‌شود (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2019).

اسید فولویک نیز میزان تحمل گیاه را در برابر تنش‌های مختلف افزایش می‌دهد. براساس گزارشات ارائه‌شده در شرایط تنش، اسید فولویک تحمل گیاه را از طریق تحریک بیوستنز پرولین افزایش می‌دهد. همچنین این ماده موجب کاهش سمیت ناشی از نمک (NaCl) در زیتون شده است (Miri Nargesi *et al.*, 2022). کاربرد اسید فولویک به‌طور مؤثری اثر منفی تنش شوری بر جوانه‌زنی (شاخص جوانه‌زنی و شاخص رشد)، رشد گیاهچه (طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن تازه) و عوامل برگی (تعداد اپیدرم‌ها و روزنه، شاخص روزنه، اندازه روزنه سطح

و تشکیل ترکیبات جاروب‌کننده رادیکال‌ها مانند آسکوربات و گلوتاتیون صورت می‌گیرد (Kar, 2011). تنش آبی همچنین بر بسته‌شدن روزنه، صفات فیزیولوژیکی، تبادل گازی، کاهش تعرق و کاهش آسیمیلسیون کربن (فتوستت) تأثیر می‌گذارد (Shokouhian *et al.*, 2013; Farooq *et al.*, 2009; ) (Shirinpour *et al.*, 2021).

توت‌فرنگی تجاری (*Fragaria×ananassa* Duch.) یک محصول میوه‌ای مهم با محبوبیت زیاد در سطح جهانی است. ریشه‌های سطحی، سطح برگ وسیع و محتوای آب بالای میوه این گیاه به معنای این است که مقادیر زیادی آب مصرف می‌کند (Klamkowski and Treder, 2006). ایران از لحاظ سطح زیرکشت توت‌فرنگی در رتبه ۱۸ اما از نظر عملکرد در واحد سطح، در رتبه سی‌ونهم دنیا قرار دارد (FAO, 2019). این اختلاف فاحش نشان می‌دهد در وضعیت موجود، میزان بهره‌وری در واحد سطح پایین است. توت‌فرنگی یکی از محصولاتی است که به‌طورکلی برای تولید مطلوب به آبیاری نیاز دارد و در حین گلدهی و رسیدن میوه به تنش خشکی بسیار حساس است. کشت این گیاه در مناطقی با باران تابستانی کم و منابع آبی ناکافی، دچار مشکل می‌شود. کشت توت‌فرنگی در شرایط کم‌آبیاری با کاهش اندازه میوه و عملکرد آن همراه است (Liu *et al.*, 2007). با این وجود، پژوهش‌ها نشان داده‌اند که کم‌آبیاری توت‌فرنگی می‌تواند غلظت برخی مواد مرتبط با طعم از جمله قندها و اسیدهای آلی را به‌طور قابل توجهی در میوه‌های رسیده افزایش دهد (Watson *et al.*, 2002; Terry *et al.*, 2007).

امروزه تنش خشکی به یک معضل و مشکل زیست محیطی برای بسیاری از نواحی جهان از جمله ایران مبدل گشته است. این مشکل می‌تواند باعث کاهش رشد و تولید محصولات کشاورزی شود. بنابراین یافتن روش‌هایی برای کاهش اثرات این تنش ضروری به‌نظر می‌رسد. با استفاده از شیوه‌های مختلف مانند استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد می‌توان میزان تحمل گیاه را در برابر تنش کم‌آبی افزایش داد. ملاتونین و اسید فولویک جز موادی هستند که به کمک آنها

شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای کشت می‌شود. در یک بررسی صورت‌گرفته برای صفات وزن میوه، تعداد گل و میوه رقم کاماروسا بیشترین مقادیر را در شرایط تنش داشت و می‌توان این رقم را به عنوان یک رقم متحمل به خشکی معرفی نمود (قاسمی و همکاران، ۱۳۹۷). بررسی‌های آزمایشگاهی در آزمایشگاه‌های گروه باغبانی و خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی انجام گرفت. این بررسی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه فاکتور در چهار تکرار انجام شد. فاکتورها شامل تنش کم‌آبی در سه سطح {ظرفیت زراعی (شاهد)، ۲۵ و ۵۰ درصد تخلیه آب قابل نگهداری}، اسید فولویک (تولید شرکت مرک) در سه سطح (شاهد، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و ملاتونین (تولید شرکت سیگما آلدریچ) در سه سطح (شاهد، ۷۵ و ۱۵۰ میکرومولار) بودند. نحوه اعمال تیمارهای ملاتونین و اسید فولویک به این صورت بود که بعد از استقرار کامل گیاهان و سرمادهی بوته‌ها در سه مرحله از طریق محلول‌پاشی استفاده شدند. مرحله اول پس از استقرار کامل بوته (۱۵ روز بعد از کاشت)، مرحله دوم ۱۰ روز بعد از تیمار اول و مرحله سوم ۱۰ روز بعد از مرحله دوم محلول‌پاشی انجام گرفت. لازم به ذکر است گیاهان شاهد با استفاده از آب مقطر محلول‌پاشی گردیدند. نحوه اعمال تنش آبی بر گیاهان مورد نظر به این صورت بود که ابتدا برای به حداقل رساندن تأثیر رطوبت بر وزن خاک درون گلدان، آن را کاملاً خشک نموده، سپس برای ایجاد زهکش کافی در گلدان‌ها مقدار یکسانی از شن درشت پس از توزین در کف آنها ریخته شد. سپس گلدان‌ها بر روی ترازویی (Scale MH, Chine) با دقت یک دهم گرم قرار گرفته و مخلوط خاکی موردنظر در همه آن‌ها ریخته شد. سپس یکی از گلدان‌ها را به طور تصادفی انتخاب و خاک داخل آن کاملاً غرقاب و به وسیله پلاستیک پوشانیده شد و اجازه داده شد تا آب ثقلی آن خارج شود. بعد از آنکه رطوبت خاک به ظرفیت زراعی رسید، گلدان به مدت یک هفته و تا زمانی که وزن گلدان ثابت شد، به صورت روزانه توزین و یادداشت‌برداری شد. سپس خاک داخل گلدان در یک ظرف همراه با خاک درون آن و در آن

روی و زیرین برگ) را در گیاه جو کاهش می‌دهد (Kilic and Aca, 2016). نتایج پژوهشی نشان داد اسید فولویک بیشترین تأثیر را بر صفات کیفی و کمی گیاه ذرت داشت و استفاده از آن اثرات منفی تنش کم‌آبی را کاهش داد (Wang et al., 2023). در مطالعه دیگر محققین واکنش‌های فیزیولوژیکی پرتقال را در شرایط تنش کم‌آبی همراه با کاربرد اسید فولویک مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند کاربرد اسید فولویک باعث بهبود شاخص‌های فتوسنتزی ( $F_o$ ,  $F_m$ ,  $F_v$ ,  $qP$ ,  $F_v'/F_m'$ , PSII, NPQ) می‌شود (Huang et al., 2020). تنش کم‌آبی در انگور باعث کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی شده و در نهایت منجر به کاهش رشد گیاه و عملکرد آن می‌شود. اما کاربرد اسید فولویک به طور قابل ملاحظه‌ای مشکلات ناشی از تنش آبی را با حفظ محتوای کلروفیل، افزایش میزان پروتئین، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و عناصر غذایی (نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آهن، روی) و کاهش میزان هیدروژن پراکسید و مالون دی‌آلدئید بهبود می‌بخشد (Irani et al., 2021).

به دلیل اهمیت اقتصادی و تقاضای روزافزون توت‌فرنگی و با توجه به محدودیت‌های آبی در جهان به‌ویژه در ایران برای گسترش این محصول ارزشمند، مطالعه حاضر به منظور بررسی تأثیر کاربرد اسید فولویک و ملاتونین بر حفظ خصوصیات کمی و کیفی توت‌فرنگی تحت شرایط کم‌آبی انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

این آزمایش در بستان‌آباد استان آذربایجان شرقی انجام شد. این شهرستان در ۴۵ کیلومتری شرق تبریز واقع است و از نظر جغرافیایی بین ۴۶ درجه و ۳۰ دقیقه و ۴۷ درجه و ۱۴ دقیقه طول شرقی و ۳۷ درجه و ۳۲ دقیقه و ۳۸ درجه و ۴ دقیقه عرض شمالی قرار گرفته است. ارتفاع شهرستان بستان‌آباد از سطح آزاد دریا ۱۷۴۰ متر و متوسط بارندگی سالانه آن ۳۲۰ میلی‌متر است. برای اجرای آزمایش نشاهای توت‌فرنگی رقم کاماروسا در مهرماه از یک گلخانه تجاری پرورش توت‌فرنگی در شهر ارومیه تهیه و در سینی‌های کشت به گلخانه انتقال یافت. کاماروسا یک رقم روزکوتاه و زودرس است و در

حاوی ۲ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد است، ساییده شد تا کلروفیل وارد محلول استونی شود و سپس حدود ۲ میلی‌لیتر از عصاره استونی بدست‌آمده برداشته شد. محلول عصاره استونی بدست‌آمده به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ (HS 18500 R, USA) گردید و سپس با کاغذ صافی صاف شده و جذب نوری محلول رویی در طول‌موج‌های ۴۷۰، ۶۴۶ و ۶۶۳ توسط اسپکتروفتومتر (HACH DR6000, Germany) خوانده شد. مقدار کلروفیل و کاروتنوئید طبق معادله‌های زیر محاسبه شد (Arnon, 1967).

$$\text{Chla (mg.ml}^{-1}\text{)} = 12.25A663 - 2.79A646$$

$$\text{Chlb (mg.ml}^{-1}\text{)} = 21.50A646 - 5.10A663$$

$$\text{Tchl (mg.ml}^{-1}\text{)} = \text{Chla} + \text{Chlb}$$

$$\text{Cx} + \text{c} = (1000A470 - 1.8Ca - 85.02Cb) / 198$$

جهت ارزیابی میزان مهار رادیکال آزاد (DPPH)

diphenyl-1-picrylhydrazyl ابتدا ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول متانولی نمونه مورد نظر در یک لوله آزمایشی ریخته شد. سپس به آن ۰/۱ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH اضافه شد. محتویات هر لوله با ورتکس کاملاً مخلوط شد و پس از گذشت ۳۰ دقیقه، در دمای اتاق و در تاریکی، جذب آن‌ها در طول‌موج ۵۱۸ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر در برابر بلانک حاوی متانول خوانده شد. در این روش از ویتامین C و BHT به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. درصد مهار رادیکال DPPH با استفاده از معادله  $I(\%) = 100 \times (A_0 - A_s) / A_0$  محاسبه گردید که  $A_0$  جذب کنترل (حاوی همه اجزا واکنشگر بدون نمونه) و  $A_s$  جذب نمونه بود. سپس نتایج به صورت IC50 (مقداری از آنتی‌اکسیدان که لازم است تا غلظت DPPH به ۵۰ درصد مقدار اولیه برسد) بیان گردید (Parthasarathy et al., 2009). برای استخراج پرولین برگ‌ها، از روش Bates (۱۹۷۳) استفاده شد. مقدار کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره گیاهی براساس روش Slinkard و Singleton (۱۹۷۷) اندازه‌گیری شد. محتوای فلونوئید براساس روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید مطابق با روش Meda و همکاران (۲۰۰۵) انجام شد. برای اندازه‌گیری محتوای مالون دی‌آلدهید از روش Meng و همکاران (۲۰۰۸) استفاده شد.

با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شده و سپس دوباره خاک همراه ظرف توزین و تفاوت این دو جرم (قبل از آون و بعد از آون)، جرم آب (Mw) خاک درون گلدان در آخرین مرحله آزمایش را نشان داد. جرم ظرف از جرم نمونه خاک همراه با ظرف بعد از آون کسر شده و جرم خاک خشک (Ms) محاسبه گردید. در نهایت رطوبت جرمی ( $\theta_m$ ) با استفاده از معادله زیر به دست آمد.

$$\theta_m = \frac{Mw}{Ms} \quad (1)$$

بعد از به دست آوردن رطوبت در مرحله آخر آزمایش، با توجه به اینکه اختلاف جرم گلدان‌ها در هر روز متوالی نشانگر مقدار آب تبخیرشده است و مقدار خاک خشک در هر مرحله ثابت است، لذا با اضافه کردن اختلاف جرم گلدان‌ها در هر دوره زمانی، اندازه‌گیری و مقدار Mw با توجه به رابطه (رطوبت جرمی  $\theta_m$ ) رطوبت در آن مرحله به دست آمد. با به دست آمدن جرم گلدان و رطوبت جرمی، رابطه خطی بین آنها توسط نرم‌افزار Excel رسم گردید. در موقع اعمال سطوح تنش با داشتن جرم گلدان، رطوبت گلدان‌ها توسط رابطه رگرسیونی محاسبه شد. برای اعمال تنش از معادله زیر محاسبه شد (Cavvaza et al., 2007).

$$I = AW \times MAD \quad (2)$$

که در آن، I مقدار آب آبیاری، AW آب قابل نگهداری در خاک و MAD حداکثر تخلیه مجاز آب است. شایان ذکر است به جای MAD، سه سطح تنش یعنی شاهد (نگهداری رطوبت در حد ظرفیت زراعی)، تخلیه ۲۵ درصد و ۵۰ درصد آب قابل نگهداری قرار داده شد و رطوبت خاک برای این سطوح محاسبه گردید. به طوری که وقتی رطوبت گلدان‌ها به این مقدار رسید، بیانگر آن است که آب قابل نگهداری محاسبه شده، تخلیه گردیده است. با اندازه‌گیری جرم گلدان‌ها رطوبت آن‌ها در سطح تنش ثابت نگهداشته شد. به منظور خارج کردن اثر رشد از گلدان‌های بدون گیاه استفاده گردید.

اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کاروتنوئیدها با استفاده از روش آرنون انجام شد. برای سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئیدها ۰/۲ گرم از برگ‌های تازه گیاه در هاون چینی که

۱۰/۲۹، ۱۵/۳۶، ۱۸/۷۵ درصد) نسبت به حالت عدم کاربرد این دو ماده افزایش داد (جدول ۲).

کلروفیل یکی از پارامترهای فیزیولوژیکی متأثر از تنش آبی است. در برخی گیاهان مقدار کلروفیل در طول تنش بدون تغییر و در برخی گیاهان کاهش می‌یابد. در بررسی حاضر مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل تحت شرایط تنش روندی کاهشی نسبت به شرایط بدون تنش آبی داشت. بررسی‌های متعددی کاهش محتوای کلروفیل را تحت تنش آبی گزارش کرده‌اند (Han et al., 2017; Chavoushi et al., 2020)، که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. کاهش کلروفیل تحت تنش آبی را می‌توان به علت از بین رفتن آنزیم‌های بیوستتزی رنگدانه‌های فتوستتزی (به‌خصوص آنزیم گلوتامات لیگاز) و همچنین القای تجزیه‌شدن یا مهار سنتز آن‌ها در شرایط تنش نسبت داد (Dalal and Tripathy, 2012). در این تحقیق کاربرد ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین به‌طور معنی‌داری میزان کاروتنوئید برگ را افزایش داد. در مطالعه دیگری کاربرد ملاتونین در بوته‌های گوجه‌فرنگی میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل، کاروتنوئید برگ را در شرایط تنش و عدم تنش آبی افزایش داد (Altaf et al., 2022). در بررسی دیگری پژوهشگران نشان دادند که مصرف ملاتونین در گوجه‌فرنگی اثر بازدارنده سرما را بر رنگیزه‌های فتوستتزی کلروفیل و کاروتنوئید کاهش داد و باعث افزایش این رنگیزه‌ها گردید (Zhou et al., 2020).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثرات ساده سطوح آبیاری، محلول‌پاشی با ملاتونین و اسید فولویک، اثرات متقابل دوگانه اسید فولویک × ملاتونین و اثرات متقابل سه‌گانه سطوح آبیاری × اسید فولویک × ملاتونین در سطح احتمال یک درصد و اثرات متقابل دوگانه سطوح آبیاری × اسید فولویک در سطح احتمال پنج درصد تأثیر معنی‌داری بر میزان ظرفیت آنتی-اکسیدانی کل داشتند (جدول ۳).

طبق نتایج مقایسه میانگین تیمار آبیاری در تخلیه ۵۰ درصد آب قابل نگهداری و عدم مصرف اسید فولویک و ملاتونین باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل به میزان ۲۳/۵۷ درصد

داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۳) و SAS (نسخه ۹/۱) تجزیه و تحلیل شده و مقایسه میانگین با آزمون LSD در سطح احتمال ۱٪ انجام شد. رسم اشکال و برخی محاسبات با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام گرفت.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثرات ساده سطوح آبیاری و ملاتونین در سطح احتمال یک درصد تأثیر معنی‌داری بر میزان کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید برگ داشتند (جدول ۱). همچنین اثر ساده اسید فولویک بر میزان کلروفیل a، b و کل در سطح احتمال یک درصد و بر میزان کاروتنوئید در سطح احتمال پنج درصد تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۱).

طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها، با کاهش سطح آبیاری مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل روند کاهشی داشتند. به‌طوری‌که در تیمار تخلیه ۵۰ درصد آب قابل نگهداری مقدار رنگیزه‌های گیاهی به پایین‌ترین سطح و در تیمار آبیاری کامل از بیشترین مقدار برخوردار بودند (جدول ۲). اما برخلاف کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل، کاهش سطح آبیاری باعث افزایش مقدار کاروتنوئیدها گردید و بیشترین مقدار کاروتنوئیدها در تیمار تخلیه ۵۰ درصد آب قابل نگهداری مشاهده شد. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد تیمار تخلیه ۵۰ درصد آب قابل نگهداری باعث کاهش مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل به‌میزان ۱۲/۸۸، ۲۸/۰۰ و ۲۴/۰۶ درصد و افزایش مقدار کاروتنوئیدها به‌میزان ۲۰/۶۳ درصد گردید (جدول ۲). همچنین نتایج مقایسه میانگین‌ها، نشان داد کاربرد ملاتونین و اسید فولویک نسبت به حالت عدم کاربرد این دو ماده به‌طور معنی‌داری میزان کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید را افزایش داد. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد محلول‌پاشی ۲۰۰ میلی‌گرم اسید فولویک و ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین مقدار کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید را به‌ترتیب به‌میزان (۲/۹۴، ۹/۶۲، ۴/۴۵، ۹/۸۳ درصد) و (۱۵/۷۴،

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر محلول پاشی اسید فولویک و ملاتونین بر رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ توت‌فرنگی رقم کاماروسا تحت سطوح آبیاری

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
سطوح آبیاری	۲	۲/۸۲**	۱/۵۲**	۷/۳۴**
اسید فولویک	۲	۰/۰۶**	۰/۰۸**	۰/۳۰**
ملاتونین	۲	۱/۰۴**	۰/۱۹**	۲/۷۶**
سطوح آبیاری × اسید فولویک	۴	۰/۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۱۱ <sup>ns</sup>	۰/۱۷ <sup>ns</sup>
سطوح آبیاری × ملاتونین	۴	۰/۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۱۰ <sup>ns</sup>
اسید فولویک × ملاتونین	۴	۰/۰۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۲ <sup>ns</sup>
سطوح آبیاری × اسید فولویک × ملاتونین	۸	۰/۰۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۶ <sup>ns</sup>
خطای آزمایشی	۸۱	۰/۰۹۹	۰/۰۴	۰/۱۹
ضریب تغییرات (%)		۱۵/۸۰	۱۵/۳۹	۱۳/۳۴
		۱۹/۲۶		

ns، \* و \*\* به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۲- مقایسه میانگین تغییرات فعالیت رنگیزه‌های گیاهی نسبت به اثرات اصلی تنش آبی، اسید فولویک و ملاتونین

تیماها	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
mg.g <sup>-1</sup> FW				
آبیاری کامل	۲/۲۵ <sup>a</sup>	۱/۵۰ <sup>a</sup>	۳/۷۴ <sup>a</sup>	۰/۵۰ <sup>b</sup>
سطوح آبیاری ۲۵ درصد تخلیه آب قابل نگهداری	۲/۰۵ <sup>ab</sup>	۱/۲۷ <sup>ab</sup>	۳/۳۰ <sup>ab</sup>	۰/۵۸ <sup>ab</sup>
۵۰ درصد تخلیه آب قابل نگهداری	۱/۹۶ <sup>b</sup>	۱/۰۸ <sup>b</sup>	۲/۸۴ <sup>b</sup>	۰/۶۳ <sup>a</sup>
صفر (شاهد)	۱/۹۶ <sup>b</sup>	۱/۲۲ <sup>b</sup>	۳/۱۹ <sup>b</sup>	۰/۵۵ <sup>b</sup>
اسید فولویک ۲۰۰ میلی گرم	۲/۰۴ <sup>a</sup>	۱/۳۵ <sup>a</sup>	۳/۳۷ <sup>a</sup>	۰/۶۱ <sup>a</sup>
۴۰۰ میلی گرم	۱/۹۸ <sup>b</sup>	۱/۳۵ <sup>a</sup>	۳/۲۲ <sup>a</sup>	۰/۵۵ <sup>b</sup>
صفر (شاهد)	۱/۸۲ <sup>b</sup>	۱/۲۲ <sup>b</sup>	۳/۰۳ <sup>c</sup>	۰/۵۲ <sup>b</sup>
ملاتونین ۷۵ میکرومولار	۲/۰۱ <sup>ab</sup>	۱/۲۷ <sup>b</sup>	۳/۲۶ <sup>b</sup>	۰/۵۶ <sup>b</sup>
۱۵۰ میکرومولار	۲/۱۶ <sup>a</sup>	۱/۳۶ <sup>a</sup>	۳/۵۸ <sup>a</sup>	۰/۶۴ <sup>a</sup>

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ است.

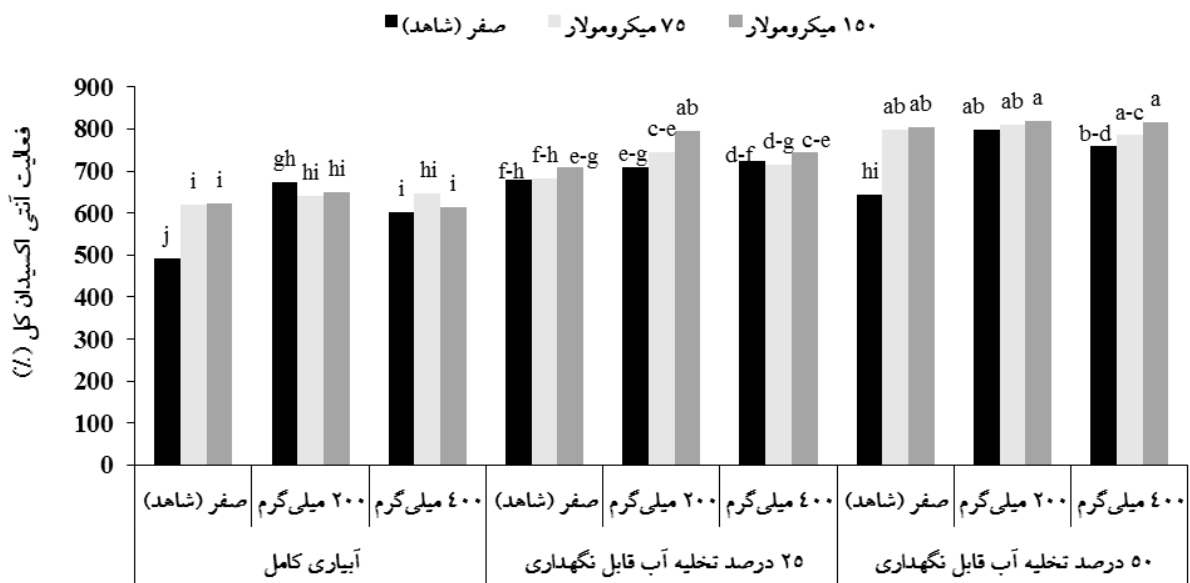
کل به ترتیب به میزان ۱۴/۶۱ و ۲۱/۴۰ درصد به ترتیب در تیمارهای تخلیه ۲۵ و ۵۰ درصد آب قابل نگهداری نسبت به عدم کاربرد همزمان اسید فولویک و ملاتونین شد (شکل ۱). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثرات ساده سطوح آبیاری و محلول پاشی با ملاتونین در سطح احتمال یک درصد و اثرات متقابل دوگانه اسید فولویک × ملاتونین در سطح

نسبت به تیمار آبیاری کامل و عدم مصرف اسید فولویک و ملاتونین شد. اما مصرف اسید فولویک و ملاتونین باعث افزایش بیشتر مقدار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در سطوح مختلف آبیاری شد. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد کاربرد همزمان ۲۰۰ میلی‌گرم اسید فولویک و ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین به طور معنی داری باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر محلول پاشی اسید فولویک و ملاتونین بر صفات بیوشیمیایی برگ توت‌فرنگی رقم کاماروسا در تنش آبی

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		آنتی‌اکسیدان کل	پروتئین محلول	پرولین	مالون دی‌آلدهید	فتول کل
سطوح آبیاری	۲	۲۴۸۶۵۴/۶۳**	۰/۶۲**	۵۵۱۳/۸۱**	۰/۳۸**	۱۴۲/۲۸**
اسید فولویک	۲	۳۳۴۱۴/۰۳**	۰/۰۰۹ ns	۲۴۶/۱۷**	۰/۰۰۳ ns	۱/۴۴ ns
ملاتونین	۲	۲۷۵۳۲/۲۵**	۰/۱۵**	۸۶/۸۰**	۰/۱۲۵**	۴۶/۴۷**
سطوح آبیاری × اسید فولویک	۴	۳۴۶۵/۷۰*	۰/۰۴ ns	۱۹۳/۴۶**	۰/۰۷**	۲۵/۸۶**
سطوح آبیاری × ملاتونین	۴	۲۰۹۴/۲۶ ns	۰/۰۵ ns	۱۳۹/۳۳**	۰/۰۰۶*	۳/۲۲**
اسید فولویک × ملاتونین	۴	۱۰۸۶۶/۴۵**	۰/۰۶*	۲۰/۲۸*	۰/۰۰۴ ns	۰/۸۸ ns
سطوح آبیاری × اسید فولویک × ملاتونین	۸	۴۶۵۸/۲۲**	۰/۰۳ ns	۱۱۱/۵۰**	۰/۰۰۸**	۲/۹۴**
خطای آزمایشی	۸۱	۹۶۴/۵۳	۰/۰۲	۶/۹۶	۰/۰۰۲	۱/۱۶
ضریب تغییرات (%)		۴/۳۹	۱۴/۷۶	۷/۵۲	۱۱/۴۱	۱۳/۰۸

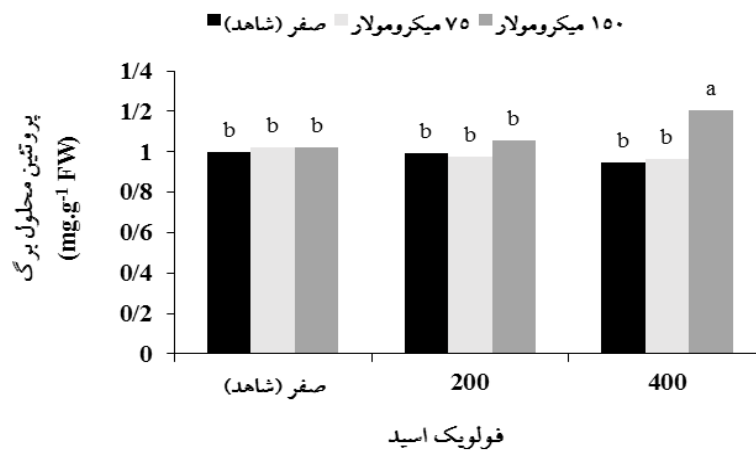
ns، \* و \*\* به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح آبیاری (آبیاری کامل، ۲۵ و ۵۰ درصد تخلیه آب قابل نگهداری) در اسید فولویک (شاهد، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و ملاتونین (شاهد، ۷۵ و ۱۵۰ میکرومولار) بر فعالیت آنتی‌اکسیدان کل (%) برگ توت‌فرنگی رقم کاماروسا. (حروف متفاوت بیان‌کننده معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD است).

احتمال پنج درصد تأثیر معنی‌داری بر مقدار پروتئین محلول  
بررسی اثر متقابل اسید فولویک × ملاتونین نشان داد در  
شرایط عدم مصرف و مصرف ۲۰۰ میلی‌گرم اسید فولویک با  
کاربرد ملاتونین تغییر معنی‌داری در مقدار پروتئین محلول برگ

برگ داشتند (جدول ۳).



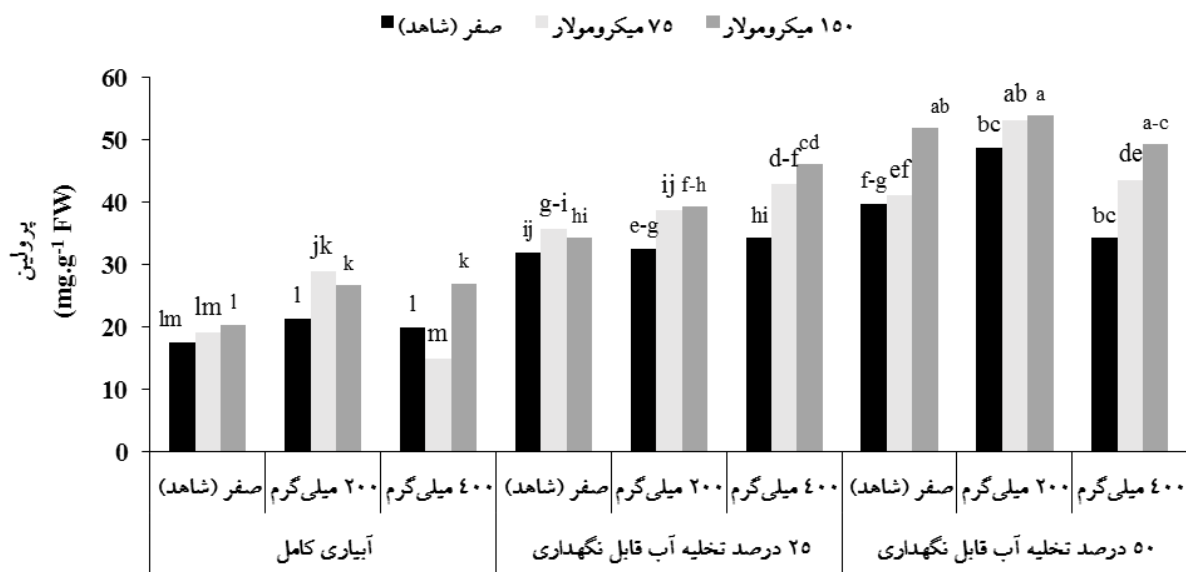
شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل اسید فولویک (شاهد، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر لیتر) و ملاتونین (شاهد، ۷۵ و ۱۵۰ میکرومولار) بر مقدار پروتئین محلول برگ (میلی گرم بر گرم وزن تر) توت فرنگی رقم کاماروسا. (حروف متفاوت بیان کننده معنی دار بودن اختلاف میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD است).

براساس پژوهش حاضر با مصرف ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر اسید فولیک مقدار پروتئین محلول برگ افزایش نشان داد. مشخص گردیده است که ملاتونین قادر به القای بیوسنتز پروتئین‌ها است، به طوری که تخریب پروتئین‌ها ممکن است توسط ملاتونین سرکوب شود (Liang *et al.*, 2019). محققین نشان دادند که ملاتونین با تأخیر در تخریب پروتئین نقش مهمی در حفاظت از محتوای کلروفیل و ثبات فعالیت PSII دارد (Reiter *et al.*, 2015). طبق یافته‌های محققین مقدار پروتئین محلول برگ گیاهان پیش تیمار شده با ملاتونین به طور قابل توجهی در مقایسه با گیاهان تحت تنش آبی بدون ملاتونین بیشتر بود (Cao *et al.*, 2019).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثرات ساده سطوح آبیاری، محلول پاشی با ملاتونین و اسید فولویک، اثرات متقابل دوگانه سطوح آبیاری × اسید فولویک و سطوح آبیاری × ملاتونین و اثرات متقابل سه‌گانه سطوح آبیاری × اسید فولویک × ملاتونین در سطح احتمال یک درصد و اثرات متقابل دوگانه اثرات متقابل دوگانه اسید فولویک × ملاتونین در سطح احتمال پنج درصد تأثیر معنی داری بر پرولین برگ داشتند (جدول ۳). طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها بیشترین مقدار پرولین مربوط به تیمار آبیاری در تخلیه ۵۰ درصد آب قابل نگهداری و مصرف همزمان ۲۰۰ میلی گرم اسید فولویک و ۱۵۰

مشاهده نشد. اما با کاربرد ۴۰۰ میلی گرم اسید فولویک مقدار پروتئین محلول برگ تحت ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین افزایش ۲۱/۲۶ درصدی و معنی داری نسبت به تیمار شاهد (عدم مصرف ملاتونین و مصرف ۴۰۰ میلی گرم اسید فولویک) داشت (شکل ۲).

علاوه بر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برابر تنش، تولید املاح مختلف سازگار، که معمولاً به عنوان محافظ اسمزی شناخته می‌شوند، نیز یک استراتژی مهم گیاهان برای تحمل تنش‌های غیرزیستی است (Liu *et al.*, 2018; Dawood and El-Awadi, 2015). محافظ‌های اسمزی شامل پروتئین‌های محلول، پرولین و اسیدهای آمینه آزاد تام هستند که از طریق مشارکت در تنظیم اسمزی سلولی، تثبیت آنزیم‌ها و پروتئین‌ها در سم‌زدایی ROS (گونه‌های آزاد اکسیژنی) و محافظت از یک پارچگی غشا، نقش مهمی در محافظت از گیاهان در برابر تنش ایفا می‌کنند (Dawood and El-Awadi, 2015). در بررسی‌هایی در کینوا و سویا تنش آبی باعث افزایش مقدار پروتئین محلول برگ گردید (Aziz *et al.*, 2018; Cao *et al.*, 2019)، که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. همچنین نتایج بررسی دیگری نشان داد کاربرد اسید فولویک در انگور در شرایط نرمال و تنش آبی باعث افزایش میزان پروتئین محلول برگ گردید (Irani *et al.*, 2021).



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح آبیاری (آبیاری کامل، ۲۵ و ۵۰ درصد تخلیه آب قابل نگهداری) در اسید فولویک (شاهد، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و ملاتونین (شاهد، ۷۵ و ۱۵۰ میکرومولار) بر پرولین برگ (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) توت‌فرنگی رقم کاماروسا (حروف متفاوت بیان‌کننده معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD است).

میکرومولار ملاتونین بود. تیمار آبیاری در تخلیه ۵۰ درصد آب قابل نگهداری و عدم مصرف اسید فولویک و ملاتونین به میزان ۶۷/۴۶ درصد میزان پرولین را نسبت به تیمار آبیاری کامل و عدم مصرف اسید فولویک و ملاتونین افزایش داد. اما مصرف همزمان اسید فولویک و ملاتونین در سطوح مختلف آبیاری نسبت به سطوح مختلف آبیاری و عدم مصرف اسید فولویک و ملاتونین به میزان بیشتری مقدار پرولین را افزایش داد. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد کاربرد همزمان ۲۰۰ میلی‌گرم اسید فولویک و ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین و کاربرد همزمان ۴۰۰ میلی‌گرم اسید فولویک و ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین به‌طور معنی‌داری باعث افزایش مقدار پرولین به‌ترتیب به میزان ۲۶/۳۳ و ۳۰/۷۶ درصد به‌ترتیب در تیمارهای تخلیه ۵۰ و ۲۵ درصد آب قابل نگهداری نسبت به عدم کاربرد همزمان اسید فولویک و ملاتونین گردید (شکل ۳).

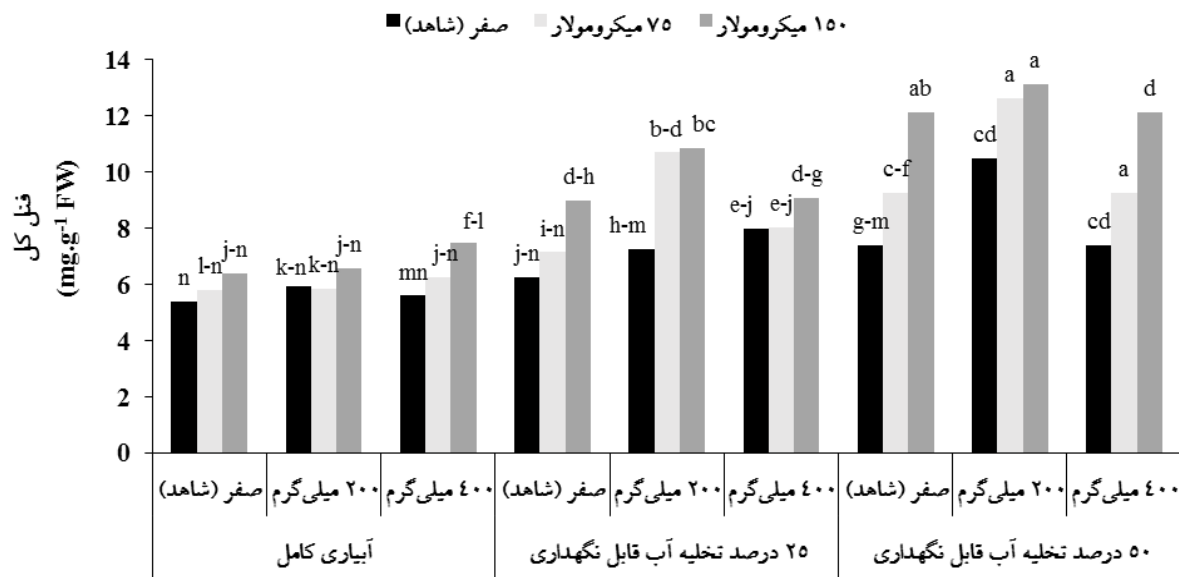
طبق پژوهش حاضر مقدار پرولین برگ تحت تنش شرایط کم‌آبی افزایش یافت. در بررسی‌های دیگر محققین نیز برگ‌های توت‌فرنگی تحت تنش آبی تجمع بیشتری از پرولین را نسبت به برگ‌های گیاهان شاهد داشتند (Sun et al., 2015; Zahedi et al., 2020)، که با نتایج حاصل از این بررسی مطابقت دارد. افزایش پرولین در دوره تنش ممکن است نتیجه تجزیه پروتئین‌ها و کاهش استفاده از آنها به دلیل کاهش رشد گیاه باشد. براساس یافته‌های محققین محتوای پرولین در گیاه همیشه‌بهار با افزایش تنش کم‌آبی ابتدا افزایش و با بیشتر شدن شدت تنش کاهش یافت (Jafarzadeh et al., 2013).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثرات ساده سطوح آبیاری و محلول‌پاشی با ملاتونین، اثرات متقابل دوگانه سطوح آبیاری × اسید فولویک و اثرات متقابل سه‌گانه سطوح آبیاری × اسید فولویک × ملاتونین در سطح احتمال یک درصد و اثرات متقابل دوگانه سطوح آبیاری × ملاتونین در سطح احتمال پنج درصد تأثیر معنی‌داری بر فنل کل داشتند (جدول ۳).

طبق نتایج مقایسه میانگین افزایش شدت تنش خشکی منجر به افزایش میزان فنل کل گردید و تیمار آبیاری در تخلیه ۵۰ درصد آب قابل نگهداری و عدم مصرف اسید فولویک و ملاتونین به‌میزان ۲۷/۰۲ درصد میزان فنل کل را نسبت به تیمار آبیاری کامل و عدم مصرف اسید فولویک و ملاتونین افزایش داد. همچنین مصرف اسید فولویک و ملاتونین باعث افزایش

طبق پژوهش حاضر مقدار پرولین برگ تحت تنش شرایط کم‌آبی افزایش یافت. در بررسی‌های دیگر محققین نیز برگ‌های توت‌فرنگی تحت تنش آبی تجمع بیشتری از پرولین را نسبت به برگ‌های گیاهان شاهد داشتند (Sun et al., 2015; Zahedi et al., 2020)، که با نتایج حاصل از این بررسی مطابقت دارد. افزایش پرولین در دوره تنش ممکن است نتیجه تجزیه پروتئین‌ها و کاهش استفاده از آنها به دلیل کاهش رشد گیاه باشد. براساس یافته‌های محققین محتوای پرولین در گیاه همیشه‌بهار با افزایش تنش کم‌آبی ابتدا افزایش و با بیشتر شدن شدت تنش کاهش یافت (Jafarzadeh et al., 2013).

طبق پژوهش حاضر مقدار پرولین برگ تحت تنش شرایط کم‌آبی افزایش یافت. در بررسی‌های دیگر محققین نیز برگ‌های توت‌فرنگی تحت تنش آبی تجمع بیشتری از پرولین را نسبت به برگ‌های گیاهان شاهد داشتند (Sun et al., 2015; Zahedi et al., 2020)، که با نتایج حاصل از این بررسی مطابقت دارد. افزایش پرولین در دوره تنش ممکن است نتیجه تجزیه پروتئین‌ها و کاهش استفاده از آنها به دلیل کاهش رشد گیاه باشد. براساس یافته‌های محققین محتوای پرولین در گیاه همیشه‌بهار با افزایش تنش کم‌آبی ابتدا افزایش و با بیشتر شدن شدت تنش کاهش یافت (Jafarzadeh et al., 2013).



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح آبیاری (آبیاری کامل، ۲۵ و ۵۰ درصد تخلیه آب قابل نگهداری) در اسید فولیک (شاهد، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر لیتر) و ملاتونین (شاهد، ۷۵ و ۱۵۰ میکرومولار) بر فنل کل برگ (میلی گرم بر گرم وزن تر) توت فرنگی رقم کاماروسا (حروف متفاوت بیان کننده معنی دار بودن اختلاف میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD است).

آبیاری در تخلیه ۲۵ درصد آب قابل نگهداری محلول‌پاشی بوته‌ها توسط اسید فولیک تأثیر معنی‌داری بر مقدار فلاونوئید برگ نداشت، اما در تیمار آبیاری در تخلیه ۵۰ درصد آب قابل نگهداری کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم اسید فولیک باعث افزایش ۲۱/۰۵ درصدی و معنی‌دار مقدار فلاونوئید برگ نسبت به عدم کاربرد اسید فولیک گردید (شکل ۵).

ترکیبات فنلی مانند فنل و فلاونوئید متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند (Li *et al.*, 2021) که به‌طور قابل پیش‌بینی تحت تنش‌های غیرزیستی تولید می‌شوند (Ahmad *et al.*, 2019)، و فنل و فلاونوئید هر دو نقش مهمی در کاهش آسیب اکسیداتیو با جاروب کردن ROS دارند (Caser *et al.*, 2019). در بررسی حاضر با کاهش آبیاری مقدار فنل و فلاونوئید افزایش معنی‌داری داشت. طی یافته‌های دیگر محققین نیز تحت تنش کم‌آبی مقدار فلاونوئید برگ تاج خروس افزایش یافت (Sarker and Oba, 2018). ملاتونین به‌طور مؤثری محتوای فنل و فلاونوئید را افزایش داد. نتایج بررسی حاضر با یافته‌های سایر محققین مطابقت دارد (Caser *et al.*, 2019). به نظر می‌رسد ملاتونین با افزایش متابولیت‌های ثانویه فنل و فلاونوئید

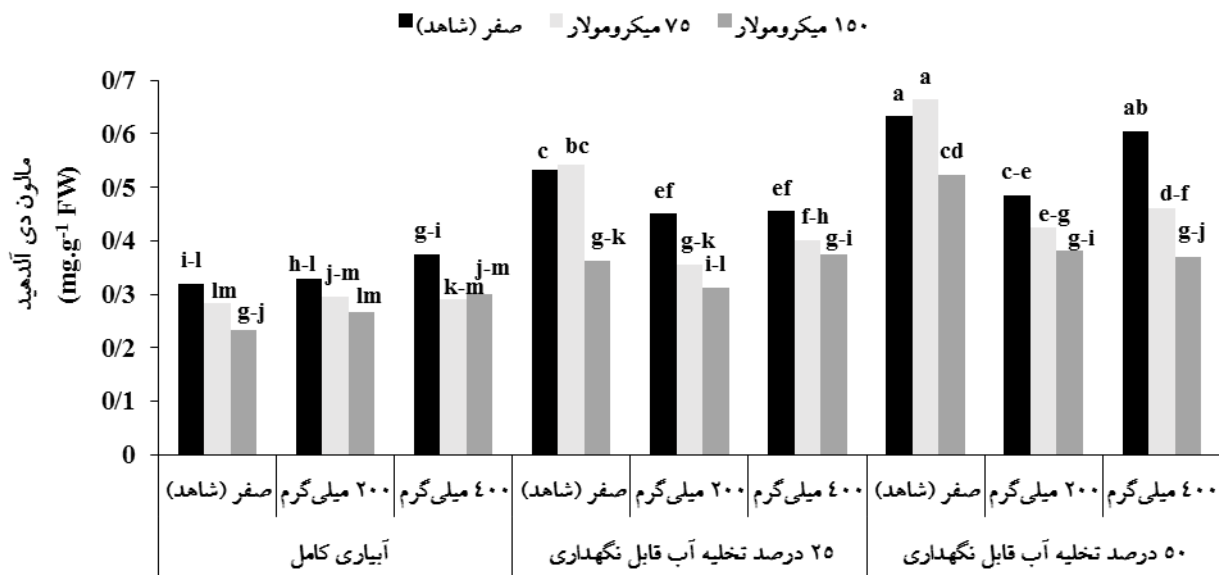
معنی‌دار میزان فنل کل در تمامی سطوح آبیاری شد. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد کاربرد همزمان ۲۰۰ میلی‌گرم اسید فولیک و ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین به‌طور معنی‌داری باعث افزایش میزان فنل کل به ترتیب به میزان ۱۸/۱۸، ۳۹/۴۲ و ۷۲/۴۳ درصد در تیمار آبیاری کامل، تخلیه ۲۵ و ۵۰ درصد آب قابل نگهداری نسبت به عدم کاربرد همزمان اسید فولیک و ملاتونین گردید (شکل ۴).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثرات ساده سطوح آبیاری، محلول‌پاشی با ملاتونین و اسید فولیک در سطح احتمال یک درصد بر مقدار فلاونوئید و مالون دی‌آلدئید برگ مؤثر بود. اثرات متقابل دوگانه سطوح آبیاری × اسید فولیک، بر مقدار فلاونوئید و آبیاری × ملاتونین بر مالون دی‌آلدئید برگ در سطح احتمال پنج درصد و اثرات متقابل سه‌گانه سطوح آبیاری × اسید فولیک × ملاتونین در سطح احتمال یک درصد بر مقدار مالون دی‌آلدئید تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۳).

طبق نتایج مقایسه میانگین داده‌ها افزایش شدت تنش خشکی تغییر معنی‌داری در مقدار فلاونوئید برگ نداشت. همچنین نتایج مقایسه میانگین نشان داد در آبیاری کامل و



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح آبیاری (آبیاری کامل، ۲۵ و ۵۰ درصد تخلیه آب قابل نگهداری) در اسید فولویک (شاهد، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بر مقدار فلاونوئید (میلی‌گرم در گرم وزن تر) توت‌فرنگی رقم کاماروسا. حروف متفاوت بیان‌کننده معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD است.



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح آبیاری (آبیاری کامل، ۲۵ و ۵۰ درصد تخلیه آب قابل نگهداری) در اسید فولویک (شاهد، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و ملاتونین (شاهد، ۷۵ و ۱۵۰ میکرومولار) بر مالون دی‌آلدئید برگ (میلی‌گرم در گرم وزن تر) توت‌فرنگی رقم کاماروسا.

(حروف متفاوت بیان‌کننده معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD است).

افزایش مقدار مالون دی‌آلدئید به میزان ۴۹/۶۱ درصد نسبت به تیمار آبیاری کامل و عدم مصرف اسید فولویک و ملاتونین شد. اما مصرف اسید فولویک و ملاتونین باعث کاهش مقدار مالون دی‌آلدئید در تیمار تخلیه ۵۰ درصد آب قابل نگهداری گردید. همچنین مصرف اسید فولویک و ملاتونین باعث کاهش مقدار

برای تسریع مقاومت گیاه در برابر آسیب اکسیداتیو، به‌عنوان یک مولکول سیگنال در گیاهان تحت تنش آبی عمل می‌کند.

طبق نتایج مقایسه میانگین بیشترین مقدار مالون دی‌آلدئید مربوط به تیمار آبیاری در تخلیه ۵۰ درصد آب قابل نگهداری و عدم مصرف اسید فولویک و ملاتونین بود و این تیمار باعث

نتایج بررسی حاضر نشان داد که استفاده از ملاتونین و اسید فولویک یک رویکرد کارآمد برای بهبود تحمل بوته‌های توت‌فرنگی تحت تنش کم‌آبی است. ملاتونین و اسید فولویک به تقویت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی بوته‌های توت‌فرنگی کمک کرده و با کاهش غلظت مالون دی‌آلدهید منجر به کاهش آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی شدند. همچنین ملاتونین و اسید فولویک با محافظت از رنگدانه‌ها در برابر تخریب در شرایط تنش آبی، باعث افزایش کارایی فتوسنتزی بوته‌های توت‌فرنگی شده است. علاوه‌براین ملاتونین و اسید فولویک غلظت کربوهیدرات محلول و پرولین (محافظت‌کننده اسمزی) را نیز افزایش می‌دهند. به‌طورکلی نتایج این گزارش نشان داد با کاربرد ملاتونین و اسید فولویک می‌توان از گیاه در برابر آسیب‌های تنش خشکی محافظت کرد. برای این منظور بهترین غلظت اسید فولویک و ملاتونین غلظت‌های ۲۰۰ میلی‌گرم اسید فولویک و ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین هستند.

### تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

مالون دی‌آلدهید در تیمار تخلیه ۲۵ درصد آب قابل نگهداری گردید. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد کاربرد همزمان ۲۰۰ میلی‌گرم اسید فولویک و ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین به‌طور معنی‌داری باعث کاهش مقدار مالون دی‌آلدهید به‌ترتیب به-میزان ۴۱/۶۷ و ۳۹/۷۳ درصد در تیمار تخلیه ۲۵ و ۵۰ درصد آب قابل نگهداری نسبت به عدم کاربرد همزمان اسید فولویک و ملاتونین گردید (شکل ۶).

براساس نتایج اثر متقابل سه‌گانه در سطح کم آبیاری شدید (۵۰ درصد تخلیه آب قابل نگهداری) و متوسط (۲۵ درصد تخلیه آب قابل نگهداری) محتوای مالون دی‌آلدهید با افزایش غلظت اسید فولویک کاهش واضح و معنی‌داری داشت. این نتایج در یافته‌های دیگر محققین نیز تأیید شده است (Ibrahim *et al.*, 2023; Zahedi *et al.*, 2021). مشخص شده است که تحت تنش‌های زیستی و غیرزیستی، فولات‌ها می‌توانند به‌طور غیرمستقیم ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را با فعال‌کردن چرخه سم‌زدایی ROS گلووتاتیون-آسکوربات (Gorelova *et al.*, 2017) یا مستقیماً از طریق کارایی بالای خود در مهار ROS جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی افزایش دهند (Cui *et al.*, 2018).

### نتیجه‌گیری

### منابع

- قاسمی، حلیمه، امیری فهلیانی، رضا، کاوسی، بیژن، و دهداری، مسعود (۱۳۹۷). واکنش برخی ارقام توت‌فرنگی (*Fragaria×ananasa*) Duch. به کم آبیاری از نظر سطح برگ و برخی ویژگی‌های کمی و کیفی میوه. *مجله علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای*، ۳۳، ۲۵-۳۹.
- Ahmad, S., Kamran, M., Ding, R., Meng, X., Wang, H., Ahmad, I., & Han, Q. (2019). Exogenous melatonin confers drought stress by promoting plant growth, photosynthetic capacity and antioxidant defense system of maize seedlings. *PeerJ*, 7, e7793. <https://doi.org/10.7717/peerj.7793>
- Altaf, M. A., Shahid, R., Ren, M. X., Naz, S., Altaf, M. M., Khan, L. U., Tiwari, R. K., Lal, M. K., Shahid, M. A., Kumar, R., & Nawaz, M. A. (2022). Melatonin improves drought stress tolerance of tomato by modulating plant growth, root architecture, photosynthesis, and antioxidant defense system. *Antioxidants*, 11(2), 309. <https://doi.org/10.3390/antiox11020309>
- Arnao, M. B. & Hernandez-Ruiz, J. (2019). Melatonin and reactive oxygen and nitrogen species: A model for the plant redox network. *Melatonin Research*, 2(3), 152-168. <https://doi.org/10.32794/11250036>
- Arnon, A. N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23, 112-121.
- Aziz, A., Akram, N. A., & Ashraf, M. (2018). Influence of natural and synthetic vitamin C (ascorbic acid) on primary and secondary metabolites and associated metabolism in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) plants under water deficit regimes. *Plant Physiology and Biochemistry*, 123, 192-203. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.12.004>

- Bates, L. S., Waldren, R. A., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Cao, L., Jin, X. J., & Zhang, Y. X. (2019). Melatonin confers drought stress tolerance in soybean (*Glycine max* L.) by modulating photosynthesis, osmolytes, and reactive oxygen metabolism. *Photosynthetica*, 57(3), 812-819. <https://doi.org/10.32615/ps.2019.100>
- Carrillo-Vico, A., Lardone, P. J., Alvarez-Sanchez, N., Rodriguez-Rodriguez, A., & Guerrero, J. M. (2013). Melatonin: Buffering the immune system. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(4), 8638-8683. <https://doi.org/10.3390/ijms14048638>
- Caser, M., Chitarra, W., D'Angiolillo, F., Perrone, I., Demasi, S., Lovisolo, C., & Scariot, V. (2019). Drought stress adaptation modulates plant secondary metabolite production in *Salvia dolomitica* Codd. *Industrial Crops and Products*, 129, 85-96. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.11.068>
- Cavvaza, L., Patrino, A., & Cirillo, E. (2007). Field capacity in soils with a yearly oscillating water table. *Biosystems Eng*, 98, 364-370. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2007.07.001>
- Chavoushi, M., Najafi, F., Salimi, A., & Angaji, S. A. (2020). Effect of salicylic acid and sodium nitroprusside on growth parameters, photosynthetic pigments and secondary metabolites of safflower under drought stress. *Scientia Horticulturae*, 259, 108823. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108823>
- Cui, S., Lv, X., Li, W., Li, Z., Liu, H., Gao, Y., & Huang, G. (2018). Folic acid modulates VPO1 DNA methylation levels and alleviates oxidative stress-induced apoptosis in vivo and in vitro. *Redox Biology*, 19, 81-91. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.08.005>
- Dalal, V. K. & Tripathy, B. C. (2012). "Modulation of chlorophyll biosynthesis by water stress in rice seedlings during chloroplast biogenesis". *Plant, Cell and Environment*, 35 (9), 1685-1703. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2012.02520.x>
- Dawood, M. G. & El-Awadi, M. E. (2015). Alleviation of salinity stress on *Vicia faba* L. plants via seed priming with melatonin. *Acta Biologica Colombiana*, 20(2), 223-235. doi: <http://dx.doi.org/10.15446/abc.v20n2.43291>
- FAO. (2019). Statistical Yearbook: Agriculture and Food World. FAO Food Agric Organization UN.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. *Sustainable Agriculture*, 29, 185-212. <https://doi.org/10.1051/agro:2008021>
- Gorelova, V., Ambach, L., Rebeille, F., Stove, C., & Van Der Straeten, D. (2017). Foliates in plants: Research advances and progress in crop biofortification. *Frontiers in Chemistry*, 5, 21. <https://doi.org/10.3389/fchem.2017.00021>
- Han, Q. H., Huang, B., Ding, C. B., Zhang, Z. W., Chen, Y. E., Hu, C., & Yuan, M. (2017). Effects of melatonin on anti-oxidative systems and photosystem II in cold-stressed rice seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 8, 785. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00785>
- Hatori, M. and Panda, S. (2010). The emerging roles of melanopsin in behavioral adaptation to light. *Trends in Molecular Medicine*, 16(10), 435-446. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2010.07.005>
- Huang, S., Xiong, B., Sun, G., He, S., Liao, L., Wang, J., Wang, B., & Wang, Z. (2020). Effects of fulvic acid on photosynthetic characteristics of citrus seedlings under drought stress. In: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Sanya, China. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/474/3/032007>
- Ibrahim, M. F. M., Ibrahim, H. A., & Abd El-Gawad, H. G. (2021). Folic acid as a protective agent in snap bean plants under water deficit conditions. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 96(1), 94-109. <https://doi.org/10.1080/14620316.2020.1793691>
- Irani, H., ValizadehKaji, B., & Naeini, M. R. (2021). Biostimulant-induced drought tolerance in grapevine is associated with physiological and biochemical changes. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 8(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s40538-020-00200-9>
- Jafarzadeh, L., Omid, H., & Bostani, A. A. (2013). Effect of drought stress and bio-fertilizer on flower yield, photosynthesis pigments and proline content of marigold (*Calendula officinalis* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 29(3), 180-193. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2013.4049>
- Kar, R. K. (2011). Plant responses to water stress: Role of reactive oxygen species. *Plant Signaling and Behavior*, 6(11), 1741-1745. <https://doi.org/10.4161/psb.6.11.17729>
- Khan, A., Numan, M., Khan, A. L., Lee, I. J., Imran, M., Asaf, S., & Al-Harrasi, A. (2020). Melatonin: Awakening the defense mechanisms during plant oxidative stress. *Plants*, 9(4), 407. <https://doi.org/10.3390/plants9040407>
- Kilic, S. and Aca, H. T. (2016). Role of exogenous folic acid in alleviation of morphological and anatomical inhibition on salinity-induced stress in barley. *Italian Journal of Agronomy*, 11(4), 246-251. <https://doi.org/10.4081/ija.2016.777>
- Klamkowski, K. & Treder, W. (2006). Morphological and physiological responses of strawberry plants to water stress. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 71, 159-165.
- Li, Z., Su, X., Chen, Y., Fan, X., He, L., Guo, J., & Yang, Q. (2021). Melatonin improves drought resistance in maize seedlings by enhancing the antioxidant system and regulating abscisic acid metabolism to maintain stomatal opening under peg-induced drought. *Journal of Plant Biology*, 64, 299-312. <https://doi.org/10.1007/s12374-021-09297-3>

- Liang, D., Ni, Z., Xia, H., Xie, Y., Lv, X., Wang, J., Lin, L., Deng, Q., & Luo, X. (2019). Exogenous melatonin promotes biomass accumulation and photosynthesis of kiwifruit seedlings under drought stress. *Scientia Horticulturae*, 246, 34-43. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.10.058>
- Lisar, S. Y., Motafakkerzad, R., Hossain, M. M., & Rahman, I. M. (2012). Water stress in plants: Causes, effects and responses. In *Water Stress*, 1-14. <https://doi.org/10.5772/39363>.
- Liu, F., Savi, S., Jensen, C. R., Shahnazari, A., Jacobsen, S. E., Stikic, R., & Andersen, M. N. (2007). Water relations and yield of lysimetergrown strawberries under limited irrigation. *Scientia Horticulturae*, 111(2), 128-132. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.10.006>
- Liu, Z., Cai, J. S., Li, J. J., Lu, G. Y., Li, C. S., Fu, G. P., & Cheng, Y. (2018). Exogenous application of a low concentration of melatonin enhances salt tolerance in rapeseed (*Brassica napus* L.) seedlings. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(2), 328-335. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61757-X](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61757-X)
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O. G. (2005). As well as their scavenging activity. *Food Chemistry*, 91, 571-577. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.006>
- Meng, X., Li, B., Liu, J., & Tian, Sh. (2008). Physiological responses and quality attributes of table grape fruit to chitosan preharvest spray and postharvest coating during storage. *Food Chemistry*, 106, 501-508. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.012>
- Miri Nargesi, S. M., Sedaghatthoor, S., & Hashemabadi, D. (2022). Effect of arginine, glutamine, humic acid, and fulvic acid spraying on olive cultivars in saline conditions. *Plant Physiology Reports*, 27(2), 295-307. <https://doi.org/10.1007/s40502-022-00661-0>
- Paredes, S. D., Barriga, C., Reiter, R. J., & Rodriguez, A. B. (2009). Assessment of the potential role of tryptophan as the precursor of serotonin and melatonin for the aged sleep-wake cycle and immune function: *Streptopelia risoria* as a model. *International Journal of Tryptophan Research*, 2, IJTR S1129. <https://doi.org/10.4137/ijtr.s1129>
- Parthasarathy, S., Azizi, J. B., Ramanathan, S., Ismail, S., Sasidharan, S., Said, M. I. M., & Mansor, S. M. (2009). Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of aqueous, methanolic and alkaloid extracts from *Mitragyna speciosa* (*Rubiaceae* family) leaves. *Molecules*, 14(10), 3964-3974. <https://doi.org/10.3390/molecules14103964>
- Reiter, R. J., Tan, D. X., Rosales-Corral, S., & Manchester, L. C. (2013). The universal nature, unequal distribution and antioxidant functions of melatonin and its derivatives. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 13(3), 373-384. <https://doi.org/10.2174/138955713804999810>
- Reiter, R. J., Tan, D. X., & Fuentes-Broto, L. (2010). Melatonin: A multitasking molecule. *Progress in Brain Research*, 181, 127-151. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)81008-4](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)81008-4)
- Reiter, R. J., Tan, D. X., Zhou, Z., Cruz, M. H. C., Fuentes-Broto, L., & Galano, A. (2015). Phytomelatonin: Assisting plants to survive and thrive. *Molecules*, 20(4), 7396-7437. <https://doi.org/10.3390/molecules20047396>
- Sarker, U. & Oba, S. (2018). Drought stress enhances nutritional and bioactive compounds, phenolic acids and antioxidant capacity of *Amaranthus* leafy vegetable. *BMC Plant Biology*, 18(1), 1-15. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1484-1>
- Shirinpour, M., Asghari, A., Aharizad, S., Rasoulzadeh, A., & Khavari Khorasani, S. (2021). Genetic analysis of grain yield and physiological traits of hybrid maize cv. SC704 under full and water deficit irrigation conditions. *Cereal Research Communications*, 49, 199-206. <https://doi.org/10.1007/s42976-020-00106-0>
- Shokouhian, A. A., Davarynejad, G. H., Tehranifar, A., Imani, A., & Rasoulzadeh, A. (2013). Investigation of effective microorganisms (EM) impact in water stress condition on growth of almond (*Prunus dulcis* Mill) seedling. *Journal of Basic and Applied Scientific Research*, 3(2), 86-92.
- Slinkard, K. & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55. <https://doi.org/10.5344/ajev.1977.28.1.49>
- Sun, C., Li, X., Hu, Y., Zhao, P., Xu, T., Sun, J., & Gao, X. (2015). Proline, sugars, and antioxidant enzymes respond to drought stress in the leaves of strawberry plants. *Horticultural Science and Technology*, 33(5), 625-632. <https://doi.org/10.7235/hort.2015.15054>
- Terry, L. A., Chope, G. A., & Gine Bordonaba, J. (2007). Effect of water deficit irrigation and inoculation with *Botrytis cinerea* on strawberry (*Fragaria×ananassa*) fruit quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(26), 10812-10819. <https://doi.org/10.1021/jf072101n>
- Wang, Y., Liu, Z., Xiemuxiding, A., Zhang, X., Duan, L., & Li, R. (2023). Fulvic acid, brassinolide, and uniconazole mediated regulation of morphological and physiological traits in maize seedlings under water stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(3), 1762-1774. <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10658-6>
- Watson, R., Wright, C. J., McBurney, T., Taylor, A. J., & Linfoth, R. S. T. (2002). Influence of harvest date and light integral on the development of strawberry flavour compounds. *Journal of Experimental Botany*, 53, 2121-2129. <https://doi.org/10.1093/jxb/erf088>
- Zahedi, S. M., Hosseini, M. S., Hoveizeh, N. F., Kadkhodaei, S., & Vaculik, M. (2023). Comparative morphological, physiological and molecular analyses of drought-stressed strawberry plants affected by SiO<sub>2</sub> and SiO<sub>2</sub>-NPs foliar spray. *Scientia Horticulturae*, 309, 111686. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111686>

- Zahedi, S. M., Moharrami, F., Sarikhani, S., & Padervand, M. (2020). Selenium and silica nanostructure-based recovery of strawberry plants subjected to drought stress. *Scientific Reports*, 10(1), 17672. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74273-9>
- Zhou, R., Wan, H., Jiang, F., Li, X., Yu, X., Rosenqvist, E., & Ottosen, C. O. (2020). The alleviation of photosynthetic damage in tomato under drought and cold stress by high CO<sub>2</sub> and melatonin. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(15), 5587. <https://doi.org/10.3390/ijms21155587>

## Evaluation of the effect of folic acid and melatonin on morpho-physiological and biochemical characteristics of Camarosa strawberry cultivar under water stress

Mohammad Safa Eynaladin<sup>1</sup>, Ali Akbar Shokouhian<sup>1\*</sup>, Ali rasoulzadeh<sup>2</sup>, Arash hemati<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

<sup>2</sup> Water Engineering Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

<sup>3</sup> Manager of Qizil Toprag Sahand Company, Iran  
(Received: 2023/04/05, Accepted: 2023/06/20)

### Abstract

To evaluate the effect of folvic acid and melatonin on some morpho-physiological and biochemical characteristics of strawberry cultivar Kamarosa under water stress, in the laboratories of the Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Mohaghegh Ardabili University, during one year (2020), a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with four replications. Experimental factors include three levels of irrigation (100%, 50% and 25% field capacity), folvic acid foliar application at three levels (control (zero concentration), 200 and 400 mg) and melatonin foliar application at three levels (control (Concentrations were zero), 75 and 150  $\mu$ M, respectively). Results showed that foliar application of folvic acid and melatonin significantly increased chlorophyll, carotenoid, DPPH, proline, phenol, flavonoid and soluble protein and decreased MDA under drought stress conditions. Generally, the greatest improvement in measured parameters under drought stress conditions was obtained by treating plants with 200 mg folvic acid and 150  $\mu$ M melatonin, which significantly increased drought tolerance in strawberry plants.

**Keywords:** Antioxidant, Malondialdehyde, Phenol, Proline, Protein

Corresponding author, Email: shokouhiana@yahoo.com