فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۳، شماره ۶۲، مهر و آبان‌ماه ۱۴۰۳ صفحه: ۳۴۷-۳۶۰
https://doi.org/10.22034/13.62.347

مقاله پژوهشی

اثر ملاتونین بر میزان فعالیت آنزیمی و تحمل به شوری گیاه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) براساس ارزیابی صفات مورفوفیزیولوژیکی

مهناز کریمی*، فاطمه قربانعلی‌زاده و منیژه اسلامی

گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۰۵، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۰۳/۲۷)

چکیده

تنش شوری یکی از مهمترین فاکتورهای محدودکننده رشد گیاهان است. گیاه همیشه‌بهار کاربردهای متعددی در طراحی فضای سبز دارد. ملاتونین یک آنتی‌اکسیدان طبیعی است که باعث تعدیل اثرات منفی تنش شوری در گیاه می‌شود. پژوهش حاضر به‌منظور بررسی اثر پیش‌تیمار ملاتونین بر فعالیت آنزیمی و خصوصیات مورفوفیزیولوژیک همیشه‌بهار در شرایط آبیاری با آب شور انجام گرفت. این تحقیق به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل ملاتونین در سه سطح (صفر، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار) و شوری با نمک کلرید سدیم در چهار سطح (صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار) بود. طبق نتایج بدست آمده میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و گایاکول پراکسیداز به‌ترتیب در گیاهان پیش‌تیمارشده با ملاتونین ۱۵۰ میکرومولار تحت شوری ۶۰ میلی‌مولار (۰/۰۹۴ گرم بر وزن تر) و ملاتونین ۱۵۰ میکرومولار در شوری ۳۰ میلی‌مولار (۰/۱۵۷ گرم بر وزن تر) در حداکثر بود. بیشترین میزان پروتئین (۳۵/۳۶ میلی‌گرم بر وزن تر) در گیاهان تیمارشده با ملاتونین ۱۵۰ میکرومولار بدون اعمال تیمار شوری ثبت شد. افزایش آنزیم کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و پروتئین نسبت به شاهد به‌ترتیب ۸۴/۳۱، ۳۰۰ و ۱۱/۸۳ درصد بوده است. تعداد گل در تیمار ملاتونین ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار بدون تنش در بیشترین تعداد (دو عدد) بود. افزایش تعداد گل، ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک اندام هوایی نسبت به شاهد به ترتیب ۲۰/۴۸، ۶۰/۰۳، ۱۷/۳ و ۵۲/۲۹ درصد بوده است. بیشترین میزان کلروفیل و کاروتنوئید در تیمار ملاتونین با غلظت ۱۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار به‌دست آمد. بیشترین میزان فنل در گیاهان تیمارشده با ملاتونین ۱۰۰ میکرومولار تحت شوری ۶۰ میلی‌مولار ثبت شد. محتوای فلاونوئید در ملاتونین ۱۰۰ میکرومولار تحت شوری ۳۰ میلی‌مولار در حداکثر بود. با توجه به نتایج بدست آمده استفاده از غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین در کاهش تنش شوری برای گیاه همیشه‌بهار تحت شوری ۳۰ و ۶۰ میکرومولار قابل توصیه است.

واژه‌های کلیدی: تنش محیطی، کاتالاز، کلروفیل، گلدهی، گیاه زینتی

مقدمه

همیشه‌بهار با نام علمی *Calendula officinalis* L. یک گونه از خانواده کاسنی (Asteracea) است (Shahane *et al.*, 2023). گیاهی علفی یکساله تا دوساله که ارتفاع آن به ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متر می‌رسد. در ارقام مختلف همیشه‌بهار گل‌آذین به رنگ‌های نارنجی، زرد، زرد روشن و نارنجی تیره دیده می‌شود. این گیاه علاوه بر گل زینتی به عنوان گیاه دارویی و در صنایع غذایی کاربرد فراوانی دارد (ghanim *et al.*, 2024;

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: karimi@sanru.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-02-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.347]

(Szopa *et al*., 2020).

شوری از معضلات مهم جهانی است که بر محصولات کشاورزی تأثیر منفی می‌گذارد. نمک‌هایی که عمدتاً باعث شوری می‌شوند کلرید سدیم و سولفات سدیم هستند. اثر شوری بر گیاهان با متغیرهای مختلفی مانند غلظت یون، ترکیب خاک، نزدیکی به دریا، ارتفاع، سرعت تبخیر و تعرق، دما و فراوانی بارندگی تغییر می‌کند (Paraskevopoulou *et al*., 2020). غلظت بالای نمک در گیاه بر آناتومی، فیزیولوژی و مورفولوژی قسمت‌های مختلف گیاه تأثیر می‌گذارد. نمک‌های جذب‌شده توسط گیاه در برگ‌های بالغ متمرکز شده که به‌دلیل ناتوانی سلول‌های برگ در جداسازی نمک‌ها در واکوئل منجر به مرگ برگ در یک دوره زمانی طولانی می‌شود (Plaza *et al*., 2015).

سطح تنش ناشی از شوری به گونه و رقم گیاه، بستر رشد و روش آبیاری مورد استفاده بستگی دارد. گونه‌های غیرهالوفیتی متحمل‌تر، از اثر اضافی یون جلوگیری می‌کنند. با این حال، آن‌ها ممکن است کمبود آب نشان دهند که بر گسترش و یا تقسیم سلولی تأثیر می‌گذارد. بنابراین، کاهش بالقوه در فتوسنتز ممکن است نشان‌دهنده یک اثر ثانویه کاهش رشد باشد (Demiral, 2017). در گلکاری، استفاده از آب شور برای تولید محصول مستلزم درک واکنش گیاه به اثر شوری از طریق آبیاری است. برخی از اثرات شوری از یک سو می‌تواند مطلوب باشد مانند کاهش طول و یا تعداد میانگره‌ها و برخی دیگر از سوی دیگر می‌تواند نامطلوب باشد مانند کلروز و نکروز حاشیه‌ای برگ. تأثیر آبیاری شور بر گل‌های فصلی فضای سبز کمتر مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است زیرا گیاهان زینتی معمولاً با آب با کیفیت و خوب آبیاری می‌شوند. در مناطقی که منابع با کیفیت آب محدود یا ضعیف است، کشت گل‌های فصلی که می‌توانند آبیاری آب شور را تحمل کنند یک مزیت است (Grieve, 2011; Paraskevopoulou *et al*., 2020).

ملاتونین (N-acetyl-5-methoxytryptamine) یک مولکول ایندول تریپتامین است که در همه موجودات زنده یافت می‌شود (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2015). تولید ملاتونین به‌طور قابل‌توجهی در گونه‌های گیاهی متفاوت است. ملاتونین در کلروپلاست از تریپتوفان از طریق یک‌سری واکنش کاتالیزشده توسط تریپتوفان دکربوکسیلاز، تریپتامین ۵- هیدروکسیلاز، سروتونین N- استیل ترانسفراز و آریلالکیل آمین N - استیل ترانسفراز سنتز می‌شود. ملاتونین ارتباط نزدیکی با تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و سیگنال‌دهی سلولی مرتبط با تنش دارد، بنابراین کلروپلاست‌ها محل اصلی تولید ملاتونین فرض می‌شوند (Martinez *et al*., 2018). ملاتونین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به سایر آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند آسکوربات‌ها و توکوفرول‌ها دارند که ممکن است به توانایی ملاتونین در انتقال مؤثر از طریق بخش‌های مختلف سلولی مربوط باشد (Varghese *et al*., 2019).

گزارش‌های متعددی توانایی سودمند کاربرد ملاتونین را برای کاهش تنش فلزات سنگین، تنش اشعه فرابنفش (UV)، تنش شوری، تنش خشکی و تنش دمای بالا و دمای پایین نشان داده‌اند (Oloumi, 2022). مطالعات اخیر در گونه‌های مختلف گیاهی نشان می‌دهد که کاربرد خارجی ملاتونین در گیاهان تحت تنش شوری منجر به افزایش سطح ملاتونین درون‌زا شده و در سطوح بالا هموستازی یونی را بهبود می‌بخشد و سبب تقویت بیوسنتز هورمون‌ها می‌گردد (Varghese *et al*., 2019). استفاده از ملاتونین در گیاه آهار (*Zinnia elegans*) جذب سدیم را کاهش داد و در مقابل جذب پتاسیم را در برگ‌ها بهبود بخشید. به‌طورکلی، این نتایج شواهدی را ارائه کرد که نشان می‌دهد ملاتونین اثرات تنش اکسیداتیو ناشی از نمک را در گیاه آهار بهبود بخشیده است (Zulfiqar *et al*., 2024). نتایج پژوهشی نشان داد تیمار ملاتونین با افزایش محتوای فنل‌ها و فلاونوئیدها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحمل گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) را در برابر تنش شوری افزایش داد. در این پژوهش رشد، عملکرد و پارامترهای فتوسنتزی نیز تحت‌تأثیر ملاتونین افزایش یافت. به‌طورکلی، می‌توان ملاتونین را به‌عنوان یک عامل بالقوه محافظتی در برابر تنش شوری در گیاه مریم‌گلی معرفی کرد (Sheikhalipour *et al*., 2024).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-02-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.347]

این پژوهش با هدف بررسی اثر پیش‌تیمار ملاتونین بر میزان فعالیت آنزیمی و تحمل به شوری همیشه‌بهار براساس ارزیابی صفات مورفوفیزیولوژیکی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۴۰۲ در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به صورت گلدانی در شرایط کنترل‌شده، به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. بذرهای همیشه‌بهار تهیه شد. از ابتدای سبزشدن و رشد اولیه، آبیاری گیاهان با آب معمولی انجام شد و بعد از رشد اولیه و ظهور برگ چهارم در گیاه، نشاءهای چهار برگی در بستر (کوکوپیت + پرلیت + خاک باغچه) به نسبت ۱:۱:۱ در گلدان کاشته شدند. گیاهان در طی آزمایش در گلخانه‌ای با میانگین دمای شب و روز به ترتیب ۲± ۱۷ و ۲± ۲۲ درجه سانتی‌گراد و با میانگین رطوبت ۶۵ تا ۷۵ درصد نگهداری شدند. بعد از سازگاری گیاهان (حدود دو هفته)، اولین تیمار ملاتونین در سه سطح (صفر، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار) به‌صورت محلول‌پاشی برگی انجام شد. تیمار با ملاتونین سه مرتبه به فاصله هر ۱۰ روز انجام شد (Xie *et al.*, 2022).

یک روز بعد از آخرین تیمار ملاتونین تنش شوری با کلرید سدیم در چهار سطح (صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار) به‌فاصله هر هفت روز به مدت ۳۵ روز اعمال شد (بیات و همکاران، ۱۳۹۸). آبیاری با آب شور به‌حدی انجام گردید که محلول نمک از پای بوته خارج شد تا مانع تجمع نمک در گلدان گردد. لازم به ذکر است که برای اطمینان از جلوگیری از انباشت نمک و شوری اضافی بستر گلدان، هدایت الکتریکی محلول خارج شده از گلدان هر هفته بررسی شد تا در صورت لزوم برای حفظ نمک بستر گلدان از آب غیرشور برای آبیاری استفاده شود.

پس از گذشت یک هفته از آخرین اعمال تنش غنچه، تعداد گل، ارتفاع ساقه گل‌دهنده، طول برگ، عرض برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی، کلروفیل کل، کاروتنوئید، فنل، فلاونوئید، پروتئین، فعالیت آنزیم کاتالاز و فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز اندازه‌گیری شدند.

برای اندازه‌گیری وزن تر و خشک اندام هوایی ابتدا بخش هوایی را کامل از سطح خاک بریده و به کمک ترازوی دیجیتال (AND مدل EK610I کمپانی ژاپن) با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد. بخش هوایی گیاه را در پاکت گذاشته و در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد آون به‌مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد تا کاملاً خشک شوند و سپس اقدام به توزین وزن خشک نموده شد. برای سنجش کلروفیل و کاروتنوئید پس از ساییدن برگ‌ها در استون، جذب نوری آن‌ها در طول‌موج‌های ۲۰۲، ۲۲۰ و ۰۲۲ نانومتر، خوانده شد و با استفاده از فرمول‌های پیشنهادی Lichtenthaler و Wellburn (۱۹۸۴) مقادیر رنگیزه‌ها تعیین شد. برای سنجش فنل کل از روش رنگ‌سنجی فولین سیوکالتو (Ordonez, 2006) با استفاده از گالیک اسید به‌عنوان استاندارد اندازه‌گیری و برای سنجش فلاونوئید از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم با استفاده از کوئرستین به‌عنوان استاندارد اندازه‌گیری شد (Krizek, 1998).

برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز کمپلکس واکنشی شامل ۱/۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۰/۵میلی‌لیتر از پراکسید هیدروژن ۷/۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی بود.حجم نمونه‌ها با اضافه‌کردن آب‌مقطر به ۳ میلی‌لیتر رسانده شد. با افزودن پراکسید هیدروژن واکنش آغاز و کاهش در جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت شد. فعالیت آنزیمی از محاسبه میزان پراکسید هیدروژن تجزیه‌شده توسط آنزیم محاسبه شد (Aebi, 1984).

برای سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز کمپلکس واکنشی (۲ میلی‌لیتر) شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷)،۲۵۰ میکرولیتر از EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، یک میلی‌لیتر گایاکول ۵ میلی‌مولار، یک میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج شده بود. واکنش با اضافه‌کردن محلول آنزیمی شروع شده و افزایش جذب در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر به‌مدت یک

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-02-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.347]

دقیقه ثبت شد. فعالیت آنزیمی براساس میزان تتراگایاکول تشکیل‌شده و با استفاده از ضریب خاموشی ۱/۳۳ $mmol^{1}.cm^{-1}$ بدست آمد (Tang and Newton, 2005). به‌منظور اندازه‌گیری پروتئین، عصاره آنزیمی (۰/۲ گرم بافت تازه گیاهی در ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار) تهیه و سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. فاز رویی برای اندازه‌گیری پروتئین محلول استفاده شد. به یک میلی‌لیتر از معرف بردفورد ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه و سپس جذب در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد (Bradford, 1976).

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SAS 9.4 و مقایسه میانگین صفات مورد ارزیابی با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

صفات مورفولوژیکی و زیست‌توده: بر طبق نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) برهمکنش شوری و ملاتونین تعداد گل، طول برگ، عرض برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی را در سطح احتمال یک درصد و ارتفاع ساقه گل را در سطح احتمال پنج درصد تحت‌تأثیر قرار داد. اثر ساده تیمار شوری و تیمار ملاتونین در سطح احتمال یک درصد بر تعداد غنچه گل اثر داشتند. بلندترین ارتفاع ساقه گل و طول برگ در تیمار ملاتونین ۱۵۰ میکرومولار بدون شوری ایجاد شد. کمترین ارتفاع ساقه گل و طول برگ به‌ترتیب در تیمار شوری ۹۰ و ۶۰ میلی‌مولار بدون تیمار ملاتونین بود. در گیاهان تیمارشده با غلظت ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین بدون شوری بیشترین عرض برگ ثبت شد و در عدم اعمال ملاتونین با شوری ۹۰ میلی‌مولار کمترین عرض برگ مشاهده شد (شکل ۳). بیشترین وزن تر و خشک گیاه مربوط به گیاهان تیمارشده با ملاتونین ۱۵۰ میلی-مولار بدون شوری بود. کمترین وزن تر و خشک گیاه در گیاهان تحت شوری ۹۰ میلی‌مولار بود که با ملاتونین تیمار نشده بودند (جدول ۲).

بیشترین تعداد غنچه گل در شوری صفر اتفاق افتاد و با افزایش شوری تا ۶۰ میلی‌مولار روند کاهشی مشاهده شد (شکل ۱). در گیاهان تیمارشده با ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین بیشترین تعداد غنچه ثبت شد.

ملاتونین گلدهی، رشد و نمو گیاهان، فتوسنتز و افزایش تحمل به تنش را در گیاهان تنظیم می‌کند (Mohamadi Esboei *et al*., 2022) شوری با ممانعت از رشد گیاه در تولید برگ جدید و توسعه یافته باعث کاهش زیست‌توده گیاه می‌شود. ملاتونین با عملکردی مشابه هورمون اکسین به عنوان تنظیم‌کننده رشد عمل کند و باعث تعدیل اثر تنش شوری می‌شود. در شرایط شور رشد، تقسیم و انبساط سلولی گیاه به‌دلیل کاهش جذب آب مختل می‌گردد (Smolen, 2020). کاهش ارتفاع بوته در شرایط شور می‌تواند به‌دلیل سمیت عنصر کلر باشد که از جذب نیترات که در رشد رویشی گیاهان مؤثر است جلوگیری می‌کند زیرا هر دو عنصر یونی به وسیله یک نوع حمل‌کننده از عرض غشا منتقل می‌شوند (محمدی ترکاشوند و شیرغانی، ۱۳۹۴). در پژوهش حاضر شوری باعث کاهش ارتفاع ساقه گل شد و ملاتونین نیز که یک نوع ایندول آمین است و پیش‌ساز یکسانی با ایندول-۳- استیک اسید دارد، رشد و نمو گیاه را تنظیم کرده (Li *et al*., 2017) و باعث افزایش ارتفاع ساقه گل در گیاه شد. در آزمایشی تنش شوری روی رز مینیاتوری (*Rosa chinensis*)، سبب کاهش ارتفاع بوته شد (شهبانی و همکاران، ۱۳۹۷).

در پژوهش حاضر تعداد غنچه و گل تحت‌تأثیر شوری کاهش یافته است. شواهد نشان می‌دهد با افزایش غلظت املاح فشار اسمزی محلول خاک زیاد شده در نتیجه مقداری از انرژی گیاه صرف جذب آب از خاک می‌شود بدین ترتیب این عمل باعث کاهش جذب آب، افزایش تنفس و کاهش عملکرد گیاه می‌گردد (Hawrylak–Nowak *et al*., 2019). در عین حال با کاربرد ملاتونین عملکرد افزایش یافت. براساس یافته‌های پژوهشی بیشترین تعداد گلچه در گل میمون در تیمار ۲۰۰ میکرومول بر لیتر ملاتونین مشاهده شد (Xiang *et al*., 2020).

با تنش شوری در نرگس شهلا (*Narsicuss tazetta* L.)

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-02-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.347]

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی همیشه‌بهار تحت تنش شوری

منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد غنچه	تعداد گل	ارتفاع ساقه گل	طول برگ	عرض برگ	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی
شوری (A)	۳	۸/۱۰**	۰/۷۶**	۴۹/۴۴**	۵۷/۰۶**	۳/۶۴**	۷۹۴/۵۹**	۸/۹۹**
ملاتونین (B)	۲	۱**	۰/۷۵**	۴/۷۸**	۲۰/۰۵**	۰/۷۳**	۴۳/۸۹**	۰/۸۱**
A×B	۶	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۲۶**	۲/۱۱*	۱/۳۱**	۰/۲۴**	۴/۶۴**	۰/۲۵**
خطا	۲۴	۰/۱۳	۰/۰۵	۰/۷۰	۰/۱۸	۰/۰۰۸۲	۰/۶۰	۰/۰۲
ضریب تغییرات (٪)		۱۷/۸۸	۱۸/۸۵	۲۰/۲۹	۳/۵۳	۲/۳۹	۳/۹۵	۸/۲۲

^{ns}، * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

جدول۲- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین بر بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی همیشه‌بهار تحت تنش شوری

شوری (میلی‌مولار)	ملاتونین (میکرومولار)	تعداد گل	ارتفاع ساقه گل (سانتی‌متر)	طول برگ (سانتی‌متر)	عرض برگ (سانتی‌متر)	وزن تر اندام هوایی (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)
	۰	۱/۶۶ ^{ab}	۵/۸۳ ^{bc}	۱۴ ^{c}	۴/۰۶^{c}	۲۸/۳۰ ^{c}	۲/۶۲ ^{c}
۰	۱۰۰	۲ ^{a}	۶/۷۵^{b}	۱۴/۷۶ ^{b}	۵/۰۱ ^{a}	۳۰/۲۰ ^{b}	۳/۰۹ ^{b}
	۱۵۰	۲ ^{a}	۹/۳۳ ^{a}	۱۵/۷۳ ^{a}	۴/۵۳ ^{b}	۳۳/۲۰ ^{a}	۳/۹۹ ^{a}
	۰	۱^{c}	۳/۹۱^{def}	۱۱/۳۶^{d}	۳/۸۰ ^{d}	۲۰/۲۰^{f}	۲/۰۱^{de}
۳۰	۱۰۰	۱^{c}	۴/۸۷ ^{cd}	۱۱/۶۶^{d}	۴ ^{c}	۲۴/۴۳^{e}	۲/۱۶ ^{d}
	۱۵۰	۱/۳۳^{bc}	۴/۵۰ ^{bcd}	۱۴ ^{c}	۴ ^{c}	۱۸/۰۳ ^{g}	۲/۲۶ ^{d}
	۰	۱^{c}	۲/۴۱^{g}	۷ ^{g}	۳/۶۶ ^{d}	۱۳/۹۳ ^{h}	۱/۵۸^{f}
۶۰	۱۰۰	۱^{c}	۲/۸۰^{fg}	۱۳/۳۳ ^{c}	۳/۷۰ ^{d}	۱۵^{h}	۱/۷۷ ^{ef}
	۱۵۰	۱^{c}	۳/۲۷^{efg}	۱۳/۳۳ ^{c}	۳/۷۳ ^{d}	۱۸/۰۳^{g}	۱/۸۵^{ef}
	۰	۱^{c}	۱/۹۱ ^{g}	۱۰/۵۰^{e}	۲/۵ ^{g}	۸/۵۶ ^{i}	۰/۷۴ ^{g}
۹۰	۱۰۰	۱^{c}	۲ ^{g}	۹/۰۶^{f}	۳ ^{f}	۸/۹۳ ^{i}	۰/۸۰ ^{g}
	۱۵۰	۱^{c}	۲/۰۲ ^{g}	۱۰/۱۰^{e}	۳/۵۰^{e}	۹/۲۶^{i}	۰/۹۳ ^{g}

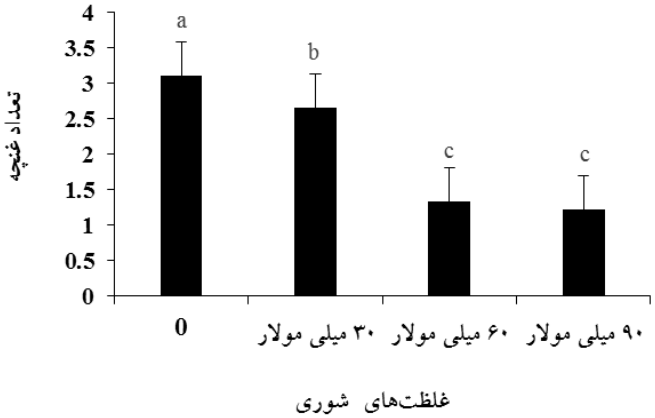
در هر ستون اعداد با حروف مشابه تفاوت معنی‌دار با یکدیگر در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

طول و عرض برگ نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت (ناصری‌مقدم و همکاران، ۱۳۹۹). ملاتونین به صورت محلول‌پاشی در سراسر غشای پلاسمایی گیاه نفوذپذیر است و غلظت ملاتونین درون زا را افزایش می‌دهد (Wei *et al.*, 2015). مشاهدات نشان داده است که ملاتونین تأثیر قابل توجه‌ای بر رشد و نمو گیاهان دارد (Chen *et al.*, 2017).

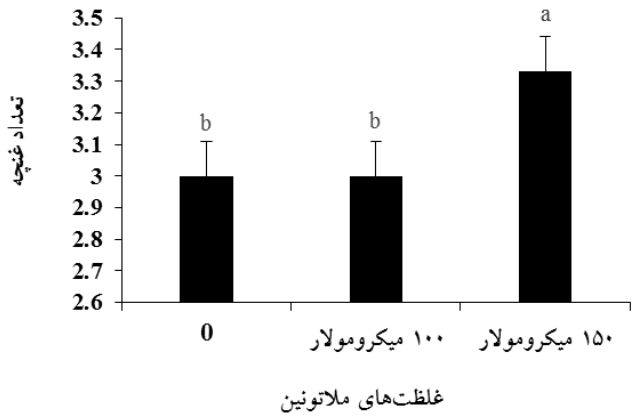
شوری باعث تنش اسمزی و کاهش جذب آب و آسیب به سیستم ریشه‌ای می‌گردد که این امر باعث کاهش وزن تر گیاه می‌شود. علاوه‌براین شوری موجب تجمع یون‌های سمی و کمبود عناصر غذایی شده که همین اثر منجر به ایجاد تغییراتی در متابولیسم گیاه و در نهایت باعث کاهش وزن خشک گیاه نیز می‌گردد (Yang and Guo 2018). یافته‌های ما نیز نشان داد تنش شوری باعث کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی همیشه‌بهار شد و تیمار ملاتونین اثر مثبتی بر زیست‌توده داشت. براساس یافته پژوهشگران ملاتونین در گیاهان مختلف باعث افزایش زیست‌توده شده است (Oloumi *et al.*, 2018).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-02-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.347]



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف شوری بر تعداد غنچه در همیشه‌بهار



شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین بر تعداد غنچه در همیشه‌بهار

شکل ۳- اثر تنش شوری و ملاتونین بر طول و عرض برگ در همیشه‌بهار. S غلظت نمک صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار، M غلظت ملاتونین صفر، ۱۰۰ و ۱۵۰

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-02-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.347]

ملاتونین از طریق افزایش عناصر معدنی از جمله منیزیم و بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی می‌تواند باعث حفظ کلروفیل و افزایش وزن خشک نیز گردد (Farouk and Al-Amri, 2019).

خصوصیات فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیمی: نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد برهمکنش تیمار شوری و ملاتونین صفات کاروتنوئید، فلاونوئید، آنزیم کاتالاز، آنزیم گایاکول پراکسیداز را در سطح احتمال یک درصد و میزان پروتئین را در سطح احتمال پنج درصد تحت‌تأثیر قرار داد. اثر ساده تیمار شوری و تیمار ملاتونین در سطح احتمال یک درصد بر مقدار کلروفیل کل اثر داشت.

طبق جدول مقایسه میانگین (جدول ۴) بیشترین میزان کاروتنوئید با ۱/۱۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در تیمار ملاتونین ۱۰۰ میکرومولار بدون شوری به‌دست آمد. بیشترین میزان فنل با ۱/۰۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک در گیاهان تیمارشده با ملاتونین ۱۰۰ میکرومولار تحت شوری ۶۰ میلی‌مولار ثبت شد. کمترین میزان فنل مربوط به شوری ۹۰ میلی‌مولار بدون تیمار ملاتونین بود(جدول ۴). محتوای فلاونوئید در ملاتونین ۱۰۰ میکرومولار تحت شوری ۳۰ میلی‌مولار در حداکثر بود. کمترین میزان فلاونوئید در گیاهان بدون تیمارشده با ملاتونین در شوری صفر ثبت شد (جدول ۴).

طبق جدول مقایسه میانگین (جدول ۴) میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با ۰/۹۴۰ واحد بر گرم وزن تر در گیاهان پیش‌تیمار شده با ملاتونین ۱۵۰ میکرومولار تحت شوری ۶۰ میلی‌مولار در حداکثر بود. کمترین فعالیت این آنزیم در ملاتونین صفر بدون شوری بود. فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در غلظت ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین در شوری ۳۰ میلی‌مولار در حداکثر بود. بیشترین میزان پروتئین با ۳۵/۶۳ در گیاهان تیمارشده با ملاتونین ۱۵۰ میکرومولار بدون اعمال تیمار شوری ثبت شد (جدول ۴).

بیشترین میزان کلروفیل در تیمار ملاتونین با غلظت ۱۵۰ میکرومولار و کمترین در تیمار شوری ۹۰ میلی‌مولار مشاهده شد (شکل‌های ۴ و ۵).

تنش شوری نه تنها مانع بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه می‌شود بلکه باعث ایجاد مقادیر زیادی رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) می‌گردد. بنابراین، تنظیم بیوسنتز ملاتونین برای کاهش آسیب ROS به گیاهان ضروری به نظر می‌رسد (Lin *et al*., 2018). گیاهان دارای سیستم‌های دفاع طبیعی مؤثری شامل سیستم‌های آنزیمی و غیرآنزیمی هستند. فنل‌ها، فلاونوئیدها، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی که تنش‌های ناشی از شوری را کاهش می‌دهند (Zulfiqar and Ashraf, 2020).

در پاسخ به تنش شوری، گیاهان یک سیستم آنزیمی آنتی‌اکسیدانی پیچیده، از جمله سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گایاکول پراکسیداز (POD)، کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون پراکسیدازها (GPX)، گلوتاتیون S-ترانسفراز (GST)، دهیدروآسکوربات ردوکتاز (GST) را تکامل دادند و سیستم غیرآنزیمی، از جمله اسید آسکوربیک، توکوفرول‌ها، گلوتاتیون (GSH)، کاروتنوئیدها و ترکیبات فنلی نیز برای حذف ROS ضروری است. درمان پیش‌تیمار ملاتونین به‌طور قابل‌توجهی ROS ناشی از شوری را کاهش داد. ملاتونین ممکن است توانایی افزایش هموستاز ردوکس سلولی را با تحریک کل سیستم آنتی‌اکسیدانی، شامل هر دو آنزیم آنتی‌اکسیدانی (مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، و مونودهیدروآسکوربات ردوکتاز) و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی داشته باشد و همچنین بالابردن پلی‌فنل، کاروتنوئید و آنتوسیانین، برای محافظت از گیاهان در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از استرس غیرزنده. با این وجود، مکانیسم‌های دقیق زیربنای این عمل تحریکی نامشخص است. هنوز مشخص نشده است که آیا اثر ملاتونین ناشی از تعامل مستقیم با آنزیم‌های موجود است یا این‌که شامل مکانیسم‌های انتقال سیگنال است که بیان ژن را تنظیم می‌کند و منجر به افزایش تولید آنزیم می‌شود (Khan *et al*., 2024).

در پژوهشی فنل کل در مقایسه با شاهد در گیاه مریم‌گلی با افزایش شوری افزایش یافت. تجمع ترکیبات فنلی در گیاهان تحت تنش راهکاری برای فعالیت رادیکال‌های اکسیژن فعال و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-02-02]
[DOI: DOI: 10.22034/13.62.347]

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین بر بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیمی همیشه‌بهار تحت تنش شوری

منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل کل	کاروتنوئید	فنل	فلاونوئید	کاتالاز	گایاکول پراکسیداز	پروتئین
شوری (A)	۳	۰/۱۵۳**	۰/۳۵**	۰/۲۹**	۰/۱۸**	۰/۰۰۰۶۰**	۰/۰۱۱۱**	۲۳۹/۱۰**
ملاتونین (B)	۲	۰/۰۱۹**	۰/۰۵**	۰/۱۴**	۰/۰۳**	۰/۰۰۰۷۳**	۰/۰۰۷۷**	۲۲/۴۶**
A×B	۶	۰/۰۰۱۶^{ns}	۰/۰۱**	۰/۰۷**	۰/۰۰۸**	۰/۰۰۰۱۵**	۰/۰۰۱۶**	۰/۵۲*
خطا	۲۴	۰/۰۰۱۳	۰/۰۰۲۳	۰/۰۱	۰/۰۰۱۱	۰/۰۰۰۰۲۳	۰/۰۰۰۰۱۵	۰/۲۴
ضریب تغییرات (٪)		۷/۱۹	۵/۹۹	۲۶/۸۲	۷	۷/۵۴	۴/۳۰	۱/۸۰

^{ns}، * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر ملاتونین بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیمی همیشه‌بهار تحت تنش شوری

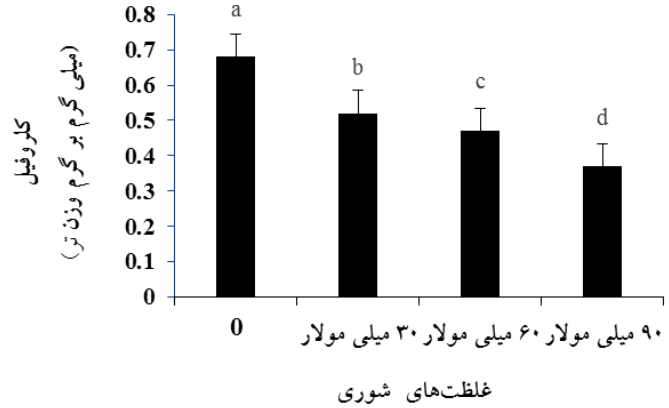
شوری (میلی‌مولار)	ملاتونین (میکرومولار)	کاروتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	فنل	فلاونوئید	کاتالاز	گایاکول پراکسیداز	پروتئین (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)
			(میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)		(واحد بر گرم وزن تر)		
۰	۰	۰/۹۲ ^{c}	۰/۳۲ ^{bcd}	۰/۴۵^{d}	۰/۰۵۱ ^{g}	۰/۰۳۹ ^{h}	۳۱/۸۶ ^{c}
	۱۰۰	۱/۱۸ ^{a}	۰/۳۴ ^{bcd}	۰/۵۱^{c}	۰/۰۵۷۸ ^{efg}	۰/۰۴۱ ^{h}	۳۳/۸۰ ^{b}
	۱۵۰	۱/۰۸ ^{b}	۰/۳۸ ^{bcd}	۰/۵۳^{c}	۰/۰۵۹ ^{efg}	۰/۰۴۰ ^{h}	۳۵/۶۳ ^{a}
۳۰	۰	۰/۸۱ ^{de}	۰/۴۱ ^{bc}	۰/۵۶^{c}	۰/۰۵۶ ^{fg}	۰/۰۸۱^{g}	۲۷/۴۷ ^{e}
	۱۰۰	۰/۸۳ ^{de}	۰/۴۲ ^{bc}	۰/۸۱ ^{a}	۰/۰۶۹ ^{bc}	۰/۱۱۳ ^{d}	۲۸/۲۸^{e}
	۱۵۰	۰/۸۷ ^{cd}	۰/۴۴ ^{bc}	۰/۶۳^{b}	۰/۰۶۷ ^{bc}	۰/۱۵۶ ^{a}	۲۹/۷۸ ^{d}
۶۰	۰	۰/۷۲ ^{gf}	۰/۴۵ ^{bc}	۰/۴۰ ^{de}	۰/۰۵۹ ^{efg}	۰/۰۹۳^{f}	۲۳/۶۸ ^{h}
	۱۰۰	۰/۷۶ ^{ef}	۱/۰۷ ^{a}	۰/۴۲ ^{de}	۰/۰۷۳ ^{b}	۰/۱۲۶^{c}	۲۴/۷۹^{g}
	۱۵۰	۰/۷۸ ^{ef}	۰/۵۱ ^{b}	۰/۴۳ ^{de}	۰/۰۹۴ ^{a}	۰/۱۴۰ ^{b}	۲۶/۵۷ ^{f}
۹۰	۰	۰/۴۷^{i}	۰/۲۰ ^{d}	۰/۲۹^{g}	۰/۰۵۹ ^{efg}	۰/۰۴۲ ^{h}	۲۰/۸۸ ^{j}
	۱۰۰	۰/۶۱^{h}	۰/۲۶ ^{cd}	۰/۳۳ ^{gf}	۰/۰۶۰ ^{def}	۰/۱۰۶^{e}	۲۱/۴۶ ^{j}
	۱۵۰	۰/۶۸ ^{gh}	۰/۳^{cd}	۰/۳۸ ^{ef}	۰/۰۶۵ ^{cde}	۰/۱۱۹ ^{d}	۲۲/۸۰ ^{i}

در هر ستون اعداد با حروف مشابه تفاوت معنی‌دار با یکدیگر در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

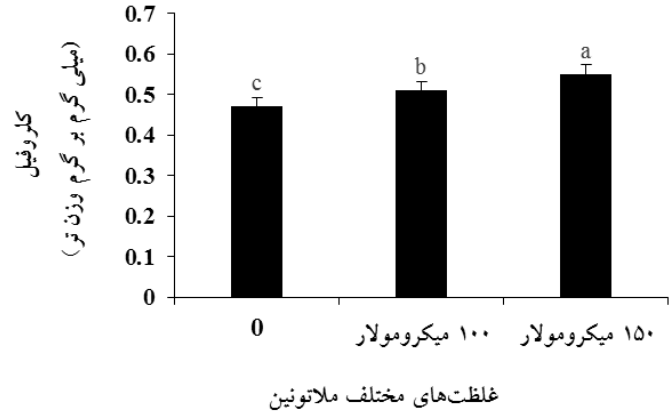
محافظت غشای سلول از صدمات تنش شوری است و تیمار با ملاتونین باعث حفظ ساختار سلول‌های گیاه و تنظیم بیان ژن‌های مسیر فنیل پروپانوئید می‌شود، (Castanares and Bouzo, 2019; Cheraghi *et al*., 2023; Grzeszczuk *et al*., 2018). پژوهشگران بیان داشتند کاربرد ملاتونین باعث افزایش میزان ترکیبات فنلی از جمله فلاونوئید در گیاه تحت تنش شوری می‌گردد (Wei *et al*., 2015). نتایج پژوهش Amooaghaie و همکاران (۲۰۲۱) نشان داد که با افزایش غلظت نمک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD و APX در گیاه زنیان (*Carum copticum* L.) افزایش یافت. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به حفظ ثبات و یکپارچگی غشای سلولی، کاهش آسیب غشای سلولی و بهبودی از تنش نمک

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-02-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.347]



شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف شوری بر میزان کلروفیل کل در همیشه‌بهار



شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین بر میزان کلروفیل کل در همیشه‌بهار

کمک می‌کند (Gao *et al*., 2019; Jiang *et al*., 2016; Li *et al*., 2017). یافته‌ها نشان می‌دهد کاربرد ملاتونین خارجی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله SOD در تنش شوری می‌گردد (Martinez *et al*., 2018). بنابراین استفاده از محرک زیستی ملاتونین در کاهش اثرات منفی شوری بر گیاه مVثر واقع می‌شود.

کلروفیل یک رنگدانه فتوسنتزی حیاتی است. رنگدانه‌های فتوسنتزی مواد اساسی در فتوسنتز گیاهان هستند و غلظت آن‌ها مستقیماً بر توانایی گیاه در جذب، انتقال و تبدیل انرژی نور در طول فرآیند فتوسنتز تأثیر می‌گذارد. تنش شوری از طریق دو مسیر اصلی؛ یعنی کاهش فعالیت کلروفیل سنتاز و مهار سنتز کلروفیل و با گسترش تجزیه کلروفیل از طریق آسیب ساختار غشایی ناشی از پراکسیداسیون پلاسما، کلروفیل را در گیاهان کاهش می‌دهد (Wang *et al*., 2016). کاهش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید در اثر تنش شوری احتمالاً به‌علت تخریب لامالای کلروپلاست و کاهش تعداد کلروپلاست است. در شرایط تنش شوری به‌علت اکسیداسیون نوری کلروفیل توسط گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش فعالیت کلروفیلاز محتوای کلروفیل کاهش می‌یابد (Sharma *et al*., 2019). تنش شوری کارایی رنگدانه‌های فتوسنتزی که در تبدیل انرژی نور به انرژی شیمیایی نقش دارند را کاهش می‌دهد و به‌دلیل انرژی نور اضافی باعث آسیب به اندام‌های فتوسنتزی می‌گردد. در نهایت، این مهار منجر به کاهش فتوسنتز در برگ‌ها می‌شود (Liang *et al*., 2019). از سوی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-02-02]
[DOI: DOI: 10.22034/13.62.347]

دیگر، ملاتونین می‌تواند سنتز رنگدانه را با بهبود ژن‌های شرکت‌کننده در مسیر بیوسنتز کاروتنوئیدها و کلروفیل‌ها تحریک کند. تغییرات رنگدانه‌های فتوسنتزی مستقیماً بر نرخ فتوسنتز در گیاهان تأثیر می‌گذارد (Yang *et al*., 2022). بنابراین شاید یکی از دلایل افزایش محتوای کلروفیل پس از کاربرد ملاتونین در شرایط تنش به‌دلیل اثر ملاتونین در حفاظت از دستگاه فتوسنتزی و ساختار کلروپلاست و یا از بین‌بردن گونه فعال اکسیژنی باشد. در پژوهشی تیمار ملاتونین بر روی گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*) تحت تنش شوری اثر معنی‌داری بر بهبود ارتفاع گیاه، طول برگ، رشد شاخه‌های جدید و مقدار کلروفیل داشت (کریمی و محمدی، ۱۳۹۸).

مطالعات متعددی تأثیر تنش‌های محیطی بر پروتئین‌های گیاهی را نشان داده است (Su *et al*., 2014). در مطالعه حاضر، تنش شوری باعث از دست‌دادن آب در گیاه شد و محتوای پروتئین کاهش یافت. این افزایش را می‌توان به پاسخ تنش و سازگاری گیاهان به تنش‌های غیرزیستی نسبت داد. مشاهده شده است که ملاتونین بیوسنتز پروتئین را القا می‌کند و از تخریب آن جلوگیری می‌کند. بنابراین، تعادل سلولی و فعالیت‌های فیزیولوژیکی را حفظ می‌نماید (Chen *et al*., 2017). در مطالعات اخیر مشخص شد که ملاتونین محتوای پروتئین محلول را افزایش می‌دهد. افزایش محتوای پروتئین محلول می‌تواند به این دلیل باشد که ملاتونین توانسته به‌عنوان یک جاذب گونه‌های اکسیژن فعال برای کاهش ROS داخل سلولی و مهار تخریب پروتئین یا افزایش سنتز پروتئین‌های جدید تحت تنش نمک عمل کند (Gao *et al*., 2019). در پژوهشی تیمار گیاهچه‌های جعفری آفریقایی با ملاتونین باعث افزایش پروتئین در شرایط تنش شوری شد (Zare zeinali *et al*., 2020).

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد، تنش شوری باعث کاهش صفات رشدی و زایشی گیاه همیشه‌بهار شد. کاربرد ملاتونین توانست مقاومت گیاه در برابر تنش شوری را افزایش دهد. افزایش تعداد گل، طول و عرض برگ، زیست‌توده کلروفیل و کارتنوئید در گیاهان تیمارشده با ملاتونین مشاهده شد. افزایش فعالیت آنزیمی در گیاهان تیمارشده با ملاتونین که تحت شوری بودند افزایش بیشتری نشان داد. کاربرد ملاتونین در شوری ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار در مقایسه با شوری ۹۰ میلی‌مولار بهتر عمل کرد و تواست صفات رشدی و فیزیولوژیکی را بهبود دهد. گیاهان در شوری ۹۰ میلی مولار حتی تحت تیمار ملاتونین مقاومت کمتری نشان دادند. بنابراین براساس نتایج به‌دست آمده استفاده از ملاتونین ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار در شرایط شوری ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار قابل توصیه است.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در انجام این طرح پژوهشی (با کد ۲۰- ۱۴۰۲-۰۱) کمال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

بیات، حسن، ناصری مقدم، علی، امینی فرد، محمد حسین، و مرادی‌نژاد، فرید (۱۳۹۸). تأثیر تنش‌های خشکی و شوری بر رشد، گلدهی و برخی از ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه نرگس (*Narsicuss tazetta* L.). *نشریه علوم باغبانی*، ۳۳(۳)، ۴۵۱-۴۶۶.

شهبانی، زهرا، خوشخوی، مرتضی، صالحی، حسن، کافی، محسن، کامگار حقیقی، علی اکبر، و عشقی، سعید (۱۳۹۷). اثرهای تنش شوری بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیک ورد مینیاتوری (*Rosa chinensis*). *علوم و فنون باغبانی ایران*، ۱۹(۱)، ۴۱-۵۲.

کریمی، مهناز، و محمدی، معصومه (۱۳۹۸). تأثیر ملاتونین برونزا بر رشد، نشت الکترولیت و فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی در رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.). تحت تنش شوری. *فرآیند و عملکرد گیاهان*، ۹(۳۷)، ۵۹-۶۶.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-02-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.347]

محمدی ترکاشوند، علی، و شیرغانی، فروغ (۱۳۹۴). اثر تعدیل شوری آب آبیاری بر رشد و عمر پس از برداشت گل ژربرا از طریق محلول‌پاشی کلرید کلسیم و سیلیکات پتاسیم. *علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای*، *۶*(۲۳)، ۱۴۹-۱۳۵.

ناصری‌مقدم، علی، بیات، حسن، امینی‌فرد، محمد حسین، و مرادی‌نژاد، فرید (۱۳۹۹). تأثیر تنش‌های خشکی و شوری بر برخی از خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گل نرگس (*Narsicuss tazetta* L.). *علوم باغبانی ایران*، *۵۱*(۱)، ۷۹-۹۰.

Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods Enzyme*, *105*, 121-126.

Amooaghaie, R., majidi, M., & Farhadian, S. (2021). Impact of nano-TiO_2 on salt stress tolerance of *Carum copticum*. *Journal of Plant Process and Function*, *11*(48), 19-33.

Arnao, M. B. & Hernandez-Ruiz, J. (2015). Functions of melatonin in plants: a review. *Journal of pineal research*, *59*(2), 133-150.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantites of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annals of Biochemistry*, *72*, 248-254.

Castanares, J. L. & Bouzo, C. A. (2019). Effect of exogenous melatonin on seed germination and seedling growth in melon (*Cucumis melo* L.) under salt stress. *Horticultural Plant Journal*, *5*(2), 79-87.

Chen, L., Fan, J., Hu, Z., Huang, X., Amombo, E., Liu, A., Bi, A., Chen, K., Xie, Y., & Fu, J. (2017). Melatonin is involved in regulation of bermudagrass growth and development and response to low K^+ stress. *Frontiers in Plant Science*, *8*, 2038.

Cheraghi, M., Hatamnia, A. A., & Ghanbari, F. (2023). The effect of melatonin on some physiological and morphological characteristics of *Coriandrum sativum* L. and *Anethum graveolens* L. under salt stress. *Journal of Horticultural Science*, *37*(2), 561-575.

Demiral, M. A. (2017). Effect of salt stress on concentration of nitrogen and phosphorus in root and leaf of strawberry plant. *Eurasian Journal of Soil Science*, *6*(4), 357-364.

Faisal, Z. & Ashraf, M. (2020). Nanoparticles potentially mediate salt stress tolerance in plants, *Plant Physiology and Biochemistry*, *16*, 257-268.

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

Gao, W., Feng, Z., Bai, Q., He, J., & Wang, Y. (2019). Melatonin-mediated regulation of growth and antioxidant capacity in salt-tolerant naked oat under salt stress. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(5), 1176.

Ghanim, S. H., Hosni, A., M., Abdul Hamid, A. N., EL-Shamy, M. A., & Sabry, R. M. (2024). Growth and essential oil quantity of pot marigold *Calendula officinalis* in response to foliar application of moringa extract and pink-pigmented facultative methylotrophic bacteria methyl bacterium populi, *Journal of Environmental Science*, *53*(1), 246-264.

Grieve, C. M. (2011). Irrigation of floricultural and nursery crops with saline wastewaters. *Israel Journal of Plant Sciences*, *59*(2-4): 187-196.

Grzeszczuk, M., Salachna, P., & Meller, E. (2018). Changes in photosynthetic pigments, total phenolic content, and antioxidant activity of *Salvia coccinea* Buc'hoz Ex Etl. induced by exogenous salicylic acid and soil salinity. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(6), 1296.

Hawrylak-Nowak, B., Rubinowska, K., Molas, J., Woch, W., Matraszek-Gawron, R., & Szczurowska, A. (2019). Selenium -induced improvements in the ornamental value and salt stress resistance of *Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br. *Folia Horticultureae*, *31*, 213-221.

Jiang, C., Cui, Q., Feng, K., Xu, D., Li, C., & Zheng, Q. (2016). Melatonin improves antioxidant capacity and ion homeostasis and enhances salt tolerance in maize seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, *38*, 1-9.

Khan, Z., Jan, R., Asif, S., Farooq, M., Jang, Y. H., Kim, E. G., Kim, N., & Kim, K. M. (2024). Exogenous melatonin induces salt and drought stress tolerance in rice by promoting plant growth and defense system. *Scientific Reports*, *14*(1), 1214.

Krizek, D. T., Britz, S. J., & Mirecki, R. M. (1998). Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New Red Fire lettuce. *Physiologia Plantarum*, *103*, 1-7.

Li, H., Chang, J., Chen, H., Wang, Z., Gu, X., Wei, C., Zhang, Y., Ma, J., Yang, J., & Zhang, X. (2017). Exogenous melatonin confers salt stress tolerance to watermelon by improving photosynthesis and redox homeostasis. *Frontiers in Plant Science*, *8*, 295.

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.

Lin, J., Li, J., Yuan, F., Yang, Z., Wang, B., & Chen, M. (2018). Transcriptome profiling of genes involved in photosynthesis in *Elaeagnus angustifolia* L. under salt stress. *Photosynthetica*, *56*(4), 998-1009.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-02-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.347]

Martinez, V., Nieves-Cordones, M., Lopez-Delacalle, M., Rodenas, R., Mestre, T. C., Garcia-Sanchez, F., Rubio, F., Nortes, P. A., Mittler, R., & Rivero, R. M. (2018). Tolerance to stress combination in tomato plants: new insights in the protective role of melatonin. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(3), 535.

Mohamadi Esboei, M., Ebrahimi, A., Amerian, M. R., & Alipour, H. (2022). Melatonin confers fenugreek tolerance to salinity stress by stimulating the biosynthesis processes of enzymatic, non-enzymatic antioxidants, and diosgenin content. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 890613.

Oloumi, H. (2022). Melatonin; growth regulator and strong antioxidant in plants. *Journal of Plant Process and Function*, *11*(5), 37-54.

Oloumi, H., Nasibi, H., & Mozaffari, H. (2018). Investigation of the growth rate and secondary metabolites content of *Lepidium sativum* under exogenous melatonin treatment. *Journal of Nova Biological Reperta*, *5*(2), 144-154. (In Persian with English abstract).

Ordonez, K., Fujikawa, K., Yahara, K., & Nakamura, T. (2006). Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *40*, 945-948.

Paraskevopoulou, A. T., Kontodaimon Karantzi, A., Liakopoulos, G., Londra, P. A., & Bertsouklis, K. (2020). The effect of salinity on the growth of lavender species. *Water*, *12*(3), 618.

Plaza, B., Jimenez-Becker, S., Garcia-Caparros, P., Del, M., Verdejo, M., Chaves, L., & Lao, M. (2015). Influence of salinity on vegetative growth of six native Mediterranean species. *II International Symposium on Horticulture in Europe* 109.

Shahane, K., Kshirsagar, M., Tambe, S., Jain, D., Rout, S., Ferreira, M. K. M., Mali, S., Amin, P., Srivastav, P. P., Cruz, J., & Lima, R. R. (2023). An updated review on the multifaceted therapeutic potential of *Calendula officinalis* L. *Pharmaceuticals* (Basel), *16*(4).

Sharma, A., Kumar, V., Shahzad, B., Ramakrishnan, M., Sidhu, G. P. S., Bali, A. S., & Zheng, B. (2019). Photosynthetic response of plants under different abiotic stresses: A review. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-23.

Sheikhalipour, M., Kulak, M., Mohammadi, S. A., Esmaielpour, B., Nouraein, M., Zeki Kocak, M., Farajzadeh, S. M., Gohari, Gh., Fotopoulos, V., & Vita, F. (2024). Foliar application of either melatonin or sodium nitpoprusside regulates the antioxidant status, and the morpho-physiological attributes and essential oil production in sage (*Salvia officinalis* L.) under salinity stress. *Scientia Horticulturae*, *323*, 112526.

Smolen, S., Lukasiewicz, A., Klimek-Chodacka, M., & Baranski, R. (2020). Effect of soil salinity and foliar application of jasmonic acid on mineral balance of carrot plants tolerant and sensitive to salt stress. *Agronomy*, *10*(5), 659.

Su, X., Wu, S., Yang, L., Xue, R., Li, H., Wang, Y., et al. (2014). Exogenous progesterone alleviates heat and high light stress-induced inactivation of photosystem II in wheat by enhancing antioxidant defense and D1 proteinein stability. *Plant Growth Regulation*, *74*, 311-318.

Szopa, A., Klimek-Szczykutowicz, M., Jafernik, K., Koc, K., & Ekiert, H. (2020). Pot marigold (*Calendula officinalis* L.) a position in classical phytotherapy and newly documented activities. *Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus*, *19*(3), 47-61.

Tang, W. & Newton, R. J. (2005). Peroxidase and catalase activities are involved in direct adventitious shoot formation induced by thidiazuron in eastern white pine (*Pinus strobus* L.) zygotic embryos. *Plant Physiology and Biochemistry*, *43*(8), 760-769.

Varghese, N., Alyammahi, O., Nasreddine, S., Alhassani, A., & Gururani, M. A. (2019). Melatonin positively influences the photosynthetic machinery and antioxidant system of *Avena sativa* during salinity stress. *Plants*, *8*(12), 610.

Wang, L., Liu, J., Wang, W., & Sun, Y. (2016). Exogenous melatonin improves growth and photosynthetic capacity of cucumber under salinity-induced stress. *Photosynthetic*, *54*, 19-27.

Wei, W., Li, Q. T., Chu, Y. N., Reiter, R. J., Yu, X. M., Zhu, D. H., Zhang, W. K., Ma, B., Lin, Q., & Zhang, J. S. (2015). Melatonin enhances plant growth and abiotic stress tolerance in soybean plants. *Journal of Experimental Botany*, *66*(3), 695-707.

Wellburn, A. R. & Lichtenthaler, H. (1984). Formulae and program to determine total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. In: Advances in Photosynthesis Research (ed. Sybesma, C.) Pp. 591-592. Biochemical Society Transactions.

Xiang, D., Nguyen, Ch., Felter Liz Clark, D., & Huo, H. (2020). The effects of preharvest LED light, melatonin and AVG treatments on the quality of postharvest snapdragon and vase life. *Journal of Floriculture and Landscaping*, *6*, 14-19.

Xie, X., Han, Y., Yuan X, Zhang, M., Li, P., & Ding, A. (2022). Transcriptome analysis reveals that exogenous melatonin confers *Lilium disease* resistance to botrytis elliptica. *Frontiers in Genetics*, *2022*(13), 892674.

Yang, X., Han, Y., Hao, J., Qin, X., Liu, C., & Fan, S. (2022). Exogenous spermidine enhances the photosynthesis and ultrastructure of lettuce seedlings under high-temperature stress. *Scientia Horticulture*, *291*, 110570.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-02-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.347]

Yang, Y. & Guo, Y. (2018). Elucidating the molecular mechanisms mediating plant salt -stress responses. *New Phytologist*, *217*, 523-539.

Zare zeinali, M., Nasibi, F., Manuchehri Kalantari, K., & Ahmadi Mousavi, E. (2020). Effect of melatonin premedication on some physiological parameters and reduction of oxidative stress in *Tagetes etecta* seedlings under salt stress. *Journal of Plant Process and Function*, *9*(35), 115-125. (In Persian with English abstract).

Zulfiqar, F., Moosa, A., Ferrante, A. A., Darras, A., Ahmed, T., Jalil, S., Al-Ashkar, I., & El Sabagh, A. (2024). Melatonin seed priming improves growth and physio-biochemical aspects of *Zinnia elegans* under salt stress, *Scientia Horticulturae*, *323*, 112495.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-02-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.347]

Effect of melatonin on enzyme activity and salinity tolerance of calendula (*Calendula officinalis* L.) based on the evaluation of morphophysiological characteristics

Mahnaz Karimi*, Fateme Ghorbanalizade and Manijhe Eslami

Department of Horticultural Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

(Received: 2024/04/24, Accepted: 2024/06/16)

Abstract

Salinity stress is one of the most important limiting factors for plant growth. The marigold plant has many uses in green space design. Melatonin is a natural antioxidant that moderates the negative effects of salinity stress in plants. The present study was conducted in order to investigate the effect of melatonin pretreatment on enzyme activity and morphophysiological characteristics of marigold under saline water irrigation conditions. This research was done in factorial form in a completely randomized design with three replications. The treatments included melatonin at three levels (zero, 100 and 150 µM) and saline with sodium chloride salt at four levels (zero, 30, 60 and 90 mM). According to the obtained results, the activity of catalase and guaiacol peroxidase in plants pretreated with 150 µM melatonin under 60 mM salinity (0.094 g/fresh weight) and 150 µM melatonin in 30 mM salinity (0.157 g/fresh weight) was at its maximum. The highest amount of protein (35.36 mg/fresh weight) was recorded in plants treated with 150 µM melatonin without salt treatment. The increase in catalase enzyme, guaiacol peroxidase and protein compared to the control was 84.31, 300 and 11.83%, respectively. The number of flowers in 100 and 150 micromolar melatonin treatments without stress was the highest (2 number). The increase in the number of flowers, plant height, fresh weight, and dry weight of aerial parts compared to the control was 20.48, 60.03, 17.3 and 52.29%, respectively. The highest amount of chlorophyll and carotenoid was obtained in melatonin treatment with 150 and 100 µM concentrations. The highest amount of phenol was recorded in plants treated with 100 µM melatonin under 60 mM salinity. The flavonoid content in 100 µM melatonin under 30 mM salinity was the maximum.

Keywords: Environmental stress, Catalase, Chlorophyll, Flowering, Ornamental Plant

Corresponding author, Email: karimi@sanru.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-02-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.62.347]