



به‌زرعی کشاورزی

دوره ۲۳ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۴۰۰

صفحه‌های ۹۰۶-۸۸۳

DOI: 10.22059/jci.2021.315815.2490

مقاله پژوهشی:

بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پاسخ‌های بیوشیمیایی گیاه گلرنگ تحت تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین در شرایط تنش خشکی

- سیاوش حشمتی^{۱*}، غلامعباس اکبری^۲، الیاس سلطانی^۳، مجید امینی‌دهقی^۳، کیوان فتحی امیرخیز^۴، کیوان ملکی^۵
۱. دانش‌آموخته دکتری، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشکده‌گان ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران.
 ۲. دانشیار، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشکده‌گان ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران.
 ۳. دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه شاهد، تهران، ایران.
 ۴. دانشجوی دکتری زراعت، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه شاهد، تهران، ایران.
 ۵. دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد زراعت، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشکده‌گان ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران.
- تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۱۰/۰۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۱۰/۲۹

چکیده

به منظور بررسی تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین بر گیاهان گلرنگ رشد یافته از بذور با کیفیت مختلف گلرنگ در شرایط تنش خشکی، دو آزمایش مزرعه‌ای طی سال‌های زراعی ۹۶-۱۳۹۵ و ۹۷-۱۳۹۶ در مزرعه پژوهشی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران انجام گرفت. طرح آزمایشی به صورت اسپلیت-فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام گرفت. عامل اصلی شامل دو سطح تنش خشکی ۱- بدون تنش و ۲- تنش (به ترتیب آبیاری پس از ۵۰ و ۸۵ درصد تخلیه رطوبت از ظرفیت زراعی خاک در مرحله گلدهی) بود که در کرت‌های اصلی قرار گرفتند. کرت‌های فرعی، شامل چهار تیمار بودند که عبارت بودند از کیفیت بذر (بذور انبارشده و بذور تازه برداشت‌شده) و محلول‌پاشی (۱- شاهد و ۲- محلول‌پاشی ملاتونین). نتایج این آزمایش نشان داد محلول‌پاشی ملاتونین عملکرد دانه در بذور انبارشده را به مقدار ۵۸۹ کیلوگرم در هکتار نسبت به تیمار محلول‌پاشی با آب (شاهد) افزایش داد. نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز در گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت‌شده در پاسخ به محلول‌پاشی ملاتونین در شرایط تنش خشکی افزایش یافت. هم‌چنین مشخص شد که در گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت‌شده، محلول‌پاشی با ملاتونین، میزان پروتئین‌های محلول برگ را تا ۲۸ درصد کاهش داد. نتایج مشخص کرد که در گیاهان حاصل از بذور انبارشده، محلول‌پاشی ملاتونین، میزان مالون‌دی‌آلدهید را در شرایط تنش خشکی، به میزان ۳۷ درصد کاهش داد. به نظر می‌رسد کیفیت بذر مورد استفاده در ویژگی‌های گیاهان حاصل از آن بذرها تأثیر داشته باشد و هم‌چنین استفاده از ملاتونین در شرایط تنش خشکی، ممکن است نقش قابل توجهی در کاهش شدت آسیب حاصل از تنش روی گلرنگ داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: پرولین، دانه روغنی، عملکرد دانه، کاتالاز، مالون‌دی‌آلدهید.

Study the Antioxidant Enzymes' Activity and Biochemical Responses of Safflower as Affected by Foliar Application of Melatonin under Drought Condition

Siavash Heshmati^{1*}, Gholam Abbas Akbari², Elias Soltani³, Majid Amini Dehaghi³, Kayvan Fathi Amirkhiz⁴ and Keyvan Maleki⁵

1. Former Ph.D. Student, Department of Agronomy and Plant Breeding Sciences, Aburairhan Campus, University of Tehran, Pakdasht, Iran.

2. Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding Sciences, Aburairhan Campus, University of Tehran, Pakdasht, Iran.

3. Ph.D. Candidate of Agronomy, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, Shahed University, Tehran, Iran.

4. Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, Shahed University, Tehran, Iran.

5. Former M.Sc. Student of Agronomy, Department of Agronomy and Plant Breeding Sciences, Aburairhan Campus, University of Tehran, Pakdasht, Iran.

Received: December 7, 2020

Accepted: January 18, 2021

Abstract

In order to study the foliar application of melatonin on plants grown from safflower in different seed qualities under drought condition, two field experiments have been carried out at research farm of Aburairhan Campus, University of Tehran, between 2017 and 2018 growing seasons. The experimental design is split-factorial in a randomized complete block design with four replicates, with the treatments being consisted of two levels of drought stress (1- normal irrigation (no-stress) and 2- irrigation after reaching 85% of soil moisture depletion of field capacity at flowering stage (drought stress)), in the main plots. The subplots include 4 treatments, including a factorial combination of seed quality (stored seed and recently harvested seeds) and foliar application (the control and melatonin foliar application). Results from these experiments illustrate that melatonin foliar application has significantly increased the seed yield of stored seed by 589Kg.ha-1, compared to the control. It is also shown that SOD and CAT activities have been increased in response to melatonin in plants grown from recently-harvested seeds under drought condition. Furthermore, it is indicated that foliar application of melatonin decrease the amount of leaf soluble proteins by 28% in plants grown from recently-harvested seeds under drought conditions. According to the results, the amount of malondialdehyde is decreased by 37% in plants grown from recently-harvested seeds by foliar application of melatonin under drought conditions. It seems that seed quality has an enormous influence on grown plants and that using melatonin may play a substantial role in ameliorating the injuries derived from stress on safflower plant.

Keywords: Catalase, malondialdehyde, oilseeds, proline, seed yield.

۱. مقدمه

ROSها ممکن است فراتر از ظرفیت پاک‌سازی سیستم آنتی‌اکسیدانی آن شود و در نتیجه ROSها می‌توانند تجمع یابند و موجب پراکسیداسیون لیپیدها شوند که می‌توان به‌وسیله اندازه‌گیری محتوای مالون‌دی‌آلدهید ارزیابی شوند (Jumrani & Bhatia, 2019).

اجزای عملکرد و روغن گلرنگ ممکن است تحت تأثیر عوامل زیادی مانند ژنوتیپ، اکولوژی، مورفولوژی، فیزیولوژی و کوددهی قرار گیرند (Coşge et al., 2007). خشکی خاک یا اتمسفر یک مشکل زراعی جدی در بسیاری از بخش‌های جهان به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک است (Flexas et al., 2004). اثر خشکی بر گیاهان به‌شدت خشکی و مدت آن، وضعیت متابولیسمی گیاهان، دیگر عوامل محیطی از قبیل شوری و گرما و تنش‌های گرما گونه‌های گیاهی، مرحله نموی گیاه حتی ارقام مختلف یک گونه بستگی دارد (Demirevska et al., 2009). عملکرد نهایی نتیجه مجموعه‌ای از اثرات متقابل بین عوامل فیزیولوژیک است (Farooq et al., 2009). در شرایط تنش کاهش عملکرد دانه در گیاهان می‌تواند به‌علت کاهش در آسمیلاسیون کربوهیدرات‌ها و فعالیت آنزیم‌های سنتتیک باشد.

گلرنگ تحمل متوسط به تنش آب دارد زیرا یک گیاه با ریشه عمیق است و می‌تواند تنش‌های محیطی از قبیل تنش آب را تحمل کند (Ebrahimian et al., 2019). شدت آسیب ایجادشده به‌وسیله تنش آب به زمان، مدت و شدت کمبودها بستگی دارد (Soheili-Movahhed et al., 2019). هنگامی که محدودیت آبی در طی مرحله زایشی به‌ویژه گرده‌افشانی رخ دهد، عقیمی گل‌ها و پوک‌شدن دانه‌ها به‌طور قابل‌توجهی افزایش می‌یابد (Selote and Khanna-Chopra, 2004). مرحله گلدهی حساس‌ترین مرحله به کمبود آب است. خشکی در طی این دوره موجب کاهش در تعداد گلچه در هر غوزه در

رشد گیاهان در سراسر دنیا با افزایش تنش آبی ناشی از تغییرات اقلیمی تغییر پیدا کرده است (Gray & Brady, 2016). تنش خشکی ممکن است به‌وسیله تخریب کارکردهای فیزیولوژیکی و متابولیسمی گیاه تأثیر قابل‌توجهی روی گیاهان زراعی داشته باشد (Bodner et al., 2015). تقریباً تمامی تنش‌های غیرزنده و زنده، پاسخ‌های کلی به تنش را ایجاد می‌کنند که در نهایت تنش اکسیداتیو نامیده می‌شود. تنش اکسیداتیو می‌تواند از طریق آسیب به اجزای سلولی موجب عدم کارکرد مناسب آن‌ها آن‌ها شود (Demidchik, 2015). این فرایندها با تولید بیش از حد و تجمع مولکول‌های اکسیژن فعال^۱ آغاز می‌شود. تعادل بین تولید و سمیت‌زدایی ROSها به‌وسیله آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی حفظ می‌شود (Mittler et al., 2004).

اجزای آنزیمی دفاع آنتی‌اکسیدانی شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان است که موجب تجزیه ROSها می‌شوند (Mittler et al., 2004). هم‌چنین یک مکانیسم سلولی حیاتی که به‌وسیله آن گیاهان با تنش اسمزی مقابله می‌کنند، عبارت است از تنظیم اسمزی داخلی است که به‌وسیله تجمع‌دادن اسمولیت‌های سازگار متعدد در سلول‌های خود برای جلوگیری از اتلاف آب می‌باشد (Reddy et al., 2015). بررسی‌های مختلف نشان داده‌اند که تنظیم اسمزی در گیاهان در طی تنش خشکی از طریق تجمع ترکیبات فعال اسمزی یا محافظت‌کننده‌های اسمزی رخ می‌دهد (Ranganayakulu et al., 2013; Filippou et al., 2014). یکی از مهم‌ترین ترکیبات اسمزی، پرولین است که نقش چشم‌گیری نیز در پاک‌سازی ROSها و حفظ ساختار پروتئین‌ها و غشاها دارد (Ahanger et al., 2014). در شرایط تنش‌های شدید در گیاهان، تولید

1. Reactive oxygen species

مختلف به‌کار گرفته می‌شوند. گیاهان بعد از تیمار شدن با ترکیبات متعدد طبیعی یا مصنوعی مختلف مقاومت به تنش‌های غیرزنده را کسب می‌کنند (Demir *et al.*, 2012). یکی از ترکیباتی که می‌تواند به این منظور استفاده شود، یکی از مشتقات اسید آمینه تریپتوفان به نام ملاتونین است.

ملاتونین^۲ به‌عنوان یک پاک‌کننده مؤثر رادیکال‌های آزاد در برابر مولکول‌های واکنشی خطرناک، از جمله گونه‌های اکسیژن واکنشی فعالیت می‌کند (Arnao & Hernandez-Ruiz, 2015; Reiter *et al.*, 2014). به تازگی نشان داده شده است که ملاتونین با تنش خشکی مرتبط است، به طوری که هم کاربرد خارجی ملاتونین و هم تولید داخلی ملاتونین، می‌تواند مقاومت به تنش خشکی را در گیاهان افزایش دهد (Gao *et al.*, 2018; Liang *et al.*, 2019). یکی از جنبه‌هایی که در پژوهش‌های مرتبط با ملاتونین بسیار مورد توجه قرار گرفته، نقش ملاتونین به‌عنوان عامل محافظت در برابر تنش‌های غیرزنده در گیاهان است (Arnao & Hernandez-Ruiz, 2019).

هم‌چنین در کنار تمام تلاش‌ها جهت افزایش تحمل گیاهان زراعی به تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش خشکی، یکی از راه‌کارهای مهم، استفاده از گیاهان بومی و مقاوم به شرایط سخت منطقه مورد کشت می‌باشد. یکی از گیاهان بومی ایران و بسیار مقاوم به شرایط سخت محیطی از جمله خشکی، گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) می‌باشد، که مشخص شده است که توانایی زیادی برای تطابق با شرایط محیطی مختلف را دارا می‌باشد (Zaoui *et al.*, 2016).

هدف مطالعه حاضر، بررسی تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پاسخ‌های بیوشیمیایی گیاه گلرنگ با کیفیت‌های مختلف بذر در شرایط تنش خشکی می‌باشد.

زمان رسیدگی می‌شود، در نتیجه ظرفیت دانه‌ها را کاهش می‌دهد و دوره رشد را کوتاه کرده و منجر به عملکرد دانه کم‌تر می‌شود (Movahhedy-Dehnavy *et al.*, 2009). گزارش شده است که تنش آب در طی دوره گلدهی و پرشدن دانه بسیار اثر نامطلوب بر گلرنگ بهاره دارد (Yau, 2007; Koutroubas *et al.*, 2009).

گزارش‌های مشابهی در این زمینه وجود دارد که بیان می‌کنند عملکرد گلرنگ به‌طور معنی‌داری تحت شرایط تنش خشکی کاهش یافته است (Movahhedy-Dehnavy *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2017).

برای سال‌ها، صفات زراعی از قبیل عملکرد دانه و اجزای برای ارزیابی تحمل به خشکی و تعیین ژنوتیپ‌های برتر تحت تنش خشکی عملکرد استفاده می‌شد (Sinclair, 2011). صفات زراعی به‌تنهایی قادر نیستند تا تصویر درستی از سطوح مختلف تحمل و یا حساسیت به تنش را در بین ژنوتیپ‌ها و گونه‌های زراعی مختلف نشان دهند (Riasat *et al.*, 2019). بنابراین با در نظر گرفتن تحمل به خشکی در سطح بیوشیمیایی می‌توان اطلاعات دقیق‌تری در مورد ویژگی‌های بنیادی تحمل به خشکی در گیاهان فراهم شود (Passioura, 2012).

استفاده از ترکیبات شیمیایی و نیز محرک‌های زیستی^۱ به‌عنوان عوامل پرایمینگ مشخص شده است که به‌طور چشم‌گیری در گونه‌های گیاهی زراعی و غیرزراعی مختلف، تحمل در برابر تنش‌های غیرزنده مختلف که به گیاه وارد می‌شوند را بهبود می‌دهند (Savvides *et al.*, 2016). پرایمینگ گیاهان با استفاده از عوامل شیمیایی، تحمل گیاه به تنش‌های غیرزنده مختلف را افزایش داده و هومئوستازی سلولی و رشد گیاه را تحت شرایط تنش بهبود می‌بخشد (Savvides *et al.*, 2016). مواد شیمیایی متعددی به‌عنوان عوامل پرایمینگ در گیاهان زراعی

۲. مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین بر بوته‌های گلرنگ رشدیافته از بذور انبارشده و تازه برداشت‌شده رقم گلدشت در شرایط تنش خشکی، آزمایش‌هایی طی سال‌های زراعی ۹۶-۱۳۹۵ و ۹۷-۱۳۹۶ در مزرعه پژوهشی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران و آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد، انجام گرفت. آزمایش مزرعه‌ای به‌صورت اسپلیت-فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام گرفت. عوامل آزمایش عبارت بودند از دو سطح تنش خشکی (آبیاری معمولی یا آبیاری پس از ۵۰ درصد تخلیه رطوبت از ظرفیت زراعی خاک) و آبیاری پس از ۸۵ درصد تخلیه رطوبت از ظرفیت زراعی خاک در مرحله گلدهی) بود که در کرت‌های اصلی قرار گرفتند. کرت‌های فرعی، شامل ۴ سطح بود که عبارت بودند از کیفیت بذر (۱- بذور انبارشده و ۲- بذور تازه برداشت‌شده) و محلول‌پاشی (۱- شاهد؛ محلول‌پاشی با آب مقطر و ۲- محلول‌پاشی ملاتونین ۰/۲ میلی‌مولار).

در کل آزمایش‌های انجام‌گرفته، دو توده بذری شامل بذور گلرنگ انبارشده و نیز بذور تازه برداشت‌شده مورد استفاده قرار گرفت. رقم مورد استفاده گلرنگ، گلدشت بود که دارای تیپ رشد بهاره، بی‌خار، مقاوم به ریزش و با میزان روغن دانه ۳۰-۲۵ درصد است. بذور گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) رقم گلدشت تازه برداشت‌شده در سال ۱۳۹۵ از بخش دانه‌های روغنی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد. بذور انبارشده گلرنگ رقم گلدشت، به‌مدت هشت سال در شرایط انبارداری طبیعی (دما ۲۰-۲۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۵ تا ۶۰ درصد) نگهداری شده بودند. در سال اول کشت (۱۳۹۵) جهت تیمار بذور انبارشده از بذور تولیدشده در سال ۱۳۸۷ استفاده شد و برای تیمار بذور تازه

برداشت‌شده از بذور تولید سال ۱۳۹۵ بخش دانه‌های روغنی مؤسسه اصلاح نهال و بذر استفاده شد. هم‌چنین در سال دوم کشت (۱۳۹۶) جهت تیمار بذور انبارشده از بذور تولیدشده در سال ۱۳۸۸ استفاده شد و نیز جهت تیمار بذور تازه برداشت‌شده از بذور تولیدشده سال ۱۳۹۶ حاصل از برداشت محصول سال اول، استفاده شد. هم‌چنین ماده ملاتونین (N- استیل-۵-متوکسی تریپتامین) استفاده شده متعلق به شرکت سیگما آلدیخ بود.

مزرعه آموزشی پژوهشی شماره ۲ پردیس ابوریحان دانشگاه تهران واقع در منطقه قزلاق از توابع شهرستان پاکدشت در عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۲۸ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۳۶ دقیقه شرقی قرار دارد. این منطقه طبق طبقه‌بندی اقلیمی دومارتن جزو مناطق خشک محسوب می‌شود که در آن میانگین بارندگی سالیانه ۱۴۱ میلی‌متر، دمای متوسط سالانه ۱۵/۶ درجه سلسیوس و متوسط ارتفاع از سطح دریا در آن حدود ۱۰۲۰ متر می‌باشد. مشخصات فیزیکی-شیمیایی خاک مکان آزمایش (جدول ۱) و آب مورد استفاده در آبیاری (جدول ۲) و هم‌چنین نمودار آب‌وهوای دوساله (شکل ۱) در زیر آورده شده است. دلیل بالا بودن میزان فسفر و پتاسیم خاک مزرعه مورد مطالعه، دپوی کود دامی تولیدشده در دامداری این مزرعه طی سال‌های متمادی بوده است. در مورد وضعیت آب آبیاری لازم به ذکر است که آب آبیاری از لحاظ هدایت الکتریکی به پنج کلاس طبقه‌بندی می‌شود که آب آبیاری مکان آزمایش به‌عنوان شور در نظر گرفته می‌شود. هم‌چنین از لحاظ میزان سدیم، آب آبیاری به چهار کلاس طبقه‌بندی می‌شود. طبق این روش، آب آبیاری مکان آزمایش در رده C5-S3 قرار گرفت، که مشخص می‌کند که آب مورد استفاده جهت آبیاری مناسب اما میزان سدیم در این آب بالا می‌باشد.

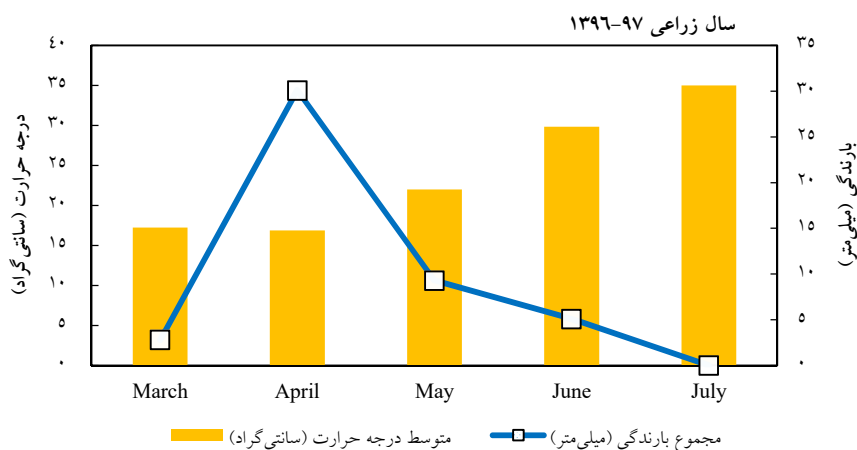
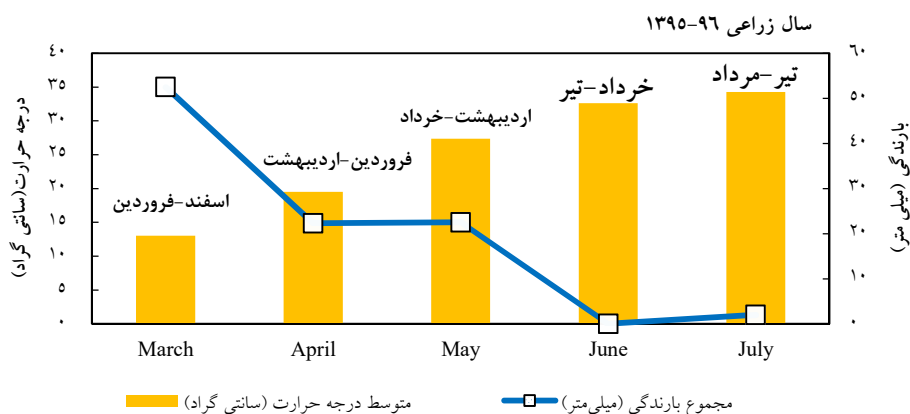
بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پاسخ‌های بیوشیمیایی گیاه گلرنگ تحت تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین در شرایط تنش خشکی

جدول ۱. مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

کربن آلی	منگنز	مس	روی	آهن	پتاسیم قابل جذب	فسفر قابل جذب	نیتروژن کل	هدایت الکتریکی	اسیدیته	بافت خاک
(%)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(%)	(dS/m)		
۱/۴	۸/۹	۰/۸۳	۲/۳	۴/۲۳	۷۳۲	۷۹	۰/۱۴	۷/۵۷	۸/۲۱	لومی-رسی

جدول ۲. مشخصات فیزیکی و شیمیایی آب محل اجرای آزمایش

سدیم محلول (%)	نسبت جذب سدیم	زده	بی‌کربنات (meq/l)	کربنات (meq/l)	سدیم (meq/l)	نمک‌های محلول کل (ppm)	میزیم (meq/l)	سولفات (meq/l)	کلسیم (meq/l)	کلر (meq/l)	هدایت الکتریکی (µS/cm)	اسیدیته
۴۴/۹۵	۶/۹۲	C5-S3	۵/۶۲	۰	۲۹/۴	۲۴۴۰	۱۹	۳۷/۲۸	۱۷	۲۲/۵	۵۳۹۰	۷/۷۱



شکل ۱. تغییرات آب‌وهوایی مزرعه قزاق در طی دو سال آزمایش مزرعه‌ای

به زراعی کشاورزی

دوره ۲۳ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۴۰۰

تا ۶۰ سانتی‌متر) شد. نمونه‌های برداشت‌شده بلافاصله وزن و جهت تعیین درصد رطوبت وزنی خاک، به آون به دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس، منتقل شد. قبل از آبیاری مجدد، اجازه داده شد تا رطوبت خاک در عمق ریشه به ۸۵ درصد تخلیه رطوبت ظرفیت زراعی برسد. بنابراین زمان آبیاری برای سطوح آبیاری ۵۰ و ۸۵ درصد تخلیه از حد رطوبت ظرفیت زراعی به ترتیب، زمانی بود که رطوبت خاک در عمق ۳۰-۳۰ سانتی‌متر، به ۱۱/۵ و ۵/۷۵ درصد و در عمق ۶۰-۳۰ سانتی‌متر، به ۱۴ و ۷ درصد رسید. هم‌چنین در زمان اعمال تنش خشکی تعداد دفعات آبیاری کرت‌های بدون تنش و تنش خشکی به ترتیب ۵ و ۳ مرتبه بود.

پس از پایان مرحله گلدهی و قبل از شروع مرحله پرشدن دانه (کد ۷۱ نظام BBCH)، نمونه‌برداری برگی جهت اندازه‌گیری خصوصیات بیوشیمیایی انجام گرفت. سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Chance & Machly (1955) انجام گرفت. تجزیه آب اکسیژنه با کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (OPTIZEN 3220UV) ساخت کشور کره جنوبی در مدت دو دقیقه پیگیری شد و به ازای هر میلی‌گرم پروتئین در عصاره آنزیمی بیان شد. واحد فعالیت به صورت تغییرات جذب به میلی‌گرم پروتئین در دقیقه در وزن تر بیان شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، با استفاده از روش Nakano & Asada (1981)، از طریق اکسیداسیون آسکوربات، توسط اسپکتروفتومتر، در طول موج ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. سنجش فعالیت بخش محلول آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز طبق روش Ghanati et al. (2002) انجام شد.

جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، از روش مطرح‌شده توسط Giannopolitis & Ries (1997) براساس جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر

جهت اعمال تنش خشکی، با توجه به این‌که مرحله گلدهی حساس‌ترین مرحله نسبت به کم‌آبی است، این مرحله به‌عنوان زمان اعمال تنش خشکی مدنظر قرار گرفت. جهت تعیین مراحل رشد در گلرنگ از نظام گلدهی BBCH (Flemmer et al., 2015)، استفاده شد. بر این اساس مرحله گلدهی در گلرنگ زمانی بود که ۵۰ درصد گل‌های گلرنگ باز می‌شوند (کد ۶۵). بنابراین زمان اعمال تنش خشکی در این مرحله انجام گرفت. بر این اساس آبیاری کرت‌های شاهد (بدون تنش) تا پایان دوره رشد براساس تخلیه ۵۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی انجام گرفت، درحالی‌که آبیاری کرت‌های تنش خشکی تا مرحله ۵۰ درصد گلدهی براساس تخلیه ۵۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی صورت گرفت و پس از آن آبیاری براساس اندازه‌گیری میزان رطوبت خاک و رسیدن رطوبت خاک به ۸۵ درصد تخلیه رطوبت ظرفیت زراعی انجام شد. برای اندازه‌گیری درصد رطوبت وزنی خاک در نقاط پتانسیلی ظرفیت زراعی و نقطه پژمردگی دائم نیز از منحنی رطوبت خاک استفاده شد (Saxton et al., 1986). مطابق این روش، مقدار رطوبت خاک در ظرفیت مزرعه ۰/۳۱۶۸ و رطوبت خاک در نقطه پژمردگی، ۰/۱۵۸۴ گرم در مترمکعب تعیین شد. هم‌چنین محلول‌پاشی ملاتونین در مزرعه، در کد ۶۵ نظام BBCH، در مرحله ۵۰ درصد گلدهی هم‌زمان با اعمال تنش خشکی و عصر هنگام در یک نوبت انجام پذیرفت. برای اطمینان از نفوذ محلول به برگها و نیز افزایش قدرت نفوذ، از سورفاکتانت تویین ۲۰ با غلظت ۵ درصد حجمی - حجمی استفاده شد.

برای تعیین زمان آبیاری در هر تیمار نیز از روش وزنی^۱ استفاده شد (Akbari et al., 2020; Fathi Amirkhiz et al., 2021). بدین منظور، ۴۸ ساعت بعد از آبیاری، اقدام به برداشت نمونه خاک از عمق توسعه ریشه (صفر تا ۳۰ و ۳۰

1. Gravimetric

گلدهی گلرنگ، حدود ۲/۷۷ درجه سلسیوس گرم‌تر از خردادماه در سال دوم بود. هم‌چنین متوسط میزان بارندگی در سال دوم در مقایسه با سال اول به میزان ۵۲/۳۶ درصد کم‌تر بود. میزان بارندگی در هر دو سال در ماه خرداد ناچیز بود. بنابراین بعد از آبیاری تا رسیدن به ۸۵ درصد تخلیه رطوبت از ظرفیت زراعی، باران مؤثری در طی گلدهی رخ نداد و دوره تنش خشکی القاشده طی دو سال زراعی به‌وسیله بارندگی، تحت تأثیر قرار نگرفت. در نتیجه در سال دوم، شرایط تنش محیطی از جمله فقدان بارندگی در طی دوره گلدهی و گرده‌افشانی در سال دوم از سال اول بیش‌تر بود.

فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز

نتایج برش‌دهی اثر متقابل سه‌گانه در سال اول نشان داد که در شرایط بدون تنش، در گیاهان حاصل از بذور انبارشده، محلول‌پاشی ملاتونین باعث کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز شد، به‌طوری‌که محلول‌پاشی ملاتونین باعث کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز تا ۲۹/۵۸ درصد شد. با وقوع تنش خشکی در گیاهان حاصل از بذور انبارشده، محلول‌پاشی با ملاتونین باعث افزایش ۳۷/۶۱ درصدی فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در مقایسه با شاهد شد، اما در گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت‌شده، با وجود افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در مقایسه با شاهد، این تفاوت معنی‌دار نبود (جدول ۶). برش‌دهی اثر تنش × محلول‌پاشی در سال دوم نشان داد که در شرایط بدون تنش، با وجود فعالیت بیش‌تر آنزیم سوپراکسیددیسموتاز با محلول‌پاشی ملاتونین، اما تفاوت معنی‌داری با شاهد دیده نشد. اما با وقوع تنش خشکی، محلول‌پاشی ملاتونین موجب افزایش ۳۸/۶۹ درصدی فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در مقایسه با شاهد شد (جدول ۷).

انجام گرفت. برای اندازه‌گیری مقدار پروتئین‌های محلول در برگ از روش Bradford (1976) استفاده شد. غلظت پروتئین برحسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه با استفاده از منحنی استاندارد که توسط سرم آلبومین گاوی تهیه شده بود، محاسبه شد. برای اندازه‌گیری پرولین محتوای بافت برگ از روش Bates et al. (1973) استفاده شد. غلظت با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد. میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی با استفاده از اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به‌عنوان فرآورده نهایی پراکسیداسیون لیپیدهای غشا انجام شد (De Vos et al., 1991).

در پایان فصل رشد و پس از رسیدگی کامل، تعداد پنج بوته از هر کرت انتخاب و اجزای عملکرد شامل تعداد غوزه در بوته، تعداد دانه در غوزه و وزن هزاردانه، اندازه‌گیری شد. برای تعیین عملکرد گلرنگ، از هر کرت آزمایشی، مساحتی برابر با ۲ مترمربع، برداشت شد. پس از کوبیدن و جداکردن دانه‌ها به‌وسیله غربال، عملکرد دانه اندازه‌گیری شد. به منظور انجام محاسبه‌های آماری از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۴) استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. هم‌چنین اثرهای متقابل با استفاده از روش برش‌دهی اثر متقابل (LSMEANS) توسط دستور PDIFF انجام گردید.

۳. نتایج و بحث

(*) توضیح: جدول‌های (۳) و (۴) مشخص‌کننده وضعیت معنی‌داری صفات می‌باشند و از این‌رو از ذکر معنی‌دار بودن یا نبودن صفات در متن خودداری شده است.) در مورد شرایط آب‌وهوا طی دو سال زراعی مشخص شد که متوسط درجه حرارت در سال دوم کم‌تر (۱/۱۷ درجه سلسیوس خنک‌تر) از سال اول بود. متوسط درجه حرارت در خردادماه سال اول که مطابق بود با زمان

جدول ۳. تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی گلرنگ تحت تأثیر محلول پاشی ملاتونین

میانگین مربعات						
درجه آزادی	اسید آمینه پروتئین	مالوندی آلدهید	پروتئین های محلول برگ	سوپراکسیددیسموتاز	فعالیت آنزیم	فعالیت آنزیم کاتالاز
تکرار	۰/۰۰۰۰۳۵۷	۰/۱۸۰۴	۰/۰۰۰۳۷۰۹	۰/۰۰۰۱۶۵۱	۰/۰۰۰۱۰۸۷	۰/۰۰۰۴۸۷۰
تنش	۰/۰۰۰۱۳۱۹*	۰/۵۳۹۴ns	۰/۰۲۳۰۲ns	۰/۰۰۰۵۵۹۲ns	۰/۲۹۱۲**	۰/۰۰۱۰۲۷ns
سال اول						
تکرار×تنش	۰/۰۰۰۰۰۶۴۶	۰/۴۱۱۶	۰/۰۱۸۳	۰/۰۰۰۴۹۴۷	۰/۰۰۰۰۸۴۹	۰/۰۰۰۲۶۹۲
کیفیت بذر	۰/۰۰۰۰۰۲۶۴ns	۰/۰۴۹۹۶ns	۰/۰۱۲۵ns	۰/۰۰۰۷۱۹۷ns	۰/۲۱۸۶**	۰/۰۱۹۹**
محلول پاشی	۰/۰۰۰۰۰۲۵۶ns	۰/۲۲۹۴ns	۰/۰۰۱۵۸ns	۰/۰۰۰۰۴۵۸۶ns	۰/۱۳۲۹**	۰/۰۱۳۰۶**
تنش×کیفیت بذر	۰/۰۰۰۰۲۲۲۳۳ns	۰/۷۴۳۴*	۰/۰۱۳۳ns	۰/۰۰۰۶۴۶۶ns	۰/۰۵۹۳**	۰/۰۱۸۰۱**
تنش×محلول پاشی	۰/۰۰۰۰۵۰۱۵**	۰/۱۷۲۳ns	۰/۰۷۷۹**	۰/۰۳۵۰۶**	۰/۲۱۹۶**	۰/۰۴۸۰۵**
کیفیت بذر×محلول پاشی	۰/۰۰۰۰۲۹۲۰ns	۰/۱۲۳۳ns	۰/۰۰۰۴۱۱۶ns	۰/۰۰۰۶۱۵۳ns	۰/۲۲۷۴**	۰/۰۳۲۷**
تنش×کیفیت بذر×محلول پاشی	۰/۰۰۰۰۱۲۲۹ns	۰/۰۴۹۹ns	۰/۰۱۰۷۸ns	۰/۰۱۵۳۶*	۰/۸۳۸۱**	۰/۰۵۱۸**
خطا	۰/۰۰۰۰۰۷۲۷	۰/۱۲۲۰۳	۰/۰۰۴۳	۰/۰۰۲۵۵	۰/۰۰۰۵۰۱۳	۰/۰۰۰۵۷۳۰
ضریب تغییرات (درصد)	۶/۲۲	۲۴/۶۵	۱۱/۲۵	۱۴/۶۱	۱۱/۹۰	۹/۹۹
تکرار	۰/۰۰۰۰۰۲۶۸	۲/۲۱۰۸	۰/۰۰۹۶۱۹	۰/۰۰۹۶۱۴	۰/۰۰۲۲۸۱	۰/۰۳۵۷۷
تنش	۰/۰۰۰۰۰۱۲۴ns	۰/۰۰۰ns	۰/۰۱۹۰۲**	۰/۰۲۰۷۸**	۰/۰۰۰۶۶۸۸ns	۳/۴۴۶۶**
سال دوم						
تکرار×تنش	۰/۰۰۰۰۰۰۷۵	۰/۰۳۵۳۵	۰/۰۰۰۳۲۹	۰/۰۰۰۳۵۶۵	۰/۰۰۰۱۴۸۳	۰/۰۳۵۰۴ns
کیفیت بذر	۰/۰۰۰۰۰۶۸۲ns	۰/۱۰۱۹ns	۰/۰۰۵۹۴ns	۰/۰۰۰۱۹۱۹ns	۰/۰۹۸۱۴**	۱/۷۴۴۶**
محلول پاشی	۰/۰۰۰۰۰۰۱۳ns	۰/۰۱۶۳۱ns	۰/۱۳۶۳۰**	۰/۰۴۷۱۴**	۰/۰۰۸۴۱۱ns	۱/۷۵۷۱**
تنش×کیفیت بذر	۰/۰۰۰۰۱۴۵۷ns	۰/۰۰۴۰۷ns	۰/۰۲۲۷ns	۰/۰۱۳۹۰*	۰/۰۲۵۴۸**	۲/۹۸۰**
تنش×محلول پاشی	۰/۰۰۰۰۰۴۶۱ns	۰/۴۰۷۹**	۰/۰۰۹۸۰ns	۰/۰۱۳۹۸*	۰/۱۴۹۸**	۱/۵۸۷۵**
کیفیت بذر×محلول پاشی	۰/۰۰۰۰۰۶۲۰۸**	۰/۰۰۴۰۷ns	۰/۰۳۸۸*	۰/۰۲۶۵۴**	۰/۰۰۰۱۶۷۳ns	۱/۳۸۸۲**
تنش×کیفیت بذر×محلول پاشی	۰/۰۰۰۰۰۷۶۲۹**	۰/۴۹۳۵**	۰/۰۱۶۴۵ns	۰/۰۰۴۲۶ns	۰/۰۱۰۳ns	۳/۶۳۵۰**
خطا	۰/۰۰۰۰۰۶۱۲	۰/۰۳۶۲	۰/۰۰۵۸۷۹	۰/۰۰۲۴۶	۰/۰۰۲۳۷	۰/۰۱۳۶
ضریب تغییرات (%)	۵/۴۴۷	۱۵/۶۱	۱۲/۹۷	۱۴/۵۷	۲۵/۰۲	۲۰/۲۷

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

فعالیت آنزیم کاتالاز

برداشت شده، به طور معکوسی، فعالیت کاتالاز با محلول پاشی ملاتونین کاهش یافت. در شرایط تنش خشکی نیز در گیاهان حاصل از بذور انبار شده، فعالیت کاتالاز با محلول پاشی ملاتونین کاهش یافت. به طوری که در مقایسه با شاهد (محلول پاشی با آب)، به میزان ۷۱/۳۷ درصد، کاهش فعالیت داشت، اما در گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت شده، محلول پاشی ملاتونین، فعالیت کاتالاز را به شدت افزایش داد (جدول ۶).

به طور کلی، نتایج نشان داد که در هر دو سال آزمایش، محلول پاشی با ملاتونین، فعالیت آنزیم کاتالاز را افزایش داد البته در سال دوم، تفاوت چشم گیر نبود. بررسی برش دهی اثر سه گانه در سال اول نشان داد که در شرایط بدون تنش، در گیاهان حاصل از بذور انبار شده، محلول پاشی با ملاتونین، باعث افزایش فعالیت کاتالاز در مقایسه با شاهد شد. اما در گیاهان حاصل از بذور تازه

بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پاسخ‌های بیوشیمیایی گیاه گلرنگ تحت تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین در شرایط تنش خشکی

جدول ۴. تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی و عملکرد دانه گلرنگ تحت تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		فعالیت آنزیم پراکسیداز	فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز	تعداد غوزه در بوته	تعداد دانه در غوزه
تکرار	۳	۰/۰۰۰۱۸۸۲	۰/۰۰۰۲۷۴	۵۳/۵۲۰۸	۵۸/۹۷ns
تنش	۱	۰/۰۱۵۴*	۰/۰۲۳۸ns	۱/۱۲۵۰ns	۱۰۰/۹۴ns
تکرار×تنش	۳	۰/۰۰۱۱۹۶	۰/۰۰۴۹۹۴	۸/۸۹۵۸	۱۰۳/۲۱۰۳
کیفیت بذر	۱	۰/۰۱۴۹**	۰/۱۱۶۰۱**	۸۱/۲۸۱۲*	۰/۴۷۳۳ns
محلول‌پاشی	۱	۰/۰۰۷۰۷**	۰/۰۱۵۵۴**	۲۸۲/۰۳۱۲**	۱۴۰/۵۷۴۵ns
سال اول	۱	۰/۰۰۰۳۲۷۶ns	۰/۲۱۵۹**	۲۵۸/۷۸۱۲**	۰/۰۰۳۷۸۴ns
تنش × کیفیت بذر	۱	۰/۰۱۴۹**	۰/۱۹۸۳**	۹۴/۵۳۱۲*	۹/۶۹۹۸ns
تنش × محلول‌پاشی	۱	۰/۰۱۵۷**	۰/۰۱۳۳**	۹۴/۱۲۵۰**	۲۵۶/۹۹۸۴*
کیفیت بذر × محلول‌پاشی	۱	۰/۰۲۹۹**	۰/۰۰۵۸۶ns	۸۶۱/۱۲۵۰**	۴۰۸/۱۳۶۷*
تنش × کیفیت بذر × محلول‌پاشی	۱	۰/۰۰۰۵۶۸۳	۰/۰۰۱۵۱۹	۱۶/۵۰۶۹	۴۹/۶۴۰۹
خطا	۱۸				
ضریب تغییرات (درصد)	-	۲۳/۵۳	۱۶/۲۰	۲۰/۷۶	۲۱/۰۹
تکرار	۳	۰/۰۰۰۰۹۰۵۰	۰/۰۰۱۱۸۷	۶۰/۲۷۸۶	۳۳۴/۸۲۹۶**
تنش	۱	۰/۰۷۸۰۷**	۰/۰۷۰۳۱*	۵۱/۲۵۷۸**	۲۳۹/۰۶۶۴**
تکرار×تنش	۳	۰/۰۰۰۹۹۱۵	۰/۰۰۲۳۳۱	۰/۶۵۳۶	۴/۷۵۱۳
کیفیت بذر	۱	۰/۰۰۸۵۷۹**	۰/۰۰۳۷۶۴ns	۷۹/۶۹۵۳**	۶۴/۵۲۱۹ns
محلول‌پاشی	۱	۰/۰۰۰۱۸۳۶ns	۰/۰۰۰۸۰۳۵ns	۲۷۹/۰۷۰۳**	۷۴/۶۶۷۲ns
سال دوم	۱	۰/۰۰۵۴۸۱*	۰/۰۰۷۰۰۸*	۵۶/۴۴۵۳**	۱۱۳/۵۷۱۲ns
تنش × کیفیت بذر	۱	۰/۰۰۲۸۸۸ns	۰/۰۰۵۱۵۵*	۲۰۷/۵۷۰۳**	۶۵/۰۰۵۶ns
تنش × محلول‌پاشی	۱	۰/۰۳۱۲۶**	۰/۰۱۲۲**	۷۶/۵۷۰۳**	۲۳۲/۴۷۶۰*
کیفیت بذر × محلول‌پاشی	۱	۰/۰۳۸۱۲**	۰/۰۳۷۸۲**	۲/۸۲۰۳ns	۶۵/۸۸۰۳ns
تنش × کیفیت بذر × محلول‌پاشی	۱	۰/۰۰۰۸۱۵۵	۰/۰۰۰۹۱۴۶	۱/۱۷۴۴	۳۷/۱۵۶۲
خطا	۱۸				
ضریب تغییرات (درصد)	-	۳۸/۷۰۴	۲۲/۱۲	۷/۱۷۲۵	۱۷/۹۱

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

بررسی برش‌دهی اثر متقابل سه‌گانه نشان داد که در شرایط بدون تنش در گیاهان حاصل از بذور انبارشده در سال اول، تفاوت معنی‌داری بین محلول‌پاشی ملاتونین و عدم مصرف آن وجود نداشت، اما در سال دوم، محلول‌پاشی ملاتونین، باعث افزایش معنی‌دار در

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز شد. درحالی‌که در گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت‌شده، در همین شرایط، در هر دو سال آزمایش، محلول‌پاشی ملاتونین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را کاهش داد (جدول ۷). با وقوع تنش خشکی، گیاهان حاصل از بذور انبارشده در دو سال آزمایش، پاسخ متفاوتی به

محلول پاشی ملاتونین دادند، به طوری که در سال اول، تفاوت معنی داری بین سطوح محلول پاشی وجود نداشت اما در سال دوم، محلول پاشی ملاتونین، باعث کاهش شدید فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز شد. در حالی که در همین شرایط در گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت شده در هر دو سال آزمایش، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با محلول پاشی ملاتونین، افزایش یافت. به طوری که محلول پاشی ملاتونین در سال اول ۱۶۱/۴۷ و در سال دوم، ۶۳/۴۸ درصد فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را در مقایسه با شاهد، افزایش داد (جدول های ۶ و ۸).

فعالیت آنزیم پراکسیداز

برش دهی اثر متقابل سه گانه نشان داد که در شرایط بدون تنش در گیاهان حاصل از بذور انبار شده، در سال اول، تفاوتی بین سطوح محلول پاشی وجود نداشت اما در سال دوم، محلول پاشی با ملاتونین موجب کاهش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز شد. در حالی که در گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت شده در هر دو سال آزمایش، محلول پاشی با ملاتونین، موجب افزایش معنی دار فعالیت آنزیم پراکسیداز شد. در شرایط تنش خشکی، اما در گیاهان حاصل از بذور انبار شده، در هر دو سال آزمایش، بین سطوح محلول پاشی، تفاوت معنی داری وجود نداشت، هر چند محلول پاشی با ملاتونین باعث افزایش فعالیت پراکسیداز شد. در گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت شده نیز در هر دو سال، تفاوت معنی داری مشاهده نشد (جدول های ۶ و ۸). پلی فنل اکسیداز: در هر دو سال آزمایش، در گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت شده، فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز بیشتر بود. محلول پاشی با ملاتونین نیز موجب افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در هر دو سال شد.

برش دهی اثر متقابل سه گانه در سال دوم نیز مشخص کرد که در شرایط بدون تنش در گیاهان حاصل از بذور انبار شده، محلول پاشی ملاتونین باعث کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز شد، اما در همین شرایط در گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت شده، محلول پاشی ملاتونین موجب افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز تا ۰/۲۲۵۸ (تغییرات جذب در میلی گرم پروتئین در دقیقه) شد که در مقایسه با شاهد، فعالیت این آنزیم را ۶۸/۶۳ درصد افزایش داده بود. هم چنین در شرایط تنش خشکی، در گیاهان حاصل از بذور انبار شده، محلول پاشی ملاتونین، موجب افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز شد، به طوری که محلول پاشی ملاتونین موجب شد فعالیت این آنزیم در مقایسه با شاهد، ۲۰۶/۰۱ درصد افزایش یابد اما در گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت شده، تفاوت معنی داری مشاهده نشد (جدول ۸). در بررسی روند فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان مشاهده شد که رفتار آنزیمی در پاسخ به ملاتونین بسیار متفاوت بود. به طوری که در بعضی مواقع ملاتونین موجب افزایش فعالیت آنزیم ها و در بعضی موارد باعث کاهش فعالیت آنزیم ها شد. در مورد فعالیت آنزیم ها قطعیتی وجود ندارد که افزایش یا کاهش آن ها آن ها به عنوان سازوکار تحمل به خشکی در نظر گرفته شود.

در مورد روند فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در شرایط تنش خشکی، نتایج بسیار متفاوتی وجود دارد، تعدادی از پژوهشگران از افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان (Ibrahim et al., 2019; Wang et al., 2019)، برخی نیز از کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان (Ibrahim et al., 2019) و برخی نیز از بدون تغییر ماندن فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان گزارش داده اند (Nahar et al., 2015).

بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پاسخ‌های بیوشیمیایی گیاه گلرنگ تحت تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین در شرایط تنش خشکی

جدول ۵. مقایسه میانگین اثرهای متقابل دو گانه صفات بیوشیمیایی محلول‌پاشی ملاتونین در سال اول

تنش	کیفیت بذر	محلول‌پاشی	مالون‌دی‌آلدئید ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{FW}$)	فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز ($\Delta\text{A mg}^{-1}\text{protein min}$)
بدون	انبارشده		۱/۱۷۴a	۰/۳۴۹a
تنش	تازه برداشت‌شده		۱/۴۰۰a	۰/۳۵۰a
تنش	انبارشده		۱/۷۳۸a	۰/۳۱۲b
خشکی	تازه برداشت‌شده		۱/۳۵b	۰/۳۷۰a
بدون	تنش	تنش	خشکی	فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز ($\Delta\text{A mg}^{-1}\text{protein min}$)
پروتئین محلول برگ ($\text{mg g}^{-1} \text{FW}$)	پروکلین ($\text{mg g}^{-1} \text{FW}$)	پروکلین ($\text{mg g}^{-1} \text{FW}$)	پروکلین ($\text{mg g}^{-1} \text{FW}$)	پروکلین ($\text{mg g}^{-1} \text{FW}$)
شاهد (آب مقطر)	۰/۵۰۵b	۰/۶۱۸a	۰/۲۶۹a	۰/۱۶۷b
ملاتونین	۰/۶۱۸a	۰/۲۶۹a	۰/۳۶۸a	۰/۰۴۹a
شاهد (آب مقطر)	۰/۶۵۷a	۰/۲۶۹a	۰/۲۶۹a	۰/۰۴۹a
ملاتونین	۰/۵۷۲۰b	۰/۲۶۹a	۰/۲۶۹a	۰/۰۴۹a
فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز ($\Delta\text{A mg}^{-1}\text{protein min}$)	شاهد (آب مقطر)	شاهد (آب مقطر)	شاهد (آب مقطر)	شاهد (آب مقطر)
۰/۱۷۸a	۰/۱۸۱a	۰/۲۵۸b	۰/۲۵۸b	۰/۲۵۸b
انبارشده	ملاتونین	ملاتونین	ملاتونین	ملاتونین
تازه برداشت‌شده	شاهد (آب مقطر)	شاهد (آب مقطر)	شاهد (آب مقطر)	شاهد (آب مقطر)
۰/۳۴۳a	۰/۳۴۳a	۰/۳۴۳a	۰/۳۴۳a	۰/۳۴۳a

در هر ستون و هر سطح، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون برداشته اثر متقابل در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند. واحد مالون‌دی‌آلدئید: میکرومول در گرم وزن تر برگ. واحد پروکلین و پروتئین محلول برگ: میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ. واحد پلی‌فنل‌اکسیداز: تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه.

جدول ۶. مقایسه میانگین اثرهای متقابل سه گانه صفات بیوشیمیایی محلول‌پاشی ملاتونین در سال اول

تنش	کیفیت بذر	محلول‌پاشی	فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (Unit $\text{mg}^{-1}\text{protein}$)	فعالیت آنزیم کاتالاز	فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ($\Delta\text{A mg}^{-1}\text{protein min}$)	فعالیت آنزیم پراکسیداز
بدون تنش	انبارشده	شاهد (آب مقطر)	۰/۴۰۹a	۰/۰۰۶۳b	۰/۲۴۲۸a	۰/۰۷۷۱a
تنش	تازه برداشت‌شده	ملاتونین	۰/۲۸۸b	۰/۱۰۴۷a	۰/۲۲۲۲a	۰/۰۴۴۵a
تنش	انبار شده	شاهد (آب مقطر)	۰/۳۵۸a	۰/۲۲۰۷a	۰/۲۶۱۷a	۰/۰۰۸۴b
تنش خشکی	تازه برداشت شده	ملاتونین	۰/۳۴۲a	۰/۰۴۸۸b	۰/۲۰۸۱b	۰/۱۸۷۰a
		شاهد (آب مقطر)	۰/۲۶۲b	۰/۲۴۹۱a	۰/۲۰۹۷a	۰/۰۹۶۸a
		ملاتونین	۰/۳۶۱a	۰/۰۷۱۳b	۰/۱۸۳۱a	۰/۱۰۰a
		شاهد (آب مقطر)	۰/۳۵۶a	۰/۰۲۸۲b	۰/۱۶۲۵b	۰/۱۶۳۲a
		ملاتونین	۰/۳۸۵a	۰/۷۹۵۱a	۰/۴۲۴۹a	۰/۱۳۲۹a

در هر ستون و هر سطح، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون برداشته اثر متقابل در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند. واحد آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز: تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه. واحد آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: واحد آنزیمی در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه.

جدول ۷. مقایسه میانگین اثرهای متقابل دو گانه صفات بیوشیمیایی محلول پاشی ملاتونین در سال دوم

تنش	کیفیت بذر	محلول پاشی	فعالیت آنزیم کاتالاز ($\Delta A \text{ mg}^{-1} \text{ protein min}$)	فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ($\text{Unit mg}^{-1} \text{ protein}$)
بدون تنش	انبار شده		۰/۱۷۲b	۰/۳۳۶۴a
تنش خشکی	تازه برداشت شده		۰/۲۲۶۵a	۰/۲۹۳۲a
	انبار شده		۰/۱۰۶۶b	۰/۳۴۵۷a
	تازه برداشت شده		۰/۲۷۳۸a	۰/۳۸۵۸a
		فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ($\text{Unit mg}^{-1} \text{ protein}$)	فعالیت آنزیم کاتالاز ($\Delta A \text{ mg}^{-1} \text{ protein min}$)	فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ($\Delta A \text{ mg}^{-1} \text{ protein min}$)
بدون تنش	شاهد (آب مقطر)	۰/۲۹۷۳a	۰/۱۱۴۷b	۰/۲۶۰۴a
تنش خشکی	شاهد (آب مقطر)	۰/۳۳۲۳a	۰/۲۸۴۰a	۰/۲۳۷۷a
	شاهد (آب مقطر)	۰/۳۰۶۵b	۰/۲۴۲۵a	۱/۳۶۲۳a
	شاهد (آب مقطر)	۰/۴۲۵۱a	۰/۱۳۸۰a	۰/۴۴۸۱b
		فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ($\text{Unit mg}^{-1} \text{ protein}$)	پروتئین ($\text{mg g}^{-1} \text{ FW}$)	
انبار شده	شاهد (آب مقطر)	۰/۳۳۱۵a	۰/۶۰۷۹a	
	شاهد (آب مقطر)	۰/۳۵۰۶a	۰/۵۴۷۱a	
تازه برداشت شده	شاهد (آب مقطر)	۰/۲۷۲۳b	۰/۷۰۴۹a	
	شاهد (آب مقطر)	۰/۴۰۶۷a	۰/۵۰۴۶b	

در هر ستون و هر سطح، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون برش‌دهی اثر متقابل در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند. واحد پروتئین محلول برگ: میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ. واحد کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز: تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه. سوپراکسید دیسموتاز: واحد آنزیمی در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه.

جدول ۸. مقایسه میانگین اثرهای متقابل سه گانه صفات بیوشیمیایی محلول پاشی ملاتونین در سال دوم

تنش	کیفیت بذر	محلول پاشی	فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ($\Delta A \text{ mg}^{-1} \text{ protein min}$)	فعالیت آنزیم پراکسیداز ($\Delta A \text{ mg}^{-1} \text{ protein min}$)	فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز ($\Delta A \text{ mg}^{-1} \text{ protein min}$)	پروکلین ($\text{mg g}^{-1} \text{ FW}$)	مالون‌دی‌آلدئید ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{ FW}$)
بدون تنش	انبار شده	شاهد (آب مقطر)	۰/۰۵۹۷b	۰/۲۲۵۵a	۰/۲۴۹۱a	۰/۰۴۸۲a	۰/۹۴۸۳b
تنش خشکی	تازه برداشت شده	شاهد (آب مقطر)	۰/۲۹۴۰a	۰/۰۷۹۷b	۰/۱۲۵۹b	۰/۰۴۱۷b	۱/۳۵۴a
	انبار شده	شاهد (آب مقطر)	۰/۴۶۱۲a	۰/۰۳۵۰b	۰/۱۳۳۹b	۰/۰۴۲۷b	۱/۳۰۹۶a
	تازه برداشت شده	شاهد (آب مقطر)	۰/۱۸۰۴b	۰/۱۵۲۳a	۰/۲۲۵۸a	۰/۰۴۸۰a	۱/۲۶۴۵a
تنش خشکی	انبار شده	شاهد (آب مقطر)	۲/۴۴۴۶a	۰/۰۱۲۵a	۰/۰۳۱۶b	۰/۰۴۶۱a	۱/۴۴۵۱a
	تازه برداشت شده	شاهد (آب مقطر)	۰/۴۴۱۸b	۰/۰۴۲۸a	۰/۰۹۶۷a	۰/۰۴۷۳a	۰/۹۰۳۲b
	انبار شده	شاهد (آب مقطر)	۰/۲۷۸۰b	۰/۰۱۲۴a	۰/۱۱۲۶a	۰/۰۴۴۱a	۱/۲۶۴۱a
	تازه برداشت شده	شاهد (آب مقطر)	۰/۴۵۴۵a	۰/۰۲۹۷a	۰/۱۱۸۳a	۰/۰۴۴۷a	۱/۲۶۴۵a

در هر ستون و هر سطح، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون برش‌دهی اثر متقابل در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند. واحد آنزیم‌های، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز: تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه. واحد پروکلین: میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ. واحد مالون‌دی‌آلدئید: میکرومول در گرم وزن تر برگ.

غیرزنده القا کرده است، اگرچه فعالیت پراکسیداز تغییر معنی‌داری بعد از تیمار با ملاتونین تحت تنش خشکی نداشت (Li et al., 2019). همچنین گزارش شده است که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از قبیل سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز، در یولاف تحت تنش خشکی با پیش‌تیمار ملاتونین بیش‌تر بود و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان هم‌زمان با طولانی‌شدن تنش خشکی افزایش یافت (Gao et al., 2018).

تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نشان‌دهنده، توانایی حذف ROSها در گیاهان تحت شرایط تنش‌زا است. همچنین گزارش‌هایی وجود دارد مبنی بر این‌که فعالیت سوپراکسیددیسموتاز در تیمار ملاتونین تحت تنش خشکی کم‌ترین میزان را داشت که نشان می‌دهد که این گیاهان نسبتاً سطح کمی از تنش را تجربه کرده‌اند (Campos et al., 2019). مشخص شده است که سطوح رونویسی ژن‌های کدکننده سوپراکسیددیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز به‌وسیله ملاتونین تنظیم افزایشی شدند (Zhang et al., 2014). طبق منابع مختلف در مورد روند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پاسخ‌های متفاوت آن‌ها، به‌نظر می‌رسد که کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان توسط ملاتونین و نیز افزایش فعالیت آن‌ها، هر دو نشانه تحمل به خشکی است. در مواقعی که تنش خشکی بر گیاه حادث می‌شود، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با تحریک ملاتونین می‌تواند تحمل به تنش خشکی را ایجاد کند. همچنین کم‌بودن میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش خشکی در تیمارهای محلول‌پاشی با ملاتونین، برآیند این اصل است که ملاتونین با پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد و بهبود شرایط برای گیاه، توانسته است وضعیت گیاه را به حدی برساند که گیاه تنش را درک نکند. نقش گیاه در این زمینه نیز بسیار مهم است، گلرنگ

مشخص شده است که کاربرد ملاتونین منجر به فعالیت بیش‌تر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش خشکی می‌شود (Ye et al., 2016). تنش خشکی موجب تجمع ROSها و از بین رفتن تعادل بین تولید ROSها و سمیت‌زدایی آن می‌شود (Gong et al., 2005). تجمع ROSها می‌تواند باعث پراکسیداسیون لیپیدها، تجزیه کلروفیل و اتلاف استحکام غشاهای سلولی و کاهش فعالیت فتوسنتزی شود. به همین منظور، گیاهان سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی را برای حفاظت در برابر آسیب ROSها توسعه داده‌اند (de Souza et al., 2014). افزایش توانایی آنتی‌اکسیدانی گیاه به‌عنوان عملکرد اولیه ملاتونین در تحمل به تنش در گیاهان در نظر گرفته شده است (Zhang et al., 2015).

بر پایه بررسی‌ها، ملاتونین از دو طریق موجب افزایش تحمل به خشکی در گیاهان می‌شود. ابتدا از طریق افزایش تجزیه آیزوبیک‌اسید (ABA) و توقف سنتز آن (Li et al., 2012) موجب کاهش تجمع پراکسیدهیدروژن در سلول‌های نگهبان روزنه می‌گردد (Li et al., 2012). دوم این‌که، ملاتونین به‌طور مستقیم پراکسیدهیدروژن را پاک‌سازی می‌کند (Reiter et al., 2007). ملاتونین همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌ویژه کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز را که در تجزیه پراکسیدهیدروژن بسیار کارآ هستند، تنظیم افزایشی می‌کند (Li et al., 2012).

همچنین، گزارش شده که در شرایط بدون تنش، تحت شرایط شاهد، ملاتونین منجر به هیچ نوع تغییر معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز نشد (Li et al., 2019). مشخص شده که، کاربرد خارجی ملاتونین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را در سطوح بالا در مقایسه با تیمارهای بدون ملاتونین تحت شرایط تنش

شدند، محتوای پروتئین به سرعت افزایش یافت (Zahoor et al., 2017).

گزارش شده است که تنش خشکی از طریق تشکیل ROSها که به پروتئین‌ها آسیب می‌رساند، موجب آسیب اکسیداتیو به گیاهان می‌شود (Zhang et al., 2018). اما گزارش‌های متعددی نیز از افزایش میزان پروتئین‌های محلول تحت تنش خشکی موجود هستند (Aziz et al., 2019; Zhang et al., 2018). در گیاه آمارانت، گزارش شده است که حتی پاسخ به خشکی در ارقام مختلف، متفاوت بود به طوری که در برخی ارقام، با افزایش شدت تنش خشکی، میزان پروتئین محلول افزایش یافت اما در بعضی ارقام، تنش خشکی به طور قابل توجهی پروتئین‌های محلول را کاهش داد (Sarker et al., 2018). سنتز پروتئین‌های تنش یک پاسخ فراگیر برای مبارزه با شرایط تنش‌زای شایع از جمله کمبود آب است. اکثر پروتئین‌ها محلول در آب هستند و بنابراین در پدیده تحمل به تنش به وسیله آب‌گیری ساختارهای سلولی شرکت می‌کنند (Farooq et al., 2009). حتی در مقابل به تازگی در پنبه گزارش شده است که پروتئین‌های محلول کل تحت تنش خشکی بدون تغییر ماندند (Ibrahim et al., 2019). گزارش شده است که ملاتونین به طور معنی‌داری بیان رونویسی و سطوح پروتئین را القا کرد (Cui et al., 2018). هم‌چنین ملاتونین می‌تواند تجزیه پروتئین را متوقف کند یا سنتز پروتئین‌های جدید را تسهیل کند، به طوری که گیاهان تیمار شده با ملاتونین ظرفیت زیاده‌تری برای تنظیم اسمزی دارند و آسیب کم‌تری را تحت تنش خشکی تجربه می‌کنند (Liang et al., 2019).

پرولین

نتایج نشان داد که در سال اول در شرایط بدون تنش، محلول‌پاشی ملاتونین باعث کاهش معنی‌دار میزان پرولین

گیاهی با توانایی بسیار بالاست که به خودی خود توانایی سازگاری و مقاومت بسیار بالا به شرایط سخت را دارد و به نظر بسیاری از پاسخ‌های متفاوت در این آزمایش، به دلیل رفتارهای گیاه گل‌رنگ است.

پروتئین‌های محلول برگ

نتایج برش‌دهی اثر تنش × محلول‌پاشی در سال اول نشان داد که در شرایط بدون تنش، محلول‌پاشی ملاتونین موجب افزایش میزان پروتئین‌های محلول برگ تا ۰/۶۱۸۰ (میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) گردید که در مقایسه با عدم مصرف ملاتونین، به میزان ۲۲/۳۷ درصد، میزان پروتئین‌های محلول برگ را افزایش داده بود، اما با وقوع تنش خشکی، محلول‌پاشی با ملاتونین، موجب کاهش ۱۲/۸۶ درصدی پروتئین‌های محلول برگ شد (جدول ۵). هم‌چنین در سال دوم، در برش‌دهی اثر متقابل بذور × محلول‌پاشی، مشخص شد که گیاهان حاصل از بذور انبار شده، پاسخی به محلول‌پاشی ندادند و محلول‌پاشی ملاتونین با عدم مصرف آن تفاوت معنی‌داری نداشت، اما در گیاهان حاصل از بذور تازه برداشت شده، محلول‌پاشی با ملاتونین، میزان پروتئین‌های محلول برگ را تا ۲۸/۴۱ درصد کاهش داد (جدول ۷). پروتئین محلول یکی از اجزای مهم سلولی است که به عنوان کاتالیزور در فرایندهای متابولیسم سلولی و در تنظیم پتانسیل اسمزی گیاهان شرکت می‌کند (Zhang et al., 2015). در مورد محتوای پروتئین‌های محلول برگ در شرایط تنش خشکی، نتایج متفاوتی وجود دارد. تعدادی از گزارش‌ها حاکی از کاهش پروتئین‌های محلول تحت تنش خشکی است. برای مثال در مطالعه‌ای گزارش شده است که پروتئین‌های محلول تحت شرایط تنش در مقایسه با گیاهان شاهد کاهش معنی‌داری نشان دادند (Zahoor et al., 2017). اما زمانی که گیاهان تحت تنش خشکی آبیاری

قبل از قرارگیری در شرایط تنش خشکی، در مقایسه با گیاهان تیمارنشده تحت تنش کم‌تر بود (Antoniou *et al.*, 2017) و محتوای پرولین در میان تیمارهای شاهد بدون تنش مشابه بود که مشخص می‌کند عدم کاربرد ملاتونین، موجب آسیب اسمزی در گیاهان شده است (Antoniou *et al.*, 2017). در گزارشی دیگری نیز مشخص شد که کاربرد ملاتونین به‌طور معنی‌داری پرولین را کاهش داد (Huang *et al.*, 2019). هم‌چنین مشاهده شده که ملاتونین موجب تجمع بسیار کم پرولین شده است که همین تجمع بسیار کم موجب افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانتی گردید و در پتانسیل آب بالا سهیم بود (Campos *et al.*, 2019).

مالون‌دی‌آلدهید

بررسی برش‌دهی اثرهای متقابل تنش × کیفیت بذر در سال اول مشخص کرد که در شرایط بدون تنش تفاوت معنی‌داری بین دو نوع کیفیت بذر از نظر میزان مالون‌دی‌آلدهید وجود نداشت، اما در زمان وقوع تنش خشکی، بذر تازه برداشت دارای مقدار کم‌تری مالون‌دی‌آلدهید بودند. به‌طوری‌که در مقایسه با بذر انبارشده، به میزان ۲۲ درصد، مالون‌دی‌آلدهید کم‌تری تولید کردند، که می‌توان نشانه‌ای از استحکام غشاها باشد (جدول ۵). هم‌چنین در سال دوم، در بررسی برش‌دهی اثرهای متقابل سه‌گانه، مشخص شد که در شرایط تنش خشکی، بذر انبارشده پاسخ مثبتی به محلول‌پاشی ملاتونین دادند، به‌طوری‌که در مقایسه با شاهد، میزان مالون‌دی‌آلدهید ۳۷/۴۹ درصد کاهش نشان داد که نشان از آسیب کم‌تر به غشاها است. به‌طوری‌که محلول‌پاشی ملاتونین در گیاهان حاصل از بذر زوال‌یافته ممکن است تأثیر مثبتی در کاهش آسیب ناشی از تنش خشکی داشته باشد (جدول ۸).

گزارش‌های متعددی مبنی بر افزایش بیش از حد

شد. اما با وقوع تنش خشکی، به‌طور معکوسی، محلول‌پاشی با ملاتونین، باعث افزایش معنی‌دار میزان پرولین تا ۰/۴۴۹ (میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) شد، به‌طوری‌که در مقایسه با شاهد (محلول‌پاشی با آب)، محلول‌پاشی با ملاتونین، میزان پرولین را تا ۱۹/۴۱ درصد افزایش داد (جدول ۵). در برش‌دهی اثر متقابل سه‌گانه در سال دوم، در شرایط بدون تنش و در گیاهان حاصل از بذر انبارشده، محلول‌پاشی ملاتونین باعث کاهش میزان پرولین شد، درحالی‌که در گیاهان حاصل از بذر تازه برداشت‌شده در همین شرایط، محلول‌پاشی ملاتونین باعث افزایش محتوای پرولین شد. نتایج ما نشان داد که به‌طور کلی، ملاتونین در شرایط تنش خشکی موجب افزایش میزان پرولین شد. کیفیت بذر به‌طور مجدد در پاسخ به ملاتونین نقش تعیین‌کننده‌ای داشت. به‌طوری‌که در شرایط بدون تنش، محلول‌پاشی ملاتونین باعث کاهش میزان پرولین شد اما در همین شرایط، در گیاهان حاصل از بذر تازه برداشت‌شده، محلول‌پاشی ملاتونین، میزان پرولین را افزایش داد. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد محلول‌پاشی ملاتونین در شرایط تنش خشکی در هر دو نوع کیفیت بذر، میزان پرولین را افزایش داد.

پرولین از گیاهان در برابر آسیب‌های ناشی از تنش از طریق ایجاد تنظیم اسمزی حفاظت می‌کند (Sperdouli & Moustakas, 2012). هم‌چنین پرولین به‌عنوان یک پاک‌کننده رادیکال آزاد است و عاملی برای حفظ تعادل پتانسیل اکسایشی-کاهش سلولی تحت شرایط تنش می‌باشد (Sperdouli & Moustakas, 2012). در بادام‌زمینی نشان داده شده است که افزایش محتوای پرولین سهم بسیار زیادی در تنظیم اسمزی دارد که در نهایت موجب تحمل به خشکی ارقام این گیاه شد (Zhang *et al.*, 2017). گزارش شده است که افزایش محتوای پرولین در بافت‌های گیاهان تیمارشده با ملاتونین

تعداد غوزه در بوته

بررسی برش‌دهی اثرهای متقابل سه‌گانه در سال اول در مورد تعداد غوزه در بوته نشان داد که در شرایط بدون تنش، بیش‌ترین تعداد غوزه در بوته با حدود ۴۰ عدد، متعلق به محلول‌پاشی ملاتونین در بذور جدید بود اما بذور قدیم پاسخ معکوسی به محلول‌پاشی ملاتونین دادند، به‌طوری‌که محلول‌پاشی ملاتونین موجب کاهش تعداد غوزه در بوته شد (جدول ۱۰). در سال دوم در بررسی اثر متقابل تنش × بذور، در شرایط بدون تنش، تفاوت معنی‌داری بین دو نوع کیفیت بذور وجود نداشت اما در شرایط تنش خشکی، محلول‌پاشی ملاتونین از کاهش تعداد غوزه در بوته جلوگیری کرد، به‌طوری‌که بذور قدیم، کاهش ۵۳ درصدی در تعداد غوزه در این شرایط را نشان دادند. هم‌چنین در همین سال در بررسی اثر متقابل کیفیت بذور × محلول‌پاشی، مشخص شد در هر دو نوع کیفیت بذور، بیش‌ترین تعداد غوزه در بوته با ۱۴/۹۳ و ۲۱/۱۸ عدد به‌ترتیب متعلق به محلول‌پاشی ملاتونین در بذور انبارشده و تازه برداشت‌شده بود (جدول ۱۱).

محتوای مالون‌دی‌آلدهید در شرایط تنش خشکی وجود دارد (Jumrani & Bhatia, 2019; Marček et al., 2019). گزارش شده است که کاربرد ملاتونین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش داد و پراکسیدهایروژن و تجمع مالون‌دی‌آلدهید را کاهش داده است (Ye et al., 2016) بنابراین کاربرد ملاتونین توانایی آنتی‌اکسیدانی را افزایش داده است (Ye et al., 2016). پژوهش‌گران متعددی از تأثیر ملاتونین در کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدهید و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی گزارش داده‌اند (Cui et al., 2018; Li et al., 2019). گزارش شده که ملاتونین نشت الکترولیت و پراکسیداسیون لیپیدها را طی پاسخ به تنش گیاه کاهش داده، به‌طوری‌که پیش‌تیمار با ملاتونین محتوای مالون‌دی‌آلدهید و نشت الکترولیت‌ها تحت تنش‌های غیرزنده کاهش داده است (Wang et al., 2017; Shi et al., 2015). به‌تازگی در ذرت نشان داده‌اند که ملاتونین با کاهش میزان مالون‌دی‌آلدهید و کاهش آسیب به غشا، توانست از غشای سلولی گیاه تحت تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی حفاظت کند (Huang et al., 2019).

جدول ۹. مقایسه میانگین اثرهای متقابل دوگانه عملکرد دانه گل‌رنگ تحت تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین در سال اول

عملکرد دانه (Kg. ha ⁻¹)	محلول‌پاشی	کیفیت بذور	تنش
۲۱۳۳b		انبارشده	بدون تنش
۲۶۷۷a		تازه برداشت‌شده	
۳۲۵۹a		انبارشده	تنش خشکی
۲۰۲۹b		تازه برداشت‌شده	
۲۱۲۶b	شاهد (آب مقطر)		بدون تنش
۲۶۸۴a	ملاتونین		
۲۶۱۲a	شاهد (آب مقطر)		تنش خشکی
۲۶۷۶a	ملاتونین		
۲۴۰۱b	شاهد (آب مقطر)	انبارشده	
۲۹۹۰a	ملاتونین		
۲۳۳۶a	شاهد (آب مقطر)	تازه برداشت‌شده	
۲۳۷۰a	ملاتونین		

در هر ستون و هر سطح، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون برش‌دهی اثر متقابل در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پاسخ‌های بیوشیمیایی گیاه گلرنگ تحت تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین در شرایط تنش خشکی

جدول ۱۰. مقایسه میانگین اثرهای متقابل سه‌گانه صفات عملکردی گلرنگ تحت تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین در سال اول

تنش	کیفیت بذر	محلول‌پاشی	تعداد غوزه در بوته	تعداد دانه در غوزه
بدون تنش	انبارشده	شاهد (آب مقطر)	۲۰/۸۷a	۲۷/۳۶b
		ملاتونین	۹/۰۰b	۴۳/۲۶a
تنش خشکی	تازه برداشت‌شده	شاهد (آب مقطر)	۸/۵۰b	۳۹/۹۰a
		ملاتونین	۳۹/۱۲a	۳۰/۱۸a
بدون تنش	انبارشده	شاهد (آب مقطر)	۲۰/۰۰a	۲۹/۸۲a
		ملاتونین	۲۲/۰۰a	۳۳/۶۴a
تنش خشکی	تازه برداشت‌شده	شاهد (آب مقطر)	۱۷/۰۰a	۲۸/۱۳a
		ملاتونین	۲۰/۰۰a	۳۴/۹۰a

در هر ستون و هر سطح، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون برش‌دهی اثر متقابل در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول ۱۱. مقایسه میانگین اثرهای متقابل دوگانه عملکرد و اجزا عملکرد بذر گلرنگ تحت تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین در سال دوم

تنش	کیفیت بذر	محلول‌پاشی	تعداد غوزه در بوته	تعداد دانه در غوزه	عملکرد دانه (Kg. ha ⁻¹)
بدون تنش	انبارشده	شاهد (آب مقطر)	۱۶/۱۲a		۳۲۲۴a
		ملاتونین	۱۶/۶۲a		۲۰۷۷b
تنش خشکی	تازه برداشت‌شده	شاهد (آب مقطر)	۱۰/۹۳b		۲۷۱۷a
		ملاتونین	۱۶/۷۵a		۲۱۰۵b
بدون تنش	انبارشده	شاهد (آب مقطر)	۱۰/۸۷b		
		ملاتونین	۲۱/۸۷a		
تنش خشکی	تازه برداشت‌شده	شاهد (آب مقطر)	۱۳/۴۳a		
		ملاتونین	۱۴/۲۵a		
بدون تنش	انبارشده	شاهد (آب مقطر)	۱۲/۱۲b	۳۱/۲۲b	
		ملاتونین	۱۴/۹۳a	۳۹/۶۶a	
تنش خشکی	تازه برداشت‌شده	شاهد (آب مقطر)	۱۲/۱۸b	۳۳/۷۷a	
		ملاتونین	۲۱/۱۸a	۳۱/۴۳a	

در هر ستون و هر سطح، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون برش‌دهی اثر متقابل در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

که تیمار با ملاتونین تعداد غلاف‌ها را افزایش داد (Wei et al., 2015). تعداد غوزه در بوته و نیز دانه در غوزه سهم مهمی در افزایش عملکرد گلرنگ دارند به طوری که در آزمایشی، عملکرد بیش‌تر گلرنگ را به افزایش در تعداد غوزه در بوته و دانه در غوزه مرتبط دانسته‌اند (Johnson et al., 2012).

طبق نتایج این آزمایش، تعداد غوزه در بوته در تنش خشکی کاهش یافت هرچند محلول‌پاشی ملاتونین موجب افزایش تعداد غوزه در بوته گردید. گزارش شده که در گلرنگ، تعداد غوزه‌ها به میزان بیش‌تری تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرند (Omid et al., 2012). هم‌چنین، در سویا گزارش شده

تعداد دانه در غوزه

بررسی برش‌دهی اثرهای سه‌گانه در سال اول نشان داد در مورد تعداد دانه در غوزه، تنها در شرایط بدون تنش، در بذور انبارشده، محلول‌پاشی ملاتونین موجب افزایش ۵۷ درصدی تعداد دانه در غوزه در مقایسه با شاهد شد و تفاوت معنی‌داری در سایر اثرها مشاهده نشد (جدول ۱۰). این روند در سال دوم در بررسی اثر متقابل کیفیت بذر × محلول‌پاشی نیز تکرار شد، به طوری که بیش‌ترین تعداد دانه در غوزه با کمی کم‌تر از ۴۰ عدد متعلق به محلول‌پاشی ملاتونین در بذور انبارشده بود (جدول ۱۱). کاهش در باروری گل‌ها به علت تنش خشکی نتیجه‌اش کاهش در تعداد دانه‌ها و افزایش در وزن دانه‌ها به علت افزایش مقدار مواد فتوسنتزی اختصاص‌یافته به هر دانه است. گزارش شده است که تعداد دانه در بوته در تمامی ارقام گل‌رنگ با افزایش کمبود آب، کاهش یافت (Nabipour et al., 2007). مرحله زایشی در مقایسه با مرحله رویشی به خشکی حساسیت بیشتری دارد، در نتیجه خشکی باعث تولید گل‌های کم‌تر، غلاف‌های ضعیف یا میوه شده که در نهایت تعداد دانه را کاهش می‌دهد (Seghatoleslami et al., 2008; Pushpavalli et al., 2015). در گندم نیز گزارش شده است که تعداد دانه در سنبله را تحت تنش خشکی افزایش داد (Nawaz et al., 2016). گزارش شده است که ملاتونین ممکن است نقش کلیدی در تنظیم رشد و نمو گیاه ایفا کند (Tan et al., 2012; Wei et al., 2015). اثرات ملاتونین بر رشد گیاه ممکن است از طریق فعال‌سازی رونویسی DNA و تقسیم سلولی و بسیاری ژن‌های مرتبط که به وسیله ملاتونین تنظیم افزایشی می‌شوند، به دست آید (Wei et al., 2014). به نظر می‌رسد محلول‌پاشی ملاتونین از طریق برخی فرایندها نظیر تقسیم سلولی سبب افزایش تعداد دانه در غوزه شده باشد.

عملکرد دانه

اثر متقابل دوگانه تنش × کیفیت بذر در مورد عملکرد دانه در سال اول نشان داد که در شرایط بدون تنش، بیش‌ترین عملکرد دانه با ۲۶۷۷ کیلوگرم در هکتار متعلق به بذور جدید بود، اما با وقوع تنش خشکی، به طور معکوسی، بیش‌ترین عملکرد دانه با ۳۲۵۹ کیلوگرم در هکتار متعلق به بذور انبارشده بود. در همین سال، برش‌دهی اثر متقابل کیفیت بذر × محلول‌پاشی نشان داد که تنها بذور انبارشده به محلول‌پاشی ملاتونین پاسخ مثبت دادند، به طوری که بیش‌ترین میزان عملکرد دانه با ۲۹۹۰ در هکتار با محلول‌پاشی ملاتونین حاصل شد (جدول ۹). بررسی اثر متقابل تنش × کیفیت بذر در سال دوم نشان داد که در هر دو شرایط بدون تنش و تنش خشکی، بیش‌ترین میزان عملکرد با ۳۲۲۴ و ۲۷۱۷ کیلوگرم در هکتار به ترتیب متعلق به بذور انبارشده در شرایط بدون تنش و تنش خشکی بود (جدول ۱۱).

گزارش شده است که در گوجه‌فرنگی، تیمار با ملاتونین ۰/۱ میلی‌مولار، به طور معنی‌داری تحمل به خشکی را افزایش داد (Wang et al., 2017). هم‌چنین تیمار با ملاتونین در گوجه‌فرنگی، افزایش میزان فتوسنتز خالص، میزان تعرق، هدایت روزنه‌ای، عملکرد کوآنزومی فتوسنتز، انتقال الکترون و حداکثر عملکرد کوآنزومی را نشان داد (Liu et al., 2015). تیمار با ملاتونین، محتوای قندهای محلول را افزایش داد و تجزیه آن را در طی پیری کند کرد که این موضوع، عملکرد بالقوه ملاتونین را در افزایش دادن عملکرد گیاه زراعی پیشنهاد می‌کند (Liang et al., 2018).

مرحله گلدهی گل‌رنگ حساس‌ترین مرحله به خشکی است (Farooq et al., 2009; Movahhedy-Dehnavy et al., 2009) و هر نقصانی در آب در این مرحله منجر به کاهش عملکرد می‌شود (Singh et al., 2016; Nazari et al., 2017).

از قبیل عملکرد دانه و اجزای آن برای ارزیابی تحمل به خشکی و تعیین ژنوتیپ‌های برتر تحت تنش خشکی عملکرد استفاده می‌شد، اما با بررسی ویژگی‌های بیوشیمیایی میتوان اطلاعات دقیق‌تری در مورد ویژگی‌های بنیادی تحمل به خشکی در گیاهان فراهم شود. محلول‌پاشی ملاتونین در پاسخ‌های متابولیکی گیاه تأثیر به‌سزایی داشت، افزایش دادن میزان پرولین در شرایط تنش با استفاده از محلول‌پاشی با ملاتونین و نیز کاهش دادن آسیب به غشاها و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها با استفاده از ملاتونین می‌تواند نقش مثبتی در افزایش تحمل به خشکی در گیاه گلرنگ ایفا کند. همچنین نقش ثابت‌شده ملاتونین در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت نیز در این آزمایش نیز مشخص شد. بهبود شرایط گیاه با کارکرد ملاتونین به‌عنوان پاک‌کننده رادیکال‌های آزاد در شرایط تنش‌های محیطی، موجب بهبود کارکرد سیستم‌های متابولیکی و آنزیمی در داخل گیاه شد. همچنین نقش ثابت‌شده ملاتونین در تنظیم رشد و تأثیر در کارکردهای مختلف گیاه از جمله تقسیم سلولی، طول‌شدن سلولی و گلدهی، در ویژگی‌های رشدی گیاه از جمله بهبود اجزای عملکرد گلرنگ از جمله تعداد غوزه، تعداد دانه در غوزه نشان‌دهنده تأثیر ملاتونین، به‌ویژه با استفاده از روش محلول‌پاشی بود. نتایج این پژوهش نشان داد که محلول‌پاشی ملاتونین باعث افزایش عملکرد دانه به‌ویژه در بذور انبارشده شد. همچنین محلول‌پاشی ملاتونین توانست تعداد غوزه در بوته را در هر دو نوع بذر انبارشده و تازه برداشت‌شده را افزایش دهد. به‌طورکلی، به‌نظر می‌رسد محلول‌پاشی ملاتونین در مرحله گلدهی که حساس‌ترین مرحله رشد گیاه نسبت به تنش خشکی باشد، تا حد قابل‌قبولی آسیب‌های ناشی از تنش خشکی را با تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و به‌ویژه تأثیر در کاهش آسیب به غشاها، کاهش داده باشد.

مهم‌ترین دلیل برای کاهش عملکرد، قطع جریان مواد فتوسنتزی به اندام زایشی است (Farooq *et al.*, 2009). کاهش در عملکرد دانه و عملکرد گلرنگ در گلرنگ تحت تنش کمبود آب، قبلاً گزارش شده است (Movahhedy-Dehnavy *et al.*, 2009; Sampaio *et al.*, 2016).

ذخایر مواد فتوسنتزی قبل از لفاح در گلرنگ برای دستیابی به عملکرد بالا، بسیار اهمیت دارند (Koutroubas *et al.*, 2004) و شرایط اقلیم خشک می‌تواند تأثیر زیادی بر سرعت و میزان فتوسنتز و اندازه مخزن دانه‌های گلرنگ گذاشته و منجر به کاهش فتوسنتز شود که تولید گلرنگ را محدود می‌کند (Koutroubas and Papakosta, 2010; Hussain *et al.*, 2016).

در آزمایشی گزارش شد که کاهش در عملکرد دانه با سطوح کم هدایت روزنه‌ای و فتوسنتز به‌خاطر فقدان مواد فتوسنتزی تحت تنش کمبود آب مرتبط بود (Nakagawa *et al.*, 2018). به‌تازگی گزارش شده است که پیش‌ تیمار ملاتونین تحت تنش خشکی از طریق افزایش هدایت روزنه‌ای موجب افزایش ظرفیت فتوسنتزی شده است (Li *et al.*, 2015).

بر این اساس مشخص شد که ملاتونین از طریق تنظیم ژن‌های سترکننده و تجزیه‌کننده اسید آبسزیک (ABA)، میزان ABA را تحت تنش خشکی کاهش می‌دهد. ملاتونین همچنین به‌عنوان پاک‌کننده پراکسید هیدروژن و آنزیم‌های تحریک‌کننده‌ای که مسئول متابولیز پراکسید هیدروژن به محصولات غیرمخرب هستند، نقش ایفا می‌کند. ترکیب این اثرات موجب می‌شود تا روزنه‌ها باز باقی بمانند (Reiter *et al.*, 2015) و فتوسنتز تحت تنش خشکی ادامه یابد و منجر به کاهش عملکرد نشود.

۴. نتیجه‌گیری

همان‌طورکه پیش‌تر اشاره شد، برای سال‌ها، صفات زراعی

- Antoniou, C., Chatzimichail, G., Xenofontos, R., Pavlou, J. J., Panagiotou, E., Christou, A., & Fotopoulos, V. (2017). Melatonin systemically ameliorates drought stress-induced damage in *Medicago sativa* plants by modulating nitro-oxidative homeostasis and proline metabolism. *Journal of Pineal Research*, 62(4), e12401.
- Arnao, M.B., & Hernández-Ruiz, J. (2015). Functions of melatonin in plants: a review. *Journal of Pineal Research*, 59(2), 133-150.
- Arnao, M. B., & Hernández-Ruiz, J. (2019). Melatonin: a new plant hormone and/or a plant master regulator? *Trends in Plant Science*, 24(1), 38-48.
- 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.
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205-207.
- Bodner, G., Nakhforoosh, A., & Kaul, H. P. (2015). Management of crop water under drought: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(2), 401-442.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Campos, C. N., Ávila, R. G., de Souza, K. R. D., Azevedo, L. M., & Alves, J. D. (2019). Melatonin reduces oxidative stress and promotes drought tolerance in young *Coffea arabica* L. plants. *Agricultural Water Management*, 211, 37-47.
- Chance, B., & Maehly, A.C. (1955). Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology*, 2, 764-775.
- Coşge, B., Gürbüz, B., & Kiralan, M. (2007). Oil content and fatty acid composition of some safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Varieties sown in spring and winter. *International Journal of Natural & Engineering Sciences*, 1(3).
- Cui, G., Sun, F., Gao, X., Xie, K., Zhang, C., Liu, S., & Xi, Y. (2018). Proteomic analysis of melatonin-mediated osmotic tolerance by improving energy metabolism and autophagy in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Planta*, 248(1), 69-87.

همچنین کیفیت بذر نقش مهمی در پاسخ گیاهان رشد یافته از بذور با کیفیت مختلف داشته باشد. طبق نتایج، گیاهان رشد یافته از بذور تازه برداشت شده پاسخ مثبتی به محلول پاشی ملاتونین دادند که می توان گفت گیاهان حاصل از بذور با کیفیت پایین در پاسخ به تیمارهای اعمال شده جهت کاهش آسیب ناشی از تنش های غیرمحیطی مختلف، ناکام ماندند. همچنین به دلیل این که این پژوهش برای اولین بار در ایران ماده ملاتونین را در کشاورزی و در مزرعه مورد بررسی قرار داده است و از این نظر تنها به دو تیمار اکتفا شد، پیشنهاد می شود غلظت های مختلف از ملاتونین نیز مورد آزمون قرار گیرد تا بعضی از اثرهای متناوب مشاهده در این آزمایش، مرتفع شود.

۵. تشکر و قدردانی

از همکاری و زحمات گروه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد جهت در اختیار قرار دادن مواد شیمیایی مورد نیاز و امکانات آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی، تشکر و قدردانی می گردد.

۶. تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۷. منابع

- Ahanger, M. A., Tyagi, S. R., Wani, M. R., & Ahmad, P. (2014). Drought tolerance: Roles of organic osmolytes, growth regulators and mineral nutrients. In: Ahmad P, Wani M R, eds., *Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants Under Changing Environment*. Springer, New York. pp. 25-56.
- Akbari, G. A., Heshmati, S., Soltani, E., & Amini Dehaghi, M. (2019). Influence of Seed Priming on Seed Yield, Oil Content and Fatty Acid Composition of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Grown Under Water Deficit. *International Journal of Plant Production*, 14, 245-258. <https://doi.org/10.1007/s42106-019-00081-5>

- de Souza, T. C., Magalhães, P. C., de Castro, E. M., Carneiro, N. P., Padilha, F. A., & Júnior, C. C. G. (2014). ABA application to maize hybrids contrasting for drought tolerance: changes in water parameters and in antioxidant enzyme activity. *Plant Growth Regulation*, 73(3), 205-217.
- De Vos, C.H.R., Schat, H., DeWaal, M.A.M., Vooijs, R., & Ernst, W.H.O. (1991). Increased resistance to copper-induced damage of the root cell plasmalemma in copper tolerant *Silene cucubalus*. *Physiologia Plantarum*, 82(4), 523-528.
- Demidchik, V. (2015). Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. *Environmental and Experimental Botany*, 109, 212-228.
- Demir, I., Ozuaydin, I., Yasar, F., & Van Staden, J. (2012). Effect of smoke-derived butenolide priming treatment on pepper and salvia seeds in relation to transplant quality and catalase activity. *South African Journal of Botany*, 78, 83-87.
- Demirevska, K., Zasheva, D., Dimitrov, R., Simova-Stoilova, L., Stamenova, M., & Feller, U. (2009). Drought stress effects on Rubisco in wheat: changes in the Rubisco large subunit. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31(6), 1129.
- Ebrahimian, E., Seyyedi, S. M., Bybordi, A., & Damalas, C. A. (2019). Seed yield and oil quality of sunflower, safflower, and sesame under different levels of irrigation water availability. *Agricultural Water Management*, 218, 149-157.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. B. S. M. A., & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. In *Sustainable agriculture* (pp. 153-188). Springer, Dordrecht.
- Fathi Amirkhiz, K., Amini Dehaghi, M., Modares Sanavy, S.A.M., & Rezazadeh, A. (2021). Evaluation of changes in fatty acid profile, grain, and oil yield of *Carthamus tinctorius* L. in response to foliar application of polyamine compounds under deficit irrigation conditions. *Industrial Crops and Products*, 161. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113231>
- Filippou, P., Bouchagier, P., Skotti, E., & Fotopoulos, V. (2014). Proline and reactive oxygen/nitrogen species metabolism is involved in the tolerant response of the invasive plant species *Ailanthus altissima* to drought and salinity. *Environmental and Experimental Botany*, 97, 1-10.
- Flemmer, A. C., Franchini, M. C., & Lindström, L. I. (2015). Description of safflower (*Carthamus tinctorius*) phenological growth stages according to the extended BBCH scale. *Annals of Applied Biology*, 166(2), 331-339.
- Flexas, J., Bota, J., Loreto, F., Cornic, G., & Sharkey, T. D. (2004). Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biology*, 6(03), 269-279.
- Gao, W., Zhang, Y., Feng, Z., Bai, Q., He, J., & Wang, Y. (2018). Effects of melatonin on antioxidant capacity in naked oat seedlings under drought stress. *Molecules*, 23(7), 1580.
- Ghanati, F., Morita, A., & Yokota, H. (2002). Induction of suberin and increase of lignin content by excess boron in tobacco cells. *Soil Science and Plant Nutrition*, 48(3), 357-364.
- Giannopolitis, C. N., & Ries, S. K. (1977). Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59(2), 309-314.
- Gong, H., Zhu, X., Chen, K., Wang, S., & Zhang, C. (2005). Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. *Plant Science*, 169(2), 313-321.
- Gray, S. B., & Brady, S. M. (2016). Plant developmental responses to climate change. *Developmental Biology*, 419(1), 64-77.
- Huang, B., Chen, Y., Zhao, Y., Ding, C., Liao, J., Hu, C., Zhou, L.J., Zhang, Z.W., Yuan, S., & Yuan, M. (2019). Exogenous melatonin alleviates oxidative damages and protects photosystem II in maize seedlings under drought stress. *Frontiers in Plant Science*, 10, 677.
- Hussain, M. I., Lyra, D. A., Farooq, M., Nikoloudakis, N., & Khalid, N. (2016). Salt and drought stresses in safflower: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 36(1), 4.
- Ibrahim, W., Zhu, Y. M., Chen, Y., Qiu, C. W., Zhu, S., & Wu, F. (2019). Genotypic differences in leaf secondary metabolism, plant hormones and yield under alone and combined stress of drought and salinity in cotton genotypes. *Physiologia Plantarum*, 165(2), 343-355.
- Johnson, R. C., Petrie, S. E., Franchini, M. C., & Evans, M. (2012). Yield and yield components of winter-type safflower. *Crop Science*, 52(5), 2358-2364.
- Jumrani, K., & Bhatia, V. S. (2019). Interactive effect of temperature and water stress on physiological and biochemical processes in soybean. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25(3), 667-681.
- Koutroubas, S. D., & Papakosta, D. K. (2010). Seed filling patterns of safflower: Genotypic and seasonal variations and association with other agronomic traits. *Industrial Crops and Products*, 31(1), 71-76.

- Koutroubas, S. D., Papakosta, D. K., & Doitsinis, A. (2004). Cultivar and seasonal effects on the contribution of pre-anthesis assimilates to safflower yield. *Field Crops Research*, 90(2-3), 263-274.
- Koutroubas, S. D., Papakosta, D. K., & Doitsinis, A. (2009). Phenotypic variation in physiological determinants of yield in spring sown safflower under Mediterranean conditions. *Field Crops Research*, 112(2-3), 199-204.
- Li, C., Tan, D. X., Liang, D., Chang, C., Jia, D., & Ma, F. (2015). Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behaviour in two *Malus* species under drought stress. *Journal of Experimental Botany*, 66(3), 669-680.
- Li, C., Wang, P., Wei, Z., Liang, D., Liu, C., Yin, L., Jia, D., Fu, M., & Ma, F. (2012). The mitigation effects of exogenous melatonin on salinity-induced stress in *Malus hupehensis*. *Journal of Pineal Research*, 53(3), 298-306.
- Li, J., Yang, Y., Sun, K., Chen, Y., Chen, X., & Li, X. (2019). Exogenous melatonin enhances cold, salt and drought stress tolerance by improving antioxidant defense in tea plant (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). *Molecules*, 24(9), 1826.
- Liang, B., Ma, C., Zhang, Z., Wei, Z., Gao, T., Zhao, Q., Ma, F., & Li, C. (2018). Long-term exogenous application of melatonin improves nutrient uptake fluxes in apple plants under moderate drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, 155, 650-661.
- 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.
- Liu, J., Wang, W., Wang, L., & Sun, Y. (2015). Exogenous melatonin improves seedling health index and drought tolerance in tomato. *Plant Growth Regulation*, 77(3), 317-326.
- Marček, T., Hamow, K. A., Vegh, B., Janda, T., & Darko, E. (2019). Metabolic response to drought in six winter wheat genotypes. *PloS One*, 14(2).
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., & Van Breusegem, F. (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science* 9(10), 490-498.
- Movahhedy-Dehnavy, M., Modarres-Sanavy, S. A. M., & Mokhtassi-Bidgoli, A. (2009). Foliar application of zinc and manganese improves seed yield and quality of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) grown under water deficit stress. *Industrial Crops and Products*, 30(1), 82-92.
- Nabipour, M., Meskarbashee, M., & Yousefpour, H. (2007). The effect of water deficit on yield and yield components of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10, 421-426.
- Nahar, K., Hasanuzzaman, M., Alam, M. M., & Fujita, M. (2015). Exogenous glutathione confers high temperature stress tolerance in mung bean (*Vigna radiata* L.) by modulating antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system. *Environmental and Experimental Botany*, 112, 44-54.
- Nakagawa, A. C., Itoyama, H., Ariyoshi, Y., Ario, N., Tomita, Y., Kondo, Y., Iwaya-Inoue, M., & Ishibashi, Y. (2018). Drought stress during soybean seed filling affects storage compounds through regulation of lipid and protein metabolism. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40(6), 111.
- Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867-880.
- Nawaz, A., Farooq, M., Ahmad, R., Basra, S. M. A., & Lal, R. (2016). Seed priming improves stand establishment and productivity of no till wheat grown after direct seeded aerobic and transplanted flooded rice. *European Journal of Agronomy*, 76, 130-137.
- Nazari, M., Mirlohi, A., & Majidi, M. M. (2017). Effects of drought stress on oil characteristics of *Carthamus* species. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 94(2), 247-256.
- Omidi, A. H., Khazaei, H., Monneveux, P., & Stoddard, F. (2012). Effect of cultivar and water regime on yield and yield components in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Turkish Journal of Field Crops*, 17(1), 10-15.
- Passioura, J. B. (2012). Phenotyping for drought tolerance in grain crops: when is it useful to breeders? *Functional Plant Biology*, 39(11), 851-859.
- Pushpavalli, R., Zaman-Allah, M., Turner, N. C., Baddam, R., Rao, M. V., & Vadez, V. (2015). Higher flower and seed number leads to higher yield under water stress conditions imposed during reproduction in chickpea. *Functional Plant Biology*, 42(2), 162-174.
- Ranganayakulu, G. S., Veeranagamallaiah, G., & Chinta, S. (2013). Effect of salt stress on osmolyte accumulation in two groundnut cultivars (*Arachis hypogaea* L.) with contrasting salt tolerance. *African Journal of Plant Science*, 7(12), 586-592.

- Reddy, P. S., Jogeswar, G., Rasineni, G. K., Maheswari, M., Reddy, A. R., Varshney, R. K., & Kishor, P. K. (2015). Proline over-accumulation alleviates salt stress and protects photosynthetic and antioxidant enzyme activities in transgenic sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 94, 104-113.
- Reiter, R. J., Tan, D. X., & Galano, A. (2014). Melatonin: exceeding expectations. *Physiology*, 29(5), 325-333.
- Reiter, R. J., Tan, D. X., Terron, M. P., Flores, L. J., & Czarnocki, Z. (2007). Melatonin and its metabolites: new findings regarding their production and their radical scavenging actions. *Acta Biochimica Polonica*, 54(1), 1-9.
- 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.
- Riasat, M., Kiani, S., Saed-Mouchehsi, A., & Pessarakli, M. (2019). Oxidant related biochemical traits are significant indices in triticales grain yield under drought stress condition. *Journal of Plant Nutrition*, 42(2), 111-126.
- Sampaio, M. C., Santos, R. F., Bassegio, D., de Vasconcelos, E. S., de Almeida Silva, M., Secco, D., & da Silva, T. R. B. (2016). Fertilizer improves seed and oil yield of safflower under tropical conditions. *Industrial Crops and Products*, 94, 589-595.
- Santos, R. F., Bassegio, D., & de Almeida Silva, M. (2017). Productivity and production components of safflower genotypes affected by irrigation at phenological stages. *Agricultural Water Management*, 186, 66-74.
- Sarker, U., & Oba, S. (2018) Drought stress effects on growth, ROS markers, compatible solutes, phenolics, flavonoids, and antioxidant activity in *Amaranthus tricolor*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 186(4), 999-1016.
- Savvides, A., Ali, S., Tester, M., & Fotopoulos, V. (2016). Chemical priming of plants against multiple abiotic stresses: mission possible? *Trends in Plant Science*, 21(4), 329-340.
- Saxton, K. E., Rawls, W., Romberger, J. S., & Papendick, R. I. (1986). Estimating generalized soil-water characteristics from texture 1. *Soil Science Society of America Journal*, 50(4), 1031-1036.
- Seghatoleslami, M. J., Kafi, M., & Majidi, E. (2008). Effect of drought stress at different growth stages on yield and water use efficiency of five proso millet (*Panicum miliaceum* L.) genotypes. *Pakistan Journal of Botany*, 40(4), 1427-1432.
- Selote, D. S., & Khanna-Chopra, R. (2004). Drought-induced spikelet sterility is associated with an inefficient antioxidant defence in rice panicles. *Physiologia Plantarum*, 121(3), 462-471.
- Shi, H., Jiang, C., Ye, T., Tan, D. X., Reiter, R. J., Zhang, H., Liu, R., & Chan, Z. (2015). Comparative physiological, metabolomic, and transcriptomic analyses reveal mechanisms of improved abiotic stress resistance in bermudagrass [*Cynodon dactylon* (L.) Pers.] by exogenous melatonin. *Journal of Experimental Botany*, 66(3), 681-694.
- Sinclair, T. R. (2011). Challenges in breeding for yield increase for drought. *Trends in Plant Science*, 16(6), 289-293.
- Singh, S., Angadi, S. V., Grover, K., Begna, S., & Auld, D. (2016). Drought response and yield formation of spring safflower under different water regimes in the semiarid Southern High Plains. *Agricultural Water Management*, 163, 354-362. doi:10.1016/J.AGWAT.2015.10.010
- Soheili-Movahhed, S., Khomari, S., Sheikhzadeh, P., & Alizadeh, B. (2019). Improvement in seed quantity and quality of spring safflower through foliar application of boron and zinc under end-season drought stress. *Journal of Plant Nutrition*, 42(8), 942-953.
- Sperdoui, I., & Moustakas, M. (2012) Differential response of photosystem II photochemistry in young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* to the onset of drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34(4), 1267-1276.
- Tan, D. X., Hardeland, R., Manchester, L. C., Korkmaz, A., Ma, S., Rosales-Corral, S., & Reiter, R. J. (2012). Functional roles of melatonin in plants, and perspectives in nutritional and agricultural science. *Journal of Experimental Botany*, 63(2), 577-597.
- Wang, L., Feng, C., Zheng, X., Guo, Y., Zhou, F., Shan, D., Liu, X., & Kong, J. (2017). Plant mitochondria synthesize melatonin and enhance the tolerance of plants to drought stress. *Journal of Pineal Research*, 63(3), e12429.
- Wang, X., Liu, H., Yu, F., Hu, B., Jia, Y., Sha, H., & Zhao, H. (2019). Differential activity of the antioxidant defence system and alterations in the accumulation of osmolyte and reactive oxygen species under drought stress and recovery in rice (*Oryza sativa* L.) tillering. *Scientific Reports*, 9(1), 8543.

- 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., & Chen, S. Y. (2015). Melatonin enhances plant growth and abiotic stress tolerance in soybean plants. *Journal of Experimental Botany*, 66(3), 695-707.
- Yau, S. K. (2007). Winter versus spring sowing of rain-fed safflower in a semi-arid, high-elevation Mediterranean environment. *European Journal of Agronomy*, 26(3), 249-256.
- Ye, J., Wang, S., Deng, X., Yin, L., Xiong, B., & Wang, X. (2016). Melatonin increased maize (*Zea mays* L.) seedling drought tolerance by alleviating drought-induced photosynthetic inhibition and oxidative damage. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(2), 48.
- Zahoor, R., Zhao, W., Abid, M., Dong, H., & Zhou, Z. (2017). Potassium application regulates nitrogen metabolism and osmotic adjustment in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) functional leaf under drought stress. *Journal of Plant Physiology*, 215, 30-38.
- Zaoui, S., Gautier, H., Bancel, D., Chaabani, G., Wasli, H., Lachaâl, M., & Karray-Bouraoui, N. (2016). Antioxidant pool optimization in *Carthamus tinctorius* L. leaves under different NaCl levels and treatment durations. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(8), 187.
- Zhang, H. J., Zhang, N. A., Yang, R. C., Wang, L., Sun, Q. Q., Li, D. B., Cao, Y.Y., Weeda, S., Zhao, B., Ren, S., & Guo, Y. D. (2014). Melatonin promotes seed germination under high salinity by regulating antioxidant systems, ABA and GA 4 interaction in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Pineal Research*, 57(3), 269-279.
- Zhang, J., Kenworthy, K., Unruh, J. B., Erickson, J., & MacDonald, G. (2017). Changes of leaf membrane fatty acid composition and saturation level of warm-season turfgrass during drought stress. *Crop Science*, 57(5), 2843-2851.
- Zhang, N., Sun, Q., Zhang, H., Cao, Y., Weeda, S., Ren, S., & Guo, Y. D. (2015). Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants. *Journal of Experimental Botany*, 66(3), 647-656.
- Zhang, T., Hu, Y., Zhang, K., Tian, C., & Guo, J. (2018). Arbuscular mycorrhizal fungi improve plant growth of *Ricinus communis* by altering photosynthetic properties and increasing pigments under drought and salt stress. *Industrial Crops and Products*, 117, 13-19.
- Zhang, Z., Cao, B., Gao, S., & Xu, K. (2019). Grafting improves tomato drought tolerance through enhancing photosynthetic capacity and reducing ROS accumulation. *Protoplasma*, 256(4), 1013-1024.