Effect of Melatonin Pretreatment in Improving some Vegetative and Physiological Traits of *Calendula officinalis* under Salt Stress

M. Karimi[1*], M. Eslami[1] and F. Ghorbanalizade[1]

نسخه پیش از انتشار

Abstract

The purpose of the experiment was to investigate the role of melatonin in improving the morphological characteristics of marigold (*Calendula officinalis* L.) under salt stress. The present experiment was conducted as a factorial arrangement in a completely randomized design with three replications. Melatonin at three levels (zero, 100 and 150 µM) and salinity at four levels (zero, 30, 60 and 90 mM) were considered as the first and second factors, respectively. According to the obtained results, the highest plant height, the highest number of leaves and the longest root length were obtained in 150 µM melatonin without salt treatment. On the other hand, at 90 mM salinity and without the presence of melatonin, the lowest number of leaves and height were observed. Root fresh weight at different salinity levels showed a downward trend with increasing salinity concentration, so that the lowest root fresh weight was observed in 90 mM salt concentration without melatonin. Also, the root fresh weight increased with the increase in melatonin concentration. The highest leaf relative water content and leaf potassium percentage in melatonin was 150 micromolar, and with increasing salt concentration, leaf relative water content and potassium ion concentration decreased.The highest amount of soluble sugar was found in 60 mM salinity + 100 µM melatonin and proline in 60 mM salinity + 150 µM melatonin. According to the obtained results, melatonin pretreatment can be effective in improving the vegetative and physiological traits of marigold under salt water stress.

Keywords: Antioxidant, Potassium, Proline, Environmental stress, Biomass, Sodium.

Background and Objectives: High NaCl levels, due to osmosis and ionization, can significantly diminish plant height, leaf area, and the fresh and dry weights of shoots and roots. Melatonin, a ubiquitous molecule produced in plants. Melatonin acts as a growth regulator similar to indole acetic acid (IAA), which promotes cell expansion and growth (Brugnoli and Lauteri, 1991, Meloni et al., 2003, Ye et al., 2016). Under NaCl stress, plants close the stomata to prevent water loss, and this can result in decreased stomatal conductance and photosynthesis activity. However, it has been shown that the application of melatonin makes the stress conditions bearable for plants and leads to the opening of stomata, which has been reported to improve the photosynthetic machinery in sunflower and citrus plants(Brugnoli and Lauteri, 1991, Meloni et al., 2003, Ye et al., 2016). The aim of the present study was to investigate the role of melatonin in marigold, in order to improve vegetative and physiological traits.

1- Dept. of Horticultural Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
* Corresponding author, Email: karimi@sanru.ac.ir

Methods: A factorial experiment in a completely randomized design with two factors and three replications was conducted in greenhouse conditions at Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University. Melatonin at three levels (zero, 100 and 150 µM) and salinity at four levels (zero, 30, 60 and 90 mM) were considered as the first and second factors, respectively. The average day and night temperatures in the greenhouse were recorded as 25 and 17 ˚C, respectively, with a relative humidity of 75%. Marigold seedlings were sprayed three times every ten days. One week after the last melatonin treatment, irrigation with sodium chloride was applied every 7 days for 35 days. One week after the last application of sodium chloride, some traits such as plant height, number of leaves, flower diameter, root length root fresh and dry weight, relative leaf water content, soluble sugar, Proline, ion leakage, sodium and potassium were measured.

Results: The interaction between salinity and melatonin affected plant height, number of leaves; root length, root volume and root dry weight. The highest plant height (17 cm), the highest number of leaves (34) and the longest root length (18.83 cm) were obtained in the 150 µM melatonin treatment without salt (Table 2). The highest root volume and dry weight were observed in 100 µM melatonin treatment without salt. The highest relative leaf water content and potassium percentage were obtained in 150 µM melatonin treatment. The highest amount of soluble sugar and Proline were created in sodium chloride 60 mM + melatonin 100 µM and sodium chloride 60 mM + melatonin 150 µM, respectively. At 30 mM salinity without the use of melatonin, the lowest Proline was recorded. The highest amount of sodium was recorded at 60 mM sodium chloride. At the concentration of 150 µM melatonin, the amount of sodium in the leaf decreased. With the increase of salt concentration, ion leakage increased and it was the highest at 90 mM salinity. At the concentration of 150 µM melatonin compared to the control treatment, a decrease in ion leakage was observed.

Conclusions: The results of this study showed that salinity stress reduced the vegetative traits of marigolds, but the use of melatonin reduced the damage under salinity stress conditions. Melatonin, by protecting the membrane and structure of plant cells, maintaining the antioxidant system and helping to absorb potassium and reducing sodium absorption, could increase the resistance of marigold against salt stress. As a result, the use of melatonin has moderated the effects of salinity and improved plant growth in saline conditions. Therefore, based on the obtained results, it is recommended to use melatonin 100 and 150 µM for marigolds under salinity stress conditions.

References:

1- EL-Bauome, H.A., Abdeldaym, E.A., Abd El-Hady, M.A., Darwish, D.B.E., Alsubeie, M.S., El-Mogy, M.M., Basahi, M.A., AlQahtani, S.M., Al-Harbi, N.A., Alzuaibr, F.M. 2022. Exogenous Proline, methionine, and melatonin stimulate growth, quality, and drought tolerance in cauliflower plants. Agric. 12, 1301. https://doi.org/10.3390/agriculture12091301.

2- 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.

اثر پیش تیمار ملاتونین در بهبود برخی صفات رویشی و فیزیولوژیکی گیاه همیشه بهار تحت آبیاری با آب شور

مهناز کریمی[1*]، منیژه اسلامی و فاطمه قربانعلی‌زاده

نسخه پیش از انتشار

چکیده

ملاتونین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی معرفی شده است که در شرایط تنش، نقش حفاظتی داشته و در هنگام مواجهه با تنش‌های مختلف از جمله شوری به‌عنوان یک تنظیم‌کننده اسمزی و اصلاح‌کننده متابولیکی عمل می‌کند. به‌منظور بررسی اثر پیش تیمار ملاتونین بر بهبود خصوصیات مورفوفیزیولوژیک گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. ملاتونین در سه سطح (صفر، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار) و شوری در چهار سطح (صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار) به‌ترتیب به‌عنوان تیمار اول و دوم در نظر گرفته شدند. طبق نتایج به‌دست آمده بیش‌ترین ارتفاع گیاه، بیش‌ترین تعداد برگ و بلندترین طول ریشه در تیمار ملاتونین ۱۵۰ میکرومولار بدون شوری به‌دست آمد. در مقابل در شوری ۹۰ میلی‌مولار و بدون حضور ملاتونین کم‌ترین تعداد برگ و ارتفاع مشاهده شد. وزن تر ریشه در سطوح مختلف شوری همگام با افزایش غلظت شوری روند نزولی نشان داد به‌طوری‌که کم‌ترین وزن تر ریشه در غلظت ۹۰ میلی‌مولار نمک بدون ملاتونین مشاهده شد. همچنین وزن تر ریشه همراه با افزایش غلظت ملاتونین به کار برده شده افزایش داشت. بیش‌ترین محتوای آب نسبی برگ و درصد پتاسیم برگ در تیمار ملاتونین ۱۵۰ میکرومولار بود و با افزایش غلظت نمک، محتوای آب نسبی برگ و غلظت یون پتاسیم در برگ کاهش نشان داد. بیش‌ترین میزان قند محلول در شوری ۶۰ میلی‌مولار به‌علاوه تیمار ملاتونین ۱۰۰ میکرومولار و بیش‌ترین مقدار پرولین در تیمار شوری ۶۰ میلی‌مولار به‌علاوه تیمار ملاتونین ۱۵۰ میکرومولار ایجاد شد. با توجه به نتایج به‌دست آمده پیش تیمار ملاتونین در بهبود صفات رویشی و فیزیولوژیک همیشه بهار تحت تنش با آب شور مؤثر واقع شد. بررسی کنونی نشان داد که کاربرد خارجی ملاتونین توانست اثر شوری به‌ویژه در غلظت‌های ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، پتاسیم، پرولین، تنش محیطی، زیست‌توده، سدیم.

مقدمه

گل همیشه بهار گیاه علفی یکساله از خانواده کلاپرک‌سانان، بومی جنوب اروپا و نواحی مدیترانه است که در نقاط مختلف جهان کشت می‌شود (Azizi et al., 2024). یکی از پرکاربردترین

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

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: karimi@sanru.ac.ir

گل‌های فصلی بوده که در تزئین فضای سبز شهری برای حاشیه باغچه‌ها استفاده می‌شود. این گل با ارتفاع متوسط، رشد متراکم و گلدهی خوبی که دارد و با توجه به تیپ‌های کم پر و پرپر آن به‌صورت گلدانی هم استفاده می‌شود. از گلبرگ‌ها و رنگدانه آن در صنایع غذایی استفاده می‌شود. این گیاه یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی بوده که در درمان بیماری‌های بسیاری از جمله تورم ماهیچه‌ای و کمر درد، زخم‌ها، مسمومیّت، استفراغ و اسهال مورد استفاده قرار می‌گیرد (Arora et al., 2013, Aydin Acar et al., 2024). تغییرات آب و هوایی به‌همراه گرمایش جهانی به شدت بر چرخه هیدرولوژیکی منطقه و جهان تأثیر می گذارد که این تغییرات منجر به فراوانی رویدادهای تنش‌زا می شود (Khan et al., 2024). شوری یک تنش غیرزنده گسترده است که تولیدات کشاورزی را به‌طور جدی محدود می‌کند. خاک و آب شور بر فرآیندهای مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی در گیاهان در طی مراحل رشد تأثیر می‌گذارد و منجر به زیان اقتصادی در طول بهره‌وری محصول می‌شود (Raza et al., 2022). تحقیق و پژوهش در تولید گیاهان زینتی که در فضای سبز به‌کار می‌روند و تحت تنش‌های مختلف قرار می‌گیرند کمک شایانی به تولید و پرورش این گیاهان در شرایط مختلف محیطی می‌کند (Zulfiqar et al., 2023). گیاهانی که سازوکار عملکردی تحمل نمک را توسعه داده‌اند می‌توانند در خاک‌هایی با غلظت بالاتر نمک رشد کنند. افزایش غلظت نمک خاک توانایی گیاه را برای جذب آب کاهش می‌دهد. یون‌های سدیم و کلر به مقدار زیاد جذب می شوند، که باعث اختلال در فرآیندهای متابولیک، کاهش کارایی فتوسنتز و تأثیر منفی بر رشد گیاه می‌گردد (Deinlein et al., 2014). گیاهان همچنین تحمل یونی را با فعال‌کردن مسیرهای سیگنالی مختلف ایجاد شده توسط ورود نمک به سیستم ریشه ایجاد می‌کنند. گیاهان حرکت خالص سدیم در ریشه و انتقال آن را به‌سمت اندام هوایی کاهش می‌دهند (Usman et al., 2023). آستانه تحمل گیاهان به تنش شوری متفاوت می‌باشد در پژوهشی روی گل همیشه بهار در غلظت بالای ۱۰۰ میکرومولار کلرید سدیم، کاهش در رشد رویشی ، وزن تر اندام هوایی و کاهش جذب آب مشاهده شد (Koskal et al., 2016).

ملاتونین موجود در پستانداران و گیاهان، نقش مهمی در دفاع گیاه در برابر انواع تنش‌ها از جمله شوری دارد. ملاتونین عملکردهای مختلف فیزیولوژیکی و مولکولی را تنظیم می‌کند. این ماده به‌طور قابل توجهی سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی را در طول تنش نمک با حذف رادیکال‌های آزاد و تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی کنترل می‌کند (Dehnavi et al., 2022; Deinlein et al., 2014). این عملکردها فتوسنتز و هموستاز یونی را تقویت کرده و در عین حال برخی هورمون های درونی گیاه، اکسید نیتریک و پلی‌آمین‌های درونی را تحریک کرده در نتیجه تحمل به تنش با افزایش سطوح درون‌زا در گونه‌های مختلف گیاهی بهبود می‌یابد (Tiwari et al., 2023).

شوری باعث افت صفات مورفولوژیکی گیاهان از جمله طول ریشه، تعداد برگ، وزن تر و خشک ریشه، محتوای نسبی آب برگ و عنصر پتاسیم می‌گردد همچنین باعث افزایش پرولین، نشت یونی، قند محلول و عنصر سدیم در گیاهان شده که با کاربرد ملاتونین اثرات تنش شوری کم‌تر مشاهده می شود (Zulfiqar et al., 2024, Arabasadi et al., 2024, EL-Bauome et al., 2024, Zhou et al., 2024, Farouk et al., 2020). در مطالعه‌ای اثر کاربرد ملاتونین خارجی (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) در گیاه آلاله (*Ranunculus asiaticus* L.) تحت تنش شوری (۴/۵ و ۵/۵ دسی‌زیمنس برمتر) بررسی شد. در این پژوهش غلظت ۲۰۰ میکرومولار ملاتونین باعث افزایش صفات رشدی گیاه، افزایش محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها، افزایش محتوای آب نسبی برگ، محتوای پرولین، فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاهش نشت الکترولیت و محتوای سدیم تحت تنش شوری شد (Eisa et al.,2023). بررسی مقاومت گیاهان زینتی به شوری برای کاربرد آن‌ها در مناطق فضای سبز ساحلی و خشک می‌تواند مفید واقع شود. هدف از مطالعه حاضر نیز بررسی اثر شوری و نقش ملاتونین در مقاومت به شوری گیاه همیشه بهار و بهبود صفات رویشی و فیزیولوژیکی آن تحت تنش شوری بود.

نسخه پیش از انتشار

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی پیش تیمار ملاتونین بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی همیشه بهار آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری اجرا شد. دو تیمار مورد نظر شامل ملاتونین در سه سطح (صفر، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار) و شوری در چهار سطح (صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار معادل با صفر، ۳، ۶ و ۹ دسی‌زیمنس بر متر) که توسط نمک کلرید سدیم ساخته شد.

ابتدا نشاءهای چهار برگی همیشه بهار در بستر (کوکوپیت + پرلیت + خاک باغچه) به نسبت ۱:۱:۱ در گلدان‌هایی با دهانه ۱۰ سانتی‌متری کاشته شدند. هر گیاه در یک گلدان جداگانه کشت گردید. یک هفته بعد از سازگاری گیاهان، محلول‌پاشی ملاتونین با غلظت‌های مورد نظر اعمال شد. تیمار با ملاتونین سه مرتبه و به فاصله هر ۱۰ روز انجام گردید. یک هفته بعد از آخرین محلول‌پاشی ملاتونین، آبیاری با آب شور با غلظت‌های مورد نظر کلرید سدیم انجام گرفت. آبیاری با آب شور هر ۷ روز به‌مدت ۳۵ روز اعمال گردید. در هر مرحله اعمال تنش، آب حاوی کلرید سدیم در گلدان‌ها به مقداری استفاده گردید تا آب از زیر گلدان خارج گردد تا تجمع نمک در بستر کشت صورت نگیرد. پس از گذشت یک هفته از آخرین اعمال تنش برخی صفات از جمله ارتفاع گیاه، تعداد برگ، قطر گل، طول ریشه، حجم ریشه، وزن تر و خشک ریشه، محتوای نسبی آب برگ، درصد مهار آنتی‌اکسیدانی، قند محلول، پرولین، نشت یونی، عناصر سدیم و پتاسیم اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری تعداد برگ با شمارش، قطر گل، ارتفاع گیاه و طول ریشه با استفاده از خط‌کش انجام شد. برای اندازه‌گیری حجم ریشه ابتدا گلدان را در ظرفی از آب قرار داده تا ریشه به‌صورت کامل و به راحتی از بستر خارج شود بعد استوانه مدرج با حجم مشخصی آب پر شده و ریشه را درون آن شناور گردید و سپس اختلاف سطح آب با استفاده از استوانه مدرج به‌دست آورده شد. اختلاف سطح آب در دو حالت بررسی شد زمانی که استوانه مدرج فقط حاوی آب بود و زمانی که ریشه در آب قرار گرفت. بدین ترتیب اندازه‌گیری حجم ریشه انجام شد. برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب ابتدا نمونه‌ای از برگ توسعه‌یافته و کامل تهیه شده و وزن تر آن با ترازوی دقیق اندازه‌گیری شد (برگ‌ها نباید دچار شکستگی و پارگی باشند)، سپس تمامی نمونه‌ها در آب مقطر قرار گرفت و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای چهار درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت وزن اشباع برگ‌ها اندازه‌گیری و برگ‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت دیگر در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفت و وزن خشک اندازه‌گیری گردید. در پایان محتوای نسبی آب نمونه‌ها با استفاده از فرمول (۱) محاسبه گردید (Sánchez et al., 1998):

$$RWC= (Fw-Dw/Sw-Dw) \times 100 \quad (۱)$$

که در این فرمول پارامتر های Fw وزن تازه برگ، Dw وزن خشک برگ و Sw نیز وزن اشباع برگ گیاه بعد از قرارگیری در آب مقطر است.

قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد (بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی) DPPH نیز از طریق فرمول (۲) اندازه‌گیری شد(Moon and Terao, 1998):

$$\%A= (AC-AS/AC)\times 100 \quad (۲)$$

که در آن، A درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH، A_S جذب نمونه ارزیابی شده در طول موج ۵۱۷ نانومتر و A_C جذب نمونه شاهد می‌باشد.

قند محلول با استفاده از معرف آنترون با دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۶۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (Fales, 1951). برای اندازه‌گیری پرولین نیم‌گرم بافت گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر محلول سه درصد سولفوسالیسیلیک‌اسید در هاون با هم مخلوط و کاملاً خرد شد. دو میلی‌لیتر از مایع برداشته شد و دو میلی‌لیتر اسید نین‌هیدرین و دو میلی‌لیتر استیک‌اسید به مایع اضافه و مخلوط گردید. این مخلوط در حمام آب گرم قرار داده شد و سپس در حمام آب سرد و با اضافه‌کردن چهار میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط و پس از سرد شدن و رسیدن به دمای اتاق با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در طول موج

نسخه پیش از انتشار

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر ملاتونین بر برخی صفات رشدی در همیشه بهار تحت تنش شوری

Table 1. Variance analysis of the effect of melatonin on some Growth traits in marigold under salt stress

منابع تغییرات Sources of Variation	درجه آزادی df	ارتفاع Height	تعداد برگ Leaf number	طول ریشه Root Length	حجم ریشه Root volume	وزن تر ریشه Root Fresh Weight	وزن خشک ریشه Root Dry Weight
شوری (A) Salinity	3	125.81**	701.22**	115.97**	267.43**	66.03**	3.22**
ملاتونین (B) melatonin	2	13.88**	49.11**	12.50**	18.36**	8.51**	0.18**
A*B	6	3.322**	6.40**	2.54**	3.99**	0.13 ns	0.07*
خطا (Error)	24	0.05	0.28	0.28	0.13	0.07	0.02
ضریب تغییرات CV (%)		2.50	2.99	4.27	2.50	1.91	15.97

ns، * و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

ns, * and ** are non-significant, significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

۵۲۰ نانومتر قرائت شد (Bates, 1973). برای ارزیابی میزان نفوذپذیری غشا، از شاخص نشت یونی استفاده شد (Lutts et al., 1996). پس از تهیه نمونه‌های برگی از هر تیمار و شستشو با آب مقطر، نمونه‌ها به‌همراه ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس مقدار نشت یونی توسط دستگاه هدایت‌سنج قرائت گردید (EC1) سپس، نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه به حمام آب گرم با دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد منتقل و پس از خنک شدن مجدداً نشت یونی قرائت شد (EC2) و بر اساس رابطه (۳) محاسبه گردید:

نشت یونی=(EC1 / EC2)×100 (۳)

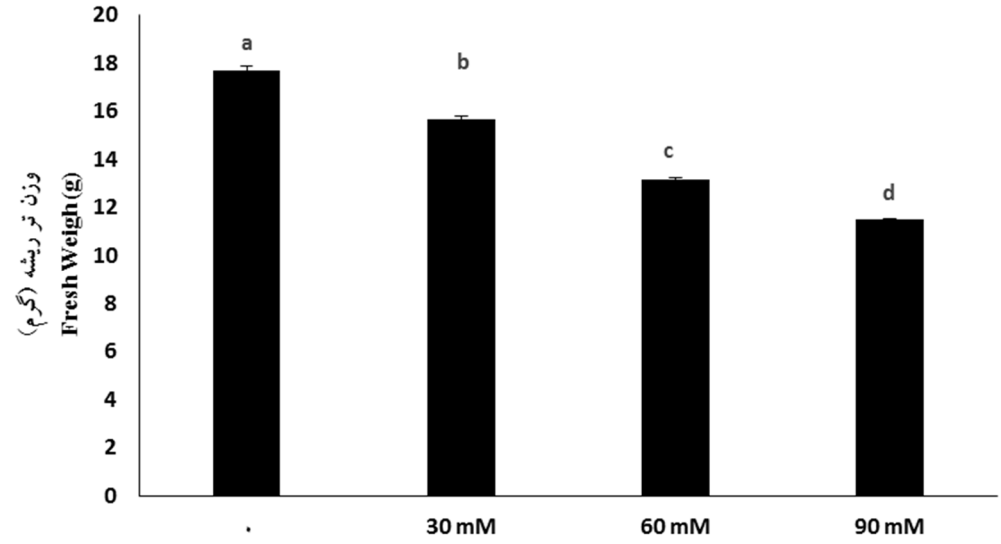
برای اندازه‌گیری غلظت عناصر، نمونه‌های برگ در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت خشک گردیده و به‌صورت پودر درآمدند (Hamada and EL-enany, 1994). نمونه پودر شده به روش سوزاندن خشک و ترکیب با اسید هیدروکلریک در کوره تا ۵۵۰ درجه به‌مدت چهار ساعت انجام شد و سپس عصاره نهایی به‌دست آمد. پس از تهیه عصاره، پتاسیم و سدیم با استفاده از دستگاه فلایم‌فتومتر محاسبه گردید (Wahing et al., 1989).

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم افزار SAS و مقایسه میانگین با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج

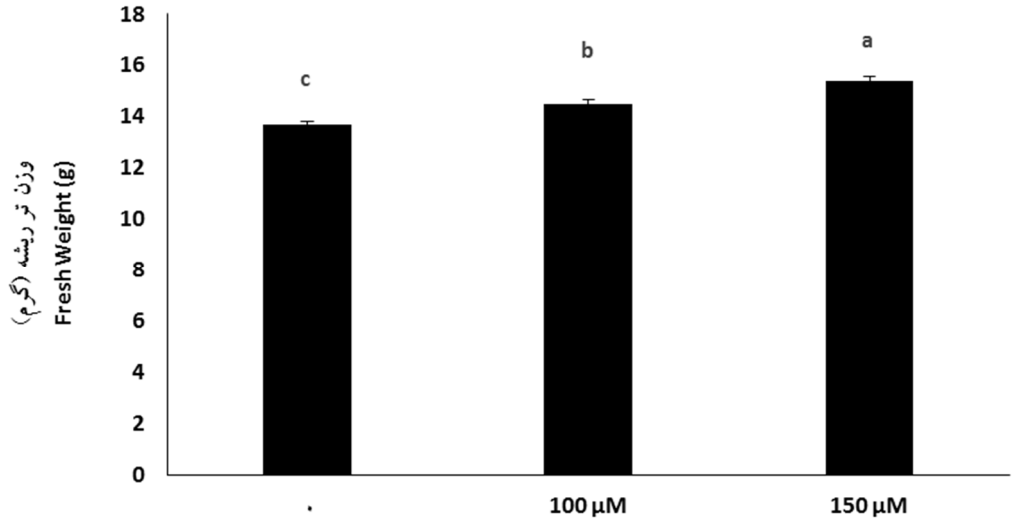
نتایج جدول (۱) تجزیه واریانس نشان داد برهمکنش تیمار شوری و ملاتونین در سطح احتمال یک درصد ارتفاع، تعداد برگ، طول ریشه، حجم ریشه و در سطح احتمال پنج در صد وزن خشک ریشه را تحت‌تأثیر قرار داد. وزن تر ریشه تحت تأثیر اثر ساده تیمارها در سطح احتمال یک در صد قرار گرفت. بیش‌ترین ارتفاع گیاه (۱۷ سانتی‌متر) با افزایش ۳۶/۱۸ درصدی، بیش‌ترین تعداد برگ (۳۴ عدد) با افزایش ۲۹/۹۶ درصدی و بلندترین طول ریشه (۱۸/۸۳ سانتی‌متر) با افزایش ۱۸/۳۵ درصدی نسبت به شاهد در تیمار ملاتونین ۱۵۰ میکرومولار بدون شوری به‌دست آمد (جدول ۲). بیش‌ترین حجم و وزن خشک ریشه در تیمار ملاتونین ۱۰۰ میکرومولار بدون شوری و کم‌ترین آن‌ها در تیمار ۹۰ میلی‌مولار شوری بدون ملاتونین مشاهده شد به‌طوری که شوری باعث کاهش ۴۹/۱۳ درصدی

نسخه پیش از انتشار



شکل ۱. اثر غلظت‌های مختلف شوری (میلی‌مولار) بر وزن تر ریشه همیشه بهار

Fig. 1. Effect of different salinity levels on fresh weight of Marigold



شکل ۲. اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین (میکرومولار) بر وزن تر ریشه همیشه بهار

Fig. 2. Effect of different melatonin levels on root fresh weight of Marigold

حجم و ۸۴/۲۱ در صدی وزن خشک ریشه گردید (جدول ۲). وزن تر ریشه در سطوح مختلف شوری همگام با افزایش غلظت شوری روند نزولی نشان داد به‌طوری‌که بیش‌ترین وزن تر ریشه در گروه شاهد و کم ترین وزن تر ریشه در غلظت ۹۰ میلی‌مولار نمک مشاهده شد. همچنین وزن تر ریشه همراه با افزایش غلظت ملاتونین به‌کار برده شده افزایش داشت (شکل ۱).

نتایج جدول (۳) تجزیه واریانس نشان داد برهمکنش تیمار شوری و ملاتونین در سطح احتمال یک درصد محتوای آب نسبی برگ، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، قند محلول، پرولین و در سطح احتمال پنج درصد محتوای عنصر پتاسیم را تحت‌تأثیر قرار داد. محتوای عنصر سدیم و نشت یونی تحت‌تأثیر اثر ساده تیمارها در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت.

جدول ۲. اثر ملاتونین بر برخی صفات رشدی در همیشه بهار تحت تنش شوری

Table 2. Mean comparisons of the effect of melatonin on some Growth traits in marigold under salt stress

شوری (میلی‌مولار) Salinity (mM)	ملاتونین (میکرومولار) Melatonin (µM)	ارتفاع (سانتی‌متر) Height (cm)	تعداد برگ Leaf number	طول ریشه (سانتی‌متر) Root Length (cm)	حجم ریشه (سانتی‌متر مکعب) Root Volume (cm^3)	وزن خشک ریشه (گرم) Root dry weight (g)
0	0	12.16^{c}	26.16^{c}	15.91^{b}	19.66^{c}	1.52^{b}
	100	13.50^{b}	28.5^{b}	16.76^{b}	23^{a}	1.99^{a}
	150	17^{a}	34^{a}	18.83^{a}	25.33^{b}	1.55^{b}
30	0	10.08^{e}	18.33^{f}	11.33^{d}	13^{e}	0.78^{de}
	100	10.41^{de}	19.66^{e}	14.58^{c}	15^{d}	0.98^{cd}
	150	10.58^{d}	20.66^{d}	15^{c}	15.33^{d}	1.21^{c}
60	0	7^{g}	12.41^{h}	10^{e}	11.33^{g}	0.45^{ghf}
	100	7.33^{g}	13.16^{h}	10^{e}	12^{f}	0.59^{efg}
	150	8^{f}	14.75^{g}	10.91^{d}	12^{f}	0.69^{ef}
90	0	4.33^{j}	7^{j}	9^{f}	10^{i}	0.24^{h}
	100	6.08^{i}	10^{i}	9^{f}	10.66^{h}	0.33^{h}
	150	6.58^{h}	10.66^{i}	9.66^{ef}	11^{gh}	0.37^{gh}

در هر ستون اعدادی با حروف مشابه تفاوت معنی‌داری با هم در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD ندارند.

Each column, means with the similar letters are not significantly different at 5% level of probability using LSD test.

نسخه پیش از انتشار

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر ملاتونین بر برخی صفات فیزیولوژیکی در همیشه بهار تحت تنش شوری

Table 3. Variance analysis of the effect of melatonin on some Physiological traits in marigold under salt stress

منابع تغییرات Sources of Variation	درجه آزادی df	محتوای آب نسبی برگ Relative water content of leaves	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant capacity	قند محلول Soluble Sugar	پرولین Proline	نشت یونی Ion leakage	سدیم Sodium	پتاسیم Potassium
شوری (A) Salinity	3	1379.01**	268.79**	0.67**	743.39**	41588.06**	0.06**	0.05**
ملاتونین (B) Melatonin	2	143.47**	50.08**	0.25**	76.18**	4066.26**	0.007**	0.011**
A*B	6	6.43**	10.23**	0.14**	14.02**	54.96 ns	0.00027 ns	0.00094*
خطا (Error)	24	1.66	1.94	0.02	0.16	58.6335	0.0002	0.0003
ضریب تغییرات CV (%)		1.838550	6.17	14.42	2.18	4.07	3.398867	1.14

ns، * و **: به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

ns, * and ** are non-significant, significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

بیش‌ترین محتوای آب نسبی برگ، و درصد پتاسیم در تیمار ملاتونین ۱۵۰ میکرومولار و بیش‌ترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار ملاتونین ۱۰۰ میکرومولار بدون شوری به‌دست آمد (جدول ۴). بیش‌ترین میزان قند محلول در شوری ۶۰ میلی‌مولار به‌علاوه تیمار ملاتونین ۱۰۰ میکرومولار و کم‌ترین قند محلول مربوط به شوری ۹۰ میلی‌مولار بدون تیمار ملاتونین بود. ا سید آمینه پرولین در تیمار شوری ۶۰ میلی‌مولار به‌علاوه تیمار ملاتونین ۱۵۰ میکرومولار در حداکثر بود. در شوری ۳۰ میلی‌مولار بدون کاربرد ملاتونین کم‌ترین میزان پرولین ثبت شد (جدول ۴). با افزایش غلظت نمک، نشت یونی افزایش نشان داد و بیش‌ترین میزان آن در شوری ۹۰ میلی‌مولار بود (شکل ۳). در غلظت ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین در مقایسه با تیمار شاهد، کاهش نشت یونی مشاهده شد (شکل ۴). بیش‌ترین میزان عنصر سدیم در ۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم ثبت شد. در غلظت ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین تجمع عنصر سدیم در برگ کاهش نشان داد (شکل‌های ۵ و ۶).

بحث

در پژوهش حاضر شوری بر زیست توده گیاه اثر منفی داشت و منجر به کاهش این صفت در گیاه مورد آزمایش گردید. اما کاربرد ملاتونین در غلظت‌های مختلف باعث افزایش صفات رشدی گیاه از جمله افزایش ارتفاع، تعداد برگ، طول و حجم ریشه، وزن تر و وزن خشک ریشه گردید. بر اساس یافته پژوهشگران ملاتونین می‌تواند رشد ریشه را تقویت کند. مقاومت گیاهان به تنش رابطه مستقیمی با ریشه‌های قوی دارد. رشد ریشه ناشی از ملاتونین، توسط دو فرآیند فیزیکی تقریباً همزمان، مانند جذب آب و گسترش برگشت‌ناپذیر دیواره سلولی ایجاد می‌شود. مطابق با یافته‌های پژوهش حاضر کاربرد ملاتونین باعث بازسازی ریشه‌های جانبی خردل سیاه (*Brassica juncea*) گردید (Jouyban, 2012; Alenazi et al., 2024).

محتوای نسبی آب یک شاخص فیزیولوژیکی حیاتی برای وضعیت آب است که از توانایی گیاهان برای زنده ماندن در شرایط تنش پشتیبانی می‌کند. در این مطالعه، محتوای نسبی آب

نسخه پیش از انتشار

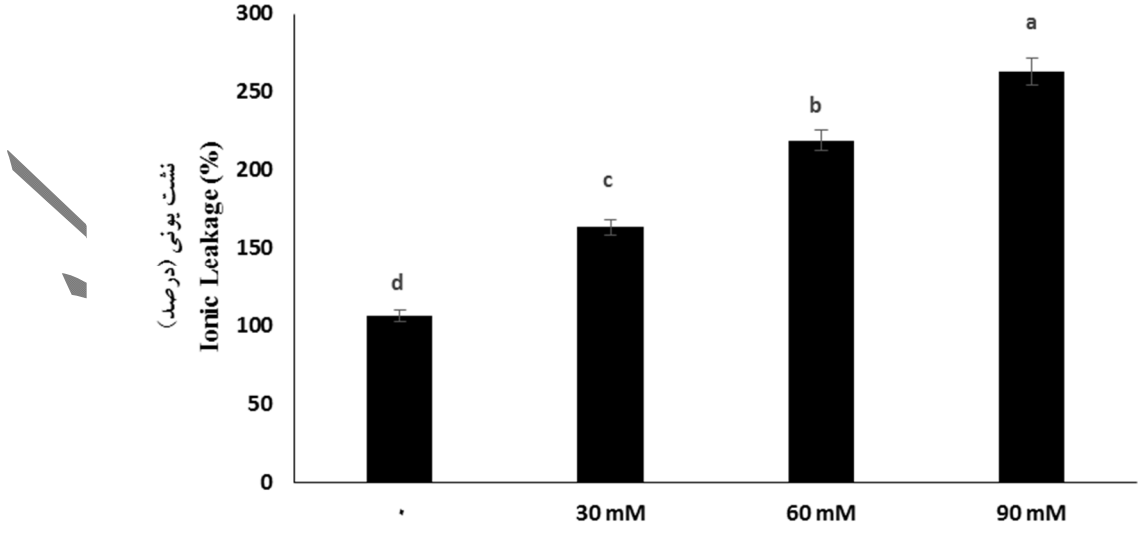
جدول ۴. اثر ملاتونین بر برخی صفات فیزیولوژیکی در همیشه بهار تحت تنش شوری

Table 4. Mean comparisons of the effect of melatonin on some Physiological traits in marigold under salt stress

شوری (میلی‌مولار) Salinity (mM)	ملاتونین (میکرومولار) Melatonin (µM)	محتوی آب نسبی برگ (٪) Relative water content of leaves (%)	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (٪) Antioxidant capacity (%)	قند محلول (میلی‌گرم بر گرم بافت تر) soluble sugar (µm gFW^{-1})	پرولین (میکرومول بر گرم بافت تر) Proline (µm g FW^{-1})	پتاسیم (میلی‌گرم در گرم ماده خشک) Potassium (mg gDW^{-1})
0	0	81.55^{c}	25.88^{bc}	0.87^{de}	10.43^{h}	1.59^{c}
	100	85.83^{b}	35^{a}	0.85^{de}	8.11^{i}	1.62^{b}
	150	89.54^{a}	28.17^{b}	0.79^{e}	7.26^{j}	1.68^{a}
30	0	68.53^{f}	22.32^{de}	0.99^{bcde}	15.26^{f}	1.52^{ef}
	100	72.97^{e}	23.71^{cd}	0.96^{cde}	14.60^{f}	1.55^{de}
	150	77.38^{d}	24.82^{c}	0.91^{cde}	25.56^{b}	1.58^{cd}
60	0	63.80^{h}	19.30^{gfh}	1.10^{bcd}	24.12^{c}	1.49^{gh}
	100	65.52^{gh}	20.18^{efg}	2.02^{a}	23.16^{d}	1.50^{gf}
	150	66.57^{gf}	21.06^{ef}	1.02^{bcde}	35.23^{a}	1.51^{gf}
90	0	52.85^{k}	15.36^{i}	1.06^{bcd}	21.11^{e}	1.40^{j}
	100	55.54^{j}	17.14^{hi}	1.23^{b}	25.96^{b}	1.46^{i}
	150	60.88^{i}	18.20^{gh}	1.15^{bc}	11.32^{g}	1.47^{hi}

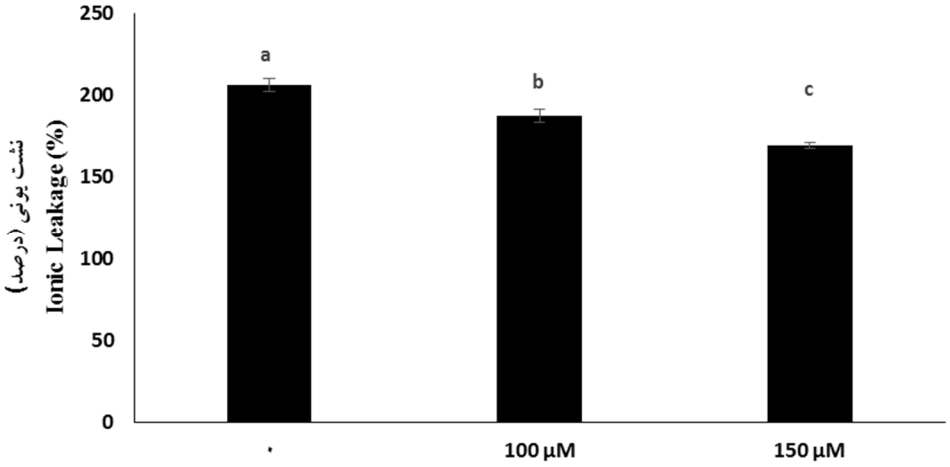
در هر ستون اعدادی با حروف مشابه تفاوت معنی داری با هم در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD ندارند.

Each column, means with the similar letters are not significantly different at 5% level of probability using LSD test.



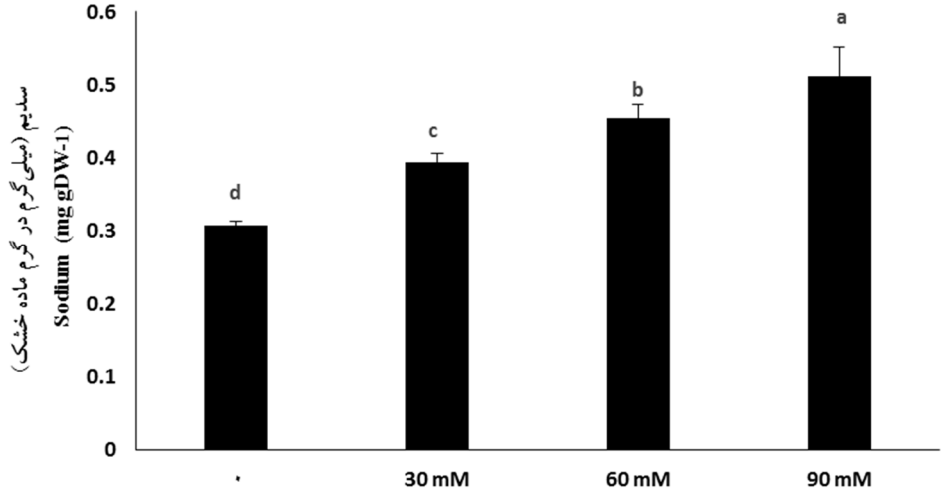
شکل ۳. اثر غلظت‌های مختلف شوری (میلی‌مولار) بر نشت یونی همیشه بهار

Fig.3. Effect of different salinity levels on ion leakage of Marigold



شکل ۴. اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین (میکرومولار) بر نشت یونی همیشه بهار

Fig. 4. Effect of different melatonin levels on ion leakage of Marigold

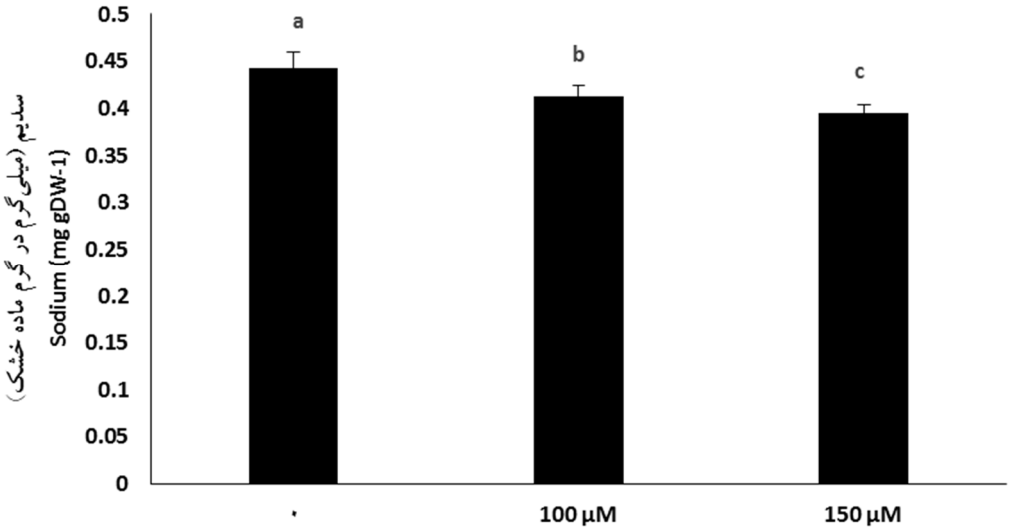


شکل ۵. اثر غلظت‌های مختلف شوری (میلی‌مولار) بر میزان سدیم همیشه بهار

Fig. 5. Effect of different salinity levels on sodium of Marigold

توسط تنش شوری کاهش یافت که می‌تواند با تأثیر منفی شوری بر جذب آب مرتبط باشد. افزایش غلظت نمک توانایی گیاه را برای جذب آب کاهش می‌دهد. نتایج نشان داد که تیمار ملاتونین باعث افزایش محتوای نسبی آب تحت تنش شوری شد. مطابق با یافته‌های پژوهش حاضر برخی از پژوهشگران گزارش کردند که کاربرد ملاتونین محتوای نسبی آب را تحت تنش شوری افزایش داده است (EL-Bauome et al., 2022). انعطاف پذیری سلول‌ها در برابر تنش شوری را می‌توان با افزایش مواد محافظت‌کننده اسمزی همچون ملاتونین افزایش داد. تحقیقات انجام شده نشان داده است که ملاتونین به‌عنوان خط اولیه دفاع در برابر عوامل استرس‌زای محیطی عمل می‌کند. ملاتونین نه تنها به‌طور مستقیم با گونه‌های فعال اکسیژنی[1] در

1. Reactive oxygen species (ROS)



شکل ۶. اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین (میکرومولار) بر میزان سدیم همیشه بهار

Fig. 6. Effect of different melatonin levels on sodium of Marigold

تعامل است، بلکه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی درون‌زا را در گیاهان افزایش می‌دهد، این بدین معنی است که تنش‌های محیطی مانند تنش شوری باعث افزایش گونه‌های فعال اکسیژنی می شوند که خود باعث آسیب به سیستم فتوسنتزی و انتقال الکترون درون گیاه می‌شود اما ملاتونین می‌تواند با بهبود زنجیره انتقال الکترون، کاهش نشت الکترون و تشکیل رادیکال‌های آزاد، محافظت از آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در برابر آسیب اکسیداتیو و عمل به‌عنوان یک ماده طبیعی در کاهش نشت یونی شود (singh et al., 2023). مطابق با یافته‌های پژوهش حاضر در مطالعه‌ای روی گیاه ژینکو، اعمال تیمار ملاتونین تحت تنش شوری استرس اکسیداتیو را کاهش داد. در این مطالعه بیان شد که در شرایط عادی، گیاه تعادل دینامیکی بین تولید و حذف گونه‌های فعال اکسیژنی را حفظ می‌کند اما در مواجهه با تنش نمک این تعادل بهم می‌خورد. اما با کاربرد ملاتونین خارجی، گیاه مکانیسم‌های مهار گونه‌های فعال اکسیژنی خود را فعال و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را تحریک و افزایش می‌دهد، در نتیجه گونه‌های فعال اکسیژنی اضافی را خنثی و آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش نمک را کاهش می‌دهد (Zhou et al., 2024).

مشخص شده است که تجمع اسمولیت‌ها از جمله پرولین و قند محلول یک راهکار مؤثر برای مقابله با تنش شوری در گیاهان است. قند محلول در گیاهان تحت تنش یک عامل تنظیم‌کننده اسمزی برای مقاومت در برابر تنش نمک در نظر گرفته می شود (Liu et al., 2020). پرولین رایج‌ترین اسمولیت سازگار درون‌زا است و یک ساز و کار دفاعی برای گیاه با حفظ ساختار سلول و تنظیم اسمز محسوب می شود. با داشتن حلالیت بالا در آب موجب حفظ پتانسیل اسمزی سلول و استمرار جذب آب تحت تنش شوری می‌گردد. علاوه بر این تجمع پرولین نقش مهمی در خنثی‌کردن رادیکال‌های آزاد دارد (Hayat et al., 2012). افزایش مقدار پرولین در این شرایط به‌عنوان یکی از فاکتورهای تحمل به تنش درنظر گرفته می شود (Hakim et al., 2014). در مطالعه حاضر، ملاتونین محتویات اسمولیت‌ها از جمله پرولین و قند محلول را افزایش داد. به‌طوری‌که تنش شوری منجر به تجمع قند محلول در گیاه همیشه بهار گردید و محتوای قند با غلظت متوسط تیمار ملاتونین افزایش یافت.

شوری بر غشای سلول گیاهان تأثیر نامطلوب می‌گذارد به عبارت دیگر غشای سلول به‌عنوان یک سد مهم محافظ سلول های گیاهی، نقش مهمی در انتقال مواد و انرژی ایفا می‌کند.

نفوذپذیری انتخابی غشای سلولی آن را قادر می‌سازد تا هموستاز یونی را تنظیم کرده و از فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاهان اطمینان حاصل کند و شوری باعث اختلال در ثبات غشا و افزایش نفوذپذیری نشت یون‌ها به سلول می‌شود. به همین دلیل در تنش شوری نشت یونی در اندام هوایی افزایش می‌یابد. از جمله شاخص‌های فیزیولوژیکی حیاتی وضعیت آب و آسیب سلولی که دلالت بر تنش دارد نشت یونی می‌باشد (Farouk et al., 2020, EL-Bauome et al., 2024). مطالعات نشان داده‌اند که ملاتونین می‌تواند میزان ترشح الکترولیت را با تأثیر مستقیم بر تنظیم اسمزی سلول گیاهی یا با استفاده از ظرفیت آنتی اکسیدانی خود برای از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژنی درون زا کاهش دهد و در نتیجه مانع پراکسیداسیون لیپیدی غشاء شود (Cui et al., 2017). نتایج پژوهش ما نشان داد در صد شاخص نشت یونی تحت‌تأثیر سطوح مختلف شوری به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت. در گیاه زینتی مورد (*Myrtus communis*) شوری سبب افزایش نشت یونی در برگ گیاه گردید (Acosta-Motos et al., 2015). کم‌ترین میزان نشت یونی (بیش‌ترین پایداری غشای سلولی) در پژوهش حاضر در گیاهان تیمار شده با ملاتونین مشاهده شد که می‌تواند به این دلیل باشد که ملاتونین بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی اثر گذاشته و باعث کاهش آسیب به دیواره سلولی و درنتیجه کاهش نشت یونی در گیاهان تحت تنش شده است.

بررسی نتایج پژوهش حاضر نشان داد با افزایش غلظت نمک میزان پتاسیم در برگ گیاه روند کاهشی داشته است. درحالی‌که میزان سدیم با افزایش میزان شوری افزایش یافت. همچنین افزایش شوری نسبت پتاسیم به سدیم را در اندام‌های هوایی کاهش داد. افزایش در محتوای سدیم و کاهش محتوای پتاسیم در بافت‌های گیاهی در گیاهان در معرض تنش شوری توسط مطالعات مختلف همچون توت فرنگی و رز مینیاتوری تأیید شده است (Zahedi et al., 2020, Mirtaheri et al., 2021). کاربرد ملاتونین در شرایط تنش شوری باعث کاهش سدیم در ریشه و اندام هوایی گیاه و افزایش محتوای پتاسیم می‌شود. یکی از نیازهای کلیدی برای رشد گیاه تحت غلظت بالای نمک، حفظ نسبت بالای پتاسیم به سدیم در سیتوزول است. با کاهش ورود یون‌های سدیم به سلول و بیرون راندن یون‌های سدیم از سلول و محفظه واکوئولی این عمل امکان‌پذیر است (Assaha et al., 2017). فرآیند بعدی توسط انتقال‌دهنده های مبدل کاتیون–پروتون انجام می‌شود که ممکن است ویژگی های متفاوتی نسبت به کاتیون‌های تک ظرفیتی داشته باشند و در هموستاز سیتوزولی و تنظیم اسمزی نقش داشته و فعالیت آن ها بر رشد گیاه تأثیر دارد. پروتئین‌های غشایی یکپارچه که به‌عنوان رسانا عمل می‌کنند، نقش عمده‌ای در تحمل نمک از طریق تنظیم انتقال سدیم از برگ‌ها به ریشه دارند و از تجمع بیش از حد سدیم در برگ‌ها تحت تنش شوری جلوگیری می کنند (Deinlein et al., 2014). مشخص شده است که تنظیم تجمع سمّی سدیم و افزایش جذب و تجمع پتاسیم کلید بقای گیاهان در محیط‌های شور است، به این معنی که ناقل‌ها و کانال‌های سدیم و پتاسیم باید نقش عمده‌ای در تحمل تنش شوری این گیاهان داشته باشند (Assaha et al., 2017). غلظت بالای NaCl در خاک به‌عنوان القای خروج پتاسیم از سلول‌های ریشه شناخته شده است که باعث کاهش بیش‌تر نسبت داخلی پتاسیم به سدیم می شود که در پژوهش حاضر نیز با توجه به جدول تجزیه واریانس و اثر ملاتونین این تغییرات در عناصر به وضوح مشخص شد که ملاتونین با کنترل بیان ژن در کانال یونی تحت تنش شوری، به حفظ تعادل یون در سلول کمک کرده است و باعث مقاومت به شوری در گیاه شد (Himabindu et al., 2016). در پژوهشی نقش ملاتونین در شرایط تنش شوری تشریح شد و شواهد نشان داد که سیگنال‌های ردوکس (به مکانیسم‌هایی برای حفظ هموستاز گونه‌های فعال اکسیژنی و سنتز کنترل شده گونه‌های فعال اکسیژنی اشاره دارد) ممکن است دخیل باشند که حفظ ساختار مولکولی به خاصیت مهار گونه‌های فعال اکسیژنی آن نسبت داده می‌شود. در واقع، ملاتونین به‌عنوان یکی از قوی‌ترین مولکول‌های آنتی‌اکسیدانی در کنترل پیری شناخته شده است (Liu et al., 2020).

نسخه پیش از انتشار

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه روی گیاه همیشه بهار نشان داد که تنش شوری باعث کاهش صفات رشدی گیاه شد، اما کاربرد ملاتونین به‌صورت محلول‌پاشی باعث کاهش آسیب در شرایط تنش شوری به گیاه گردید. نتایج نشان داد ملاتونین با حفاظت از غشا و ساختار سلول‌های گیاه، حفظ سیستم آنتی‌اکسیدانی و کمک به جذب عنصر پتاسیم و کاهش جذب عنصر سدیم توانست مقاومت گیاه همیشه بهار در برابر تنش شوری را افزایش دهد. در نتیجه کاربرد ملاتونین موجب تعدیل اثرات شوری و بهبود رشد گیاه در شرایط شوری شد. بنابراین بر اساس نتایج به‌دست آمده استفاده از ملاتونین با غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار برای همیشه بهار در شرایط تنش شوری به ویژه غلظت‌های ۳۰ و ۶۰ میلی مولار کلرید سدیم قابل توصیه است.

تشکر و سپاسگزاری

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.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اذعان دارند هیچگونه تضاد منافعی با شخص، شرکت یا سازمانی برای این پژوهش ندارند.

منابع مورد استفاده

1. Acosta-Motos, J.R., Ortuño, M.F., Bernal-Vicente, A., Diaz-Vivancos, P., Sanchez-Blanco, M.J., Hernandez, J.A. 2017. Plant Responses to Salt Stress: Adaptive Mechanisms. Agron. 7(1), 18. doi: 10.3390/agronomy 7010018.
2. Alenazi, M.M., El-Ebidy, A.M., El-shehaby, O.A., Seleiman, M.F., Aldhuwaib, K.J., Abdel-Aziz, H.M.M. 2024. Chitosan and chitosan nanoparticles differentially alleviate salinity Stress in Phaseolus vulgaris L. Plants. Plant. 13, 398. doi: 10.3390/plants13030398.
3. Arabsadi, M., Ebrahimi, A., Amerian, M.R., Ebrahimibasabi A, E., Azadvari, E. 2024. The amelioration of salt stress-induced damage in fenugreek through the application of cold plasma and melatonin. Plant. Physiol. Biochem. 207, 108382. doi: 10.1016/j.plaphy.2024.108382.
4. Arora, D., Rani, A., Sharma, A. 2013. A review on photochemistry and ethno pharmacological aspects of genus Calendula. Pharmacogn. Rev. 7 (14), 179-87. doi: 10.4103/0973-7847.120520.
5. Assaha, D.V., Ueda, A., Saneoka, H., AL-yahyai, R., Yaish, M.W. 2017. The role of Na^+ and K^+ transporters in salt stress adaptation in glycophytes. Front. Physiol. 8, 275169. doi: 10.3389/fphys.2017.00509.
6. Aydin acar, C., Gencer, M.A., Pehlivanoglu, S., Yesllot, S., Donmez, S. 2024. Green and eco-friendly biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using *Calendula officinalis* flower extract: Wound healing potential and antioxidant activity. Int. Wound. J. 21, 14413. doi.org/10.1111/iwj.14413.
7. Azizi, A., Bagnazari, M., Mohammadi, M. 2024. Seaweed and phosphate-solubilizing bacteria bio fertilizers ameliorate physiochemical traits and essential oil content of *Calendula officinalis* L. under drought stress. Sci. Hortic. 328, 112653. doi: 10.1016/j.scienta.2023.112653
8. Bates, L., Waldren, R.P., Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free Proline for water-stress studies. Plant Soil. 39(2), 205–220.
9. Cui, G., Zhao, X., Liu, S., Sun, F., Zhang, C., Xi, Y. 2017. Beneficial effects of melatonin in overcoming drought stress in wheat seedlings. Plant. Physiol. Biochem. 118, 138-149. doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.06.014.
10. Dehnavi, A.R., Zahedi, M., Ludwiczak, A., Piernik, A. 2022. Foliar application of salicylic acid improves salt tolerance of sorghum (*Sorghum bicolor* Moench). Plant. 11(3), 368. doi.org/10.3390/plants11030368.
11. Deinlein, U., Stephan, A.B, Horie, T., Luo W., Xu, G., Schroeder, J.I. 2014. Plant salt-tolerance mechanisms. Trends. Plant. Sci. 19(6), 371-9. doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.11.043.
12. Eisa, E.A.; Honfi, P.; Tilly-Mándy, A.; Mirmazloum, I. 2023. Exogenous Melatonin Application Induced Morpho-Physiological and Biochemical Regulations Conferring Salt Tolerance in *Ranunculus asiaticus* L. Hortic. 9, 228. doi.org/10.3390/horticulturae9020262.
13. EL-bauome, H.A., Doklega, S.M., Saleh, S.A., Mohamed, A.S., Suliman, A.A., EL-hady, M.A. 2024. Effects of melatonin on lettuce plant growth, antioxidant enzymes and photosynthetic pigments under salinity stress conditions.

نسخه پیش از انتشار

Folia Hort. 36 (1), 1-17. doi. 10.2478/fhort-2024-0001.
14. EL-Bauome, H.A., Abdeldaym, E.A., Abd El-Hady, M.A., Darwish, D.B.E., Alsubeie, M.S., El-Mogy, M.M., Basahi, M.A., AlQahtani, S.M., Al-Harbi, N.A., Alzuaibr, F.M. 2022. Exogenous Proline, methionine, and melatonin stimulate growth, quality, and drought tolerance in cauliflower plants. Agric. 12, 1301. https://doi.org/10.3390/agriculture12091301.
15. Fales, F.W. 1951. The assimilation and degradation of carbohydrates by yeast cells. J. Biol. Chem. 193 (1), 113-24. PMID: 14907695.
16. Hakim, M.A., Juraimi, A.S., Hanafi, M.M., Ismail, M.R., Selamat, A., Rafii, M.Y., Lati, M.A. 2014. Biochemical and anatomical changes and yield reduction in rice (*Oryza sativa* L.) under varied salinity regimes. Biomed Res. Int. 20, 1-11. doi: org/10.1155/2014/208584.
17. Hamada, A.M., EL-enany, A.E. 1994. Effect of NaCl salinity on growth, pigment and mineral element contents and gas exchange of broad bean and pea plants. Biol. Plant. Aru. 36(1), 75.
18. Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M.N., Wani, A.S., Pichtel, J., Ahmad, A. 2012. Role of Proline under changing environments: A review. Plant Signal. Behav. 7, 1456 -1466. doi: 10.4161/psb.21949.
19. Himabindu, Y., Chakradhar, T., Reddy, M.C., Kanygin, A., Redding, K.E., Chandrasekhar, T. 2016. Salt-tolerant genes from halophytes are potential key players of salt tolerance in glycophytes. Environ. Experimen.Bot. 124, 39-63. doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.11.010.
20. Jouyban, z. 2012. The effects of salt stress on plant growth. Tech. J. Engin. App. Sci. 2(1), 7-1.
21. 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. Sci. Rep. 14, 1214. doi: 10.1038/s41598-024-51369-0.
22. Koksal, N., Alkan-Torun, A., Kulahlioglu, I., Ertargin, E., Karalar, E. 2016. Ion uptake of marigold under saline growth conditions. Springer plus. 5: (139): 1- 12. doi: 10.1186/s40064-016-1815-3
23. Li, J., Liu, J., Zhu, T., Zhao, C., Li, L., Chen, M. 2019. The role of melatonin in salt stress responses. Int. J. Mol. Sci. 20, 1735. doi.org/10.1016/j.sajb.2023.10.041
24. Liu, J., Shabala, S., Zhang, J., Ma, G., Chen, D., Shabala, L., Zeng, F., Chen, Z. H., Zhou, M. Venkataraman, G. 2020. Melatonin improves rice salinity stress tolerance by NADPH oxidase dependent control of the plasma membrane K^+ transporters and K^+ homeostasis. Plant Cell Environ.43, 2591-2605. doi: 10.1111/pce.13759.
25. - Liu, L., Liu, D., Wang, Z., Zou, C., Wang, B., Zhang, H., Gai, Z., Zhang, P., Wang, Y., Li, C. 2020. Exogenous Melatonin improves the salt tolerance of sugar beet by increasing putrescine metabolism and antioxidant activities. Plant Physiol. Biochem. 154, 699–713. doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.06.034.
26. Lutts, S., Kinet, J.M., Bouharmont, J. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. Ann. Bot. 78(3), 389-398.
27. Mir, R., Ahanger, M. and Agarwal, R. 2019. Marigold: From Mandap to Medicine and from Ornamentation to Remediation. AJPS. 10, 309-338.
28. Mirtaheri, H., KalatehJari, S., Motesharezadeh, B., Fatemi, F. 2021. The effect of Ascorbic acid and Melatonin on Morphophysiological Characteristics and Salinity Tolerance of Miniature Rose (*Rosa chinensis var. minima*). Iranian Journal of Soil and Water Research. 52(3), 651-665. doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.02.021.
29. Raza, A., Salehi, H., Rahman, M.A, Zahid, Z., Madadkar Haghjou, M., Najafi-Kakavand, S., Charagh S, Osman, H.S, Albaqami, M, Zhuang Y, Siddique, K.H.M, Zhuang, W. 2022. Plant hormones and neurotransmitter interactions mediate antioxidant defenses under induced oxidative stress in plants. Front. Plant Sci, 9, 13:961872. doi.org/10.3389/fpls.2022.961872.
30. Sánchez, F.J., Manzanares, M., de Andres, E.F., Tenorio, J.L., Ayerbe, L. 1998. Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and Proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. Field Crop. Res. 59(3), 225-235.
31. Singh, A., Pandey, H., Pal, A., Chauhan, D., Pandey, S., Gaikwad, D.J., Sahu, C. and Atta, K., 2023. Linking the role of melatonin in plant stress acclimatization. South African Journal of Botany, 159, pp.179-190. doi:10.1016/j.sajb.2023.05.034
32. Tiwari, R. K., Kumar, R., Lal, M. K., Kumar, A., Altaf, M. A., Devi, R., Mangal, V., Naz, S., Altaf, M. M., DEY, A. 2023. Melatonin-polyamine interplay in the regulation of stress responses in plants. J. Plant Growth Regul. 42, 4834-4850.
33. Usman, S., Yaseen, G., Noreen, Z., Rizwan, M., Noor, H. & Elansary, H. O. 2023. Melatonin and arginine combined supplementation alleviate salt stress through physiochemical adjustments and improved antioxidant enzymes activity in *Capsicum annuum* L. Scientia Horticulturae, 321, 112270.
34. Wahing, I.W., Van, V.J.G., Houba, J.J., Van der, L. 1989. Soil and plant analysis, a series of syllabi.part 7, plant analysis procedure. Wageningen Agriculture University.
35. Zahedi, S., Hosseini, M., Abadía, M.S.J., Marjani, M. 2020. Melatonin foliar sprays elicit salinity stress tolerance and

enhance fruit yield and quality in strawberry (*Fragaria× ananassa* Duch.). Plant Physiol. Biochem. 149, 313-323. doi: 10.1016/j.plaphy.2020.02.021.
36. Zhou, D., Li, M., Wang, X., Li, H., Li, Z., Li, Q. 2024. Effects of exogenous melatonin on the growth and Physiological Characteristics of *Ginkgo biloba* L. under Salinity Stress Conditions. Hortic. 10, 89. doi.org/10.3390/horticulturae10010089.
37. Zulfiqar, F., Moosa, A., Ali, H.M., Ferrante, A., Nazir, M.M., Makhzoum, A., Soliman, T.M.A. 2023. Preharvest melatonin application mitigates arsenic-induced oxidative stress and improves vase life of tuberose (*Polianthes tuberosa* L.) cut flowers. S. Afr. J. Bot. 163, 330-337. doi.org/10.1016/j.sajb.2023.10.042.
1. Zulfiqr, F., Moosa, A., Ferrnte, A., Darras, A., Ahmed, T., Jalil, S., AL-Ashkar, I., Sabagh, A. E. 2024. Melatonin seed priming improves growth and physio-biochemical aspects of *Zinnia elegans* under salt stress. Sci. Hortic. 323, 112495. doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112495

نسخه پیش از انتشار