J. Soil and Plant Interactions, Vol. 15, No. 2, Summer 2024, pp. 65-81. Research Article

https://jspi.iut.ac.ir EISSN: 2783-5286 https://doi.org/10.47176/jspi.15.2.12026

Effect of Melatonin Pretreatment on Improving Some Vegetative and Physiological Traits of Marigold (*Calendula officinalis* L.) Under Saline Water Irrigation

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

(Received: 14 May 2024; Accepted: 8 July 2024)

Abstract

Melatonin has been introduced as a strong antioxidant that has a protective role in stressful conditions and acts as an osmotic regulator and metabolic modifier when different stresses occur. In order to investigate the effect of melatonin pretreatment on improving the morphophysiological traits of *Calendula officinalis* L., a factorial completely randomized design with three replications was conducted. Melatonin at three levels (0, 100 and 150 µM) and sodium chloride at four levels (0, 30, 60 and 90 mM) were considered as the treatments. Based on the obtained results, the highest plant height, the highest number of leaves and the longest root length were obtained in 150 µM melatonin without sodium chloride treatment. On the other hand, at 90 mM salinity and without the presence of melatonin, the lowest number of leaves and plant height were observed. The fresh weight of the root, at different levels of salinity, showed a decreasing trend with increasing salinity concentration, so that its lowest value was observed in the concentration of 90 mM salt without melatonin. The fresh weight of the root increased with the increase in melatonin concentration. The highest relative water content and potassium percentage of leaves were observed in 150 µM melatonin treatment. As the salt concentration increased, the relative water content and potassium concentration decreased. The highest amount of soluble sugar related to 60 mM salinity in combination with 100 µM melatonin and the highest amount of proline was observed in 60 mM salinity + 150 µM melatonin. The results indicated that melatonin pretreatment was effective on the vegetative and physiological traits of marigold under salinity stress and was able to reduce the effect of salinity, especially in the concentrations of 30 and 60 mM sodium chloride.

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, acts as a growth regulator similar to indole acetic acid (IAA), which promotes cell expansion and growth. 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 stressful conditions tolerable for plants and leads to the opening of stomata, which has been reported to improve the photosynthetic machinery in sunflower and citrus plants

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

(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.

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 (0, 100 and 150 µM) and salinity at four levels (0, 30, 60 and 90 mM) were considered as the first and second factors, respectively. 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 weights, leaf relative water content, soluble sugar, proline, ion leakage, and sodium and potassium contents were measured.

Results: The interaction between salinity and melatonin affected the plant height, number of leaves, and root length, volume and dry weight. The highest plant height (i.e., 17 cm), the number of leaves (i.e., 34) and the root length (i.e., 18.83 cm) were obtained in the 150 µM melatonin treatment without salt. The highest root volume and dry weight were observed in 100 µM melatonin treatment without salt. The highest leaf relative water content and potassium content were obtained in 150 µM melatonin treatment. The highest amounts of soluble sugar and proline were recorded in 60 mM sodium chloride + 100 µM melatonin, and 60 mM sodium chloride + 150 µM melatonin, respectively. At 30 mM salinity without the use of melatonin, the lowest proline was recorded. The highest sodium content was recorded at 60 mM sodium chloride. At the concentration of 150 µM melatonin, the sodium content 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, a decrease in ion leakage was observed.

Conclusions: The results showed that salinity stress reduced the vegetative traits of marigold, 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 moderated the effects of salinity and improved plant growth in saline conditions. Therefore, it is recommended to use 100 and 150 µM concentrations of melatonin for improving vegetative and physiological characteristics of marigold under salinity stress conditions.

References:

1. Brugnoli, E., Lauteri, M., 1991. Effects of salinity on stomatal conductance, photosynthetic capacity, and carbon isotope discrimination of salt-tolerant (*Gossypium hirsutum* L.) and salt-sensitive (*Phaseolus vulgaris* L.) C_3 non-halophytes. Plant Physiol. 95(2), 628–635. https://doi.org/10.1104/pp.95.2.628.
2. Meloni, D.A., Oliva, M.A., Martinez, C.A., Cambraia, J., 2003. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. Environ. Exp. Bot. 49(1) 69–76. https://doi.org/10.1016/S0098-8472(02)00058-8.
3. 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 Phys. Planta. 38(2), 48. https://doi.org/10.1007/s11738-015-2045-y.

روابط خاک و گیاه/ سال پانزدهم / شماره دوم / تابستان ۱۴۰۳ / صفحات ۸۱-۶۵ مقاله پژوهشی
https://doi.org/10.47176/jspi.15.2.12026 EISSN: 2783-5286 https://jspi.iut.ac.ir

اثر پیش‌تیمار ملاتونین در بهبود برخی صفات رویشی و فیزیولوژیک گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) تحت آبیاری با آب شور

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

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۲/۲۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۴/۱۸)

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 پیش‌تیمار ملاتونین بر بهبود صات مورفوفیزیولوژیک گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. ملاتونین در سه سطح (صفر، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار) و شوری با کلرید سدیم در چهار سطح (صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار) به‌ترتیب به‌عنوان تیمارهای اول و دوم در نظر گرفته شدند. براساس 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 تازه ریشه در سطوح مختلف شوری همگام با افزایش غلظت شوری روند کاهشی نشان داد به طوری‌که کم‌ترین وزن تازه ریشه در غلظت ۹۰ میلی‌مولار نمک بدون ملاتونین مشاهده شد. همچنین وزن تازه ریشه همراه با افزایش غلظت ملاتونین به‌کار برده شده افزایش داشت. بیش‌ترین محتوای آب نسبی و درصد پتاسیم برگ در تیمار ملاتونین ۱۵۰ میکرومولار مشاهده شد و با افزایش غلظت نمک، محتوای آب نسبی و غلظت یون پتاسیم برگ کاهش یافت. 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، پیش‌تیمار ملاتونین در بهبود صفات رویشی و فیزیولوژیک همیشه بهار تحت تنش شوری مؤثر واقع شد به‌گونه‌ای که 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). این گیاه یکی از پرکاربردترین گل‌های فصلی بوده که در تزئین فضای سبز شهری و برای حاشیه باغچه‌ها استفاده می‌شود. این گل با ارتفاع

۱- گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: karimi@sanru.ac.ir

متوسط، رشد متراکم و گل‌دهی خوب و با توجه به تیپ‌های کم‌پر 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 کمردرد، 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 به‌شدت بر چرخه هیدرولوژیکی منطقه و جهان تأثیر می‌گذارد که این تغییرات منجر به فراوانی رویدادهای تنش‌زا می‌شود (Khan et al., 2024). شوری یک تنش غیرزنده گسترده است که تولیدات کشاورزی را به‌طور جدی محدود می‌کند. خاک و آب شور بر فرآیندهای مورفولوژیک، بیوشیمیایی و مولکولی در گیاهان در طی مراحل رشد تأثیر می‌گذارد و منجر به زیان اقتصادی در طول بهره‌وری محصول می‌شود (Raza et al., 2020). پژوهش درباره 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., 2024). گیاهانی که سازوکار عملکردی تحمل نمک را توسعه داده‌اند می‌توانند در خاک‌هایی با غلظت زیاد نمک رشد کنند. افزایش غلظت نمک خاک توانایی گیاه را برای جذب آب کاهش می‌دهد. یون‌های سدیم و کلرید به مقدار زیاد جذب می‌شوند، که باعث اختلال در فرآیندهای متابولیک، کاهش کارایی فتوسنتز و تأثیر منفی بر رشد گیاه می‌شوند (Liang et al., 2018; Deinlein et al., 2014). گیاهان همچنین تحمل یونی را با فعال‌کردن مسیرهای سیگنالی مختلف ناشی از ورود نمک به سیستم ریشه ایجاد می‌کنند. گیاهان حرکت خالص سدیم در ریشه و انتقال آن به‌سمت اندام هوایی را کاهش می‌دهند (Usman et al., 2023). آستانه تحمل گیاهان به تنش شوری متفاوت است. در پژوهشی در غلظت بیش از ۱۰۰ میکرومولار کلرید سدیم، کاهش در رشد رویشی، وزن تازه اندام هوایی و کاهش جذب آب توسط گل همیشه بهار مشاهده شد (Koksal 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 فیزیولوژیک و مولکولی را تنظیم می‌کند. این ماده به‌طور قابل توجهی سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی را در شرایط تنش شوری با حذف رادیکال‌های آزاد و تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی کنترل می‌کند (Dehnavi Rajabi et al., 2022; Deinlein et al., 2014). این کارکردها فتوسنتز و هموستاز یونی را تقویت کرده و در عین حال برخی هورمون‌های درونی گیاه، اکسید نیتریک و پلی‌آمین‌های درونی را تحریک کرده و در نتیجه تحمل به تنش در گونه‌های مختلف گیاهی بهبود می‌یابد (Tiwari et al., 2023).

شوری باعث کاهش صفات مورفولوژیک گیاهان از جمله طول ریشه، تعداد برگ، وزن تازه و خشک ریشه، محتوای آب نسبی برگ و عنصر پتاسیم می‌گردد. این تنش همچنین باعث افزایش پرولین، نشت یونی، قند محلول و عنصر سدیم در گیاهان شده که با کاربرد ملاتونین آثار تنش شوری تعدیل می‌شود (Arabasadi et al., 2024; EL-Bauome et al., 2024; Farouk et al., 2022; Zhou et al., 2024: Zulfiqar et al., 2024). در پژوهشی اثر کاربرد ملاتونین خارجی (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) بر گیاه آلاله (*Ranunculus asiaticus* L.) تحت تنش شوری (۴/۵ و ۵/۵ دسی‌زیمنس برمتر) بررسی شد. نتایج نشان داد 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. بنابراین هدف از پژوهش حاضر نیز بررسی اثر شوری و نقش ملاتونین در مقاومت به شوری گیاه همیشه بهار و بهبود صفات رویشی و فیزیولوژیک آن تحت تنش شوری بود.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر پیش‌تیمار ملاتونین بر صفات رویشی و فیزیولوژیک 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 بررسی شامل ملاتونین در سه سطح (صفر، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار) و شوری در چهار سطح (صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) بود.

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 شد. یک هفته پس از سازگاری گیاهان، محلول‌پاشی ملاتونین با غلظت‌های مورد نظر انجام شد. تیمار با ملاتونین سه مرتبه و به فاصله هر ۱۰ روز انجام شد. یک هفته پس 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 انجام شد. در هر مرحله اعمال تنش، آب حاوی کلرید سدیم در گلدان‌ها به مقداری استفاده شد تا آب از زیر گلدان خارج شده و تجمع نمک در بستر کشت رخ ندهد.

پس از گذشت یک هفته از آخرین اعمال تنش، برخی صفات از جمله ارتفاع گیاه، تعداد برگ در بوته، قطر گل، طول ریشه در بوته، حجم ریشه در بوته، وزن تازه و خشک ریشه در بوته، محتوای آب نسبی برگ، درصد مهار آنتی‌اکسیدانی، قند محلول، پرولین، نشت یونی، غلظت عناصر سدیم و پتاسیم اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری تعداد برگ با شمارش، قطر گل، ارتفاع گیاه و طول بلندترین ریشه با استفاده از خط‌کش انجام شد. برای اندازه‌گیری حجم ریشه از روش جابجایی سیال استفاده شد. بدین صورت که ابتدا گلدان در ظرفی از آب قرار داده شد تا ریشه به‌صورت کامل از بستر خارج شود. سپس استوانه مدرج با حجم مشخصی آب پر شده و ریشه درون آن شناور گردید و از اختلاف حجم در دو حالت حجم ریشه تعیین شد. برای اندازه‌گیری محتوای آب نسبی ابتدا نمونه‌ای از برگ سالم، توسعه‌یافته و کامل تهیه شده و وزن تازه آن با ترازوی دقیق اندازه‌گیری شد، سپس تمامی نمونه‌ها در آب مقطر قرار گرفته و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای چهار درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت وزن آماس برگ‌ها اندازه‌گیری شده و برگ‌ها در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت در آون قرار گرفته و وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد. در پایان محتوای آب نسبی نمونه‌ها با استفاده از فرمول (۱) محاسبه شد (Sánchez et al., 1998):

$$RWC = (F_W-D_W)/(S_W-D_W) \times 100 \quad (۱)$$

که در این فرمول F_W وزن تازه، D_W وزن خشک و S_W وزن آماس برگ گیاه است.

قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد (بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی) DPPH نیز با فرمول (۲) محاسبه شد (Moon and Terao, 1998):

$$\%A = (A_C-A_S)/A_C \times 100 \quad (۲)$$

که در آن، A درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، A_S جذب نمونه ارزیابی‌شده در طول موج ۵۱۷ نانومتر و A_C جذب نمونه شاهد است.

میزان قند محلول با استفاده از معرف آنترون بادستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۶۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (Fales, 1951). برای اندازه‌گیری پرولین نیم گرم بافت گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر محلول سه درصد اسید سولفوسالیسیلیک در هاون با هم مخلوط و کاملاً خرد شد. دو میلی‌لیتر از مایع برداشته شد و دو میلی‌لیتر اسید نایندرین و دو میلی‌لیتر استیک‌اسید به مایع افزوده شده و مخلوط گردید. این مخلوط در حمام آب گرم قرار داده شد و سپس در حمام آب سرد و با افزودن چهار میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط و پس از سردشدن و رسیدن به دمای اتاق با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد (Bates, 1973). برای ارزیابی میزان نفوذپذیری غشاء، 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

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

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

Sources منابع تغییرات of variation	درجه آزادی df	ارتفاع Height	تعداد برگ Leaf number	طول ریشه Root length	حجم ریشه Root volume	وزن تازه 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 بیانگر اثر غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد است.

ns, * and ** stand for non-significant, and significant effects at 5 and 1% probability levels, respectively.

آب مقطر به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شد و مقدار نشت یونی توسط دستگاه رسانایی‌سنج قرائت گردید (EC1). سپس، نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه به حمام آب گرم با دمای ۹۰ درجه سلسیوس منتقل شده و پس از خنک‌شدن مجدداً نشت یونی قرائت شد (EC2) و بر اساس رابطه (۳) محاسبه گردید:

$$\text{نشت یونی} = (EC1 / EC2) \times 100 \qquad (۳)$$

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

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد برهمکنش تیمارهای شوری و ملاتونین در سطح احتمال یک درصد ارتفاع، تعداد برگ، طول ریشه و حجم ریشه، و در سطح احتمال پنج درصد وزن خشک ریشه را تحت‌تأثیر قرار داد. وزن تازه ریشه تحت تأثیر اثر ساده تیمارها در سطح احتمال یک درصد 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 به‌طوری‌که شوری باعث کاهش ۴۹/۱۳ درصدی حجم و ۸۴/۲۱ درصدی وزن خشک ریشه شد (جدول ۲). وزن تازه ریشه در سطوح مختلف شوری با افزایش غلظت شوری روند کاهشی نشان داد به‌طوری‌که بیش‌ترین مقدار این صفت در گروه شاهد و کم‌ترین مقدار آن در غلظت ۹۰ میلی‌مولار

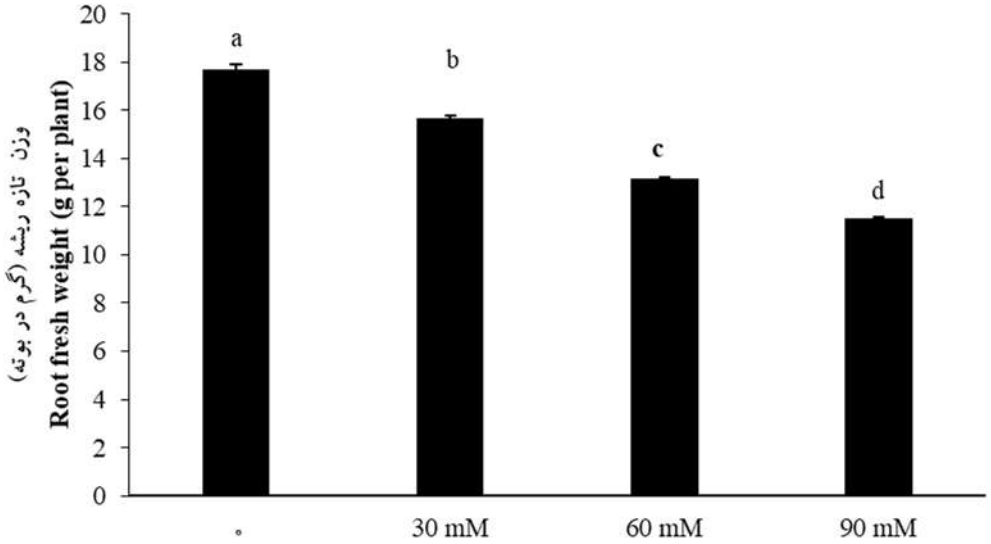
جدول ۲. مقایسه میانگین اثر ملاتونین بر برخی صفات رشدی گیاه همیشه بهار تحت تنش شوری

Table 2. Mean comparisons of the effect of melatonin on some Growth traits in marigold under salinity 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	0.00	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}	23.00^{a}	1.99^{a}
	150	17.00^{a}	34.00^{a}	18.83^{a}	25.33^{b}	1.55^{b}
30	0.00	10.08^{e}	18.33^{f}	11.33^{d}	13.00^{e}	0.78^{de}
	100	10.41^{de}	19.66^{e}	14.58^{c}	15.00d	0.98^{cd}
	150	10.58^{d}	20.66^{d}	15.00^{c}	15.33^{d}	1.21^{c}
60	0.00	7.00^{g}	12.41^{h}	10.00^{e}	11.33^{g}	0.45^{ghf}
	100	7.33^{g}	13.16^{h}	10.00^{e}	12.00f	0.59^{efg}
	150	8.00^{f}	14.75^{g}	10.91^{d}	12.00^{f}	0.69^{ef}
90	0.00	4.33^{j}	7.00^{j}	9.00^{f}	10.00^{i}	0.24^{h}
	100	6.08^{i}	10.00^{i}	9.00^{f}	10.66^{h}	0.33^{h}
	150	6.58^{h}	10.66^{i}	9.66^{ef}	11.00^{gh}	0.37^{gh}

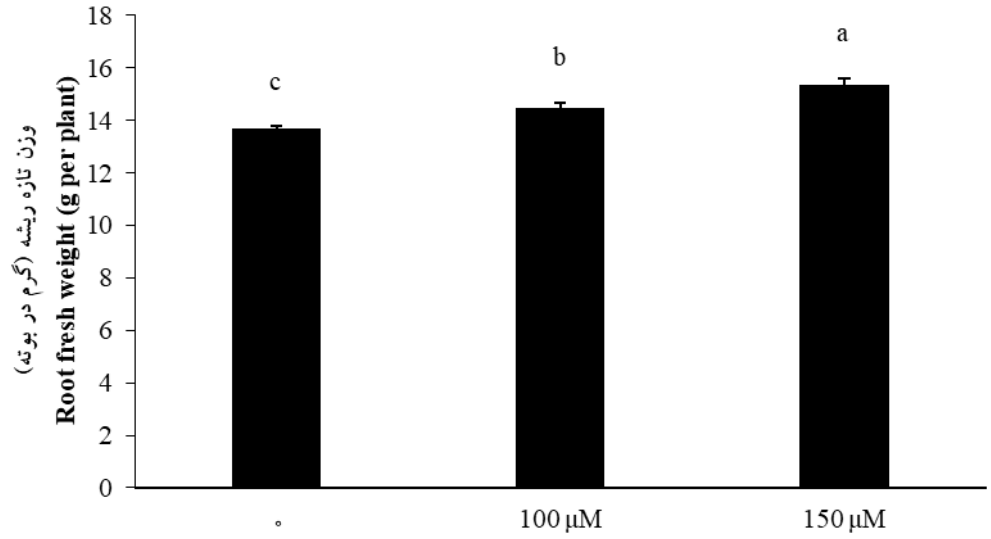
در هر ستون، اعداد با حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ بر اساس آزمون LSD ندارند.

In each column, means with at least one similar letter are not significantly different at 5% level of probability using LSD test.



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف کلرید سدیم (میلی مولار) بر وزن تازه ریشه گیاه همیشه بهار؛ ستون‌های با حروف متفاوت در سطح احتمال ۵٪ بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌دار دارند.

Fig. 1. Mean comparison of the effect of different NaCl concentrations on root fresh weight of marigold; Bars with dissimilar letter are significantly different at 5% level of probability using LSD test.



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین (میکرومولار) بر وزن تازه ریشه گیاه همیشه بهار؛ ستون‌های با حروف متفاوت در سطح احتمال ۵٪ بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌دار دارند.

Fig. 2. Mean comparison of the effect of different melatonin levels on root fresh weight of Marigold; Bars with dissimilar letter are significantly different at 5% level of probability using LSD test.

نمک مشاهده شد (شکل ۱). همچنین وزن تازه ریشه با افزایش غلظت ملاتونین به‌کار برده شده افزایش داشت (شکل ۲).

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد برهمکنش تیمارهای شوری و ملاتونین در سطح احتمال یک درصد محتوای آب

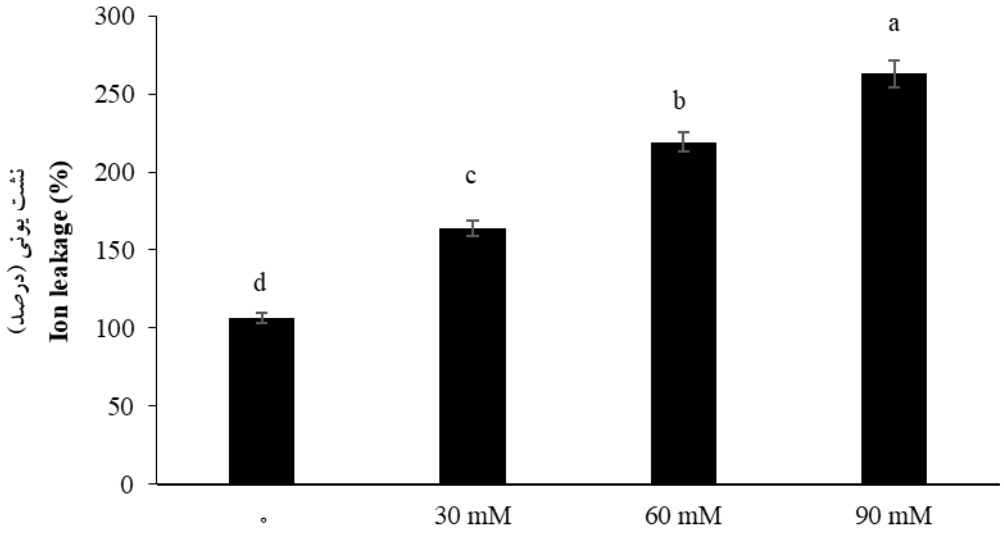
جدول ۳. تجزیه واریانس اثر ملاتونین بر برخی صفات فیزیولوژیک گیاه همیشه بهار تحت تنش شوری

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

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	محتوای آب نسبی برگ Leaf relative water content	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

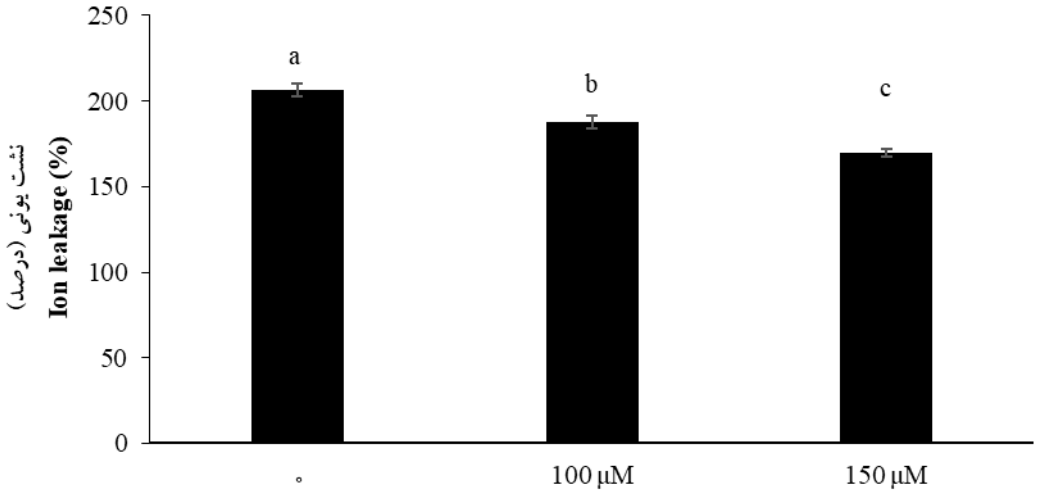
ns، * و ** به‌ترتیب بیانگر اثر غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد است.

ns, * and ** stand for non-significant, and significant effects at 5 and 1% probability levels, respectively.



شکل ۳. مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف کلرید سدیم (میلی‌مولار) بر نشت یونی گیاه همیشه بهار؛ ستون‌های با حروف متفاوت در سطح احتمال ۵٪ بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌دار دارند.

Fig. 3. Mean comparison of the effect of different NaCl concentrations on ion leakage of marigold; Bars with dissimilar letter are significantly different at 5% level of probability using LSD test.



شکل ۴. مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین (میکرومولار) بر نشت یونی گیاه همیشه بهار؛ ستون‌های با حروف متفاوت در سطح احتمال ۵٪ بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌دار دارند.

Fig. 4. Mean comparison of the effect of different melatonin levels on ion leakage of marigold; Bars with dissimilar letter are significantly different at 5% level of probability using LSD test.

نسبی برگ، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، قند محلول و پرولین، و در سطح احتمال پنج درصد مقدار پتاسیم را تحت‌تأثیر قرار داد. مقدار سدیم و نشت یونی تحت‌تأثیر اثر ساده تیمارها در سطح احتمال یک درصد قرار گرفتند.

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

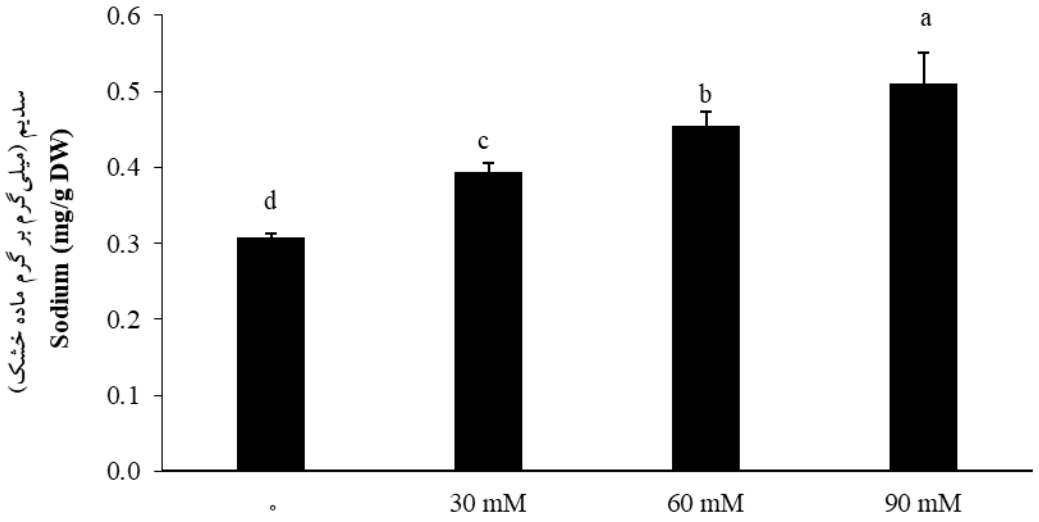
جدول ۴. مقایسه میانگین اثر برهمکنش شوری و ملاتونین بر برخی صفات فیزیولوژیک گیاه همیشه بهار

Table 4. Mean comparisons of the interaction effect of salinity and melatonin on some physiological traits in marigold

شوری (میلی‌مولار) Salinity (mM)	ملاتونین (میکرومولار) Melatonin (µM)	محتوی آب نسبی برگ (٪) Leaf relative water content (%)	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (٪) Antioxidant capacity (%)	قند محلول (میلی‌گرم در گرم بافت تازه) Soluble sugar (µm g FW^{-1})	پرولین (میکرومول در گرم بافت تازه) Proline (µm g FW^{-1})	پتاسیم (میلی‌گرم در گرم ماده خشک) Potassium (mg g DW^{-1})
	0	81.55^{c}	25.88^{bc}	0.87^{de}	10.43^{h}	1.59^{c}
0	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}
	0	68.53^{f}	22.32^{de}	0.99^{bcde}	15.26^{f}	1.52^{ef}
30	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}
	0	63.80^{h}	19.30^{gfh}	1.10^{bcd}	24.12^{c}	1.49^{gh}
60	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}
	0	52.85^{k}	15.36^{i}	1.06^{bcd}	21.11^{e}	1.40^{j}
90	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، اعداد با حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ بر اساس آزمون LSD ندارند.

In each column, means with at least one similar letter are not significantly different at 5% level of probability using LSD test.



شکل ۵. مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف کلرید سدیم (میلی‌مولار) بر میزان سدیم در گیاه همیشه بهار؛ ستون‌های با حروف متفاوت در سطح احتمال ۵٪ بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌دار دارند.

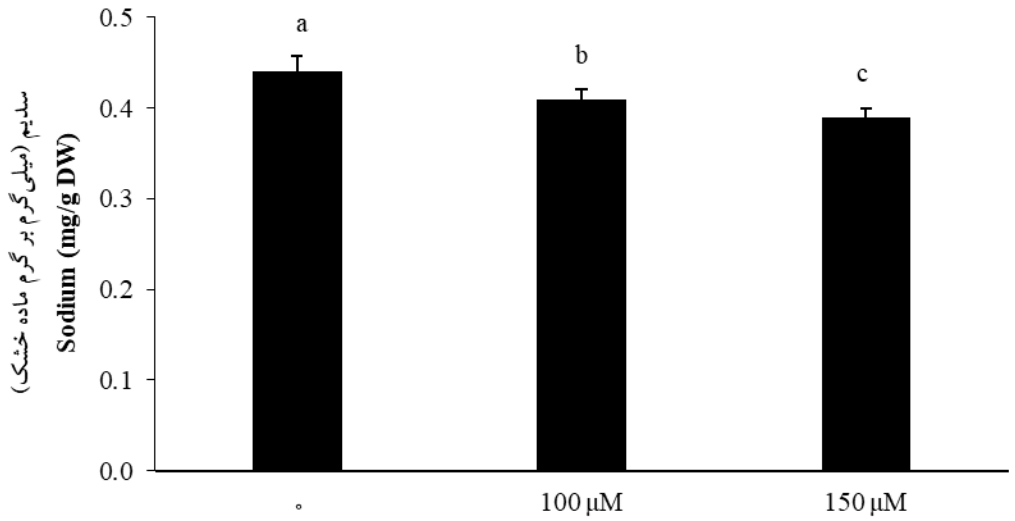
Fig. 5. Mean comparison of the effect of different NaCl concentrations on sodium content of marigold; Bars with dissimilar letter are significantly different at 5% level of probability using LSD test.

۶۰ میلی‌مولار به‌علاوه تیمار ملاتونین ۱۰۰ میکرومولار مشاهده شد و کم‌ترین قند محلول مربوط به شوری ۹۰ میلی‌مولار بدون تیمار ملاتونین بود. اسید آمینه پرولین در تیمار شوری ۶۰ میلی‌مولار به‌علاوه تیمار ملاتونین ۱۵۰ میکرومولار بیشینه بود. در شوری ۳۰ میلی‌مولار بدون کاربرد ملاتونین کم‌ترین میزان پرولین مشاهده شد (جدول ۴). با افزایش غلظت نمک، نشت یونی افزایش یافت و بیش‌ترین میزان آن در شوری ۹۰ میلی‌مولار به‌دست آمد (شکل ۳). در غلظت ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین در مقایسه با تیمار شاهد، کاهش نشت یونی مشاهده شد (شکل ۴). بیش‌ترین مقدار سدیم در ۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم ثبت شد. در غلظت ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین تجمع عنصر سدیم در برگ کاهش یافت (شکل‌های ۵ و ۶).

بحث

در پژوهش حاضر شوری بر زیست‌توده گیاه اثر منفی داشت و منجر به کاهش این صفت در گیاه مورد آزمایش شد. اما کاربرد ملاتونین در غلظت‌های مختلف باعث افزایش صفات رشدی گیاه از جمله افزایش ارتفاع، تعداد برگ، طول و حجم ریشه، وزن تازه 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. مشابه یافته‌های پژوهش حاضر، کاربرد ملاتونین باعث بازسازی ریشه‌های جانبی خردل سیاه (*Brassica juncea*) شد (Alenazi et al., 2024; Jouyban, 2012).

محتوای آب نسبی یک شاخص فیزیولوژیک مهم برای بیان وضعیت آب گیاه است. در این پژوهش، محتوای آب نسبی برگ در اثر 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 آب نسبی تحت تنش شوری شد. مشابه یافته‌های پژوهش حاضر، برخی از پژوهشگران گزارش کردند که کاربرد ملاتونین محتوای آب نسبی گیاه را



شکل ۶. مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین (میکرومولار) بر میزان سدیم در گیاه همیشه بهار؛ ستون‌های با حروف متفاوت در سطح احتمال ۵٪ بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌دار دارند.

Fig. 6. Mean comparison of the effect of different melatonin levels on sodium content of marigold; Bars with dissimilar letter are significantly different at 5% level of probability using LSD test.

تحت تنش شوری افزایش داده است (EL-Bauome et al., 2022). انعطاف‌پذیری سلول‌ها در برابر تنش شوری را می‌توان با افزایش مواد محافظت‌کننده اسمزی همچون ملاتونین افزایش داد. پژوهش‌های انجام‌شده نشان داده است که ملاتونین به‌عنوان خط اولیه دفاع در برابر عوامل تنش‌زای محیطی عمل می‌کند. ملاتونین نه تنها به‌طور مستقیم با گونه‌های فعال اکسیژنی[1] در تعامل است، بلکه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی درون‌زا را در گیاهان افزایش می‌دهد. این بدین مفهوم است که تنش‌های محیطی مانند تنش شوری باعث افزایش گونه‌های فعال اکسیژنی می‌شوند 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 آنتی‌اکسیدانی در برابر آسیب اکسیداتیو و عمل به‌عنوان یک ماده طبیعی در کاهش نشت یونی شود (Singh et al., 2024). به طور مشابه در پژوهشی روی گیاه ژینکو، اعمال تیمار ملاتونین تحت تنش شوری، تنش اکسیداتیو را کاهش داد. در این پژوهش بیان شد که در شرایط عادی، گیاه توازن پویایی 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 نموده و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را تحریک و افزایش می‌دهد، و در نتیجه گونه‌های فعال اکسیژنی اضافی را خنثی نموده 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 می‌شود (Liu et al., 2020). پرولین رایج‌ترین اسمولیت سازگار درون‌زا است و یک سازوکار دفاعی برای گیاه با حفظ ساختار سلول و تنظیم اسمزی محسوب می‌شود. حلالیت زیاد در آب موجب حفظ پتانسیل اسمزی سلول و استمرار جذب آب تحت تنش شوری می‌شود. علاوه بر این تجمع پرولین نقش مهمی در خنثی‌کردن رادیکال‌های آزاد دارد (Hayat et al.,

1. Reactive oxygen species (ROS)

(2012. افزایش مقدار پرولین در این شرایط به‌عنوان یکی از فاکتورهای تحمل به تنش درنظر گرفته می‌شود (Hakim et al., 2014). در پژوهش 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 شد 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 سلول‌های 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 فیزیولوژیک گیاهان اطمینان حاصل کند و شوری باعث اختلال در ثبات غشا و افزایش نفوذپذیری نشت یون‌ها به سلول می‌شود. به همین دلیل در شرایط تنش شوری، نشت یونی در اندام هوایی افزایش می‌یابد. از جمله شاخص‌های فیزیولوژیک حیاتی وضعیت آب و آسیب سلولی که دلالت بر تنش دارد، نشت یونی است (EL- Bauome et al., 2024; Farouk et al., 2022). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که ملاتونین می‌تواند میزان ترشح الکترولیت را با تأثیر مستقیم بر تنظیم اسمزی سلول گیاهی یا با استفاده از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خود برای از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژنی درون‌زا کاهش دهد و در نتیجه مانع پراکسیداسیون لیپیدی غشاء شود (Cui et al., 2017). نتایج پژوهش حاضر نشان داد درصد شاخص نشت یونی تحت‌تأثیر سطوح مختلف شوری به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت. در گیاه زینتی مورد (*Myrtus communis*)، شوری سبب افزایش نشت یونی در برگ شد (Acosta-Motos et al., 2017). کم‌ترین میزان نشت یونی (بیش‌ترین پایداری غشای سلولی) در پژوهش حاضر در گیاهان تیمارشده 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 در برگ 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 بافت‌ها در گیاهان در معرض تنش شوری توسط پژوهش‌های مختلف در گیاهان مختلف همچون توت فرنگی و رز مینیاتوری تأیید شده است (Mirtaheri et al., 2021; Zahedi et al., 2020). کاربرد ملاتونین در شرایط تنش شوری باعث کاهش غلظت سدیم در ریشه و اندام هوایی گیاه و افزایش محتوای پتاسیم می‌شود. یکی از نیازهای کلیدی برای رشد گیاه تحت غلظت زیاد نمک، حفظ نسبت زیاد 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 انتقال‌دهنده‌های مبدل کاتیون–پروتون انجام می‌شود که ممکن است ویژگی‌های متفاوتی نسبت به کاتیون‌های تک‌ظرفیتی داشته باشند و در هموستاز سیتوزولی و تنظیم اسمزی نقش داشته و فعالیت آن‌ها بر رشد گیاه تأثیر دارد. پروتئین‌های غشایی یکپارچه که به‌عنوان رسانا عمل می‌کنند، نقش عمده‌ای در تحمل نمک از راه تنظیم انتقال سدیم از برگ‌ها به ریشه داشته و از تجمع بیش از حد سدیم در برگ‌ها تحت تنش شوری جلوگیری می‌کنند (Deinlein et al., 2014). گزارش 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 زیاد NaCl در خاک به‌عنوان القای خروج پتاسیم از سلول‌های ریشه شناخته شده است که باعث کاهش بیش‌تر نسبت پتاسیم به سدیم در گیاه می‌شود. 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 یون‌ها در سلول کمک کرده و باعث مقاومت به شوری در گیاه شد (Himabindu et al., 2016). در پژوهش دیگری 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 کنترل‌شده 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).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش 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. یافته‌ها 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 آثار 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 گیاه همیشه بهار در شرایط تنش شوری به‌ویژه غلظت‌های ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم پیشنهاد می‌شود.

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. https://doi.org/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. https://doi.org/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. https://doi.org/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. https://doi.org/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. https://doi.org/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. https://doi.org/10.1111/iwj.14413.
7. Azizi, A., Bagnazari, M., Mohammadi, M., 2024. Seaweed and phosphate-solubilizing bacteria biofertilizers ameliorate physiochemical traits and essential oil content of *Calendula officinalis* L. under drought stress. Sci. Hortic. 328, 112653. https://doi.org/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. https://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. https://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. https://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. https://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. Folia Hort. 36(1), 1–17. https://doi.org/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. https://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. https://doi.org/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. Exp. Bot. 124, 39–63. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.11.010.
20. Jouyban, Z., 2012. The effects of salt stress on plant growth. Tech. J. Engin. Appl. 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. https://doi.org/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. https://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. https://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*). Iran. J. Soil Water Res. 52(3), 651–665. https://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. https://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., Atta, K., 2023. Linking the role of melatonin in plant stress acclimatization. S. Afr. J. Bot. 159, 179–190. https://doi.org/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. Sci. Hortic. 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 Agricultural University, The Netherlands.
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. https://doi.org/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. https://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. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.10.042.
38. 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. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112495