



Investigating the effect of melatonin on Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) under different irrigation levels

Mina Amani¹ | Mohsen Sabzi-Nojadeh²

1. Department of Horticultural Sciences and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

E-mail: minaamani@tabrizu.ac.ir

2. Corresponding Author, Department of Horticultural Sciences and Engineering, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran. E-mail: m.sabzi@tabrizu.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:

Received 7 December 2024

Received in revised form

15 April 2025

Accepted 7 June 2025

Published online 29 September 2025

ABSTRACT

Objective: With the global rise in population and increasing demand for medicinal plants, active compounds from these species are of growing pharmaceutical importance. Cultivation of Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) is expanding, and the crop is prone to abiotic stresses, especially water deficit, during the growing season. Drought stress can impair physiological and metabolic functions. Melatonin has emerged as a key regulator of plant responses to stress, modulating diverse physiological processes and enhancing resilience. Given limited water resources and the medicinal value of Moldavian balm, this study aimed to evaluate the effects of melatonin on the physiological properties of Moldavian balm under greenhouse conditions.

Methods: We examined the effects of three melatonin treatments—control, 50 μ M, and 100 μ M—on the physiological characteristics of Moldavian balm subjected to drought stress at 25%, 50%, 75%, and 100% of field capacity. The experiment followed a factorial arrangement in a completely randomized block design with three replications, conducted in the greenhouse and laboratory of the Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Ahar campus. Statistical analyses were performed to assess treatment effects and interactions.

Results: Application of 100 μ M melatonin significantly increased photosynthetic pigment content, supporting improved photosynthetic capacity under drought. Melatonin treatment, particularly at 100 μ M, also elevated secondary metabolites, including phenolics and flavonoids, which enhance plant defense under stress. Notably, phenol and flavonoid contents reached 51.95 mg gallic acid equivalents (GAE) g^{-1} fresh weight and 11.42 mg quercetin equivalents (QEs) g^{-1} fresh weight, respectively, in melatonin-treated plants. Phenylalanine ammonia-lyase activity, a key enzyme in phenolic biosynthesis, was significantly enhanced. Under severe drought (25% field capacity), cinnamic acid production reached 17.84 μ M min^{-1} mg^{-1} protein, indicating melatonin's role in reinforcing defense pathways. While 100 μ M melatonin improved physiological responses, malondialdehyde (MDA) levels (lipid peroxidation marker) were also elevated (≈ 1.13 μ M g^{-1} dry weight), suggesting that some oxidative stress persisted and highlighting the need for integrated stress-management strategies.

Conclusion: Melatonin, especially at 100 μ M, mitigates drought-induced damage in Moldavian balm by enhancing photosynthetic performance, boosting secondary metabolite production, and elevating antioxidant defense enzyme activity. These effects contribute to improved plant resilience, quality, and potential yield under water-limited conditions. Melatonin can be a valuable tool for stabilizing Moldavian balm production in greenhouse systems facing abiotic stress.

Keywords:

Auxin-like hormone

Malondialdehyde

Oxidative damage

Phenolic compounds

Photosynthetic pigments

Cite this article: Amani, M., & Sabzi-Nojadeh, M. (2025). Investigating the effect of melatonin on Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) under different irrigation levels. *Journal of Crops Improvement*, 27 (3), 467-484. DOI: <https://doi.org/10.22059/jci.2025.386525.2908>



© The Author(s).

DOI: <https://doi.org/10.22059/jci.2025.386525.2908>

Publisher: University of Tehran Press.



بررسی تأثیر ملاتونین در بادرشویه (*Dracocephalum moldavica* L.) در سطوح مختلف آبیاری

مینا امانی^۱ | محسن سبزی نوجهده^{۲*}

۱. گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: minaamani@tabrizu.ac.ir

۲. نویسنده مسئول، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: m.sabzi@tabrizu.ac.ir

چکیده

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۱۷

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۱/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۷

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۷/۰۷

هدف: تنش کم آبی می تواند تأثیرات قابل توجهی بر گیاهان از طریق تخریب کارکردهای فیزیولوژیکی و متابولیکی آن ها دارد. از طرف دیگر، ملاتونین با تعدیل فرایندهای مختلف فیزیولوژیکی، پاسخ های زیستی گیاهان را تنظیم کرده و در نهایت مقاومت آن ها را در برابر شرایط تنش افزایش می دهد. بنابراین، هدف بررسی تأثیر ملاتونین بر بهبود خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بادرشویه تحت سطوح مختلف آبیاری است.

روش پژوهش: در این پژوهش، تأثیر غلظت های مختلف ملاتونین (شاهد، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) بر ویژگی های فیزیولوژیکی گیاه بادرشویه در شرایط تنش کم آبی (۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد ظرفیت زراعی) به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی و سه تکرار تکرار در گلخانه و آزمایشگاه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز در سال ۱۴۰۱ مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته ها: نتایج این پژوهش نشان داد که محلول پاشی گیاهان با غلظت ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین تأثیر قابل توجهی در بهبود پارامترهای رنگیزه های فتوسنتزی دارد. این بهبود از طریق افزایش متابولیت های ثانویه، شامل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها و همچنین آنزیم های آنتی اکسیدان، به ویژه فنیل آلانین آمونیا لایز، مشاهده شد. این تأثیر مثبت به ویژه در شرایط تنش کم آبی متوسط و شدید بارزتر بود و نشان دهنده توانایی ملاتونین در بهبود مقاومت گیاهان در برابر تنش های محیطی است. به طور خاص، در تیمارهایی که با ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین محلول پاشی شده بودند، بیشترین میزان فنول (۵۱/۹۵۲ میلی گرم اسید گالیک بر گرم وزن تر برگ) و فلاونوئید (۱۱/۴۲۴ میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن تر برگ) ثبت شد. همچنین، مقادیر بالای از مالون دی آلدئید (۱/۱۲۸ میکرومول بر گرم وزن خشک) و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز (۱۷/۸۴ میکرومول سینامیک اسید در دقیقه در میلی گرم پروتئین) نیز در این تیمار تحت شرایط تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) مشاهده گردید.

نتیجه گیری: این نتایج به وضوح نشان می دهد که ملاتونین می تواند به عنوان یک عامل مؤثر در کاهش آسیب های ناشی از تنش کم آبی عمل کند و به گیاه بادرشویه کمک کند تا در شرایط نامساعد محیطی بهتر عمل کند. با توجه به یافته های این پژوهش، می توان نتیجه گرفت که استفاده از ملاتونین در شرایط تنش کم آبی نه تنها به کاهش شدت آسیب های ناشی از تنش کم آبی می کند، بلکه همچنین می تواند به بهبود کیفیت و عملکرد گیاهان بادرشویه منجر شود. نتایج این پژوهش نشان می دهد که تنش کم آبی می تواند تأثیرات منفی قابل توجهی بر عملکرد فیزیولوژیکی گیاه بادرشویه داشته باشد. با این حال، استفاده از ملاتونین به عنوان یک محرک طبیعی می تواند به طور مؤثری این تأثیرات منفی را کاهش دهد و به بهبود کیفیت و عملکرد گیاه در شرایط تنش کم آبی کمک کند. به ویژه، محلول پاشی با غلظت ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین منجر به افزایش قابل توجهی در میزان رنگیزه های فتوسنتزی، متابولیت های ثانویه و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان شد. این نتایج نشان دهنده توانایی ملاتونین در تقویت مقاومت گیاهان در برابر تنش های محیطی و بهبود پایداری آن ها در شرایط کم آبی است.

کلیدواژه ها:

آسیب اکسیداتیو

ترکیبات فنولی

رنگیزه های فتوسنتزی

هورمون شبه اکسین

مالون دی آلدئید

استناد: امانی، مینا و سبزی نوجهده، محسن (۱۴۰۴). بررسی تأثیر ملاتونین در بادرشویه (*Dracocephalum moldavica* L.) در سطوح مختلف

آبیاری. به زراعی کشاورزی، ۲۷ (۳)، ۴۶۷-۴۸۴. DOI: <https://doi.org/10.22059/jci.2025.386525.2908>



۱. مقدمه

بادرشبویه که متعلق به تیره Lamiaceae و با نام علمی *Dracocephalum moldavica* L. شناخته می‌شود، به‌عنوان یک منبع غنی از ترکیبات ثانویه موردتوجه قرار گرفته و امروزه در صنایع داروسازی و آرایشی و بهداشتی کاربرد گسترده‌ای دارد (امیدیگی^۱ و همکاران، ۲۰۰۳). با توجه به گسترش کشت بادرشبویه در سطح جهانی، این احتمال وجود دارد که این گیاه با تنش‌های غیرزیستی محیطی، از جمله تنش کم‌آبی، در طول فصل رشد خود مواجه شود (امیدیگی و همکاران، ۲۰۰۳؛ ژان^۲ و همکاران، ۲۰۲۴).

کم‌آبی یکی از عوامل غیرزیستی محدودکننده و تأثیرگذار بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاهان است. زمانی که گیاهان تحت تنش کم‌آبی قرار می‌گیرند، رشد آن‌ها محدود شده و تغییرات فیزیولوژیکی متعددی در آن‌ها رخ می‌دهد (شوهانی^۳ و همکاران، ۱۴۰۱). خشکی طولانی‌مدت می‌تواند عوارض جدی‌تری از جمله پژمردگی، نکروز سطحی و حتی مرگ گیاه را به همراه داشته باشد (لی^۴ و همکاران، ۲۰۱۸). تحمل به تنش یک ویژگی پیچیده است و گیاهان برای مقابله با شرایط نامطلوب، رویکردهای متفاوتی را اتخاذ می‌کنند (چان^۵ و شی^۶، ۲۰۱۵). کم‌آبی باعث افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در سلول‌ها می‌شود و از آنجاکه این ترکیبات با غشای اندامک‌های سلولی مهمی مانند میتوکندری و کلروپلاست در ارتباط هستند، تجمع بیش از حد آن‌ها می‌تواند منجر به پراکسیداسیون لیپیدها و نشت یونی شود. همچنین، گونه‌های فعال اکسیژن با غیرفعال کردن آنزیم‌ها، پروتئین‌ها و نوکلئیک‌اسیدها، فتوسنتز و بازده محصولات را کاهش می‌دهند (الطاف^۷ و همکاران، ۲۰۲۲). گیاهان برای پاسخ به تنش، راهبردهای مختلفی را به کار می‌برند که شامل افزایش موقتی سطوح آب‌سازیک‌اسید، افزایش اسمولیت‌های سازگار، افزایش آنزیم‌های حفاظتی، افزایش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها و مهار مسیرهای مصرف انرژی است (لی و همکاران، ۲۰۱۸). در میان این راهبردها، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تنظیم اسمزی نقش ویژه‌ای در افزایش تحمل به تنش خشکی دارند (بلوم^۸، ۲۰۱۷).

تنظیم‌کننده‌های رشد طبیعی یا مصنوعی، از جمله ملاتونین، یکی از مهم‌ترین گروه‌های ترکیبات آلی هستند که حتی در غلظت‌های کم نیز می‌توانند فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه را تحت تأثیر قرار دهند. این مولکول‌های علامت‌رسان به‌عنوان عوامل کلیدی در پاسخ به تنش‌های محیطی شناخته می‌شوند. سه عامل مهم و تأثیرگذار بر توانایی تنظیم‌کننده‌های رشد در افزایش مقاومت گیاهان به شرایط تنشی شامل غلظت مورد استفاده، وضعیت فیزیولوژیکی گیاه و عوامل محیطی مؤثر بر جذب این ترکیبات هستند (کوامروزمان^۹ و همکاران، ۲۰۲۱).

۲. پیشینه پژوهش

ملاتونین که از مشتقات تریپتوفان است، در موجودات زنده وجود دارد و به‌عنوان یک تنظیم‌کننده رشد با نقش شبه‌هورمونی در گیاهان شناخته می‌شود (ژانگ^{۱۰} و همکاران، ۲۰۱۹). این ترکیب، پاسخ‌های زیستی گیاهان را از طریق

1. Omidbeigi
2. Zhan
3. Shohani
4. Li
5. Chan
6. Shi
7. Altaf
8. Blum
9. Quamruzzaman
10. Zhang

تعدیل فرایندهای مختلف فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی تنظیم کرده و در نهایت، مقاومت گیاهان را در برابر شرایط خشک‌سالی افزایش می‌دهد (کامپوس^۱ و همکاران، ۲۰۱۹؛ شارما^۲ و ژینگ^۳، ۲۰۱۹). تنظیم دستگاه فتوسنتزی و سیستم دفاع ضد اکسیداتیو، فرایندهای فیزیولوژیکی اصلی هستند که ملاتونین آن‌ها را در شرایط کمبود آب کنترل می‌کند (شارما و ژینگ، ۲۰۱۹). به‌تازگی، تحقیقات زیادی به‌منظور بررسی اثرات این مولکول چندمنظوره در گیاهان تحت تنش‌های غیرزیستی انجام شده است. با این حال، تنش کم‌آبی در مقایسه با سایر تنش‌ها کم‌تر مورد مطالعه قرار گرفته و نیاز به دانش جامع‌تری در زمینه سازوکارهای دقیق تنظیم‌کننده‌های تحمل به تنش به‌واسطه ملاتونین احساس می‌شود. نتایج آزمایش‌ها بر روی گیاه شنبلیله تحت تنش خشکی نشان می‌دهد که با افزایش میزان کم‌آبی، طول بوته کاهش می‌یابد. در مقابل، وزن ریشه به‌عنوان یک مکانیسم دفاعی برای مقابله با تنش افزایش می‌یابد. همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در برگ گیاهان تحت تنش نیز افزایش بیش‌تری را نشان داده است (زمانی^۴ و همکاران، ۲۰۲۰). پژوهش دیگری نشان داد که تنش آبی باعث کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئیدها می‌شود، درحالی‌که کاربرد ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین منجر به افزایش محتوای ترکیبات فنولی و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالاز در شرایط تنش می‌گردد (نقی‌زاده^۵ و همکاران، ۲۰۱۹). میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان زنده یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی است و حفظ غلظت کلروفیل تحت تنش کم‌آبی به ثبات فتوسنتز در این شرایط کمک می‌کند. به‌نظر می‌رسد که کاهش میزان کلروفیل تحت تنش شدید کم‌آبی، به‌علت تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و در نتیجه پراکسیداسیون و تجزیه کلروفیل و همچنین هیدرولیز پروتئین‌های تیلاکوئیدی باشد. مطالعات نشان می‌دهد که اثرات ملاتونین بر رنگیزه‌های فتوسنتزی ممکن است مرتبط با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها یا افزایش ظرفیت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهان باشد. از طرفی دیگر، ممکن است کاربرد ملاتونین از طریق افزایش غلظت فلاونوئیدها که برای بیوسنتز کلروفیل مطلوب است، کلروفیل را از انواع اکسیژن فعال حفاظت کند (فاروک^۶ و ال-امرو^۷، ۲۰۱۹). در بررسی دیگری نیز نشان داده شد که ملاتونین باعث بهبود فتوسنتز از طریق افزایش راندمان فتوسنتزی، محتوای کلروفیل و کاروتنوئید می‌شود (آرنائو^۸ و هرناوندز^۹، ۲۰۱۵). فلاونوئیدها ترکیبات پلی‌فنولیک و از مهم‌ترین ترکیبات ثانویه گیاهان هستند. ترکیبات فنولی، جذب‌کننده‌های عالی رادیکال‌های فعال اکسیژن هستند، زیرا پتانسیل کاهش الکترون رادیکال‌های فنولی کم‌تر از پتانسیل کاهش الکترون رادیکال‌های فعال اکسیژن است و همچنین به این دلیل که رادیکال‌های فنوکسیل به‌طور کلی واکنش‌پذیری کم‌تری نسبت به رادیکال‌های فعال اکسیژن دارند. بنابراین، ترکیبات فنولی می‌توانند واسطه‌های اکسیژن فعال را بدون ایجاد واکنش‌های اکسیداتیو بیش‌تر از بین ببرند. نتیجه این است که بسیاری از تنش‌های محیطی که باعث تنش اکسیداتیو می‌شوند، اغلب باعث سنتز متابولیت‌های فنولی می‌شوند (دبناث^{۱۰} و همکاران، ۲۰۱۹). تجمع برخی از فلاونوئیدها، شاهدهی بر وقوع تنش است. در موارد بسیاری، این مواد نقش آنتی‌اکسیدانی را به‌عنوان بخشی از پاسخ گیاه در برابر تنش بازی می‌کنند. همچنین این مواد در کاهش اثرات تشعشعات مضر و مواد سمی و همچنین تنظیم پاسخ گیاهان در برابر تنش از طریق کنترل انتقال اکسین‌ها نقش دارند (امانی و

1. Campos
2. Sharma
3. Zheng
4. Zamani
5. Naghizadeh
6. Farouk
7. Al-Amru
8. Arnao
9. Hernández-Ruiz
10. Debnath

همکاران، ۱۴۰۲). بنابراین، هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر ملاتونین بر بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بادرشوبیه تحت سطوح مختلف آبیاری است.

۳. روش‌شناسی پژوهش

۳.۱. طرح آزمایشی و فاکتورهای مورد بررسی

این پژوهش در قالب طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی به روش فاکتوریل با سه غلظت مختلف ملاتونین (شاهد، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) و چهار سطح آبیاری (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) با سه تکرار در گلخانه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز در سال ۱۴۰۱ مورد مطالعه قرار گرفت (امانی و همکاران، ۱۴۰۲). در مطالعه حاضر، بذور بادرشوبیه از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه و ملاتونین به صورت پودر سفید رنگ با درصد خلوص ۹۸ درصد مورد استفاده قرار گرفت (ملاتونین با فرمول شیمیایی $C_{13}H_{15}N_3O_2$ و وزن مولکولی ۲۲۳/۲۵ گرم بر مول دارای یک ساختار ایندول است که شامل یک حلقه ایندول و یک گروه استیل و یک گروه متوکسی است. این ساختار به آن ویژگی‌های خاصی می‌دهد). به منظور ضد عفونی بذور و جلوگیری از آلودگی‌های احتمالی قارچی، بذرها به مدت دو تا سه دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد قرار داده شد و سپس با آب مقطر شست و شو داده شدند. همچنین برای کشت بذور بادرشوبیه، جهت اطمینان از قدرت جوانه‌زنی، بذرها تست جوانه‌زنی روی آن‌ها انجام گرفت. برای کشت، از گلدان‌های استریل هفت کیلویی با قطر دهانه ۳۰ سانتی‌متری و ارتفاع ۲۱/۵ سانتی‌متر استفاده شد. به منظور کاشت بذور، ابتدا دوسوم حجم گلدان با خاک لومی شنی با اسیدیته ۷/۶ و EC برابر ۱/۲۳ و مواد آلی برابر ۷/۴ پر گردید و سپس بذرها با تراکم هفت بوته در هر گلدان و در عمق دو سانتی‌متری خاک کاشته شدند. در پایان، یک سانتی‌متر خاک روی بذرها ریخته شد و اولین آبیاری بلافاصله بعد از کشت انجام گرفت. جوانه‌زنی بذور در محیط گلخانه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بعد از گذشت ۱۰ روز آغاز شد. پس از شش هفته رشد گیاه در شرایط طبیعی و بدون تنش، تعداد پنج گیاه سالم و یک‌دست در هر گلدان برای اعمال تیمارهای محلول‌پاشی ملاتونین و رژیم‌های مختلف آبیاری انتخاب شدند. در مطالعه حاضر، ۱۲ تیمار آزمایشی در سه تکرار شامل سطوح مختلف تنش کم‌آبی (۲۵ درصد (تنش شدید)، ۵۰ درصد (تنش متوسط)، ۷۵ درصد (تنش ملایم) و ۱۰۰ درصد (شاهد) و غلظت‌های متفاوت محلول‌پاشی ملاتونین (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) به گیاهان به صورت اسپری برگ‌ری اعمال گردید و غلظت‌های مختلف براساس بررسی منابع انتخاب گردید (به دلیل عدم حالیت ملاتونین در آب، معمولاً از الکل (مانند اتانول یا متانول) برای حل کردن ملاتونین استفاده می‌شود. ملاتونین یک ترکیب آلی است که در آب به خوبی حل نمی‌شود، بنابراین برای تهیه محلول‌های مورد نیاز در آزمایشات، نیاز به استفاده از حلال‌های آلی مانند الکل است. به طور خاص، در مواردی که ۵۰ میلی‌گرم ملاتونین باید در ۱ میلی‌لیتر الکل حل شود، این روش به عنوان یک راهکار متداول برای دستیابی به غلظت‌های مورد نظر ملاتونین در محلول‌های اسپری یا محلول‌های غذایی گیاهان مورد استفاده قرار می‌گیرد. استفاده از الکل به عنوان حلال نه تنها به حل شدن ملاتونین کمک می‌کند، بلکه به بهبود پایداری و کارایی آن در شرایط آزمایشگاهی نیز کمک می‌نماید. با این حال، مهم است که در هنگام استفاده از الکل به دقت نسبت به غلظت و تأثیرات آن بر روی گیاهان و محیط زیست توجه شود). با توجه به عدم وجود اطلاعات دقیق در مورد طول نیمه عمر ملاتونین در گیاه و به منظور اطمینان از جذب آن، محلول‌پاشی ملاتونین بر روی برگ‌های گیاه بادرشوبیه براساس نقشه طرح یک هفته قبل و همزمان با اعمال تنش کم‌آبی، به صورت دو مرتبه در هفته و حدود ۳۰ میلی‌لیتر بر روی هر گیاه (به طوری که کل سطح برگ با محلول ملاتونین پوشانده شود) انجام شد. در گلخانه، روش اعمال تیمارهای تنش کم‌آبی بر روی گیاهان کاشته شده در گلدان به صورت وزنی بود. براساس محاسبات انجام شده، وزن هر گلدان برای هر چهار تیمار تنش کم‌آبی (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی) مشخص گردید. اعمال تنش کم‌آبی به

این صورت بود که گلدان‌ها به صورت روزانه توزین می‌شدند و نقصان رطوبتی در هر تیمار با آبیاری گلدان‌ها تا رسیدن به سطح تیمار مورد نظر برطرف می‌شد (در این روش، وزن کل گلدان به‌طور منظم اندازه‌گیری می‌شود و سپس با استفاده از داده‌های قبلی (مانند وزن خاک خشک) و تغییرات رطوبت، می‌توان وزن تقریبی گیاه را محاسبه کرد) (رحیمی و همکاران، ۲۰۱۹). در طول سه هفته‌ای که تنش اعمال شد، هر زمان که مشاهده می‌شد گیاه توان تحمل تنش شدید را ندارد، همه تیمارهای تنش کم‌آبی به مدت یک یا دو روز متوقف می‌شد و آبیاری در حد ظرفیت زراعی انجام می‌گرفت تا گیاهان خود را بازیابی کنند و دوباره اعمال تیمارها ادامه پیدا می‌کرد (رحیمی^۱ و همکاران، ۲۰۱۹). پس از اعمال تیمارها، نمونه‌برداری و اندازه‌گیری صفات در مرحله تمام گل در اواخر مردادماه صورت پذیرفت.

۲.۳. اندازه‌گیری صفات و عملیات برداشت

پس از رسیدن گیاهان به دوره کامل گلدهی، اندازه‌گیری صفات مختلف شامل رنگیزه‌های فتوسنتزی (لیختنتالر^۲، ۱۹۸۳)، فنول کل با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو در طیف جذبی ۷۶۵ نانومتر در دستگاه اسپکتوفتومتر (دو^۳ و همکاران، ۲۰۰۹)، فلاونوئید کل به روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم (چانگ^۴ و همکاران، ۲۰۰۲)، مالون دی‌آلدهید به وسیله تست تیوباربیتوریک اسید (ژینگ^۵ و همکاران، ۲۰۰۵) و اندازه‌گیری آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز برحسب مقدار سینامیک اسید (ژوکر^۶، ۱۹۶۵) با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر انجام شدند.

۱.۲.۳. کلروفیل a، b و کاروتنوئید کل و کاروتنوئید

میزان کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید با استفاده از روش (لیختنتالر، ۱۹۸۳) با نمونه‌گیری تصادفی از برگ‌های بالغ و عصاره‌گیری با استون ۸۰ درصد اندازه‌گیری شد. برای این کار، ابتدا حدود ۰/۲۵ گرم از نمونه برگی هر گلدان به صورت تصادفی جدا شد و در داخل فویل آلومینیومی پیچیده و پس از قراردادن بر روی یخ، به آزمایشگاه منتقل شدند. سپس ۰/۲۵ گرم نمونه برگ را در هاون چینی با پنج میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد تا به صورت محلول یکنواختی درآید. نمونه‌ها به لوله‌های سانتریفیوژ منتقل و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. در مرحله بعد، میزان جذب نور محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۴۷۰، ۴۴۵ و ۶۶۲ نانومتر قرائت گردید. در نهایت مقادیر برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بیان شد.

۲.۲.۳. فنول کل

اندازه‌گیری فنول کل طبق روش دو و همکاران (۲۰۰۹) با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو در طیف جذبی ۷۶۵ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. برای انجام این کار، ابتدا مقدار ۲۰۰ میکرولیتر عصاره استخراج‌شده از برگ با متانول با ۲۰۰ میکرولیتر فولین ۱۰ درصد مخلوط شد. پس از قراردادن به مدت ۱۰-۵ دقیقه در دمای اتاق، ۶۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم (۷/۵ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) به محلول حاصل اضافه شد. پس از دو ساعت نگهداری در تاریکی و دمای اتاق، میزان جذب عصاره نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. قبل از قرائت میزان جذب استاندارد گالیک اسید و

1. Rahimi
2. Lichtenthaler
3. Du
4. Chang
5. Zheng
6. Zucker

نمونه‌ها، محلول صفر که شامل ۱۰۰ میکرولیتر حلال استخراج (متانول)، یک میلی‌لیتر آب مقطر، ۱۰۰ میکرولیتر فولین ۱۰ درصد و ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم بود، تهیه و دستگاه با آن کالیبره شد. درنهایت، میزان فنول کل از روی میزان جذب نمونه و نمونه‌های استاندارد برحسب میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن تر محاسبه گردید.

۳.۲.۳. فلاونوئید

محتوای فلاونوئید کل عصاره‌های استخراج‌شده از برگ با استفاده از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم توسط چانگ و همکاران (۲۰۰۲) در طیف جذبی ۴۱۵ اندازه‌گیری شد. برای این منظور، بر روی ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره استخراج‌شده از برگ با متانول، ۴۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد، ۴۰ میکرولیتر استات پتاسیم یک مولار و ۱/۱۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. پس از ۴۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، میزان جذب عصاره نمونه‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. محلول بلانک نیز حاوی تمام ترکیبات ذکرشده در بالا بود، اما به جای عصاره، ۲۰۰ میکرولیتر متانول ۸۰ درصد به آن اضافه شد. برای به‌دست‌آوردن منحنی کالیبراسیون از کوئرتستین به‌عنوان استاندارد استفاده شد. مقدار فلاونوئید نمونه‌ها به‌صورت میلی‌گرم کوئرتستین در ۱۰۰ گرم وزن تر گیاه گزارش گردید. اصول روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید، تشکیل کمپلکس‌های اسیدی آلومینیوم کلرید با گروه کتو و یا گروه هیدروکسیل فلاونوئیدهاست که کوئرتستین بیش‌ترین جذب را در طول موج ۴۱۵ نانومتر دارد.

۳.۲.۴. مالون‌دی‌آلدهید

اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی با استفاده از روش ژینگ^۱ و همکاران (۲۰۰۵)، به‌وسیله تست تیوباریتوریک اسید^۲ با سنجش میزان مالون‌دی‌آلدهید^۳ انجام شد. طبق این روش ۰/۲ گرم از بافت گیاه در هاون چینی حاوی ۱/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک‌اسید^۴ ۰/۱ درصد هموزن شد. مخلوط حاصل به‌مدت سه دقیقه در ۱۳۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. به ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ، ۱/۵ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک‌اسید ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباریتوریک‌اسید بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری قرار داده شد. سپس مخلوط حاصل بلافاصله در یخ، سرد شد و بعد از آن به‌مدت سه دقیقه در ۱۳۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. شدت جذب مایع شفاف رویی با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. ماده موردنظر برای جذب در این طول موج، کمپلکس قرمز MDA-TBA است. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. میزان مالون‌دی‌آلدهید با اعمال ضریب خاموشی معادل ۰/۴۵۷ میکرومولار بر سانتی‌متر محاسبه شد. درنهایت غلظت مالون‌دی‌آلدهید نمونه‌ها برحسب میکرومولار بر گرم وزن خشک محاسبه شد.

۳.۲.۵. آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز

برای سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز از روش بیان‌شده توسط ژوکر^۵ (۱۹۶۸) استفاده شد. برای تهیه بافر Tris-HCl، ابتدا محلول ۵۰ میلی‌مولار Tris حاوی ۱/۴ میلی‌مولار بتا-مرکاپتواتانول تهیه شد و به‌کمک کلریدریک‌اسید، pH آن به ۸/۸

1. Zhing
2. Thiobarbituric acid (TBA)
3. Malondialdehyde (MDA)
4. Trichloro acetic acid
5. Zhuker

رسانده شد. سپس ۲ گرم از برگ گیاه با ۵ میلی لیتر بافر تهیه شده ساییده شد و محلول تهیه شده در دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره سانتریفیوژ شده با ۲ میلی لیتر بافر استخراج و ۵۰۰ میکرولیتر محلول فنیل آلانین ۰/۲ درصد در یک لوله آزمایش مخلوط کرده و به مدت یک ساعت در حمام آب گرم در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. سپس تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر به مدت هر یک دقیقه یکبار قرائت گردید. واحد فعالیت این آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی سینامیک اسید $9630 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ برحسب واحد میکرومول سینامیک اسید در دقیقه در میلی گرم پروتئین محاسبه خواهد شد.

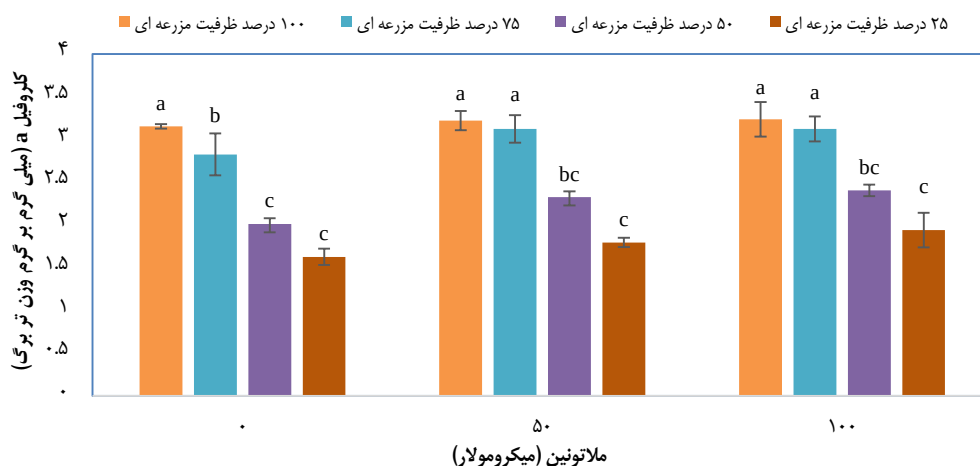
۳.۳. تجزیه و تحلیل داده ها

در ابتدا، آزمون نرمال بودن باقی مانده ها و یکنواختی واریانس های درون تیماری انجام شده و نتایج آن مورد تأیید قرار گرفت. برای مقایسه میانگین تیمارها، از آزمون چنددامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده گردید. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹/۳) انجام شد و برای رسم نمودارها از نرم افزار اکسل^۱ استفاده گردید.

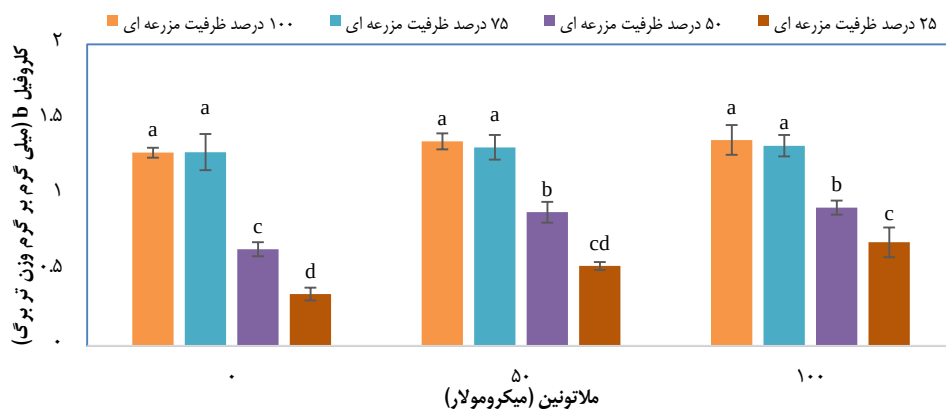
۴. یافته های پژوهش

۴.۱. رنگی های فتوسنتزی

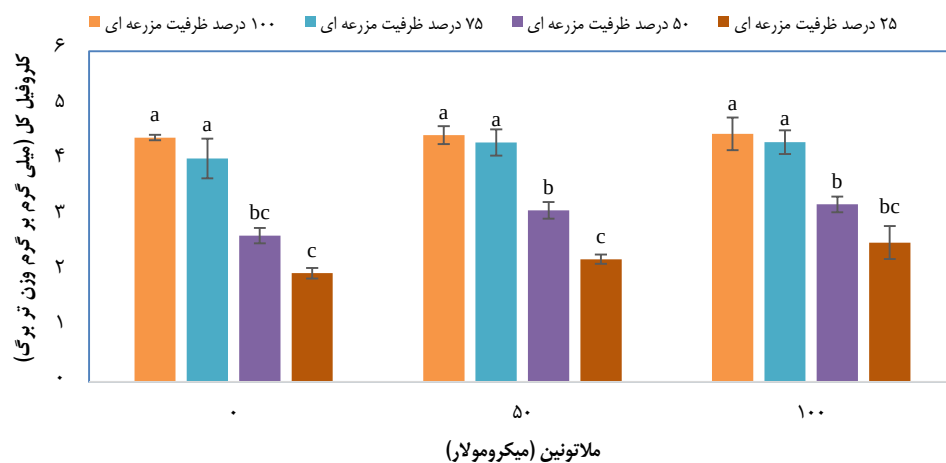
نتایج حاصل از مقایسه میانگین رنگی های فتوسنتزی نشان داد که محتوای آن ها با افزایش تنش کم آبی کاهش یافت. مقایسه میانگین اثر تنش کم آبی در غلظت های مختلف ملاتونین نشان داد که با اعمال تنش کم آبی میزان کلروفیل در گیاهان تیمار شده و تیمار نشده با ملاتونین کاهش یافت. به طور کلی، در سطوح مختلف تنش کم آبی میزان رنگی های فتوسنتزی در گیاهان تیمار شده با ملاتونین بیش تر از گیاهان تیمار نشده بود. در تمامی غلظت های مختلف ملاتونین، بیش ترین مقدار رنگی های فتوسنتزی در شاهد (بدون تنش) مشاهده شد. بیش ترین میزان کلروفیل a ($32/36$ میلی گرم در گرم وزن تر برگ) (شکل ۱)، b ($13/65$ میلی گرم در گرم وزن تر برگ) (شکل ۲)، کل ($45/016$ میلی گرم در گرم وزن تر برگ) (شکل ۳) و کاروتنوئید ($9/67$ میلی گرم در گرم وزن تر برگ) (شکل ۴) مربوط به تیمار بدون تنش با محلول پاشی ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین بود. در مقابل، کم ترین مقدار کلروفیل a ($16/27$ میلی گرم در گرم وزن تر برگ)، b ($3/44$ میلی گرم در گرم وزن تر برگ)، کل ($19/712$ میلی گرم در گرم وزن تر برگ) و کاروتنوئید ($0/80$ میلی گرم در گرم وزن تر برگ) مربوط به تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی بدون محلول پاشی ملاتونین بود (شکل ۴). نتایج حاصل از مقایسه میانگین رنگی های فتوسنتزی نشان داد که با افزایش تنش کم آبی، محتوای این رنگی ها کاهش می یابد. به طور خاص، در شرایط ۲۵ درصد ظرفیت زراعی بدون محلول پاشی ملاتونین، درصد تغییرات رنگی ها نسبت به شرایط شاهد (بدون تنش و با ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین) به وضوح قابل مشاهده است. برای کلروفیل a، کاهش حدود ۲۵/۲ درصدی، برای کلروفیل b، کاهش ۷۴/۸ درصدی و برای کلروفیل کل، کاهش ۵۶/۳ درصدی ثبت شد. همچنین، کاروتنوئیدها نیز با کاهش چشم گیر ۹۱/۷ درصدی مواجه شدند. این نتایج نشان دهنده تأثیر منفی تنش کم آبی بر محتوای رنگی های فتوسنتزی در گیاهان است، به طوری که گیاهان تحت تنش کم آبی و بدون استفاده از ملاتونین به طور قابل توجهی از نظر محتوای رنگی های فتوسنتزی ضعیف تر بودند.



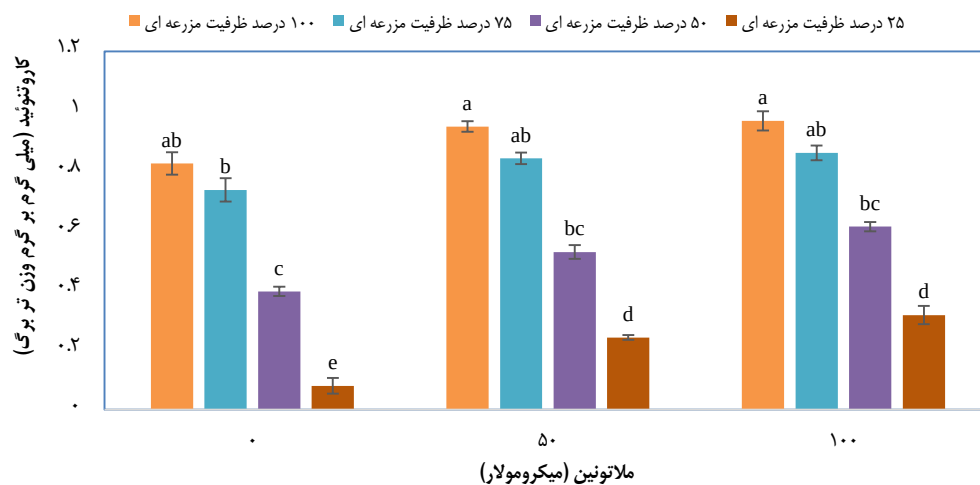
شکل ۱. میانگین اثر متقابل محلول پاشی ملاتونین در تنش کم آبی بر مقدار کلروفیل a در گیاه بادرشوبیه. تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.



شکل ۲. میانگین اثر متقابل محلول پاشی ملاتونین در تنش کم آبی بر مقدار کلروفیل b در گیاه بادرشوبیه. تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.



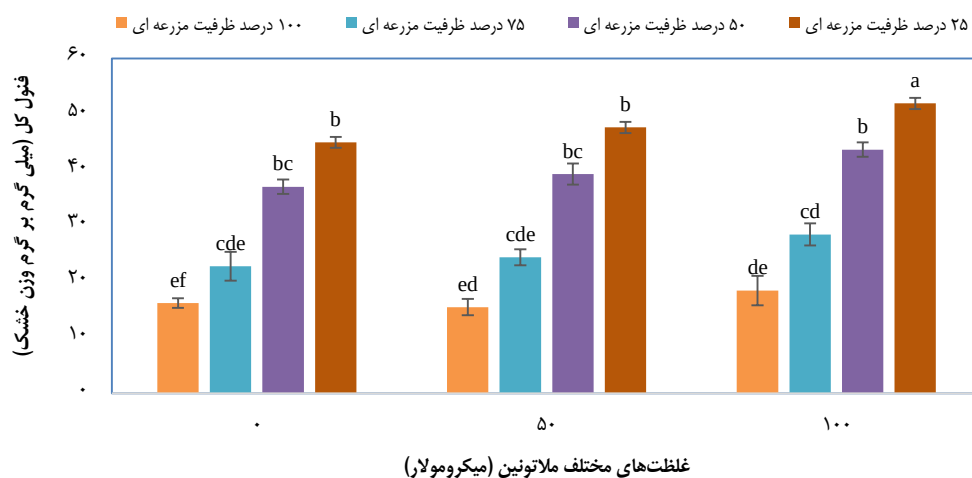
شکل ۳. میانگین اثر متقابل محلول پاشی ملاتونین در تنش کم آبی بر مقدار کلروفیل کل در گیاه بادرشوبیه. تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.



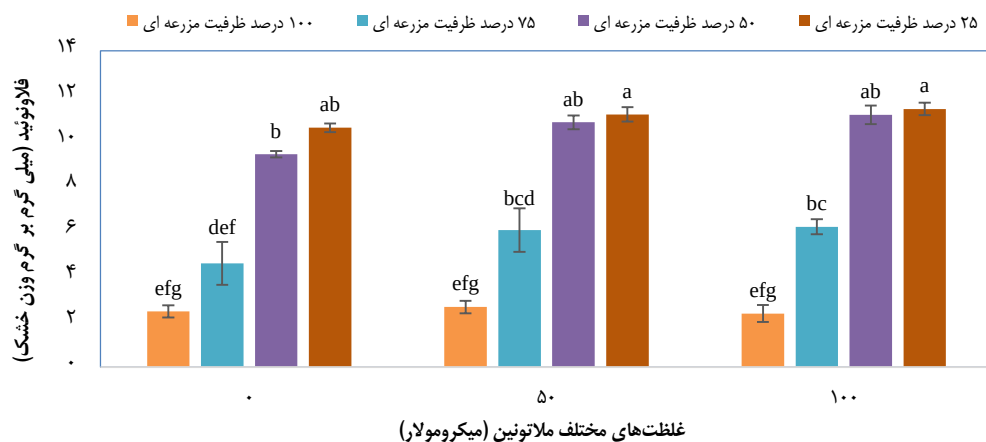
شکل ۴. میانگین اثر متقابل محلول پاشی مالاتونین در تنش کم آبی بر مقدار کاروتنوئید در گیاه بادرسبویه. تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

۲.۴. فنول و فلاونوئید

مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم آبی در غلظت‌های مختلف مالاتونین نشان داد که با اعمال تنش کم آبی، میزان فنول کل افزایش یافت، به طوری که بیش‌ترین میزان فنول کل (۵۱/۹۵ میلی گرم اسید گالیک بر گرم وزن تر برگ) مربوط به تیمار محلول پاشی ۱۰۰ میکرومولار مالاتونین و تنش کم آبی ۲۵ درصد ظرفیت زراعی بود، درحالی که کم‌ترین میزان فنول کل (۱۵/۴۵ میلی گرم اسید گالیک بر گرم وزن تر برگ) مربوط به تیمار بدون تنش با محلول پاشی ۵۰ میکرومولار مالاتونین بود و این نشان‌دهنده افزایش حدود ۱۱۱/۵ درصدی در میزان فنول کل است (شکل ۵). همچنین، با افزایش شدت تنش کم آبی، میزان فلاونوئید نیز افزایش یافت و مالاتونین تأثیر مثبتی بر این افزایش داشت، به طوری که بیش‌ترین میزان فلاونوئید (۱۱/۴۲۴ میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن تر برگ) از تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی (تنش شدید) با محلول پاشی ۱۰۰ میکرومولار مالاتونین به دست آمد (شکل ۶).



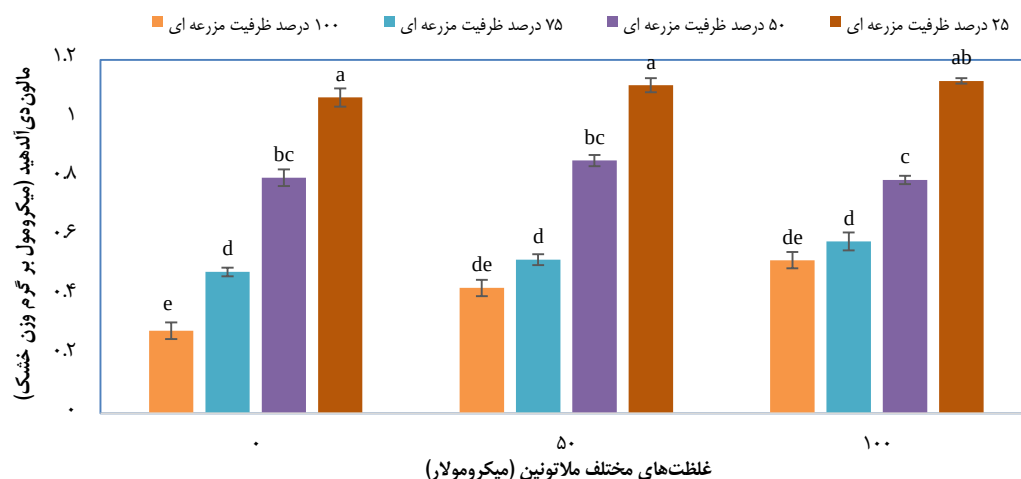
شکل ۵. مقایسه میانگین اثر متقابل محلول پاشی مالاتونین در تنش کم آبی بر مقدار فنول کل در گیاه بادرسبویه. تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.



شکل ۶. مقایسه میانگین اثر متقابل محلول پاشی ملاتونین در تنش کم آبی بر مقدار فلاونوئید در گیاه بادرشبویه تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

۳.۴. مالون دی آلدئید

مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم آبی و غلظت‌های متفاوت ملاتونین در گیاه بادرشبویه نشان داد که با افزایش تنش آبی از ملایم به شدید، میزان مالون دی آلدئید افزایش می‌یابد. بیش‌ترین میزان مالون دی آلدئید (۱/۱۲۸ میکرومول بر گرم وزن خشک) در تیمار تنش کم آبی شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) با محلول پاشی ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین مشاهده شد، درحالی‌که کم‌ترین میزان (۰/۲۸۸ میکرومول بر گرم وزن خشک) در تیمار بدون تنش و بدون ملاتونین به‌دست آمد. درصد تغییرات مالون دی آلدئید در تیمار تنش شدید با ملاتونین حدود ۳۴۵/۱ درصد نسبت به تیمار بدون تنش و بدون ملاتونین افزایش نشان داد که این امر تأثیر مثبت ملاتونین در افزایش مالون دی آلدئید در شرایط تنش کم آبی را تأیید می‌کند (شکل ۷).

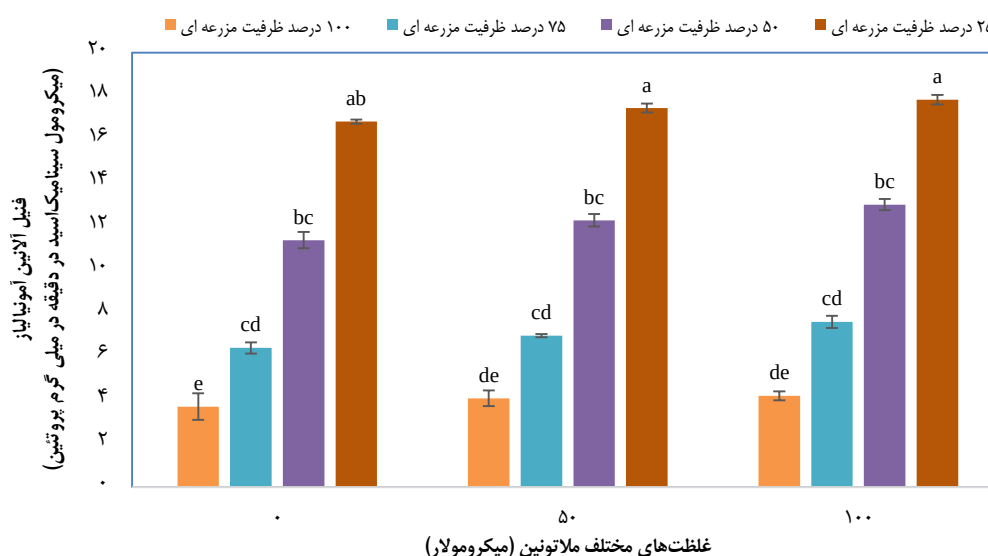


شکل ۷. مقایسه میانگین اثر متقابل محلول پاشی ملاتونین در تنش کم آبی بر مقدار مالون دی آلدئید در گیاه بادرشبویه. تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

۴.۴. آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که محلول پاشی با ملاتونین تأثیر مثبتی در افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز

در شرایط تنش کم‌آبی دارد. در این مطالعه، بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم (۱۷/۸۴ میکرومول اسید سینامیک در دقیقه در میلی گرم پروتئین) در شرایط تنش شدید آبی (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) با محلول پاشی ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین مشاهده شد. در مقابل، کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم (۳/۷۱ میکرومول اسید سینامیک در دقیقه در میلی گرم پروتئین) در شرایط بدون تنش و بدون محلول پاشی به‌دست آمد. با توجه به این مقادیر، می‌توان درصد تغییرات فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالاز را محاسبه کرد. فعالیت آنزیم در تیمار تنش شدید با ملاتونین نسبت به تیمار بدون تنش تقریباً ۱۳۵ درصد افزایش یافته است. این افزایش قابل توجه نشان‌دهنده تأثیر مثبت ملاتونین در بهبود پاسخ گیاه به تنش کم‌آبی است (شکل ۸).



شکل ۸. مقایسه میانگین اثر متقابل محلول پاشی ملاتونین در تنش کم‌آبی بر مقدار آنزیم فنیل آلانین آمونیالاز در گیاه بادرشویه. تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

۵. بحث

نتایج پژوهش حاضر، اثر بهبوددهنده و افزایشی ملاتونین بر شاخص‌های فتوسنتزی را تأیید می‌کنند. مطالعه‌های پیشین بیان می‌کنند ملاتونین آثار منفی ناشی از تنش کم‌آبی بر شاخص‌های فتوسنتزی را کاهش می‌دهد. در واقع تنش کم‌آبی با برهم‌زدن تعادل بین ظرفیت جذب و استفاده از انرژی نورانی سبب اختلال در فتوسنتز می‌شود و به‌دستگاه فتوسنتزی آسیب می‌زند (پینیرو^۱ و چاوز^۲، ۲۰۱۱). نتایج حاضر مشابه با پژوهش‌های سایر پژوهش‌گران الطاف^۳ و همکاران (۲۰۲۲)، شیخ‌علی‌پور^۴ و همکاران (۲۰۲۲) و لیو^۵ و همکاران (۲۰۲۰) روی گیاهان استویا، گوجه‌فرنگی و تنباکو نشان می‌دهند که تنش خشکی با ایجاد اختلال در فعالیت‌های فتوسنتزی سبب کاهش شاخص‌های فتوسنتزی از جمله محتوای کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها می‌شود. بسته‌شدن روزنه و کاهش غلظت کربن‌دی‌اکسید درونی در شرایط کمبود آب، تقاضا برای NADPH در چرخه کالوین را کاهش می‌دهد و این امر سبب داکسیداسیون و مسدودشدن زنجیره انتقال الکترون

1. Pinheiro
2. Chaves
3. Altaf
4. Sheikhalipour
5. Liu

می‌شود، در نتیجه زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی از اکسیژن به‌عنوان پذیرنده الکترون استفاده و اشکال اکسیژن یکتایی را تولید می‌کند (لیانگ^۱ و همکاران، ۲۰۱۸).

در این پژوهش اعمال تنش منجر به افزایش فعالیت رادیکال‌های آزاد شده است که این امر باعث افزایش محتوای فنول و فلاونوئید به‌عنوان یکی از آنتی‌اکسیدان‌های مهم گردیده است. از آنجاکه، مولکول‌های فنول و فلاونوئید دارای قابلیت اهدای اتم‌های اکسیژن به رادیکال‌های آزاد هستند، در نتیجه دارای توانایی حذف رادیکال‌های آزاد می‌باشند. وجود همبستگی مثبت بین محتوای فنول و فلاونوئید با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در منابع مختلف ذکر شده است، لذا افزایش محتوای فنول و فلاونوئید در این پژوهش بعد از اعمال تیمار تنش و ملاتونین منطقی به‌نظر می‌رسد، چرا که تنش منجر به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌گردد و در این حالت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی گیاه فعال خواهد شد. افزایش محتوای فنول کل و فلاونوئید تحت تأثیر تنش‌های غیرزیستی توسط سایر پژوهش‌گران گزارش شده است (جهان^۲ و همکاران، ۲۰۲۰). در پژوهشی تیمار گیاهان شنبلیله با سطوح مختلف ملاتونین تحت تنش به‌صورت مؤثری باعث افزایش محتوای فنول کل و فلاونوئید نسبت به تیمار تنش بدون کاربرد ملاتونین شد (محمدی^۳ و همکاران، ۱۴۰۰). به‌نظر می‌رسد که ملاتونین به‌عنوان یک عامل محرک از طریق تحریک بیان ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتز متابولیت‌های اولیه و ثانویه قادر خواهد بود، تنش‌های اکسیداتیو را به‌صورت مؤثری کاهش دهد (بوس و هولادیر، ۲۰۲۰؛ آرنائو و هرناندیز^۴، ۲۰۱۸). در حقیقت فنول و فلاونوئید به‌علت ویژگی‌های احیاکنندگی و حذف رادیکال‌های آزاد جزء آنتی‌اکسیدان‌های بسیار مهم محسوب می‌شوند (فرازانو^۴ و همکاران، ۲۰۱۱).

نتایج به‌دست‌آمده از بررسی اثرات متقابل تنش کم‌آبی و غلظت‌های متفاوت ملاتونین در گیاه بادرشوبیه نشان‌دهنده اهمیت ملاتونین در مدیریت تنش‌های آبی در گیاهان می‌باشد. افزایش میزان مالون‌دی‌آلدهید به‌عنوان یک نشانگر آسیب اکسیداتیو، به‌وضوح نشان‌دهنده تأثیر منفی تنش کم‌آبی بر سلامت سلولی گیاه است. در این پژوهش، با افزایش شدت تنش آبی از ملایم به شدید، افزایش معنی‌داری در میزان مالون‌دی‌آلدهید مشاهده شد که این امر به‌عنوان نشانه‌ای از افزایش تنش اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی می‌تواند تعبیر شود. میزان بالای مالون‌دی‌آلدهید در تیمار تنش کم‌آبی شدید با محلول پاشی ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین، می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که در شرایط تنش، گیاه به‌صورت فعال‌تری به تولید ترکیبات اکسیداتیو پاسخ می‌دهد. به‌عبارتی، درحالی‌که ملاتونین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان شناخته می‌شود، در این شرایط خاص ممکن است به‌عنوان یک علامت‌دهنده تنش عمل کند و یا به‌عبارت دیگر، افزایش مالون‌دی‌آلدهید ممکن است به‌عنوان یک سیگنال بیوشیمیایی برای فعال‌سازی پاسخ‌های محافظتی در گیاه عمل کند. گزارش‌های متعددی مبنی بر افزایش بیش از حد محتوای مالون‌دی‌آلدهید در شرایط تنش کم‌آبی وجود دارد (مارکک^۵ و همکاران، ۲۰۱۹). پژوهش‌گران متعددی از تأثیر ملاتونین در کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدهید و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی گزارش داده‌اند (لی و همکاران، ۲۰۱۸). گزارش شده است که ملاتونین پراکسیداسیون لیپیدها را طی پاسخ به تنش گیاه کاهش داده، به‌طوری‌که پیش تیمار با ملاتونین محتوای مالون‌دی‌آلدهید تحت تنش‌های غیرزیستی کاهش داده است (وانگ^۶ و همکاران، ۲۰۱۷). بررسی‌های مشابه در مریم گلی (رادوان^۷ و همکاران، ۲۰۱۷) و انیسون

1. Liang
2. Jahan
3. Mohamadi
4. Ferrazzano
5. Marček
6. Wang
7. Radwan

(اسدی کاوان و همکاران، ۱۳۸۸) در تنش کم آبی نشان دهنده افزایش تنش اکسیداتیو و افزایش مقدار مالون دی آلدئید در این گیاهان تحت شرایط تنش می باشد.

نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین داده ها نشان دهنده تأثیر مثبت محلول پاشی با ملاتونین در افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز در شرایط تنش کم آبی است. فنیل آلانین آمونیالیز به عنوان یک آنزیم کلیدی در مسیر متابولیسم فنولیک و تولید ترکیبات فنولی شناخته می شود که در واکنش های گیاهی به تنش ها اهمیت به سزایی دارد. افزایش فعالیت این آنزیم می تواند به تولید ترکیباتی مانند اسید سینامیک منجر شود که نقش مهمی در دفاع گیاه در برابر تنش های محیطی ایفا می کنند. در این مطالعه، بیشترین میزان فعالیت آنزیم (۱۷/۸۴ میکرومول اسید سینامیک در دقیقه در میلی گرم پروتئین) در شرایط تنش شدید آبی (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) با محلول پاشی ۱۰۰ میکرومول ملاتونین مشاهده شد. این یافته ها نشان دهنده این است که ملاتونین می تواند به عنوان یک محرک طبیعی در افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز عمل کند و به گیاه کمک کند تا بهتر با تنش های کم آبی مقابله کند. در مقابل، کمترین میزان فعالیت آنزیم (۳/۷۱ میکرومول اسید سینامیک در دقیقه در میلی گرم پروتئین) در شرایط بدون تنش و بدون محلول پاشی به دست آمد. این نکته نشان می دهد که در شرایط عادی، نیاز به تولید ترکیبات دفاعی و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز کم تر است و در نتیجه، فعالیت این آنزیم در سطوح پایین تری قرار دارد. با توجه به افزایش ۱۳۵ درصدی فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز در تیمار تنش شدید با ملاتونین نسبت به تیمار بدون تنش، می توان نتیجه گرفت که ملاتونین به طور قابل توجهی توانایی گیاه را در پاسخ به تنش های آبی تقویت می کند. در مورد روند فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت در شرایط تنش کم آبی، نتایج بسیار متفاوتی وجود دارد، تعدادی از پژوهشگران از افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان (ابراهیم^۱ و همکاران، ۲۰۲۰). برخی نیز از کاهش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز (ابراهیم و همکاران، ۲۰۲۰) و برخی نیز از بدون تغییر ماندن فعالیت آنزیم گزارش داده اند (نهار^۲ و همکاران، ۲۰۱۵). تنش کم آبی موجب تجمع گونه های فعال اکسیژن و از بین رفتن تعادل بین تولید گونه های فعال اکسیژن و سمیت زدایی آن می شود (گونگ^۳ و همکاران، ۲۰۰۵). تغییر در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان نشان دهنده توانایی حذف گونه های فعال اکسیژن در گیاهان تحت شرایط تنش زاست. همچنین گزارش هایی وجود دارد مبنی بر این که فعالیت آنزیم ها در تیمار ملاتونین تحت شرایط تنش کم آبی کمترین میزان را داشت که نشان می دهد که این گیاهان نسبتاً سطح کمی از تنش را تجربه کرده اند (کامپوس و همکاران، ۲۰۱۹). افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز و افزایش تجمع بسیاری از ترکیبات فنولی تحت تنش های زیستی و غیرزیستی گزارش شده است (امیری^۴ و همکاران، ۲۰۱۵). در مطالعه حاضر تنش کم آبی، موجب افزایش معنی داری در فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز گردید. مشابه نتایج پژوهش حاضر، تنش کم آبی فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز را در گیاه گندم^۵ (ما^۶ و همکاران، ۲۰۱۸)، مریم گلی^۷ (رادوان^۸ و همکاران، ۲۰۱۷) و گل گزی^۹ (لیو^{۱۰} و همکاران، ۲۰۱۳) افزایش داده است. در یک مطالعه نشان داده شد که استفاده از ملاتونین باعث افزایش معنی دار آنزیم های آنتی اکسیدان در شرایط تنش می شود (زمانی^{۱۱} و همکاران، ۲۰۱۹).

1. Ibrahim
2. Nahar
3. Gong
4. Amiri
5. *Triticum aestivum*
6. Ma
7. *Salvia officinalis*
8. Radwan
9. *Reaumuria soongorica*
10. Liu
11. Zamani

۶. نتیجه‌گیری و پیشنهادها

نتایج این پژوهش نشان داد که تنش کم‌آبی منجر به آسیب‌های اکسیداتیو در گیاه بادرشبویه به دلیل تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود که این آسیب‌ها تأثیرات منفی قابل‌توجهی بر رشد و توسعه گیاه دارند. با این حال، محلول‌پاشی ملاتونین، به‌ویژه در غلظت ۱۰۰ میکرومولار، به‌طور مؤثری اثرات نامطلوب ناشی از تنش اکسیداتیو را کاهش داد. این کاهش اثرات منفی به دلیل افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مانند فنیل آلانین آمونیالایز و همچنین آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی نظیر فنول‌ها، فلاونوئیدها و مالون‌دی‌آلدهید در مقایسه با گیاهانی که فقط با آب مقطر اسپری شده بودند، مشاهده شد. بنابراین، ملاتونین تنش کم‌آبی را به‌طور عمده از طریق فعال‌سازی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در گیاه بادرشبویه کاهش می‌دهد. این سیستم دفاعی به گیاه کمک می‌کند تا با تنش‌های اکسیداتیو ناشی از کمبود آب مقابله کند و در نتیجه پایداری و عملکرد بهتری در شرایط نامساعد محیطی داشته باشد. به‌طور کلی، یافته‌ها نشان‌دهنده اهمیت ملاتونین به‌عنوان یک ترکیب مؤثر در بهبود مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی و حفظ سلامت فیزیولوژیکی آن‌ها هستند. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده، اثرات غلظت‌های مختلف ملاتونین بر روی گیاهان مختلف و در شرایط متفاوت تنش آبی بررسی شود تا بهترین غلظت و زمان استفاده مشخص گردد. همچنین، انجام پژوهش‌های مشابه بر روی گیاهان دیگر می‌تواند به درک بهتر اثرات ملاتونین و قابلیت‌های آن در افزایش تحمل به تنش‌های محیطی کمک کند.

۷. تشکر و قدردانی

از دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز به خاطر همکاری‌های صمیمانه‌شان، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۸. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۹. منابع

- اسدی کاوان، ژیکا؛ قربانلی، مه‌لقا و ساطعی، آرین (۱۳۸۸). اثر تنش خشکی و آسکوربات خارجی بر روی رنگیزه‌های فتوسنتزی، فلاونوئیدها، ترکیب‌های فنلی و میزان پراکسیداسیون لیپیدی در گیاه انیسون (*Pimpinella anisum L.*). *تحقیقات گیاهان دارویی و معطر/ایران*، ۲۵(۴)، ۴۶۹-۴۵۶.
- امانی، مینا؛ سبزی نوجه‌ده، محسن؛ علیزاده سالطه، سعیده، یونسی حمزه خانلو، مهدی؛ فرمانی، بیوک آقا؛ هاتف هریس، حسین؛ محمدیان، شیوا و پیرطریقت، سودا (۱۴۰۲). بهبود فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی ریحان تحت تأثیر گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا در شرایط تنش کم‌آبی. *علوم باغبانی*، ۳۷(۲)، ۳۸۹-۳۷۷.
- شوهانی، فریبا؛ فاضلی، آرش و حسینی سرقین، سیاوش (۱۴۰۱). کاربرد اسید سالیسیلیک و سیلیکون بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و ریخت‌شناسی در دو اکوتیپ گیاه گل سازویی (*Scrophularia striata L.*) در شرایط تنش خشکی. *زیست شناسی گیاهی/ایران*، ۱۴(۵۲)، ۴۲-۲۱.
- محمدی، مریم؛ ابراهیمی، امین و عامریان، محمد رضا (۱۴۰۰). افزایش تظاهر برخی از ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتز دایوسجنین در شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum L.*) تیمار شده با سطوح مختلف ملاتونین تحت تنش شوری. *علوم گیاهان زراعی/ایران*، ۵۲(۴)، ۲۴۷-۲۳۵.

References

- Altaf, M. A., Shahid, R., Ren, M. X., Naz, S., Altaf, M. M., Khan, L. U., & Ahmad, P. (2022). Melatonin improves drought stress tolerance of tomato by modulating plant growth, root architecture, photosynthesis, and antioxidant defense system. *Antioxidants*, 11(2), 309. <https://doi.org/10.3390/antiox11020309>
- Amani, M., Sabzi-Nojaded, M., Alizadeh-Salteh, S., Younessi Hamzekhanlu, M., Farmani, B., Hatef Heris, H., Mohammadian, S., & Piretarighat, S. (2023). Improving the Antioxidant activities of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) under the influence of different species of mycorrhiza under water stress. *Journal of Horticultural Science*, 37(2), 377-389. (In Persian). <https://doi.org/10.22067/jhs.2022.76064.1157>
- Amiri, R., Nikbakht, A., & Etemadi, N. (2015). Alleviation of drought stress on rose geranium [*Pelargonium graveolens* (L.) Herit.] in terms of antioxidant activity and secondary metabolites by mycorrhizal inoculation. *Scientia Horticulturae*, 197, 373-380. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.062>
- Arnao, M. B., & Hernández-Ruiz, J. (2015). Functions of melatonin in plants: a review. *Journal of Pineal Research*, 59(2), 133-150. <https://doi.org/10.1111/jpi.12253>
- Arnao, M. B., & Hernández-Ruiz, J. (2018). Melatonin and its relationship to plant hormones. *Annals of Botany*, 121(2), 195-207. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx114>
- Asadi Kavan, Z., Ghorbanli, M., & Sateei, A. (2010). The effect of drought stress and exogenous ascorbate on photosynthetic pigments, flavonoids, phenol compounds and lipid peroxidation in *Pimpinella anisum* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 25(4), 456-469. (In Persian). <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2010.6999>
- Blum, A. (2017). Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production. *Plant Cell & Environment*, 40(1), 4-10. <https://doi.org/10.1111/pce.12800>
- Bose, S. K., & Howlader, P. (2020). Melatonin plays multifunctional role in horticultural crops against environmental stresses: A review. *Environmental and Experimental Botany*, 176, 104063. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104063>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.09.025>
- Chan, Z., & Shi, H. (2015). Improved abiotic stress tolerance of bermudagrass by exogenous small molecules. *Plant Signaling & Behavior*, 10(3), e991577. <https://doi.org/10.4161/15592324.2014.991577>
- Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., & Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178-182. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- Debnath, B., Islam, W., Li, M., Sun, Y., Lu, X., Mitra, S., & Qiu, D. (2019). Melatonin mediates enhancement of stress tolerance in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(5), 1040-1051. <https://doi.org/10.3390/ijms20051040>
- Du, G., Li, M., Ma, F., & Liang, D. (2009). Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and vitamin C in Actinidia fruits. *Food Chemistry*, 113(2), 557-562. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.025>
- Farouk, S., & Al-Amri, S. M. (2019). Ameliorative roles of melatonin and/or zeolite on chromium-induced leaf senescence in marjoram plants by activating antioxidant defense, osmolyte accumulation, and ultrastructural modification. *Industrial Crops and Products*, 142, 111823. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111823>
- Ferrazzano, G. F., Amato, I., Ingenito, A., Zarrelli, A., Pinto, G., & Pollio, A. (2011). Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: a review. *Molecules*, 16(2), 1486-1507. <https://doi.org/10.3390/molecules16021486>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.02.023>
- Ibrahim, M. F., Elbar, O. H. A., Farag, R., Hikal, M., El-Kelish, A., El-Yazied, A. A., & El-Gawad, H. G. A. (2020). Melatonin counteracts drought induced oxidative damage and stimulates growth, productivity and fruit quality properties of tomato plants. *Plants*, 9(10), 1276. <https://doi.org/10.3390/plants9101276>
- Jahan, M. S., Guo, S., Baloch, A. R., Sun, J., Shu, S., Wang, Y., & Roy, R. (2020). Melatonin alleviates nickel phytotoxicity by improving photosynthesis, secondary metabolism and oxidative stress tolerance in tomato seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 197, 110593. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110593>

- Li, J., Zeng, L., Cheng, Y., Lu, G., Fu, G., Ma, H., & Li, C. (2018). Exogenous melatonin alleviates damage from drought stress in *Brassica napus* L. (rapeseed) seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2601-8>
- Liang, G., Bu, J., Zhang, S., Jing, G., Zhang, G., & Liu, X. (2018). Effects of drought stress on the photosynthetic physiological parameters of *Populus×euramericana* "Neva". *Journal of Forestry Research*, 30, 409-416. <https://doi.org/10.1007/s11676-018-0667-9>
- Lichtenthaler, H. K., & Wellburn, A. R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11, 591-602.
- Liu, L., Li, D., Ma, Y., Shen, H., Zhao, S., & Wang, Y. (2020). Combined application of arbuscular mycorrhizal fungi and exogenous melatonin alleviates drought stress and improves plant growth in tobacco seedlings. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40(3), 1074-1087. <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10165-6>
- Liu, M., Li, X., Liu, Y., & Cao, B. (2013). Regulation of flavanone 3-hydroxylase gene involved in the flavonoid biosynthesis pathway in response to UV-B radiation and drought stress in the desert plant, *Reaumuria soongorica*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 73, 161-167. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.09.016>
- Ma, X., Zhang, J., Burgess, P., Rossi, S., & Huang, B. (2018). Interactive effects of melatonin and cytokinin on alleviating drought-induced leaf senescence in creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera*). *Environmental and Experimental Botany*, 145, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.10.010>
- Marček, T., Hamow, K. A., Vêgh, B., Janda, T., & Darko, E. (2019). Metabolic response to drought in six winter wheat genotypes. *PLoS one*, 14(2), e0212411. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212411>
- Mohamadi, M., Ebrahimi, A., & Amerian, M. (2021). The Expression enhancement of some genes involved in the diosgenin biosynthesis pathway in fenugreek treated with different levels of melatonin under salinity stress. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 52(4), 235-247. (In Persian). <https://doi.org/10.22059/ijfcs.2020.312584.654767>
- Naghizadeh, M., Kabiri, R., Hatami, A., Oloumi, H., Nasibi, F., & Tahmasei, Z. (2019). Exogenous application of melatonin mitigates the adverse effects of drought stress on morpho-physiological traits and secondary metabolites in Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica*). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25, 881-894. <https://doi.org/10.1007/s12298-019-00674-4>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.12.001>
- Omidbaigi, R., Hassani, A., & Sefidkon, F. (2003). Essential oil content and composition of sweet basil (*Ocimum basilicum*) at different irrigation regimes. *Journal of Essential oil Bearing Plants*, 6(2), 104-108. <https://doi.org/10.1080/0972-060X.2003.10643335>
- Pinheiro, C., & Chaves, M. M. (2011). Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data?. *Journal of Experimental Botany*, 62(3), 869-882. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq340>
- Quamruzzaman, M., Manik, S. N., Shabala, S., & Zhou M. (2021). Improving performance of salt-grown crops by exogenous application of plant growth regulators. *Biomolecules*, 11(6), 788. <https://doi.org/10.3390/biom11060788>
- Radwan, A., Kleinwächter, M., & Selmar, D. (2017). Impact of drought stress on specialised metabolism: Biosynthesis and the expression of monoterpen synthases in sage (*Salvia officinalis*). *Phytochemistry*, 141, 20-26. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.05.005>
- Rahimi, Y., Taleei, A., & Ranjbar, M. (2019). Biochemical changes of peppermint under drought stress condition. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 50(2), 59-75. <http://dx.doi.org/10.22059/ijfcs.2018.239868.654367>
- Sharma, A., & Zheng, B. (2019). Melatonin mediated regulation of drought stress: Physiological and molecular aspects. *Plants*, 8(7), 190. <https://doi.org/10.3390/plants8070190>
- Sheikhalipour, M., Gohari, G., Esmailpour, B., Panahirad, S., Milani, M. H., Kulak M., & Janda, T. (2022). Melatonin and TiO₂ NPs application-induced changes in growth, photosynthesis, antioxidant enzymes activities and secondary metabolites in stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) under drought stress conditions. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(3), 2023-2040. <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10679-1>

- Shohani, F., Fazeli, A., & Hosseini, S. (2022). The effects of using salicylic acid and Silicon on some physiological and anatomical indices in two ecotypes of *Scrophularia striata* L. Medicinal Plant under drought stress. *Iranian Journal of Plant Biology*, 14(2), 33-54. (In Persian). <https://doi.org/10.22108/ijpb.2023.137115.1315>
- 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. <https://doi.org/10.1111/jpi.12429>
- Zamani, Z., Amiri, H., & Ismaili, A. (2020). Improving drought stress tolerance in fenugreek (*Trigonella foenumgraecum*) by exogenous melatonin. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 1-13. <https://doi.org/10.1080/11263504.2019.1674398>
- Zhan, M., Ma, M., Mo, X., Zhang, Y., Li, T., Yang, Y., & Dong, L. (2024). *Dracocephalum moldavica* L.: An updated comprehensive review of its botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and application aspects. *Fitoterapia*, 172, 105732. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2023.105732>
- Zhang, M., He, S., Zhan, Y., Qin, B., Jin, X., Wang, M. & Wu, Y. (2019). Exogenous melatonin reduces the inhibitory effect of osmotic stress on photosynthesis in soybean. *PloS One* 14(12), e0226542. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226542>
- Zheng, X.L., Tian, S.P., Xu, Y., & Li, B.Q. (2005). Effects of exogenous oxalic acid on ripening and decay incidence in mango fruit during storage at controlled atmosphere. *Journal of Fruit Science*, 22(4), 351-355. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.01.016>
- Zucker, M. (1965). Induction of phenylalanine deaminase by light and its relation to chlorogenic acid synthesis in potato tuber tissue. *Plant Physiology*, 40, 779-784. <https://doi.org/10.1104/pp.40.5.779>