University of Tehran Press

Iranian Journal of Field Crop Science

Online ISSN: 2423-8082

Homepage:https://ijfcs.ut.ac.ir/

Investigating the Physiological Response of *Ammi majus* (L.) Leaf Tissue to Melatonin under Heat Stress

Fatemeh Alizadeh[1] | Sajad Rashidi-Monfared✉[2] | Amin Ebrahimi[3]

1. Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. Email: fatemehalizadeh@modares.ac.ir
2. Corresponding Author, Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. Email: rashidims@modares.ac.ir
3. Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran. Email: aminebrahimi@shahroodut.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received: August 29, 2023
Received in revised form: October 03, 2023
Accepted: January 06, 2024
Published online: June 21, 2024

Keywords:
Antioxidant enzymes, medicinal plants, physiological changes, spraying, tolerance.

ABSTRACT

Traditional medicine has been successful in treating chronic diseases and their related problems. Considering the very high importance of medicinal plants and the growing need for the cultivation of these plants, especially *Ammi majus* plant due to its very effective medicinal compounds, it seems that the use of external stimuli in order to increase the quantity and quality of secondary metabolites can be effective as an auxiliary method in the cultivation of this plant. This plant is thermophilic and tolerates heat to some extent. In this research, different levels of melatonin (0, 30, 60 ppm) and time intervals of 24 and 48 hours were used. The results of this research showed that the use of different levels of melatonin, especially the concentration of 60 ppm, effectively prevented the destruction of the pigments of plants under heat stress, and even their amount increased approximately 2 times at 60 ppm compared to 0 concentration. At the same time, melatonin increased the activity of antioxidant enzymes and thus led to a decrease in the content of reactive oxygen species that were increased under heat stress. The amount of malondialdehyde has also decreased twice as a result of melatonin spraying, especially 60 ppm. The result was the reduction of free radicals, reduction of electrolyte leakage, malondialdehyde content, and finally, the increase of tolerance of plants under heat stress. Generally, it can be concluded that melatonin as a functional stimulant is capable of stimulating physiological changes in plants treated with heat with the aim of increasing their tolerance.

Cite this article: Alizadeh, F., Rashidi Monfared, S., & Ebrahimi, A. (2024). Investigating the physiological response of plant leaf tissue (*Ammi majus* L.) to melatonin under heat stress. *Iranian Journal of Field Crop Science*, *55*(2), 141-152. Doi: 10.22059/ijfcs.2024.364404.655025

© The Authors.
Publisher: University of Tehran Press.
DOI: http//doi.org/10.22059/ijfcs.2024.364404.655025

انتشارات دانشگاه تهران

علوم گیاهان زراعی ایران

شاپا الکترونیکی: ۲۴۲۳-۸۰۸۲

Homepage:https://ijfcs.ut.ac.ir/

بررسی پاسخ فیزیولوژیک بافت برگی گیاه وایه گل سفید (*Ammi majus* L.) به ملاتونین تحت تنش گرما

فاطمه علی‌زاده[۱]| سجاد رشیدی‌منفرد[۲]✉| امین ابراهیمی[۳]

۱. گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. رایانامه: fatemehalizadeh@modares.ac.ir

۲. نویسنده مسئول، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. رایانامه: rashidims@modares.ac.ir

۳. گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران. رایانامه: aminebrahimi@shahroodut.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۰۷

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۷/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۱۶

تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۴/۰۱

کلیدواژه‌ها:
آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی،
تحمل،
تغییرات فیزیولوژیک،
گیاهان دارویی،
محلول‌پاشی.

چکیده

طب سنتی در درمان بیماری‌های مزمن و مشکلات مرتبط با آنها تاکنون موفق عمل کرده است. با توجه به اهمیت بسیار بالای گیاهان دارویی و نیاز روزافزون به کشت‌وکار این گیاهان مخصوصا گیاه وایه گل سفید (*Ammi majus* L.) به‌واسطه دارا بودن ترکیبات دارویی بسیار مؤثر آن، به نظر می‌رسد استفاده از محرک‌های خارجی به‌منظور افزایش کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه می‌تواند به‌عنوان یک روش کمکی در زراعت این گیاه مؤثر باشد. این گیاه گرمادوست است و تا حدودی گرما را تحمل می‌کند. در این تحقیق، از سطوح مختلف ملاتونین (صفر، ۳۰، ۶۰ ppm) و بازهٔ زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت استفاده شد. نتایج این پژوهش نشان داد که کاربرد سطوح مختلف ملاتونین، به‌خصوص غلظت ۶۰ ppm به‌صورت موثری از تخریب رنگدانه‌های گیاهان تحت تنش گرما جلوگیری کرده و حتی میزان آن‌ها در ۶۰ ppm نسبت به غلظت صفر تقریبا دو برابر افزایش یافت. در ضمن، ملاتونین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش داد و از این طریق منجر به کاهش محتوای گونه‌های فعال اکسیژن که تحت تنش گرما افزایش یافته بودند، شد. میزان مالون‌دی‌آلدهید نیز در اثر محلول‌پاشی ملاتونین به‌خصوص ۶۰ ppm دو برابر کاهش داشته است. نتیجه آن کاهش رادیکال‌های آزاد، کاهش نشت الکترولیت، محتوای مالون‌دی‌آلدهید و در نهایت افزایش تحمل گیاهان تحت تنش گرما بود. به‌طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت ملاتونین به عنوان یک محرک عملکردی قادر است تا تغییرات فیزیولوژیک، گیاهان تیمارشده با گرما را با هدف افزایش تحمل آن‌ها تحریک کند.

استناد: علی‌زاده، ف.، رشیدی‌منفرد، س.، و ابراهیمی، ا. (۱۴۰۳). بررسی پاسخ فیزیولوژیک بافت برگی گیاه وایه گل‌سفید (*Ammi majus* L.) به ملاتونین تحت تنش گرما. *علوم گیاهان زراعی ایران*، ۵۵(۲)، ۱۴۱-۱۵۲.
Doi: 10.22059/ijfcs.2024.364404.655025

ناشر: موسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان

۱. مقدمه

در حال حاضر، گیاهان دارویی در عرصه پزشکی جایگزینی شایسته برای داروهای شیمیایی محسوب می‌شوند. به‌صورت کلی، گیاهان دارویی دارای آثار جانبی کمتری نسبت به داروهای شیمیایی هستند، اگرچه استثنائاتی نیز وجود دارد (Huang & Chen., 2008). حداقل ۲۸۱۸۷ گونه گیاهی وجود دارد که به عنوان کاربرد دارویی ثبت شده است (Allkin, 2017).

گیاه وایه گل سفید (*Ammi majus* L.) گیاهی یک‌ساله و علفی متعلق به خانواده چتریان (Apiacea) می‌باشد (Królicka *et al*., 2001). ارتفاع این گیاه بین ۲۰۰–۸۰ سانتی‌متر (Curini *et al*., 2006) و تکثیر آن به وسیله بذر است. این گیاه دگرگشن و دارای 2n=22 است (Fedorov, 1974). میوه این گیاه حاوی ترکیباتی مانند سورالن (Psoralen)، زانتوتوکسول (Xanthotoxol)، ایمپراتورین (Imperatorin)، برگاپتن (Bergapten)، رزین، موسیلاژ و آمبلیفرون (Umbelliferone) است (Curini *et al*., 2006). در بررسی ترکیبات اسانس بذر گیاه *A. majus* (L.) که از طریق طیف‌سنجی جرمی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند بیست و هشت ترکیب شناسایی شدند که ترکیبات اصلی آن شامل تولوئن (۳/۷ درصد)، تیمول (۱۲/۸۱ درصد) و کارواکرول (۳۷/۸۱ درصد) بود (Nayebi *et al*., 2013). به‌طور قابل توجهی، فورانوکومارین‌های خطی از زمان‌های قدیم در درمان اختلالات استفاده شده‌اند (Sarker & Nahar, 2004). این گیاه همچنین دارای خواص ضد دیابتی (Muthukumran *et al*., 2011)، آنتی‌اکسیدانی (Hussain *et al*., 2015) و ضد میکروبی (Khalfallah *et al*., 2011) است.

گیاهان در دوره رشد و نمو خود با انواع مختلفی از تنش‌ها مواجه می‌شوند. تنش گرما یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی محسوب می‌شود (Hasanuzzaman *et al*., 2013). شناسایی حساس‌ترین مرحله رشدی گیاه، بهترین محرک و مناسب‌ترین غلظت محرک‌ها در افزایش کمیت متابولیت‌های گیاهی مؤثر می‌باشد (Angelova *et al*., 2006). بنابراین، شناسایی پاسخ مولکولی و فیزیولوژیک گیاهان نسبت به تنش دمای بالا و کاربرد تحریک‌کننده‌هایی که منجر به افزایش تحمل گیاهان می‌شوند مهم و ضروری به نظر می‌رسد. با توجه به اهمیت بسیار بالای گیاهان دارویی و نیاز روزافزون به کشت‌وکار این گیاهان مخصوصاً گیاه *A. majus* (L.) به واسطه دارا بودن ترکیبات دارویی بسیار مؤثر آن، به نظر می‌رسد استفاده از محرک‌های مختلف نامبرده به منظور افزایش کیفیت متابولیت‌های ثانویه می‌تواند به عنوان یک روش کمکی در زراعت این گیاه مؤثر باشد. هورمون‌های گیاهی ترکیباتی هستند که هم به صورت طبیعی و هم به صورت شیمیایی سنتز می‌شوند (Jager *et al*., 2008) و مسئول تنظیم و کنترل فرآیندهای فیزیولوژیک در گیاهان هستند. هورمون‌ها علاوه بر تنظیم جنبه‌های رشد و نمو در گیاهان، درکنترل پاسخ به استرس‌های محیطی و تنظیم مسیرهای پیام‌رسانی نیز نقش ایفا می‌کنند. ملاتونین (N-acetyl -5-methoxytryptamine) یکی از مهم‌ترین مشتقات تریپتوفان است که در سال ۱۹۹۵ در گیاهان شناسایی شده است (Dubbels *et al*., 1995). ملاتونین در جوانه‌زنی بذر، تنظیم گلدهی، رشد ریشه، فتوسنتز و چرخه شبانه‌روزی گیاه نقش دارد. همچنین نقش این هورمون در افزایش تحمل گیاهان نسبت به تنش‌های محیطی از قبیل خشکی، شوری، سرما، گرما، فلزات سنگین و ... در نتایج تحقیقات مختلف، تأیید شده است (Altaf *et a*l., 2020). رایج‌ترین راه مقابله با تنش به واسطه ملاتونین، افزایش فعالیت دفاعی آنتی‌اکسیدانی گیاهان و مهار رادیکال‌های آزاد است (Sharma *et al*., 2020). تنش گرما سبب ایجاد یک سری تغییرات در بیان ژن‌های درگیر در محافظت از تنش می‌شود.

این ژن‌ها، مسئول بیان آنزیم‌های سم‌زدا، اسموپروتئین‌ها و پروتئین‌های تنظیم‌کننده می‌باشند. اخیرا، کاربرد خارجی ترکیبات محافظت‌کننده از قبیل فیتوهورمون‌ها (Sharma, 2019; Sytar *et al*., 2019)، اسموپروتئین‌ها (Annunziata *et al*., 2019; El Amrani *et al*., 2019; Morgutti *et al*.,2019)، مولکول‌های پیام‌رسان (نیتریک‌اکسید)، پلی‌آمین‌ها (Estaji *et al*., 2019; Xu *et al*., 2019) در مقابله با خسارت ناشی از تنش در گیاهان گزارش شده است. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر ملاتونین نسبت به سایر آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی از قبیل آسکوربات (Ascorbate) و توکوفرول‌ها (Tocopherol)، احتمالا با توانایی ملاتونین برای انتقال کارآمد از طریق محفظه‌های مختلف سلول مرتبط است (Martinez *et al*., 2018). در گیاه شنبلیله تحت تنش گرما میزان مالون‌دی‌آلدهید به‌طور چشمگیری افزایش یافت (Sheikhi *et al*., 2018). کاربرد خارجی ملاتونین در گیاهان می‌تواند سبب

کاهش سطح گونه‌های فعال اکسیژن و مالون‌دی‌آلدهید تحت شرایط تنش UV-B، سرما، گرما و تنش کم‌آبی شود (Wang *et al*., 2009; Szafranska *et al*., 2012; Kabiri *et al*., 2018; Naghizadeh *et al*., 2019).

تأثیر همزمان ملاتونین، سالسیلات و جیبرلین روی اسانس و متابولیت‌های ثانویه گیاهچه پرتقال تلخ (*Citrus aurantium* L.) بر فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی و نیز ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه تأثیر می‌گذارد (Sarrau *et al*., 2015). محلول‌پاشی ملاتونین بر گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*) تحت تنش خشکی (به‌ویژه غلظت ۱۰۰ میکرومول) باعث بهبود صفات مورفولوژیکی، افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی، ترکیبات فنولی، آنتوسیانین و محتوای پروتئین و کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدهید شده است (Naghizadeh *et al*., 2019). اعمال ملاتونین سطح بیان ژن‌های کلیدی موجود در فرآیندهای متابولیسم کلروفیل و دفاع آنتی‌اکسیدانی را به‌طور قابل توجهی افزایش می‌دهد (Sharma *et al*., 2020).

با توجه به اهمیت گیاه وایه گل سفید به‌عنوان یک گیاه دارویی و تاثیرگذاری ملاتونین به‌عنوان یک تحریک‌کننده مقاومت گیاهان نسبت به تنش‌های غیر زیستی، این تحقیق با هدف بررسی پاسخ فیزیولوژیک بافت برگی (L.) *A. majus* و مطالعه اثر ملاتونین در افزایش تحمل این گیاه نسبت به تنش گرما انجام شد. با شناخت سازوکارها و بررسی پاسخ این گیاه نسبت به تنش گرما و تیمار با ملاتونین، شانس روش‌های اصلاحی با هدف آزادسازی ارقام مقاوم و همچنین روش‌های مبتنی بر بیوتکنولوژی افزایش می‌یابد.

۲. روش‌شناسی پژوهش

۲-۱. شرایط رشد و نحوه اعمال تیمارها

در این تحقیق ابتدا بذور (L.) *A. majus* که از جنوب خوزستان جمع‌آوری شده بود، در گلخانه دانشکده کشاورزی داخل گلدان (قطر ۱۷ و ارتفاع ۱۴ سانتی‌متری) در دمای۲±۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۳۰-۴۰ درصد و نور ۸۰۰۰-۱۰۰۰۰ لوکس در سه تکرار کشت شد که برای کشت از خاک اتوکلاوشده، پرلیت و پیت‌ماس با نسبت ۱:۱:۱ استفاده شد. آزمایشی در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی انجام شد. گیاهچه‌ها در مرحله قبل از گلدهی، ۷۲ روز بعد از کشت (حساس‌ترین مرحله رشدی گیاه مذکور نسبت به تنش گرما مرحله گلدهی است) با هورمون ملاتونین (صفر، ۳۰، ۶۰ ppm) و به‌عنوان شاهد (Mohammadi Asboi *et al*., 2021)، گیاهان با آب مقطر به‌صورت اسپری‌پاشی تیمار شدند. سپس به‌منظور اعمال تنش گرما به اتاقک رشد با دمای ۲±۴۲ درجه سانتی‌گراد (Sheikhi *et al*., 2018) منتقل و در زمان‌های مختلف (۲۴ و ۴۸ ساعت) از بافت‌های برگی میانی بوته (به صورت ترکیب تکرارها باهم) نمونه‌برداری انجام شد. پس از نمونه‌برداری بافت برگی، نمونه‌های گیاهی به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

۲-۲. اندازه‌گیری صفات فیزیولوژی

برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های کلروفیل از پروتکل (Arnon, 1967) استفاده شد. در نهایت میزان جذب نور با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV ۲۱۵۰) و در طول موج‌های ۴۸۰، ۶۴۹ و ۶۶۵ نانومتر تعیین شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ محاسبه و گزارش شد.

در استخراج پروتئین کل ابتدا ۲۵۰ میلی‌گرم از بافت با نیتروژن مایع به‌خوبی پودر و به فالکون‌های حاوی ۲/۵ میلی‌لیتر بافر استخراج منتقل شد. پس از ورتکس، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت۳۵۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. پس از اتمام این مرحله، مایع رویی فالکون‌ها به تیوب‌های جدید منتقل و به‌منظور قرائت پروتئین کل و سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول‌پراکسیداز، آسکوربات‌پراکسیداز در یخچال ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای تهیه محلول بردفورد، ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم کوماسی‌بلو و ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد با هم مخلوط شدند. سپس به محلول حاصل ۱۰۰ میلی‌لیتر ارتوفسفریک‌اسید ۸۵ درصد (به‌صورت قطره قطره) اضافه شد. محلول پس از ۲۴ ساعت نگهداری در یخچال با آب مقطر به حجم نهایی یک لیتر رسید. در نهایت محلول با استفاده از کاغذ صافی فیلتر و در محیط تاریک و خنک ذخیره شد (۴ درجه سانتی‌گراد). جهت اندازه‌گیری غلظت پروتئین نمونه‌ها سه میلی‌لیتر از محلول بردفورد با ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی درون فالکون مخلوط و

برای اطمینان از مخلوط‌شدن، نمونه‌ها به‌شدت ورتکس شدند. پس از گذشت ۲۰ دقیقه، غلظت پروتئین هر نمونه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری و برحسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه برگ با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد.

در سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با آغاز واکنش و با کاهش میزان هیدروژن‌پراکسید به‌واسطه واکنش با کاتالاز میزان جذب در این طول موج نیز به‌تدریج کاهش می‌یابد (Scebba *et al.*, 1998). فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز (ΔoD) بر اساس میکرومول پراکسید هیدروژن در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین با ضریب خاموشی برابر ۳۹/۴ $mM^{-1}cm^{-1}$ محاسبه شد. در سنجش فعالیت آنزیم گایاکول-پراکسیداز میزان جذب با گذشت زمان روند افزایشی داشته و بر اساس مقدار جذب ترکیب نارنجی‌رنگ تتراگایاکول در میلی‌گرم غلظت پروتئین میزان فعالیت آنزیم گایاکول محاسبه شد. فعالیت ویژه آنزیم گایاکول پراکسیداز (ΔoD) به‌صورت تعداد میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه‌شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین با ضریب خاموشی برابر ۲۶/۶ $mM^{-1}cm^{-1}$ گزارش شد (Dionisio & Tobita, 1984). به منظور سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز با استفاده از روش (Ranieri *et al.*, 2000) در طول پنج دقیقه فعالیت این آنزیم با ضریب خاموشی برابر ۳۹/۳ $mM^{-1}cm^{-1}$ اندازه‌گیری و ثبت شد. جهت اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدی بر اساس مالون‌دی‌آلدهید از روش Bewley & Stewart (1980) استفاده و میزان جذب نمونه‌ها در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزارهای Excel (2016) و SAS (9.0) آنالیز و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار GraphPad Prism (9.5.1) استفاده شد.

۳. نتایج و بحث

در بافت برگی اثر سطوح مختلف تنش گرمایی برای صفات کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، پروتئین کل، آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز، آنزیم کاتالاز، مالون‌دی‌آلدهید در سطح احتمال یک درصد (بجز آنزیم گایاکول‌پراکسیداز در سطح احتمال پنج درصد) معنی‌دار بود. همچنین اثرات سطوح مختلف ملاتونین برای همه صفات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود؛ در حالی‌که اثر متقابل تنش گرما و ملاتونین معنی‌دار نبود (جداول ۱ و ۲).

جدول ۱. تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک مورد مطالعه بافت برگی در سه سطح ملاتونین (M) و دو سطح دما (T).

Source of variation	df	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total chlorophyll	Carotenoid	protein
Temperature (T)	1	21.36**	12.72**	58.83**	1.84**	17.13**
Melatonin (M)	2	34.89**	16.70**	100.37**	6.64**	47.00**
T*M	2	0.30^{ns}	0.064^{ns}	0.38^{ns}	0.016^{ns}	0.82^{ns}
Error	12	0.30	0.57	0.15	0.083	0.23
C.V. (%)		10.396	7.407	10.096	2.804	13.106

جدول ۲. تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه بافت برگی در سه سطح ملاتونین (M) و دو سطح دما (T).

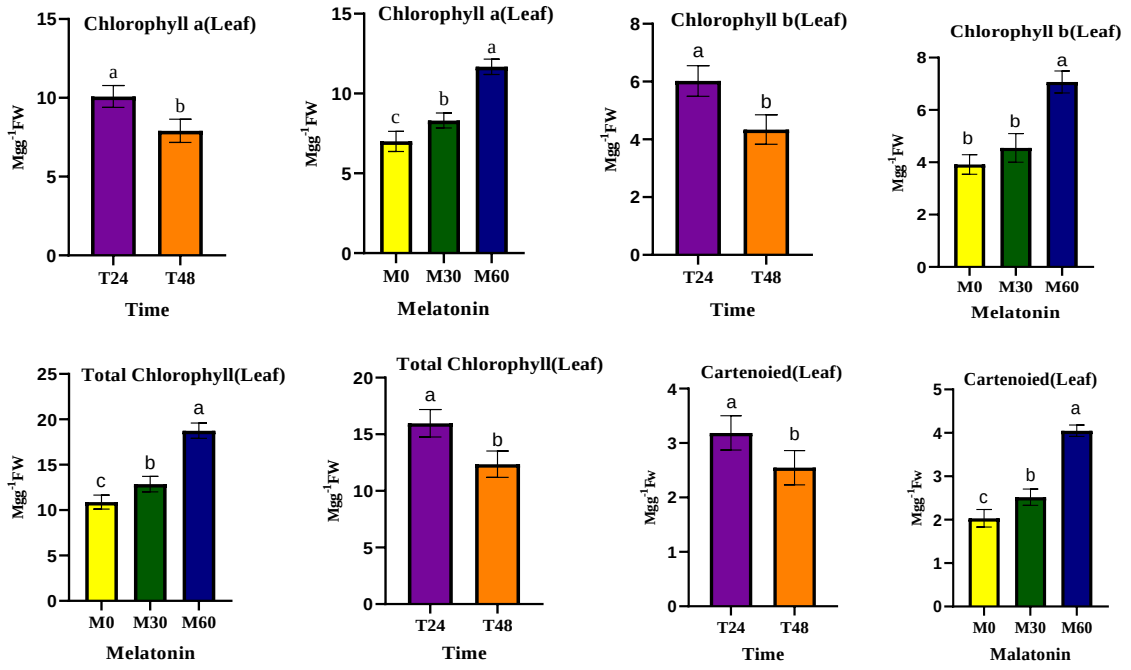
Source of variation	df	Guaiacol peroxidase	Catalase	Ascorbate peroxidase	Malondialdehyde
Temperature (T)	1	0.001*	0.0003**	0.0002**	344.00**
Melatonin (M)	2	0.004**	0.0013**	0.001**	638.08**
T*M	2	0.0001^{ns}	0.000008^{ns}	0.000009^{ns}	3.70^{ns}
Error	12	0.0001	0.00001	0.000007	11.51
C.V (%)		10.396	8.176	8.118	10.813

* و ** به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد.

۱-۳. محتوای کلروفیل و کارتنوئید

اثر سطوح مختلف تنش گرما و ملاتونین بر محتوای کلروفیل و کاروتنوئید مطابق شکل ۱ نشان می‌دهد که اثر متقابل تنش گرما و ملاتونین بر محتوای کلروفیل و کاروتنوئید معنی‌دار نبود. بررسی اثر فاکتورها به‌صورت جداگانه نشان داد تنش گرما در ۴۸ ساعت بیشترین کاهش را نسبت به تنش گرمای ۲۴ ساعت داشته است. کاربرد سطوح مختلف ملاتونین نشان داد که با افزایش غلظت ملاتونین کلروفیل a، کلروفیل کل و کاروتنوئید به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت. اندازه‌گیری رنگیزه‌های محتوی کلروفیل یکی از ویژگی‌های مورد استفاده برای درک پاسخ گیاه نسبت به تنش‌های وارده به آن می‌باشد. کاهش فتوسنتز به‌واسطه کاهش سنتز کلروفیل اتفاق می‌افتد (Afzal *et al*., 2014). مطالعات نشان می‌دهد که اثرات ملاتونین روی رنگیزه‌های فتوسنتزی ممکن است مرتبط با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها یا افزایش ظرفیت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهان باشد (Xalxo & Keshavkant, 2019) .

کاهش میزان کاروتنوئیدها در شـرایط استرس گیاه نیز به علـت تجزیه بتاکاروتن و تشکیل زئازانترین در چرخه گزانتوفیل می‌باشد (Ahmadi & SeioSemardeh, 2004). در شرایط تنش گرما، مقدار کاروتنوئید کاهش می‌یابد و کارتنوئید توانایی ایفای نقش حفاظتی خود را ندارد که این کاهش احتمالا به علت اکسیداسیون توسط گونه‌های فعال اکسیژن و تخریب ساختار آنها روی داده است؛ اگرچه کاهش آنها نسبت به کلروفیل‌ها کمتر است (Wang *et al*., 2010). دمای بالا با افزایش آسیب به غشاء سلول موجب نخلیه محتویات درونی سلول به خارج از سلول می‌شود (Sheikhi *et al*., 2018). هورمون ملاتونین سبب بهبود فعالیت‌های رشدی گیاه همچون افزایش مقدار کلروفیل a و b،کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در گیاه شاهی (*Lepidium sativum*) شده است (Olomi *et al*., 2017).

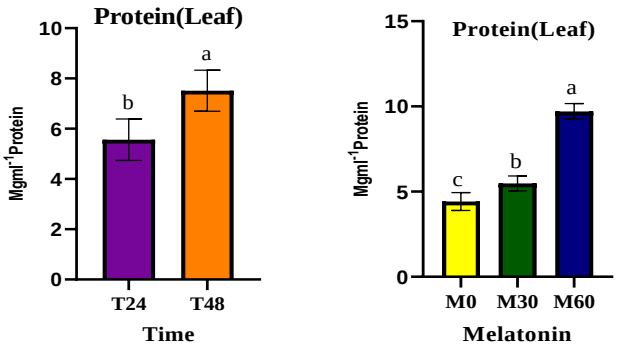


شکل ۱. نتایج مقایسه میانگین اثر تنش گرما و ملاتونین بر محتوای رنگیزه‌های کلروفیل بافت برگ *A. majus* (L.). مقایسه میانگین با روش LSD و در سطح احتمال پنج درصد انجام شده است.

۲-۳. محتوای پروتئین

اثر متقابل تنش گرما و ملاتونین روی محتوای پروتئین معنی‌دار نبود؛ به‌همین منظور اثر فاکتورهای اصلی به‌صورت جداگانه مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۲). نتایج پژوهش نشان داد که با افزایش مدت زمان تنش گرما میزان پروتئین به‌صورت معنی‌داری افزایش پیدا می‌کند. همچنین افزایش غلظت ملاتونین نیز سبب افزایش میزان پروتئین می‌شود؛ به‌طوری‌که تیمار با غلظت ppm

۶۰ ملاتونین بیشترین میزان و صفر ppm آن کمترین میزان پروتئین را داشت. نتایج پژوهش‌های مختلف نشان داده است که میزان پروتئین کل تحت تاثیر تنش‌های زیستی و غیر زیستی افزایش می‌یابد. علت این افزایش در طول تنش گیاه، احتمالا افزایش بیان برخی ژن‌ها شامل تنظیم اسمزی، رفع سمیت، ژن‌های وابسته به متابولیسم اولیه است (Jiang & Huang, 2002). افزایش محتوای پروتئین کل بعد از تیماردهی گیاهان با ملاتونین که تحت شرایط تنش غیر زیستی بودند در بسیاری از منابع گزارش شده است. ملاتونین، در اسفرزه (*Plantago ovata* Forssk) موجب افزایش مقدار پروتئین در شرایط تنش می‌شود (Naghizadeh *et al*., 2021). در شنبلیله قرار گرفتن طولانی‌مدت در معرض تنش دمای بالا، موجب افزایش محتوای پروتئین کل در مقایسه با مدت زمان کوتاه تنش شد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (Sheikhi *et al*., 2018).



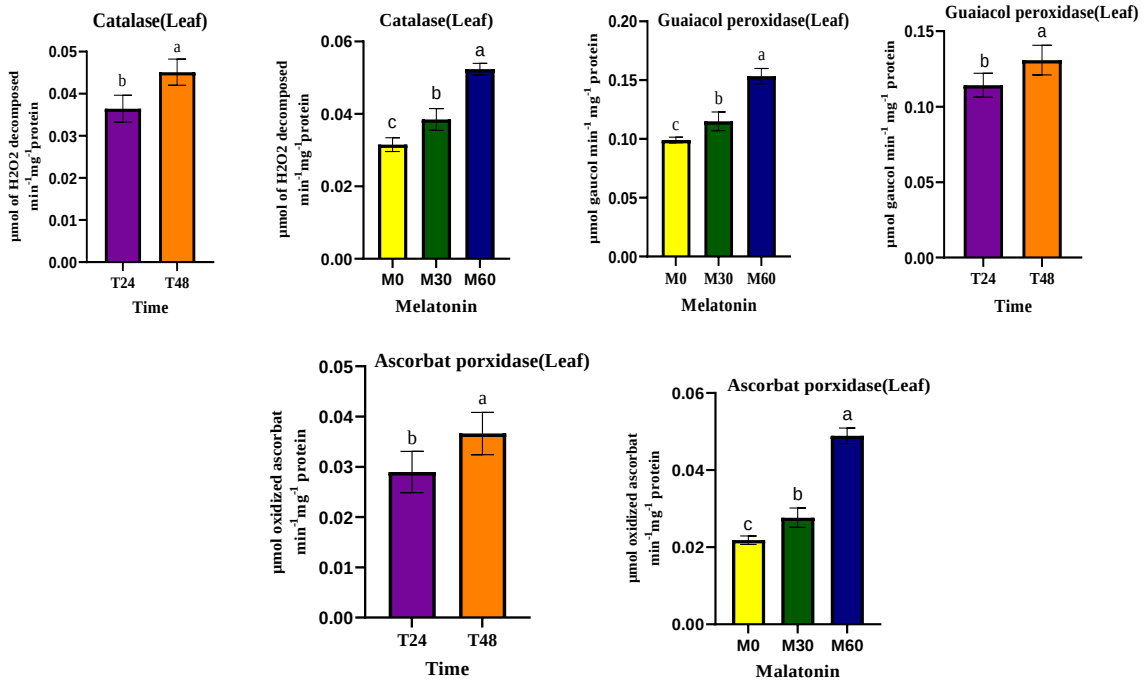
شکل ۲. نتایج مقایسه میانگین اثر تنش گرما و اثر ملاتونین بر محتوای پروتئین کل بافت برگی (*A. majus* (L.. مقایسه میانگین با روش LSD و در سطح احتمال پنج درصد انجام شده است.

۳-۳. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

بررسی‌های انجام‌شده نشان داد که اثر متقابل تنش گرما و ملاتونین روی فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار نبود؛ به‌همین منظور فاکتورهای اصلی به‌صورت جداگانه مورد بررسی قرار گرفتند (شکل ۳). نتایج بررسی اثر مدت زمان تنش گرما روی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نشان‌داد که با افزایش ساعت تنش گرما میزان فعالیت آنزیم نیز افزایش پیدا می‌کند. همچنین کاربرد غلظت‌های مختلف ملاتونین سبب افزیش میزان معنی‌دار فعالیت این آنزیم نسبت به سطح صفر ppm آن شد. اثر متقابل تنش گرما و ملاتونین روی فعالیت آنزیم گایاکول معنی‌دار نبود که اثر هر فاکتور اصلی به‌صورت جداگانه بررسی‌شد. نتایج نشان‌داد که اعمال تنش گرمای ۴۸ ساعت نسبت به تنش گرمای ۲۴ ساعت افزایش معنی‌داری داشت و همچنین کاربرد غلظت‌های مختلف ملاتونین سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم نسبت به سطح صفر ppm غلظت ملاتونین شد. فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز تحت تاثیر اثر متقابل تنش گرما و ملاتونین قرار نگرفت و معنی‌دار نبود. بررسی فاکتورهای اصلی نشان داد که با افزایش مدت زمان تنش گرما میزان فعالیت این آنزیم افزایش پیدا می‌کند؛ به‌طوری‌که ۴۸ ساعت تنش گرما میزان فعالیت بیشتری نسبت به ۲۴ ساعت تنش گرما داشت. کاربرد غلظت‌های مختلف ملاتونین نیز سبب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز نسبت به غلظت صفر ppm ملاتونین شد.

تولید گونه‌های فعال اکسیژن، یکی از اولین واکنش‌های بیوشیمیایی سلول‌های یوکاریوتی نسبت به تنش‌ها است. گونه‌های فعال اکسیژن ترکیبات بسیار سمی برای موجودات هستند و بر عملکرد و ساختار مولکول‌های زیستی تاثیر می‌گذارند. همچنین سبب غیر فعال‌شدن آنزیم‌های حساس تخریب کلروفیل، لیپیدها، نوکلئیک‌اسیدها، روزنه‌ها، غشاء و تخریب فعالیت پروتئین‌ها می‌شوند (Nikolaeva *et al*., 2010). گیاهان برای کاهش استرس اکسیداتیو، دارای سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان‌ها و آنزیم های آنتی‌اکسیدانی برای جاروب‌کردن گونه‌های فعال اکسیژن هستند (Choi, 2011). مهمترین آنتی‌اکسیدان‌هایی که فعالیت آنزیمی دارند شامل سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز، گلوتاتیون‌ردوکتاز و پراکسیداز هستند (Hsu & Kao, 2003). نتایج این تحقیق نشان داد فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، گایاکول و آسکوربات‌پراکسیداز تحت تنش گرما افزایش می‌یابد که افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدان بعد از اعمال تنش شوری در منابع مختلف گزارش شده است (Shakeel *et al*., 2019) که با

نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. گیاهان به منظور حفاظت از غشای سلولی و سایر اندام‌های گیاهی از خسارت ناشی از تنش اکسیداتیو، سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی قوی را در شرایط تنش توسعه می‌دهند (Maia *et al*., 2010). نقش کلیدی ملاتونین برون‌زاد در بیان ژن‌های موثر در فرآیندهای دخیل در بیوسنتز آنتی‌اکسیدان‌ها در گیاهان به اثبات رسیده است (Jiang *et al*., 2020). اثرات متقابل ملاتونین با گونه‌های فعال اکسیژن منجر به رخداد یک سری واکنش‌های آبشار مانند مبتنی بر ملاتونین می‌شود تا ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه را افزایش داده و حتی در حضور غلظت‌های کم ملاتونین نیز مکانیزم‌های دفاعی گیاه را فعال کند (Yan *et al*., 2020). نتایج این تحقیق نشان داد با افزایش غلظت ملاتونین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بعد از کاربرد هورمون ملاتونین در سایر گیاهان نیز گزارش شده است (Sheikhi *et al*., 2018) که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. استفاده از ملاتونین سبب مهار تجمع H_2O_2 می‌شود که ممکن است در نتیجه تأثیر مستقیم آن روی مهار گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز و پراکسیداز باشد. نتایج پژوهش‌های متعدد نشان داده است که کاربرد هورمون‌ها همچون هورمون اپی‌براسینواستروئیدها از طریق تاثیر بر بیان ژن‌های مسئول کنترل فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، منجر به افزایش مقاومت گیاهان در برابر خسارت ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (Choe *et al*., 2006).

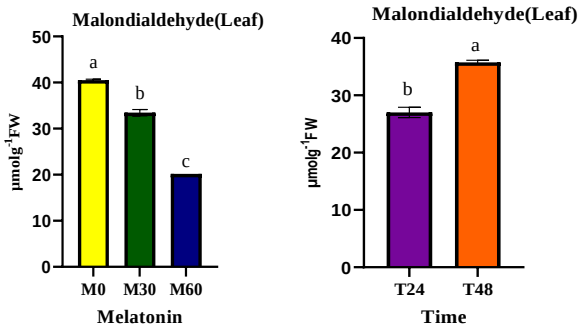


شکل ۳. نتایج مقایسه میانگین اثر تنش گرما و ملاتونین بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بافت برگ (L.) *A. majus*. مقایسه میانگین‌ها با روش LSD و در سطح احتمال پنج درصد انجام شده است.

۴-۳. محتوای مالون‌دی‌آلدهید

محتوای مالون‌دی‌آلدهید تحت تاثیر اثر متقابل تنش گرما و ملاتونین قرار نگرفت (شکل ۴). بررسی فاکتورهای اصلی تنش گرما و ملاتونین نشان داد که اعمال مدت زمان تنش گرمای بیشتر سبب افزایش پراکسیداسیون چربی‌های غشا می‌شود. کاربرد غلظت‌های مختلف ملاتونین سبب کاهش معنی‌دار اکسیداسیون لیپیدهای غشا نسبت به غلظت صفر ppm ملاتونین شد؛ به‌طوری‌که بیشترین میزان کاهش در غلظت ۶۰ ppm ملاتونین بود. اولین بخش از گیاه، غشای سلولی است که تحت شرایط تنش آسیب می‌بیند (Liang *et al*., 2003). پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی، نشانه بارز آسیب تنش در سطح سلول است. بنابراین اندازه‌گیری سطح مالون‌دی‌آلدهید، اغلب به‌عنوان یک شاخص مهم برای آسیب ناشی از تنش اکسیداتیو به کار می‌رود

(Antoniou *et al*., 2017). در گیاه شنبلیله تحت تنش گرما میزان مالون‌دی‌آلدهید به‌طور چشمگیری افزایش یافت (Sheikhi *et al*., 2018). افزایش در مقدار مالون‌دی‌آلدهید تحت تنش به‌علت افزایش در پراکسیداسیون لیپیدها است که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. تحت تاثیر تنش رادیکال‌های آزاد تولیدشده با ماکرومولکول‌هایی از قبیل پروتئین، DNA و همچنین اسیدهای چرب غشا سلولی واکنش داده و منجر به اکسیداسیون آن‌ها می‌شود (Baxter *et al*., 2014). تنش دمای بالا موجب افزایش آسیب به غشای سلول و تخلیه محتویات درونی سلول به خارج از سلول می‌شود (Sheikhi *et al*., 2018). نتایج سایر تحقیقات نیز نشان داد که هورمون ملاتونین به صورت موثری می‌تواند از نشت الکترولیت و تجمع مالون‌دی‌آلدهید به بیرون از غشای سلول جلوگیری نموده و باعث افزایش تحمل گیاه در برابر آسیب‌های تنش شود (Zhang *et al*., 2020).



شکل ٤. نتایج مقایسه میانگین اثر تنش گرما و اثر ملاتونین بر میزان مالون‌دی‌آلدهید در بافت برگی (L.) *A. majus*. مقایسه میانگین با روش LSD و درسطح احتمال پنج درصد انجام شده است.

۴. نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد خارجی ملاتونین در گیاهان تیمارشده با ملاتونین به‌صورت موثری از تخریب کلروفیل و رنگدانه‌های فتوسنتزی جلوگیری کرده و منجر به افزایش بیوسنتز آن‌ها تحت شرایط تنش گرما شد. همچنین نتایج این مطالعه نشان داد ملاتونین به‌صورت معنی‌داری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش داده و بدین‌ترتیب موجب حذف گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزاد شد. کاربرد ملاتونین همچنین از پراکسیداسیون اسیدهای چرب جلوگیری به عمل آورده و در نتیجه منجر به کاهش محتوی مالون‌دی‌آلدهید شد. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد غلظت ۶۰ ppm ملاتونین جهت کاهش خسارت-های ناشی از تنش گرما مناسب می‌باشد.

۵. منابع

Afzal, A., Gulzar, I., Shahbaz, M., & Ashraf, M. (2014). Water deficit-induced regulation of growth, gas exchange, chlorophyll fluorescence, inorganic nutrient accumulation and antioxidative defense mechanism in mungbean *Vigna radiata* (L.) Wilczek. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, *87*.

Ahmadi, A., & Seiosemardeh, A. (2004). Effect of drought stress on soluble carbohydrate, chlorophyll and proline in four adopted wheat cultivars with various climate of Iran. *Iranian Journal of Agriculture Sciense*, *35*, 753-763. (In Persian).

Allkin, B. (2017). Chapter useful plants: Medicines at least 28, 187 plant species are currently recorded as being of medicinal use. *In State of the World's Plants*.

Altaf, M.A., Shahid, R., Ren, M.X., Naz, S., Altaf, M.M., Qadir, A., Anwar, M., Shakoor, A., & Hayat, F. (2020). Exogenous melatonin enhances salt stress tolerance in tomato seedlings. *Biologia Plantarum*, *64*, 604-615.

Angelova, Z., Georgiev, S., & Roos, W. (2006). Elicitation of plants. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, *20*(2), 72-83.

Annunziata, M.G., Ciarmiello, L.F., Woodrow, P., Dell'Aversana, E., & Carillo, P. (2019). Spatial and temporal profile of glycine betaine accumulation in plants under abiotic stresses. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 1-13.

Antoniou, P.F., Attikis, A., Constantinou, M.G., Costa, M.E., Hadjiyiannakou, K.A., Konstantinou, G.N., & Tsokkou, D. (2017). Controlling electron and exciton transfer paths in molecular systems.

Arnao, M.B., & Hernández-Ruiz, J. (2015). Melatonin: Synthesis from tryptophan and its role in higher plants. In: *D' Mello JPF, ed. Amino acids in higher plants.* Boston: CAB International, 390–435.

Arnon, A.N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, *23*(1), 112-121.

Baxter, A., Mittler, R., & Suzuki, N. (2014). ROS as key players in plant stress signalling. *Journal of Experimental Botany*, *65*(5), 1229-1240.

Choe, E., & Min, D.B. (2006). Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *5*(4), 169-186.

Choi, S.D. (2011). Melatonin protects against oxidative stress in granular corneal dystrophy type 2 corneal fibroblasts by mechanisms that involve membrane melatonin receptors. *Journal of Pineal Research, 51*, 94-103.

Curini, M., Cravotto, G., Epifano, F., & Giannone, G. (2006). Chemistry and biological activity of natural and synthetic prenyloxycoumarins. *Current Medicinal Chemistry*, *3*(2), 199-222.

Dionisio-Sese, M.L., & Tobita, S. (1998). Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science*, *135*(1), 1-9.

Dongxiao, L.I., Zhang, D., Hongguang, W.A.N.G., Yanming, L.I., & Ruiqi, L.I. (2017). Physiological response of plants to polyethylene glycol (PEG-6000) by exogenous melatonin application in wheat. *Zemdirbyste-Agriculture*, *104*(3), 219-228.

Dubbels, R., Reiter, R.J., Klenke, E., Goebel, A., Schnakenberg, E., Ehlers, C., & Schloot, W. (1995). Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Pineal Research*, *18*(1), 28-31.

El Amrani, A., Couée, I., Berthomé, R., Ramel, F., Gouesbet, G., & Sulmon, C. (2019). Involvement of polyamines in sucrose-induced tolerance to atrazine-mediated chemical stress in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Plant Physiology*, *238*, 1-11.

Estaji, A., Kalaji, H.M., Karimi, H.R., Roosta, H.R., & Moosavi-Nezhad, S.M. (2019). How glycine betaine induces tolerance of cucumber plants to salinity stress? *Photosynthetica*, *57*(3), 753-761.

Fedorov, A. (1974). Chromosome numbers of flowering plants. Koeltz, Konigstein Gadnidze.

Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Alam, M.M., Roychowdhury, R., & Fujita, M. (2013). Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, *14*, 9643-9684.

Hsu, Y.T., & Kao, C.H. (2003). Role of abscisic acid in cadmium tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Plant, Cell & Environment*, *26*(6), 867-874.

Huang, S.T., & Chen, A.P. (2008). Traditional chinese medicine and infertility. *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology*, *20*, 211-215.

Hussain, I., Salman, S., Khan, H., & Ramzan, M. (2015). Screening of *Ammi majus* (L.) and *Convolvulus arvensis* for antioxidant activities. *MDSRC Publications*.

Jager, C.E., Symons, G.M., Ross, J.J., & Reid, J.B. (2008). Do brassinosteroids mediate the water stress response? *Physiol Plant*, *133*, 417–425.

Jiang, D., Lu, B., Liu, L., Duan, W., Chen, L., Li, J., & Bai, Z. (2020). Exogenous melatonin improves salt stress adaptation of cotton seedlings by regulating active oxygen metabolism. *Peer Journal*, *8*, e10486.

Jiang, Y., & Huang, B. (2002). Protein alternations in tall fescue in responseto drought stress and abscisic acid. *Crop Science Journal*, *42*, 202-207.

Kabiri, R., Hatami, A., Oloumi, H., Naghizadeh, M., Nasibi, F., & Tahmasebi, Z. (2018). Foliar application of melatonin induces tolerance to drought stress in Moldavian balm plants (*Dracocephalum moldavica*) through regulating the antioxidant system. *Folia Horticulture, 1*, 155 -167.

Khalfallah, A., Labed, A., Semra, Z., Al Kaki, B., Kabouche, A., Touzani, R., & Kabouche, Z. (2011). Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of *Ammi visnaga* (L.) (Apiaceae) from constantine, Algria. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *1*, 302-305.

Królicka, A., Staniszewska, I., Bielawski, K., Malinski, E., Szafranek, J., & Łojkowska, E. (2001). Establishment of hairy root cultures of *Ammi majus*. *Plant Science, 160*, 259–264.

Maia, J.M., de Macedo, C.C., Voigt, E.L., Freitas, J.B.S., & Silveira, J.A.G. (2010). Antioxidative enzymatic protection in leaves of two contrasting cowpea cultivars under salinity. *Biologia Plantarum, 54*(1), 159-163.

Martinez, V., Nieves-cordones, M., Lopez-delacalle, M., Rodenas, R., Mestre, T.C., Garcia-Sanchez, F., Rubio, F., Nortes, P.A., Mittler, R., & Rivero, R.M. (2018). Tolerance to stress combination in tomato plants: New insights in the protective role of melatonin. *Molecules*, *23*, 535.

Mohammadi Asboi, M., Ebrahimi, A., & Amrian, M. (2021). Increased expression of some genes involved in diosgenin biosynthesis pathway in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) treated with different levels of melatonin under salt stress. *Journal of Agricultural Plant Sciences*, University of Tehran. (In Persian).

Mohammadi, H., Moradi, S., & Aghaei, A. (2019). The effect of melatonin on the morphological and physiological characteristics of the medicinal plant Agastaka under water stress conditions. *Plant Process and Function*, *10*(4), 45-57. (In Persian).

Montazeri, F., Omid, M., & Imani, N. (2018). Comparison of seed and embryo cultivation methods and investigation of the effect of activated charcoal in optimizing the in vitro culture of the medicinal plant *Ferula gummosa* Bioss. *Journal of Scientific Research on Medicinal and Aromatic Plants of Iran, 26*, 511-595. (In Persian).

Morgutti, S., Negrini, N., Pucciariello, C., & Sacchi, G.A. (2019). Role of trehalose and regulation of its levels as a signal molecule to abiotic stresses in plants. *Plant Signaling Molecules*, 235-255.

Mukherjee, S. (2019). Insights into nitric oxide–melatonin crosstalk and N-nitrosomelatonin functioning in plants. *Journal of Experimental Botany*, *70*(21), 6035-6047.

Muthukumran, P., Begumand, V.H., & Kalaiarasan, P. (2011). Anti-aiabetic activity of *Ammi majus* (L.) leaf extracts. *International Journal of Pharmtech Research*, *3*, 136-139.

Naghizadeh, M., & Kabiri, R. (2015). Effect of foliar spraying with salicylic acid on some physiological characteristics of corn (*Zea mays* L.). In drought stress conditions. *Environmental Tensions in Agricultural Sciences, 9*(4), 315-327. (In Persian).

Naghizadeh, M., Kabiri, R., & Maqshoodi, K. (2021). Evaluation of the effect of foliar spraying of melatonin and ascorbic acid on the yield of seeds and mucilage of *Plantago ovate* Forssk. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, *37*(6), 919-908. (In Persian).

Naghizadeh, M., Kabiri, R., Hatami, A., Oloumi, H., Nasibi, F., & Tahmasebi, 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 Plants*, *25*, 881-894.

Nayebi, S., Kakeshpour, T., Hasanvand, A., Nadri, M., & Rashidi Monfared, S. (2013). Composition of volatile compounds of extract of *Ammi majus* from Iran by GC-MS. *Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran*, *24*(4), 335-338.(In Persian).

Nikolaeva, M.K., Maevskaya, S.N., Shugaev, A.G., & Bukhov, N.G. (2010). Effect of drought on chlorophyll content and antioxidant enzyme activities in leaves of three wheat cultivars varying in productivity. *Russian Journal of Plant Physiology*, *57*(1), 87-95.

Olomi, H., Nasibi, F., & Mozafari, H. (2017). Investigating growth changes and content of secondary metabolites of watercress under exogenous melatonin treatment. *Nova Biologica Reperta*, *5*(2), 154-144. (In Persian).

Pribitkin, E.D., & Boger, G. (2001). Herbal therapy: What every facial plastic surgeon must.

Ranieri, A., Castagna, A., Pacini, J., Baldan, B., Mensuali Sodi, A., & Soldatini, G.F. (2003). Early production and scavenging of hydrogen peroxide in the apoplast of sunflower plants exposed to ozone. *Journal of Experimental Botany*, *54*(392), 2529-2540.

Saeed, M.A., & Khan, F.Z. (1994). Studies on the contact dermatitic properties of indigenous Pakistani medicinal plants. *Journal of Faculty of Pharmacy of Gazi University*, *11*(1), 17-24.

Sarker, S.D., & Nahar, L. (2004). Natural medicine: The genus *Angelica* Curr. *Journal of Medicinal Chemistry*, *11*, 1479–1500.

Sarropoulou, V.N., Therios, I.N., & Dimassi-Theriou, K.N. (2012). Melatonin promotes adventitious root regeneration in in vitro shoot tip explants of the commercial sweet cherry rootstocks CAB-6P (*Prunus cerasus* L.), Gisela 6 (*P. cerasus*× *P. canescens*), and MxM 60 (*P. avium*× *P. mahaleb*). *Journal of Pineal Research, 52*, 38-46.

Sarrou, E., Chatzopoulou, P., Dimassi-Theriou, K., Therios, I., & Koularmani, A. (2015). Effect of melatonin, salicylic acid and gibberellic acid on leaf essential oil and other secondary metabolites of bitter orange (*Citrus aurantium* L.) young seedlings. *Journal of Essential Oil Research*, *27*, 487- 496.

Scebba, F., Sebastiani, L., & Vitagliano, C. (1998). Changes in activity of antioxidative enzymes in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings under cold acclimation. *Physiologia Plantarum*, *104*(4), 747-752.

Sharma, A., Shahzad, B., Kumar, V., Kohli, S.K., Sidhu, G.P.S., Bali, A.S., & Zheng, B. (2019). Phytohormones regulate accumulation of osmolytes under abiotic stress. *Biomolecules*, *9*(7), 285-321.

Sharma, A., Wang, J., Xu, D., Tao, S., Chong, S., Yan, D., Li, Z., Yuan, H., Zheng, B., Wang, J., & Xu, D. (2020). Melatonin regulates the functional components of photosynthesis, antioxidant system, gene expression, and metabolic pathways to induce drought resistance in grafted *Carya cathayensis* plants melatonin regulates the functional components. *Science of The Total Environment*, *713*,136675.

Sheikhi, S., Ebrahimi, A., Amrian, M., & Heydari, P. (2018). Investigating the effect of epibrasinosteroid on diosgenin biosynthesis in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) under high temperature stress conditions. Master's thesis. Shahrood University of Technology. Ph.D Thesis. Faculty of Agriculture and Natural Resources of Mohaghegh Ardabili University. (In Persian).

Stewart, R.R., & Bewley, J.D. (1980). Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiology*, *65*(2), 245-248.

Tanou, G., Molassiotis, A., & Diamantidis, G. (2009). Induction of reactive oxygen species and necrotic death-like destruction in strawberry leaves by salinity. *Environmental and Experimental Botany*, *65*, 270-281.

Wang, Y., Hao, J., Li, Q., & Jia, J. (2009) Defend effects of melatonin on mung bean UV-B irradiation. *Acta Photonica Sinica*, *38*, 2629-2633.

Xalxo, R., & Keshavkant, S. (2019). Melatonin, glutathione and thiourea attenuate lead and acid rain-induced deleterious responses by regulating gene expression of antioxidants in *Trigonella foenum graecum* (L.). *Chemosphere Journal*, *221*, 1-10.

Xu, J., Liu, T., Yang, S., Jin, X., Qu, F., Huang, N., & Hu, X. (2019). Polyamines are involved in GABA-regulated salinity-alkalinity stress tolerance in muskmelon. *Environmental and Experimental Botany*, *164*, 181-189.

Yan, Y., Shi, Q., & Gong, B. (2020). Review of melatonin in horticultural crops. *In Melatonin the hormone of darkness and its therapeutic potential and perspectives. IntechOpen*.

Zhang, T., Shi, Z., Zhang, X., Zheng, S., Wang, J., & Mo, J. (2020). Alleviating effects of exogenous melatonin on salt stress in cucumber. *Scientia Horticulturae*, *262*, 109070.