مقاله پژوهشی

پیش‌تیمار ملاتونین پوشش‌دار شده با کیتوزان بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی انار *Punica granatum* L. تحت تنش شوری

سید مرتضی زاهدی[۱]*، رقیه نایبی[۲]، غلامرضا گوهری[۳]، فرزاد رسولی[۴] و مینا مرجانی[۵]

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۳/۱۶- تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۷/۲۴)

چکیده

انار از مهم‌ترین محصولات باغبانی است و ایران یکی از تولیدکننده‌های عمده آن در جهان به شمار می‌رود. از طرفی شوری از مهمترین مشکلات محیطی در مناطق خشک و نیمه‌خشک است. اخیرا کاربرد محرک‌های زیستی در کاهش اثرات نامطلوب تنش‌های محیطی از جمله شوری افزایش یافته است. پژوهش حاضر جهت بررسی اثرات پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف کیتوزان، ملاتونین و هیدروکسی پروپیل متیل‌سلولز (HPMC) روی نهال‌های دوساله انار (رقم ملس ساوه) در شرایط تنش شوری بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه مراغه اجرا شد. فاکتور اول شامل شوری در دو سطح (صفر و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و فاکتور دوم شامل پیش‌تیمار ملاتونین با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر، کیتوزان، HPMC و ترکیب ملاتونین پوشش‌دار شده با کیتوزان و HPMC همه با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و آب مقطر به عنوان شاهد بود. نتایج نشان داد تنش شوری منجر به کاهش تعداد برگ، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و پایداری غشاء گردید. اما میزان پرولین، سوپراکسیددیسموتاز و مالون‌دی‌آلدئید را افزایش داد. همچنین پیش‌تیمار ترکیبی HPMC، ملاتونین و کیتوزان منجر به افزایش تعداد برگ، رنگیزه‌های فتوسنتزی، پایداری غشاء، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش مالون‌دی‌آلدئید گردید. علاوه بر این استفاده از پیش‌تیمار ملاتونین به تنهایی اثرات مثبتی بر رشد گیاه و کاهش میزان پراکسیدهیدروژن داشت. بر اساس نتایج پژوهش حاضر به منظور کاهش اثرات منفی تنش شوری پیش‌تیمار ترکیبات HPMC، ملاتونین و کیتوزان و بویژه ملاتونین پوشش‌دار شده با کیتوزان و HPMC توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: تنش اکسیداتیو، محرک زیستی، محلول‌دهی، نهال

۱- دانشیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه، مراغه، ایران.
۲- گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه، مراغه، ایران.
۳- دانشیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه، مراغه، ایران.
۴- دانشیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه، مراغه، ایران.
۵- گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه، مراغه، ایران.
* پست الکترونیک: s.m.zahedi@maragheh.ac.ir

مقدمه

انار (*Punica granatum* L.) یکی از قدیمی‌ترین میوه‌های خوراکی و از مهم‌ترین محصولات باغبانی در ایران است. ایران یکی از بزرگترین تولیدکننده‌های انار در جهان می‌باشد. سطح زیر کشت انار (شامل دیم و آبی) در کشور برابر ۹۰۶۸۰ هکتار، میزان تولید ۱۲۰۱۸۴۸ تن و عملکرد در هکتار حدود ۱۴۸۲۷ کیلوگرم در کشت آبی و ۹۲۷۳ در کشت دیم می‌باشد (آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی، ۱۳۹۹). میوه انار به صورت تازه‌خوری، مربا، آب انار، ژله و سایر مکمل‌ها در جهان مصرف می‌گردد. آب انار از ۸۵/۴ درصد رطوبت و مقدار قابل توجهی قند، اسیدهای آلی، ترکیبات فنلی، آنتوسیانین، آمینواسید، پروتئین، آسکوربیک اسید، تانن و مواد معدنی تشکیل شده است (اخوان[1] و همکاران، ۲۰۱۵).

تنش شوری از مهمترین عوامل محدودکننده محیطی در سیستم‌های کشاورزی می‌باشد که سبب اختلال در فرآیند رشد و نمو گیاهان می‌شود. حدود یک‌سوم اراضی قابل کشت آبی دنیا تحت تأثیر درجات مختلف شوری قرار دارند (هیدانگمایوم[2] و همکاران، ۲۰۱۹). شوری در گیاهان سبب بروز تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی می‌شود. تنش شوری موجب تخریب ساختار کلروپلاست و تجزیه کلروفیل‌ها می‌گردد. راهبردهای مدیریتی شامل تجمع و خروج انتخابی یون‌ها، کنترل جذب یون‌ها از ریشه و انتقال آن‌ها به برگ‌ها، جایگزینی یون‌ها در سلول، سنتز مواد سازگار، تغییر در مسیر فتوسنتزی و ساختار غشایی، تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و هورمون‌های گیاهی می‌باشند. سوپر اکسیددیسموتاز (SOD) از مؤثرترین آنتی‌اکسیدان آنزیمی درون سلولی است که در کلیه ارگانیسم‌های هوازی و در تمام بخش‌های درون سلولی حضور دارد. این آنزیم رادیکال‌های سوپراکسید را حذف و تشکیل رادیکال هیدروکسیل را کاهش می‌دهد (گیل و توتجا[3]، ۲۰۱۰). اثرات نامطلوب شوری موجب کاهش قابل توجهی در عملکرد و کیفیت محصولات می‌شود. لذا استفاده از ترکیبات یا تنظیم‌کننده‌های رشد به صورت برون‌زا در بسیاری از موارد در کاهش اثرات تنش‌های محیطی موثر بوده است. از طرفی پیش‌تیمار یکی از روش‌های مفید برای استفاده از این ترکیبات در مقابله با تنش و افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی می‌باشد که اخیراً مورد توجه محققین قرار گرفته است.

کیتوزان (ری[4] و همکاران، ۲۰۱۵) و ملاتونین (ژانگ[5] و همکاران، ۲۰۱۴) به عنوان زیست‌محرک می‌توانند یکی از روش‌های کاهش اثرات مضر تنش شوری باشند. کیتوزان از داستیله شدن[6] (جداسازی گروه‌های استات) کیتین تولید می‌شود. کیتین یک پلی‌ساکارید طبیعی با فرمول شیمیایی ($C_8H_{13}NO_5$) است که به وفور در اسکلت خارجی بندپایان و همچنین گیاهان پست یافت می‌شود. کیتوزان به‌دلیل غیرسمی بودن، خاصیت جذب بالا، امکان تجزیه در طبیعت، سازگاری با محیط زیست، مقرون به صرفه بودن و در نهایت امکان تهیه مشتقات فراوان از آن بسیار مورد توجه است. پیش‌تیمار با کیتوزان در طول تنش شوری موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها و در نهایت موجب تعدیل تنش شوری در برنج (*Oryza sativa* L.) می‌شود (مارتینز گنزالس[7] و همکاران، ۲۰۱۵).

ملاتونین با نام شیمیایی N استیل ۵-متوکسی‌تریپتامین برای مقابله با انواع تنش‌ها معرفی شده است. در گیاه توت‌فرنگی (زاهدی[8] و همکاران، ۲۰۲۰) و نهال زیتون (زاهدی و همکاران، ۲۰۲۱) محلول‌پاشی توسط ملاتونین موجب کاهش اثر تنش شوری، افزایش تحمل به تنش، تحریک و افزایش رشد می‌شود. بیشترین میزان ملاتونین در گیاهان متعلق به تیره‌های گلسرخیان، انگوریان، گندمیان، کرفسیان و کلمیان شناسایی شده است (نواز[9] و همکاران، ۲۰۱۵). ملاتونین به‌دلیل ویژگی دوگانه (آبدوستی و چربی‌دوستی) به راحتی از عرض غشاء عبور کرده و وارد سلول می‌شود. کلروپلاست محل اولیه سنتز ملاتونین است. ملاتونین با حفظ فعالیت فتوشیمیایی غشای کلروپلاستی و واکنش‌های کربوکسیلاسیون در فتوسنتز و ثبات عملکرد فتوسیستم II موجب کاهش تنش اکسیداتیو می‌شود. در مطالعه‌ای پیش‌تیمار ملاتونین در گیاه ذرت تحت تنش شوری موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و سرعت فتوسنتز و کاهش نشت

1. Akhavan
2. Hidangmayum
3. Gill and Tuteja
4. Ray
5. Zhang
6. Deacetylation
7. Martínez González
8. Zahedi
9. Nawaz

یونی گردید (چیانگ چائوکیانگ[1] و همکاران، ۲۰۱۶).
در سال‌های اخیر توجه دانشمندان در کشاورزی به ماتریس‌های تشکیل هیدروژل افزایش پیدا کرده است. هیدروژل‌ها قادر به جذب مقدار زیادی آب یا مایعات بیولوژیکی هستند و می‌توانند با آب واکنش داده و آن را آزاد یا جذب کنند. این ترکیبات می‌توانند منجر به کاهش مصرف آب و تناوب آبیاری به ویژه در مناطق خشک شوند. از میان هیدروژل‌ها، هیدروکسی‌پروپیل‌متیل‌سلولز[2] (HPMC) به دلیل ماهیت غیریونی و تغییرات pH محیط در جذب آب و اثربخشی آن تأثیر نمی‌گذارد و نقش مهمی در بهبود کیفیت خاک‌های کشاورزی ایفا می‌کند (کاکاوو[3] و همکاران، ۲۰۱۷).
با توجه به ارزش غذایی بالا و خواص دارویی انار و همچنین اهمیت تجاری و اقتصادی این محصول توجه بیشتر به کشت و تولید میوه با کیفیت بالا بیش از پیش احساس می‌شود. از طرفی در سال‌های اخیر محدودیت شدید منابع آبی در اکثر مناطق دنیا و بویژه ایران و همچنین شور شدن شدن زمین‌های کشاورزی، تولید محصولات کشاورزی را دچار مشکل کرده است. از این‌رو هدف از پژوهش حاضر مطالعه کاهش اثرات تنش شوری با استفاده از برخی ترکیبات از جمله ملاتونین، کیتوزان، HPMC و ملاتونین پوشش‌دار شده با کیتوزان و HPMC به روش پیش‌تیمار روی نهال انار بود.

مواد و روش‌ها

محل و طرح آماری آزمایش

پژوهش حاضر به‌منظور بررسی اثر تیمارهای مختلف بر تحمل تنش شوری در نهال‌های انار (رقم ملس‌ساوه) در سال ۱۳۹۸ در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم و مهندسی باغبانی دانشگاه مراغه، انجام گرفت. پژوهش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام گرفت و فاکتورها شامل تنش شوری در دو سطح (صفر و ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم) و پیش‌تیمارهای مورد استفاده شامل ملاتونین (۵۰ میلی‌گرم در لیتر)، کیتوزان (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، HPMC (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، ترکیب ملاتونین پوشش‌دارشده با کیتوزان و HPMC (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و آب‌مقطر به‌عنوان شاهد بود.
نهال‌های دوساله انار از نهالستان تجاری واقع در شهرستان ساوه تهیه و بعد از انتقال به گلخانه در گلدان‌های ۷ لیتری در بستر کوکوپیت و پرلیت (نسبت ۱:۱) کاشته شدند. بعد از یکماه پس از انتقال نهال‌ها به گلدان و ظهور شاخه‌های اصلی، اعمال پیش‌تیمارهای مورد نظر به مدت ۴۸ ساعت، هر ۱۲ ساعت یک‌بار به‌صورت محلول‌دهی پای گیاه به همراه محلول غذایی هوگلند انجام گرفت و تیمار شوری بعد از اتمام پیش‌تیمارها اعمال و به مدت یکماه ادامه یافت و در طول مدت زمان اعمال تنش هر پنج روز یک‌بار آبشویی کامل محیط ریشه گیاهان با آب معمولی بدون تنش شوری انجام گرفت تا تغییرات EC و pH در اثر آبشویی به حداقل برسد.
بعد از اتمام دوره اعمال تنش، به‌منظور انجام مطالعات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی و اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی از برگ‌های کاملاً توسعه یافته نمونه‌برداری انجام گرفت. همچنین بعد از اتمام دوره تنش تعداد برگ‌ها نیز ثبت گردیدند.

اندازه‌گیری میزان سبزینگی (SPAD) و رنگیزه‌های فتوسنتزی

جهت اندازه‌گیری میزان سبزینگی برگ از دستگاه کلروفیل‌متر (SPAD- meter, 502 Plus Chlorophyll Meter, Japan) استفاده شد.
اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کاروتنوئید کل با استفاده از استون ۸۰ درصد انجام و با دستگاه اسپکتروفتومتری (Shimadzu, model UV 1800, Kyoto, Japan) میزان جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر قرائت شد (آرنون[4] و همکاران، ۱۹۴۹).

$$\text{Total Chl.} = (20.2 \times A645) - (8.02 \times A664)$$
$$\text{Car} = [100(A470) - 3.27(\text{Chl. a}) - 104(\text{Chl. b})]/227$$

اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل

اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل با استفاده از دستگاه فلورومتر (PAM2500-WALZ,Germany) صورت گرفت. شاخص‌های فلورسانس مورد ارزیابی شامل مقادیر فلورسانس حداقل (Fo)، فلورسانس حداکثر (Fm)، فلورسانس متغیر (Fv)، حداکثر کارایی فتوشیمیایی - فتوسیستم II (Fv/Fm) بود.

1. Jiang ChaoQiang
2. HydroxyPropyl Methyl cellulose
3. Caccavo
4. Arnon

اندازه‌گیری پایداری غشاء

نمونه‌های برگی (۰/۵ گرم) در فالکون‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شدند. لوله‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و هدایت الکتریکی آن‌ها پس از سرد شدن تا دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با دستگاه هدایت‌سنج قرائت شد. سپس، فالکون‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و هدایت الکتریکی آن‌ها پس از سرد شدن تا دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرائت شد (سایرام[1] و همکاران، ۱۹۹۷).

$$MSI = (1-(C1-C2)) \times 100$$

اندازه‌گیری غلظت هیدروژن پراکسید

نمونه برگی (۰/۵ گرم) در ۵ میلی‌لیتر از محلول ۰/۱ درصد تری‌کلرواستیک (TCA) هضم شد و در دور ۱۲۰۰۰ به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس مخلوط واکنش شامل ۵۰۰ میکرولیتر بافرفسفات ۱۰ میلی‌مولار، ۱ میلی‌لیتر پتاسیم یدید ۱ مولار و در نهایت ۵۰۰ میکرولیتر عصاره بود. میزان جذب نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۹۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید (ولیکووا[2] و همکاران، ۲۰۰۰).

اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید

بافت تازه برگ (۰/۵ گرم) با ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول ۰/۱ درصد تری‌کلرواستیک اسید همگن و به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانترفیوژ گردید. ترکیب به‌دست آمده در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت نیم ساعت نگهداری شد و پس از آن به حمام یخ منتقل گردید. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ شدند و نهایتا جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر قرائت گردید (هیلس و پکر[3]، ۱۹۶۸).

$$MDA= 1000*(A532- A600)/155$$

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

نمونه برگی (۱ گرم) به‌همراه ۲ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد در هاون چینی ساییده شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آماده شده را با ۱۹۰۰ میکرولیتر DPPH، ۱ درصد مخلوط کرده و به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی قرار گرفت. میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد (چیو[4] و همکاران، ۲۰۰۷).

$$RSA\% = (A\ blank- A\ sample)/ A\ blank\times100$$

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز

میزان ۰/۲ میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار، ۰/۲ میلی‌لیتر متیونین ۰/۲ مولار، ۰/۱ میلی‌لیتر EDTA ۳ میلی‌مولار و ۱ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۱ میلی‌لیتر سدیم کربنات ($NaCO_3$) ۱/۵ مولار و ۰/۱ میلی‌لیتر ریبوفلاوین با هم مخلوط شد. سپس لوله‌های آزمایش به مدت ۱۶ دقیقه در فاصله ۳۰ سانتی‌متری از منبع نور قرار گرفت. به دنبال آن در مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی کامل نگهداری شد و نهایتا تغییرات جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (گوپتا[5] و همکاران، ۱۹۹۳).

اندازه‌گیری پروتئین محلول کل

برای اندازه‌گیری پروتئین محلول کل، ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول برادفورد یک ایکس به ۵۰ میکرولیتر عصاره استخراج شده از هر نمونه اضافه شد و بعد از ۵ دقیقه همراه با نمونه‌های استاندارد با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت گردید (برادفورد[6]، ۱۹۷۶).

اندازه‌گیری محتوای پرولین

نمونه گیاهی (۰/۵ گرم) به همراه ازت مایع در هاون ساییده گردید و پس از اضافه نمودن ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد به آن، درون یخ قرار داده شد. به دنبال آن ۴ میلی‌لیتر تولوئن به محلول اضافه نموده و به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس گردید و در نهایت جذب نمونه‌ها بوسیله اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر انجام گرفت (بیتس[7] و همکاران، ۱۹۷۳).

تجزیه‌های آماری

آنالیز داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS (version 9.1) انجام گرفت و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده آزمون LSD (حداقل اختلاف معنی‌دار) در سطح احتمال ۵ درصد و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم افزار Microsoft (2016) Office انجام گرفت.

1. Sairam
2. Velikova
3. Health and Packer
4. Chiou
5. Gupta
6. Bradford
7. Bates

نتایج و بحث

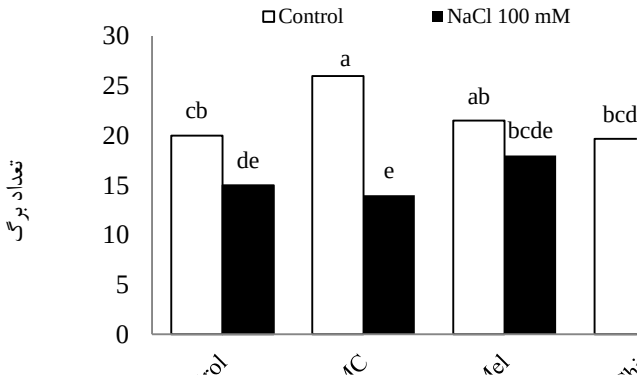
تعداد برگ

نتایج نشان داد تنش شوری (۱۰۰ میلی‌مولار) منجر به کاهش تعداد برگ در مقایسه با نهال‌های شاهد (بدون شوری) گردید. بیشترین تعداد برگ (۱۸) در نهال‌های تحت تنش در تیمار محلول‌دهی ملاتونین مشاهده گردید. از طرفی هم بیشترین تعداد برگ بین نهال‌های شاهد در تیمار ملاتونین (۲۱/۵)، تیمار ترکیبی HPMC، ملاتونین و کیتوزان (۲۶) و تیمار HPMC (۲۶) مشاهده گردید (شکل ۱).

جدول۱- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف تنش شوری و محلول‌دهی بر تعداد برگ نهال انار

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
		تعداد برگ
شوری	۱	۳۹۲/۴۰**
محلول‌دهی	۴	۱۱/۷۵ns
شوری× محلول‌دهی	۴	۲۵/۰۷*
خطا	۲۰	۸/۴۲
ضریب تغییرات		۱۵/۲۶

ns عدم تفاوت معنی‌دار، * و** به‌ترتیب نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪



شکل۱- اثر متقابل تنش شوری و پیش‌تیمارهای ملاتونین، کیتوزان، HPMC و ترکیبی از آن‌ها بر تعداد برگ نهال انار تحت تنش شوری.

حروف مشابه در هر تیمار بیانگر عدم اختلاف معنی‌داری بین داده‌ها در آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

کاهش شاخص‌های رویشی تحت تنش به دلیل افزایش فشار اسمزی ناشی از یون‌های سمی و کاهش پتانسیل آب در خاک است که سلول‌های برگ به طور موقت آب خود را از دست می‌دهند و سرعت تقسیم سلولی کاهش یافته و در نتیجه، این تغییرات منجر به کوچکتر شدن برگ و کاهش تعداد برگ می‌گردد. بنابراین میزان آب در دسترس گیاه محدود می‌شود و جذب آب از ریشه کاهش می‌یابد که در نهایت موجب کاهش رشد گیاه می‌گردد. نتایج مشابه در جو (طاهریان و همکاران، ۱۳۹۴) تحت تنش شوری گزارش شده است.

محلول‌پاشی توسط ملاتونین موجب افزایش تحمل به تنش‌ها، تحریک و افزایش رشد می‌شود (چیانگ چائوکیانگ و همکاران، ۲۰۱۶). اهمیت کیتوزان به دلیل ویژگی بیولوژیکی و فیزیولوژیکی منحصر به فرد این پلیمر است. کیتوزان موجب افزایش تحمل به تنش شوری در گیاهچه‌های برنج (روان[1] و همکاران، ۲۰۰۲) گردید. افزایش رشد توسط این ترکیبات می‌تواند به دلیل کاهش تنش اکسیداتیو و یونی، افزایش توانایی جذب آب و مواد معدنی و کاهش تجمع رادیکال‌های آزاد باشد.

سبزینگی و رنگیزه‌های فتوسنتزی

مقایسه میانگین‌ها نشان داد شوری شدید (۱۰۰ میلی‌مولار) منجر به کاهش سبزینگی و کلروفیل کل در مقایسه با نهال‌های شاهد (بدون تنش) گردید. میزان

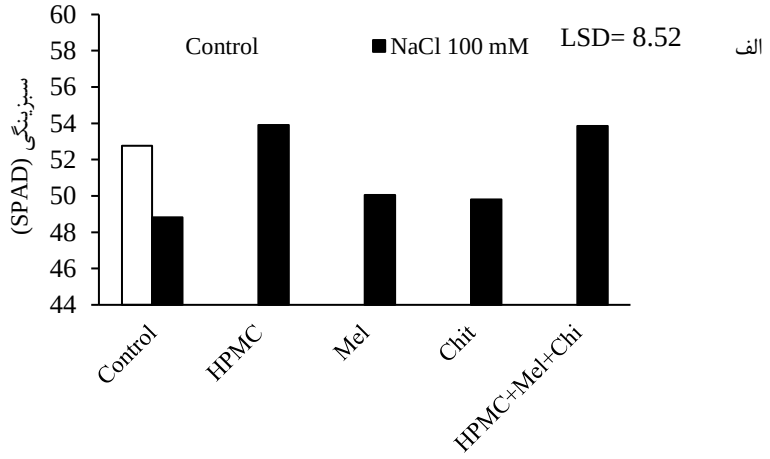
1. Ruan

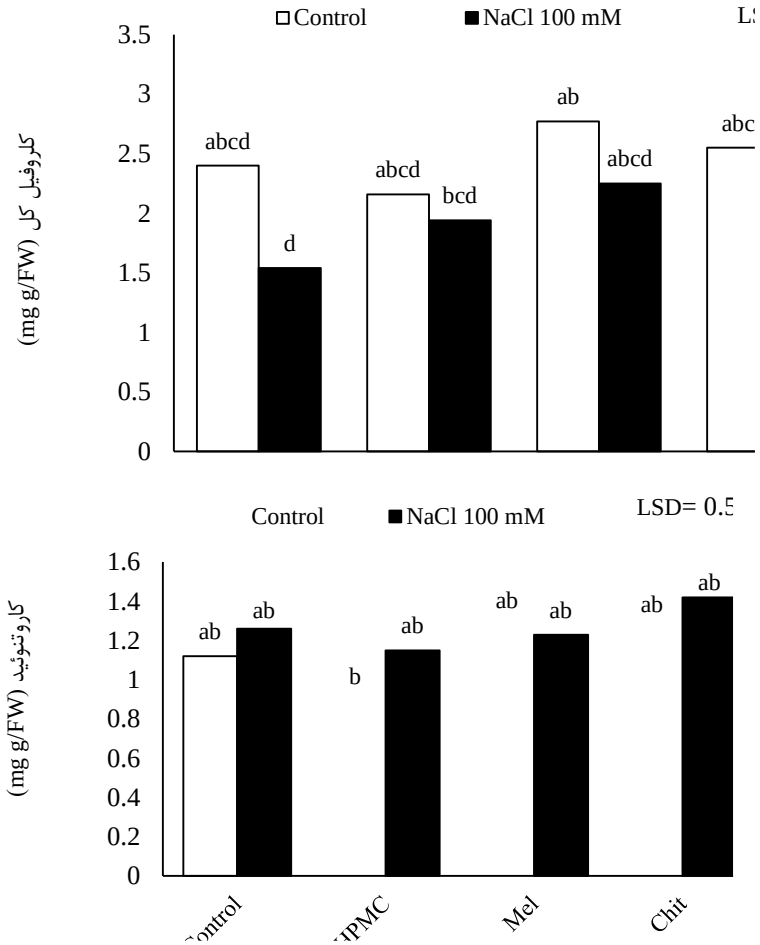
کاروتنوئید نشان داد روند افزایش یا کاهش این صفت بین نهال‌های شاهد و شوری بسته به تیمار متفاوت بود بطوری که بیشترین میزان سبزینگی در گیاهان محلول‌دهی شده توسط ملاتونین (۵۷/۹) و HPMC (۵۷/۵) در نهال‌های شاهد مشاهده گردید (شکل۲الف). بالاترین میزان کلروفیل کل در نهال‌های محلول‌دهی شده توسط تیمار ترکیبی HPMC، ملاتونین و کیتوزان (۳/۰۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط بدون شوری و کمترین میزان در نهال‌های رشد یافته تحت شوری شدید و بدون محلول‌دهی (۱/۵۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و محلول‌دهی توسط تیمار ترکیبی HPMC، ملاتونین و کیتوزان (۱/۶۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد (شکل۲ب). در تیمار ملاتونین و تیمار ترکیبی HPMC، ملاتونین و کیتوزان میزان کاروتنوئید در مقایسه با نهال‌های تحت تنش افزایش یافت، اما در سایر تیمارها میزان آن کم شد. بالاترین میزان کاروتنوئید در تیمار ترکیبی HPMC، ملاتونین و کیتوزان (۱/۴۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کمترین میزان در تیمار محلول‌دهی HPMC (۰/۹۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در نهال‌های رشد یافته در شرایط شاهد (بدون شوری) مشاهده گردید (شکل۲ج). کاهش محتوی کلروفیل تحت تنش شوری پدیده‌ای است که عموماً گزارش می‌شود. این کاهش ممکن است به دلیل تشکیل آنزیم‌های پروتئولیتیکی مانند کلروفیلاز باشد که موجب تخریب کلروفیل و یا آسیب به سیستم فتوسنتزی

جدول۲- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف تنش شوری و محلول‌دهی بر رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ انار

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		سبزینگی	کلروفیل کل	کاروتنوئید کل
شوری	۱	۱۱۰/۰۹*	۲/۹۵**	۰/۰۰۳ns
محلول‌دهی	۴	۲۵/۱۸ns	۰/۳۴ns	۰/۰۹۴ns
شوری× محلول‌دهی	۴	۱۰/۴۹*	۰/۳۴**	۰/۰۵۵*
خطا	۲۰	۲۵/۰۵	۰/۳۳	۰/۰۸
ضریب تغییرات		۹/۴۰	۲۵/۵۱	۲۴/۰۲

ns عدم تفاوت معنی‌دار، * و** به‌ترتیب نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪





شکل۲- اثر متقابل تنش شوری و پیش‌تیمار ملاتونین، کیتوزان، HPMC و ترکیبی از آن‌ها بر میزان سبزینگی (الف)، کلروفیل کل (ب) و کاروتنوئید (ج) برگ نهال انار تحت تنش شوری. حروف مشابه در هر ستون تیمار بیانگر عدم اختلاف معنی‌داری بین داده‌ها در آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

می‌گردد (رادی[1] و همکاران، ۲۰۱۳). به علاوه تنش شوری فعالیت آنزیم روبیسکو را کاهش داده و موجب تخریب پروتئین‌های غشایی و ناپایداری رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شود. بطور کلی کاهش شدت فتوسنتز تحت تنش به دلیل دهیدراسیون غشاء و کاهش نفوذپذیری دی‌اکسید کربن، سمیت ناشی از شوری، بسته شدن روزنه‌ها و تغییر در فعالیت آنزیم‌ها به دلیل تغییر در ساختار سیتوپلاسم می‌باشد. میزان کاروتنوئیدها بر اثر تنش شوری به‌دلیل افزایش رادیکال‌های آزاد و بازدارندگی نوری ممکن است کاهش یا افزایش یابد. در مطالعه‌ای در انار افزایش کاروتنوئید تحت تنش شوری گزارش شده است (ابراهیم[2]، ۲۰۱۶). کاروتنوئیدها می‌توانند سیستم دریافت نور فتوسنتز را از آسیب رادیکال‌های آزاد محافظت و نیز آن‌ها را غیرفعال یا توسط آن اکسید شوند (کیورو[3]، ۲۰۰۶). نقش ملاتونین در افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در توت‌فرنگی تحت تنش شوری گزارش شده است (زاهدی و همکاران، ۲۰۲۰). یکی از دلایل افزایش محتوای کلروفیل پس از کاربرد ملاتونین در شرایط تنش احتمالا نقش ملاتونین در حفاظت از سیستم فتوسنتزی و ساختار کلروپلاست با از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن است. کیتوزان نیز اثر تحریک‌کنندگی بر رشد گیاهان دارد که ممکن است به‌دلیل افزایش دسترسی گیاهان به آب و مواد مغذی ضروری از طریق تنظیم فشار اسمزی سلول، کاهش تجمع رادیکال‌های آزاد، افزایش فعالیت آنزیم متابولیسم نیتروژن در برگ‌ها و همچنین افزایش فتوسنتز که رشد و نمو گیاه را افزایش می‌دهد، نسبت داده شود. مطالعات نشان می‌دهد کاربرد کیتوزان محتوای کلروفیل و

1. Radi
2. Ibrahim
3. Koyoro

کاروتنوئید را در گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* L.) تحت تنش خشکی افزایش داده است (حسنین[1] و همکاران، ۲۰۲۰).

فلورسانس کلروفیل

بالاترین میزان فلورسانس حداکثر (۳/۶۴ و ۳/۵۳) در نهال‌های شاهد (بدون محلول‌دهی) و پیش‌تیمار شده توسط HPMC بود (شکل۳الف). همچنین بالاترین میزان فلورسانس متغیر (۲/۶۲) در نهال‌های بدون محلول‌دهی (شاهد) و حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (۰/۷۲، ۰/۷ و ۰/۷) به‌ترتیب در نهال‌های بدون محلول‌دهی، تیمار محلول‌دهی HPMC و ملاتونین مشاهده گردید (شکل۳ب و ج).

بارزترین واکنش گیاهان به عوامل تنش‌زا افت فتوسنتز به دلیل اختلال در فعالیت فتوسیستم II می‌باشد که تحت تاثیر شوری قرار می‌گیرد. به نظر می‌رسد طول دوره تنش و همچنین نوع رقم می‌تواند در واکنش گیاه به تنش‌های محیطی موثر باشد. در مطالعه‌ای روی لوبیا تحت تنش خشکی پارامترهای فلورسانس کلروفیل در ابتدای تنش تغییر چندانی نکرد ولی با افزایش مدت تنش کاهش شدیدی در این پارامترها مشاهده شد (پرماچاندرا[2]، ۱۹۹۲).

مشابه نتایج پژوهش حاضر محلول‌دهی توسط اسیدسالیسیلیک و کیتوزان موجب کاهش فلورسانس کلروفیل در گیاه گلرنگ (امیری و همکاران، ۱۳۹۵) گردید. مکانیسم اثر تیمارهای مختلف محلول‌دهی بر میزان پارامترهای فلورسانس در گیاهان و نحوه پاسخ انواع مختلف گیاهان بوضوح مشخص نیست.

نشانگرهای اکسیداتیو برگ

نتایج داده‌های حاصل نشان داد پایداری غشاء تحت تنش شوری کاهش یافت. بالاترین میزان پایداری غشاء در نهال‌های محلول‌دهی شده توسط تیمار ترکیبی ملاتونین، کیتوزان و HPMC (۵۸/۶ درصد) در شرایط بدون شوری مشاهده شد. کمترین میزان پایداری غشاء در نهال‌های در معرض شوری شدید و بدون محلول‌دهی (۴۱/۹۶ درصد) مشاهده گردید (شکل۴الف). همچنین تنش شوری منجر به افزایش پراکسیدهیدروژن و مالون‌دی‌آلدئید در تمامی تیمارها در مقایسه با نهال‌های شاهد (بدون تنش) گردید. کمترین میزان پراکسیدهیدروژن در تیمار محلول‌دهی ملاتونین (۶/۱۵ میلی‌مول بر گرم وزن تر) تحت تنش شوری مشاهده گردید (شکل۴ب). بیشترین میزان مالون‌دی‌آلدئید در برگ نهال‌های در معرض شوری شدید (۱۰۰ میلی‌مولار) و بدون محلول‌دهی (۱/۶۷ میلی‌مول بر گرم وزن تر) مشاهده شد (شکل۴ج).

شوری موجب پراکسیداسیون چربی‌های غیراشباع غشای سلولی و کاهش شاخص پایداری غشاء می‌گردد. اختلال در غشاء تأثیر زیادی بر تغییرات احتمالی پتاسیل غشاء، سیستم انتقال انرژی غشاء و مقدار ATP درون و خارج سلول دارد. پراکسید هیدروژن در مقادیر بالا برای سلول سمی بوده و موجب تنش اکسیداتیو می‌گردد و در مقادیر کم به عنوان مولکول سیگنالینگ عمل می‌کند و موجب فعال کردن مکانیسم‌های دفاعی گیاه می‌شود. افزایش پراکسید هیدروژن تحت تنش شوری گزارش شده است (کایا[3] و همکاران، ۲۰۱۵). رادیکال‌های آزاد سبب پراکسیداسیون چربی‌های غشاء می‌شود، در نتیجه تولید مالون‌دی‌آلدئید تحت تنش افزایش می‌یابد. افزایش مالون‌دی‌آلدئید تحت تنش نشان‌دهنده اکسید شدن اسیدهای چرب غشاء است. افزایش پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدئید در تنش شوری در انار گزارش شده است (سوری و همکاران، ۱۳۹۷).

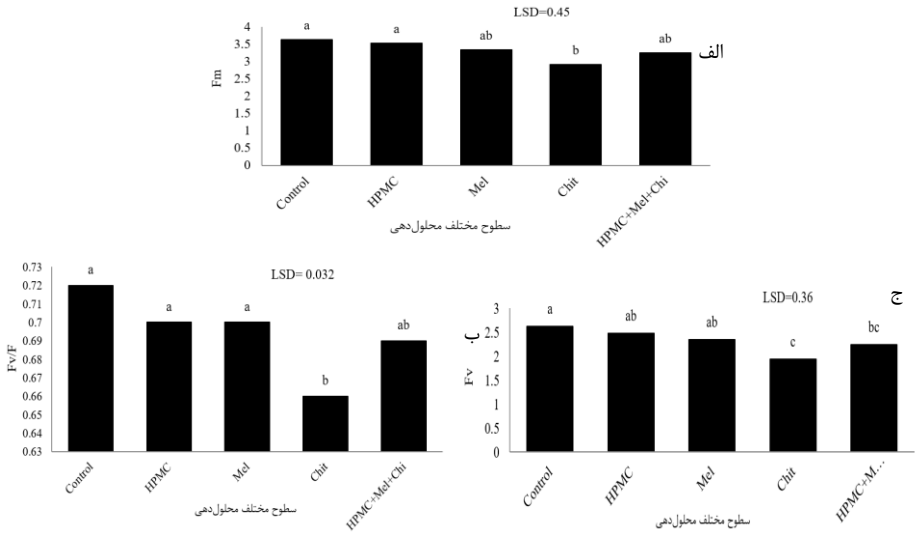
در مطالعه‌ای محلول‌پاشی ملاتونین موجب افزایش پایداری غشاء گردید (محمدی و همکاران، ۱۳۹۸). ملاتونین می‌تواند به عنوان اولین مانع در برابر گونه‌های فعال اکسیژن و تغییر در بیان ژن‌های مسئول واکنش به تنش مطرح باشد. ملاتونین به طور مستقیم H_2O_2 را که در فرآیند پیری با افزایش نفوذپذیری غشاء و رها شدن پروتئین و دیگر محتویات سلول نقش دارد را کاهش داده و با کاهش اکسیداسیون لیپیدها سبب افزایش پایداری غشای برگ و همچنین حفظ هموستازی سلول‌ها می‌شود (گائو[4] و همکاران، ۲۰۱۶). 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 باشد. به نظر می‌رسد کیتوزان با کلاته‌کردن یون‌ها یا ترکیب شدن با لیپیدها و کاهش رادیکال‌های آزاد به‌طور مستقیم یا توسط

1. Hassanin
2. Premachandra
3. Kaya
4. Gao

جدول۳- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف تنش شوری و محلول‌دهی بر شاخص فلورسانس برگ انار

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		F0	Fm	Fv	Fv/Fm
شوری	۱	۱/۸۰^{ns}	۰/۰۱۶^{ns}	۰/۰۰۱^{ns}	۰/۰۰۱^{ns}
محلول‌دهی	۴	۰/۰۰۵^{ns}	۰/۴۸*	۰/۴۰**	۰/۰۰۲*
شوری× محلول‌دهی	۴	۰/۰۱۸^{ns}	۰/۲۰^{ns}	۰/۱۱ ^{ns}	۰/۰۰۰^{ns}
خطا	۲۰	۰/۰۳۲	۰/۰۱۳	۰/۰۸	۰/۰۰۰۷
ضریب تغییرات		۱۲/۵۲	۱۱/۱۹	۱۲/۸۴	۳/۸۹

ns عدم تفاوت معنی‌دار، * و** به‌ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪



شکل۳- اثر پیش‌تیمار ملاتونین، کیتوزان، HPMC و ترکیبی از آن‌ها بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل برگ نهال انار تحت تنش شوری. حروف مشابه در هر ستون تیمار بیانگر عدم اختلاف معنی‌داری بین داده‌ها در آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

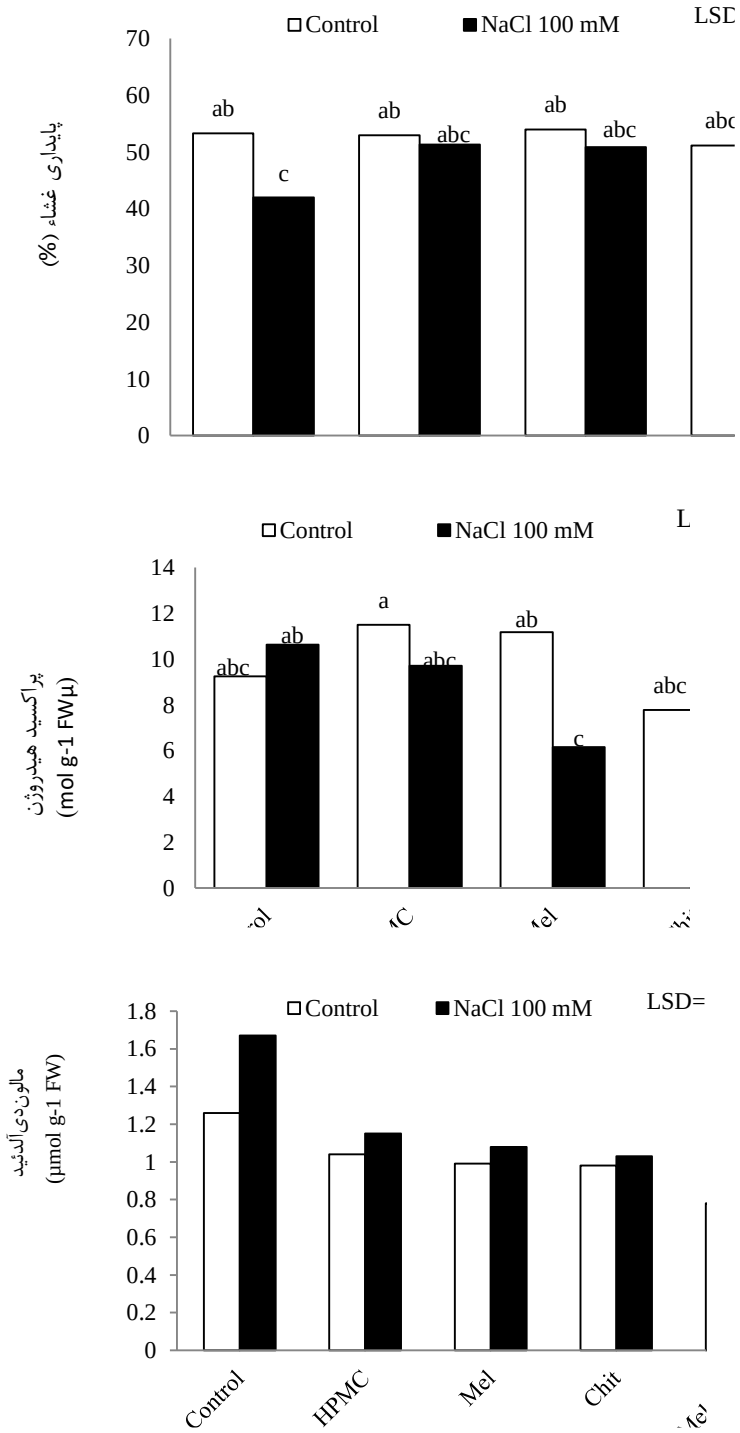
جدول۴- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف تنش شوری و محلول‌دهی بر مارکرهای اکسیداتیو برگ انار

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		پایداری غشاء	پراکسید هیدروژن	مالون‌دی‌آلدئید
شوری	۱	۲۵۳/۶۰**	۱۴/۳۹^{ns}	۰/۱۴^{ns}
محلول‌دهی	۴	۲۴/۴۴^{ns}	۸/۱۰^{ns}	۰/۳۶**
شوری× محلول‌دهی	۴	۴۹/۵۰*	۸/۳۹*	۰/۰۳**
خطا	۲۰	۳۰/۶۷	۵/۰۶	۰/۰۵
ضریب تغییرات		۱۰/۸۴	۲۴/۴۳	۲۱/۴۲

ns عدم تفاوت معنی‌دار، * و** به‌ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از اکسیداسیون لیپیدها جلوگیری کرده و سبب کاهش مالون‌دی‌آلدئید می‌شود (مهدوی و همکاران، ۱۳۹۰). بکارگیری کیتوزان در خرمالو (*Diospyros kaki*) تحت تنش سرما در غلظت کم سبب کاهش مالون‌دی‌آلدئید گردید (نصر[1] و همکاران، ۲۰۲۱). همچنین زارع‌زینلی و همکاران (۱۳۹۸) نشان دادند تیمار ملاتونین در گیاهان تحت تنش شوری منجر به کاهش

1. Nasr



شکل۴- اثر متقابل تنش شوری و پیش‌تیمار ملاتونین، کیتوزان، HPMC و ترکیبی از آن‌ها بر میزان پایداری غشاء (الف)، پراکسید هیدروژن (ب) و مالون‌دی‌آلدئید (ج) برگ نهال انار تحت تنش شوری. حروف مشابه در هر ستون تیمار بیانگر عدم اختلاف معنی‌داری بین داده‌ها در آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

مقدار مالون‌دی‌آلدئید شد. اثر ملاتونین بر کاهش مقدار مالون‌دی‌آلدئید، تأکید بر نقش محافظتی آن از غشاء در برابر آسیب‌های ناشی از تنش شوری دارد. بنابراین ملاتونین موجب کاهش نفوذپذیری غشاء و پراکسیداسیون لیپیدها و حفظ یکپارچگی و عملکرد غشاء در برابر تنش شوری می‌شود (ژانگ، ۲۰۱۴).

شاخص‌های بیوشیمیایی برگ

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد بالاترین میزان فعالیت

آنتی‌اکسیدانی در نهال‌های محلول‌دهی توسط ملاتونین در شرایط شاهد (۸۴/۴۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده گردید (شکل۵الف). بالاترین میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز و پرولین در نهال‌های در معرض تنش شدید و بدون محلول‌دهی (۴۴/۶۰ میلی‌گرم در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) و (۱/۵۱ میلی‌مول بر گرم وزن تر) مشاهده شد. کمترین میزان آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (۳۱/۳۳ میلی‌گرم در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) در تیمار HPMC بدون تنش و پرولین (۰/۲۵ میلی‌مول بر گرم وزن تر) در نهال‌های بدون پیش‌تیمار در شرایط شاهد مشاهده گردید (شکل۵ب و ج). میزان پروتئین در تیمارهای کیتوزان، HPMC و شرایط بدون محلول‌دهی (شاهد) در نهال‌های تحت تنش در مقایسه با شاهد افزایش یافت، اما در تیمار ملاتونین و تیمار ترکیبی HPMC، ملاتونین و کیتوزان کاهش یافت. بالاترین میزان پروتئین در نهال‌های بدون محلول‌دهی و در تنش شدید (۹/۶۵ میلی‌گرم بر گرم بر وزن تر) مشاهده گردید (شکل۵د).

تنش شوری منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌گردد. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اثرات مضر رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برند. کاهش مقدار پروتئین پدیده‌ای متداول در تنش است که شوری شدید موجب سرکوب سنتز پروتئین‌ها و القای سنتز پروتئین‌های جدید می‌گردد. تنش موجب تغییر در بیان ژن‌ها و تولید پروتئین می‌گردد که این پروتئین‌ها موجب القای پایداری غشاء تحت تنش می‌شوند. یون‌های سمی موجب صدمه به غشای پلاسمایی، اختلال در تنفس، فتوسنتز، سنتز و عدم پایداری پروتئین‌ها در اثر تنش می‌گردد. پرولین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان می‌تواند اثرات سوء تنش اکسیداتیو را کاهش داده و از غشای سلول‌ها محافظت کرده و سبب بهبود آنزیم‌ها گردد. نتایجی مشابه این آزمایش در انبه (*Mangifera indica* L.) تحت تنش شوری مشاهده گردید (الشیری[1] و همکاران، ۲۰۲۰). افزایش پرولین تحت تنش به دلیل تحریک سنتز اسید گلوتامیک، کاهش انتقال آن از طریق آوند آبکشی، جلوگیری از اکسیداسیون آن در شرایط تنش و اختلال در سنتز پروتئین می‌باشد.

اخیرا فعالیت آنتی‌اکسیدانی کیتوزان بسیار مورد توجه قرار گرفته است. کیتوزان سبب خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و حفاظت از DNA می‌شود (پراشانت[2] و همکاران، ۲۰۰۷). این عمل کیتوزان مربوط به گروه‌های آمین و هیدروکسیل است که با رادیکال‌های آزاد واکنش می‌دهند. در مطالعه‌ای بکارگیری کیتوزان در گیاه نوروزک (*Carthamus tinctorius* L.) تحت تنش شوری (جامی و همکاران، ۱۳۹۷) فعالیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش داد. کاهش فعالیت آنزیم‌ها در نهال‌های تحت تنش را می‌توان به ویژگی آنتی‌اکسیدانی کیتوزان در خنثی کردن یون سوپراکسید و اثر ملاتونین در افزایش مقاومت در برابر تنش‌ها، کاهش نشت یونی، حفاظت از رنگیزه‌ها و افزایش فتوسنتز نسبت داد (چیانگ چائوکیانگ، ۲۰۱۶). یکی از دلایل افزایش پروتئین با کاربرد ملاتونین در شرایط تنش نقش ملاتونین در بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و جلوگیری از آسیب‌های اکسیداتیو به پروتئین‌ها و تخریب آن‌ها می‌باشد. همچنین عملکرد پروتئین دانه سویا نیز تحت تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین افزایش یافت (محمدی و همکاران، ۱۳۹۸). مهدوی و همکاران (۱۳۹۰) گزارش کردند کاربرد کیتوزان در غلظت‌های کم موجب کاهش میزان پرولین می‌گردد ولی با افزایش غلظت آن پرولین افزایش می‌یابد.

نتیجه‌گیری کلی

براساس نتایج حاصل شوری شدید (۱۰۰ میلی‌مولار) اثر منفی بر بسیاری از ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نهال‌های انار داشت. در این آزمایش بکار بردن تیمارهای محلول‌دهی در برخی تیمارها منجر به افزایش شاخص‌های فتوسنتزی، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و با کاهش تولید ترکیباتی مانند مالون‌دی‌آلدئید و پراکسیدهیدرژون اثرهای تنش شوری را تعدیل کردند. با مقایسه پیش‌تیمارهای محلول‌دهی مختلف بیشترین تغییرات مثبت در تیمارهای محلول‌دهی پیش‌تیمار ملاتونین با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر و ترکیب ملاتونین پوشش‌دارشده با کیتوزان و HPMC با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. به‌طور کلی به نظر می‌رسد بکارگیری پیش‌تیمارهای یادشده به‌ویژه به حالت ترکیبی می‌تواند در شرایط تنش شوری موجب بهبود شاخص‌های مورد نظر شود.

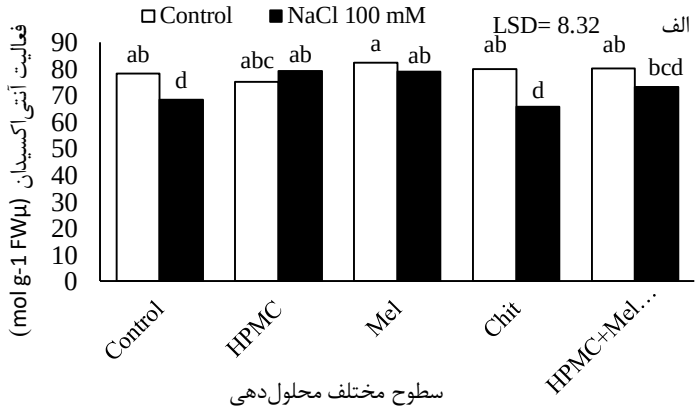
1. Elsheery

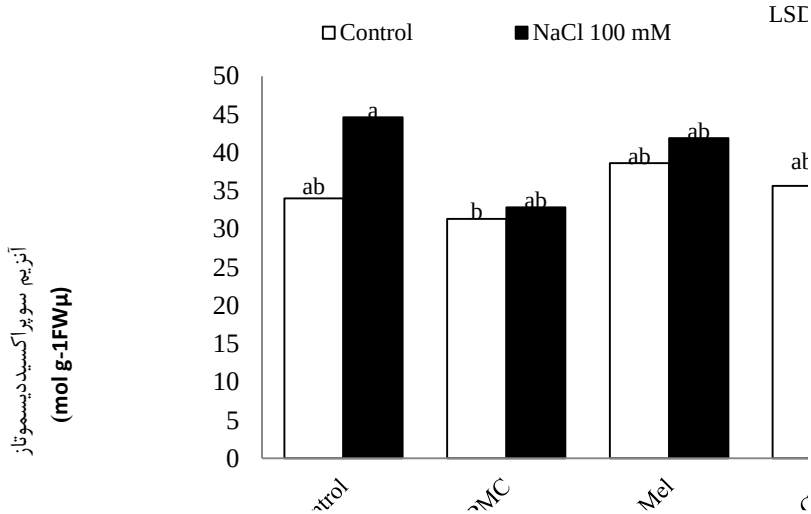
2. Prashanth

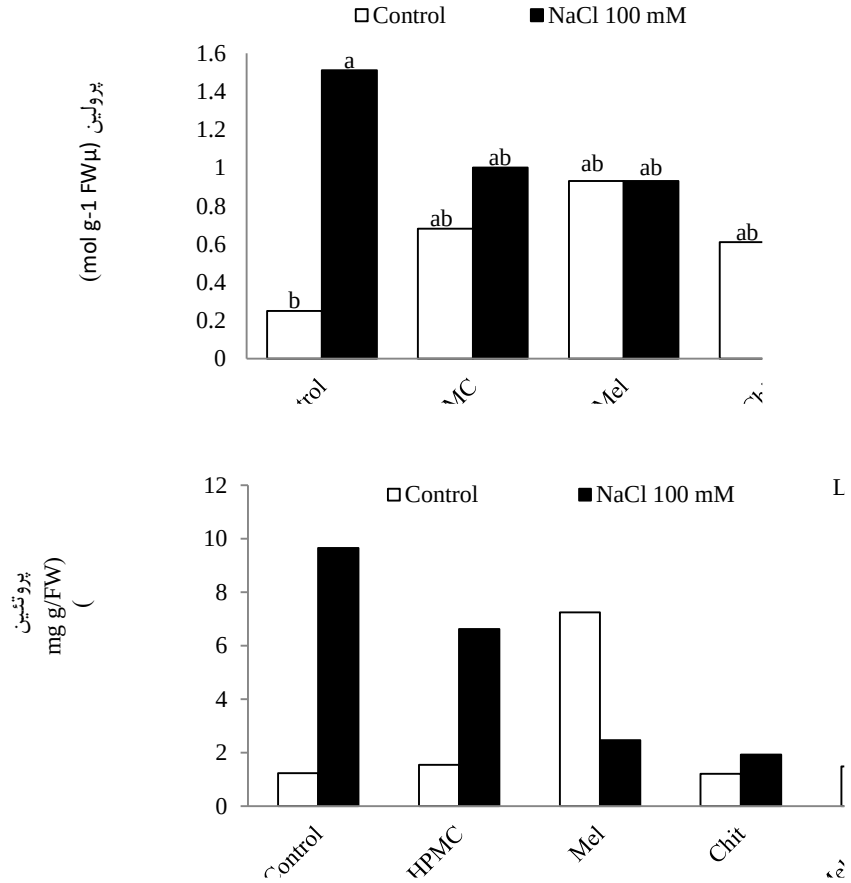
جدول۵- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف تنش شوری و محلول‌دهی بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی برگ انار

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		فعالیت آنتی‌اکسیدانی	سوپراکسید دیسموتاز	پروتئین	پرولین
شوری	۱	۲۷۶/۲۳**	۸۶/۶۵^{ns}	۲۵/۵۷**	۱/۱۰^{ns}
محلول‌دهی	۴	۶۰/۴۴*	۷۹/۴۰^{ns}	۲۱/۲۴**	۰/۰۳^{ns}
شوری× محلول‌دهی	۴	۷۰/۹۲*	۲۶/۵۸*	۳۸/۶۸**	۰/۳۸*
خطا	۲۰	۲۳/۹۰	۵۸/۴۳	۰/۴۲	۰/۴۸
ضریب تغییرات		۶/۴۱	۲۱/۲۰	۱۸/۸۰	۸/۲۵

ns عدم تفاوت معنی‌دار، * و** به‌ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪







شکل۵- اثر متقابل تنش شوری و پیش‌تیمار ملاتونین، کیتوزان، HPMC و ترکیبی از آن‌ها بر میزان آنتی‌اکسیدان (الف)، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (ب)، پرولین (ج) و پروتئین (د) برگ نهال انار تحت تنش شوری. حروف مشابه در هر ستون تیمار بیانگر عدم اختلاف معنی‌داری بین داده‌ها در آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

منابع

آمارنامه کشاورزی، اداره کل آمار و اطلاعات وزارت جهاد کشاورزی، ۱۳۹۹.

امیری، ا.، مهر، س.، یداللهی، پ.، اصغری‌پور، م.ر. و اسماعیل‌زاده‌بهابادی، ص. ۱۳۹۵. تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و کیتوزان بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلرنگ. به‌زراعی کشاورزی، ۱۸(۲)، ۴۵۳-۴۶۶.

جامی، س.، اسمعیل‌زاده‌بهابادی، ص. و مدرس، م. ۱۳۹۷. تأثیر کیتوزان بر ریزازدیادی، محتوی متابولیت‌های ثانویه و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه نوروزک (*Salvia leriifolia* Benth.). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۳۱(۳): ۵۶۸-۵۷۸.

زارع‌زینلی. م.، نصیبی، ف.، منوچهری‌کلانتری، خ. و احمدی‌موسوی، ع.ا. ۱۳۹۸. اثر پیش‌تیمار ملاتونین بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی و کاهش تنش اکسیداتیو در گیاهچه‌های جعفری زینتی تحت تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۹(۳۵): ۱۱۵-۱۲۵.

سوری، ن.، بخشی، د.، رضایی‌نژاد، ع.ا. و فیضیان، م. ۱۳۹۷. ارزیابی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برخی از ارقام انار تجاری ایرانی به تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۸(۳۲): ۵۱-۶۸.

طاهریان، م.، بی‌همتا، م.ر.، پیغمبری، س.ع. و علیزاده، ه. ۱۳۹۴. تأثیر تنش شوری بر تجمع و آزادسازی مواد نورساختی میانگره‌های ساقه در ژنوتیپ‌های مختلف جو، علوم گیاهان زراعی ایران، ۴۶(۴): ۶۵۷-۶۷۱.

محمدی، ی.، فیروزآبادی، م.، غلامی، ا. و مکاریان، ح. ۱۳۹۸. تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر عملکرد و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی سویا (*Glycine max*). انجمن فیزیولوژی گیاهی ایران، ۹(۳۵): ۳۵۹-۳۷۶.

مهدوی، ب.، مدرس‌ثانوی، س.ع.م.، آقاعلیخانی، م. و شریفی، م. ۱۳۹۲. اثر غلظت‌های مختلف کیتوزان بر جوانه‌زنی بذر و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) در شرایط تنش کم آبی. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، ۲۶ (۳): ۳۵۲-۳۶۵.

Akhavan, H., Barzegar, M., Weidlich, H. and Zimmermann, B.F. 2015. Phenolic compounds and antioxidant activity of juices from ten Iranian pomegranate cultivars depend on extraction. Journal of Chemistry, 2015(1): 907101.

Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta vulgaris. Plant physiology, 24(1): 1.

Bates, L.S., Waldren, R.A. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and soil, 39: 205-207.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry, 72(1-2): 248-254.

Caccavo, D., Cascone, S., Apicella, P., Lamberti, G. and Barba, A.A. 2017. HPMC-based granules for prolonged release of phytostrengtheners in agriculture. Chemical Engineering Communications, 204(12): 1333-1340.

Chiou, M.J., Wang, Y.D., Kuo, C.M., Chen, J.C. and Chen, J.Y. 2007. Functional analysis of mitogen-activated protein kinase-3 (MAPK3) and its regulation of the promoter region in zebrafish. DNA and Cell Biology, 26(11): 781-790.

Elsheery, N.I., Helaly, M.N., El-Hoseiny, H.M. and Alam-Eldein, S.M. 2020. Zinc oxide and silicone nanoparticles to improve the resistance mechanism and annual productivity of salt-stressed mango trees. Agronomy, 10(4): 558.

Gao, H., Zhang, Z.K., Chai, H.K., Cheng, N., Yang, Y., Wang, D.N., Yang, T. and Cao, W. 2016. Melatonin treatment delays postharvest senescence and regulates reactive oxygen species metabolism in peach fruit. Postharvest Biology and Technology, 118: 103-110.

Gill, S.S. and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant physiology and biochemistry, 48(12): 909-930.

Gupta, A.S., Webb, R.P., Holaday, A.S. and Allen, R.D. 1993. Overexpression of superoxide dismutase protects plants from oxidative stress (induction of ascorbate peroxidase in superoxide dismutase-overexpressing plants). Plant Physiology, 103(4): 1067-1073.

Prashanth, K.V.H., Dharmesh, S.M., Rao, K.S.J. and Tharanathan, R.N. 2007. Free radical-induced chitosan depolymerized products protect calf thymus DNA from oxidative damage. Carbohydrate Research, 342(2): 190-195.

Hassnain, M., Alam, I., Ahmad, A., Basit, I., Ullah, N., Alam, I., Ullah, M.A., Khalid, B., Shair, M.M. and Ain, N. 2020. Efficacy of chitosan on performance of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) plant under water stress condition. Pakistan Journal of Agricultural Research, 33(1): 27-41.

Heath, R.L. and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of biochemistry and biophysics, 125(1): 189-198.

Hidangmayum, A., Dwivedi, P., Katiyar, D. and Hemantaranjan, A. 2019. Application of chitosan on plant responses with special reference to abiotic stress. Physiology and molecular biology of plants, 25(2): 313-326.

Ibrahim, H.I. 2016. Tolerance of two pomegranates cultivars (*Punica granatum* L.) to salinity stress under hydroponic culture conditions. Journal of Basic and Applied Scientific Research, 6(4): 38-46.

Jiang ChaoQiang, J.C., Cui QuanRen, C.Q., Feng Kun, F.K., Xu DaFeng, X.D., Li ChengFeng, L.C. and Zheng QingSong, Z.Q. 2016. Melatonin improves antioxidant capacity and ion homeostasis and enhances salt tolerance in maize seedlings. Acta Physiologiae Plantarum, 38(4): 82.

Kaya, C., ASHRAF, M., Sönmez, O., Tuna, A.L. and Aydemir, S. 2015. Exogenously applied nitric oxide confers tolerance to salinity-induced oxidativestress in two maizes (*Zea mays* L.) cultivars differing in salinity tolerance. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 39(6): 909-919.

Koyro, H.W. 2006. Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.). Environmental and Experimental Botany, 56(2): 136-146.

Martínez González, L., Reyes Guerrero, Y., Falcón Rodríguez, A. and Núñez Vázquez, M. 2015. Effect of seed treatment with chitosan on the growth of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings cv. INCA LP-5 in saline medium. Cultivos Tropicales, 36(1): 143-150.

Martinez, G., Reyes, G., Falcón, R. and Nunez, V. 2015. Effect of seed treatment with chitosan on the growth of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings cv. *INCA LP-5* in saline medium. Cultivos Tropicales, 36(1): 143-150.

Nasr, F., Pateiro, M., Rabiei, V., Razavi, F., Formaneck, S., Gohari, G. and Lorenzo, J.M. 2021. Chitosan-phenylalanine nanoparticles (Cs-Phe Nps) extend the postharvest life of persimmon (Diospyros kaki) fruits under chilling stress. Coatings, 11(7): 819.

Premachandra, G.S., Saneoka, H., Fujita, K. and Ogata, S. 1993. Seasonal changes in leaf water relations and cell membrane stability in orchardgrass (*Dactylis glomerata*). The Journal of Agricultural Science, 121(2): 169-175.

Radi, A.A., Farghaly, F.A. and Hamada, A.M. 2013. Physiological and biochemical responses of salt-tolerant and salt-sensitive wheat and bean cultivars to salinity. Journal of Biology and Earth Sciences, 3(1): 72-88.

Ray, S.R., Bhuiyan, M.J.H., Anowar, M., Hossain, S.M. and Tahjib-Ul-Arif, M. 2015. Chitosan suppresses antioxidant enzyme activities for mitigating salt stress in mungbean varieties. OSR Journal Agriculture and Veterinary Science, 9(9): 36-41.

Ruan, S.L. and Xue, Q.Z. 2002. Effects of chitosan coating on seed germination and salt-tolerance of seedlings in hybrid rice (*Oryza sativa* L.). Acta Agronomica Sinica, 28(6): 803-808.

Sairam, R.K., Deshmukh, P.S. and Shukla, D.S. 1997. Tolerance of drought and temperature stress in relation to increased antioxidant enzyme activity in wheat. Journal of Agronomy and Crop Science, 178(3), 171-178.

Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A.J.P.S. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. Plant science, 151(1): 59-66.

Zahedi, S.M., Hosseini, M.S., Abadía, J. and Marjani, M. 2020. Melatonin foliar sprays elicit salinity stress tolerance and enhance fruit yield and quality in strawberry (*Fragaria× ananassa* Duch.). Plant Physiology and Biochemistry, 149: 313-323.

Zahedi, S.M., Hosseini, M.S., Fahadi Hoveizeh, N., Gholami, R., Abdelrahman, M. and Tran, L.S.P. 2021. Exogenous melatonin mitigates salinity-induced damage in olive seedlings by modulating ion homeostasis, antioxidant defense, and phytohormone balance. Physiologia Plantarum, 173(4): 1682-1694.

Zhang, L., Ma, H., Chen, T., Pen, J., Yu, S. and Zhao, X. 2014. Morphological and physiological responses of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plants to salinity. PLoS One, 9(11): e112807.