Research Article

Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research
Vol. 40, No. 1, Page 155-173 (2024)

DOI:10.22092/ijmapr.2023.362048.3310

Evaluation of the effect of foliar application of brassinosteroid and melatonin on some physiological, grain yield and cumin (*Cuminum cyminum* L.) essential oil under drought stress conditions

Mohammah Hadi Shojaei Baghini[1*] and Mahdi Naghizadeh[2]

1*- Corresponding author, Islamic Azad University, Jiroft branch, Kerman, Iran, E-mail: m.hadi.shojaei60@gmail.com
2- Department of Plant productions, Agricultural Faculty of Bardsir, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

Received: April 2023 Revised: August 2023 Accepted: October 2023

Abstract

Background and objectives: Cumin (*Cuminum cyminum* L.) is one of the oldest aromatic plants in the world, known medicinally as the second domesticated medicinal plant in Iran. Drought stress, as oxidative stress, affects plant biochemical, physiological, and morphological responses. One of the ways to increase plants' resistance to environmental stress is to use plant growth regulators such as brassinosteroids and melatonin. These hormones increase plant performance in both stress and non-stress conditions. Plant growth regulators, by affecting plant metabolites, stimulating phytohormone biosynthesis, enhancing nutrient absorption, improving defense mechanisms, stimulating root growth, and improving gas exchange, contribute to plants' quantitative and qualitative performance in stress and non-stress conditions. Although some research shows that the use of plant growth regulators such as brassinosteroid and melatonin, which are of natural origin and compatible with the environment, has a significant effect on reducing adverse effects caused by environmental stresses; however, the combined use of these plant hormones is less reported. Therefore, in this research, the influence of the foliar application of brassinosteroid and melatonin on some physiological traits, including amount of malondialdehyde, hydrogen peroxide, electrolyte leakage, activity of antioxidant enzymes, accumulation of carbohydrates and proline, malondialdehyde, hydrogen peroxide as well as quantitative and qualitative yield of cumin was examined under water deficit conditions.

Methodology: This research was conducted in the research greenhouse of the Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran. A factorial experiment in a randomized complete block design with six replications was carried out in 2022. The experimental treatments included different levels of drought stress (100 % and 50 % field capacity; F.C.), melatonin (0 and 100 µM), and brassinosteroid (0 and 0.75 µM).

Results: The results showed that water deficit increased the amount of malondialdehyde, hydrogen peroxide, electrolyte leakage, activity of antioxidant enzymes (peroxidase (POD), catalase (CAT), and ascorbate peroxidase (APX) and superoxide dismutase (SOD)), as well as raised the accumulation of carbohydrates and proline in cumin plants. Indeed, brassinosteroids and melatonin

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijmapr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

significantly increased antioxidant enzyme activities and the concentrations of osmolytes. It also decreased the levels of malondialdehyde, hydrogen peroxide as well and electrolyte leakage in drought-stressed plants. Drought stress resulted in reduced cumin grain yield. In contrast, under these conditions, the percentage of cumin seed essential oil was increased. Foliar application of brassinosteroid and melatonin in stress and non-stress conditions improved cumin yield.
Conclusion: Overall, it was concluded that the use of brassinosteroid and melatonin increased the resistance of cumin plants against drought stress by increasing the activity of antioxidant enzymes, increasing the accumulation of compatible osmolytes such as proline and carbohydrate, and maintaining the stability of the membrane and ultimately enhancing the yield of cumin seeds. The application of melatonin and brassinosteroid also affected the quality of the product and increased the percentage of cumin essential oil; however, the positive effects of brassinosteroid and melatonin were greater than those of brassinosteroid or melatonin applied separately.

Keywords: *Cuminum cyminum* L., osmolytes, brassinosteroid, essential oil percentage, melatonin, medicinal plant.

ارزیابی تأثیر محلول‌پاشی براسینواستروئید و ملاتونین بر برخی پارامترهای فیزیولوژیک، عملکرد دانه و درصد اسانس زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) در شرایط تنش خشکی

محمدهادی شجاعی باغینی[1*] و مهدی نقی‌زاده[2]

۱*- نویسنده مسئول، کارشناس ارشد مهندسی کشاورزی، زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت، کرمان، ایران

پست الکترونیک: m.h.shojaei.m@gmail.com

۲- استادیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

تاریخ دریافت: فروردین ۱۴۰۲ تاریخ اصلاح نهایی: مرداد ۱۴۰۲ تاریخ پذیرش: مهر ۱۴۰۲

چکیده

سابقه و هدف: زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) یکی از قدیمی‌ترین گیاهان معطر و ادویه‌ای جهان است که از نظر دارویی به‌عنوان دومین گیاه دارویی اهلی در ایران شناخته شده است. تنش خشکی به‌عنوان یک تنش اکسیداتیو بر پاسخ‌های بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاه تأثیرگذار است. یکی از راهکارهای افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های غیرزیستی ازجمله خشکی، استفاده از براسینواستروئید و ملاتونین است که با دامنه گسترده‌ای از فعالیت‌ها در گیاه، دارای تأثیرات بیولوژیکی منحصربه‌فردی در رشد و نمو گیاه می‌باشد و عملکرد گیاه را از راه تغییرات متابولیسمی آن و حفاظت گیاه در برابر تنش‌های محیطی، افزایش می‌دهد. هورمون‌های رشد گیاهی، با تأثیر بر متابولیت‌های گیاه، تحریک بیوسنتز فیتوهورمون‌ها، افزایش میزان جذب عناصر غذایی، بهبود سازوکارهای دفاعی، تحریک رشد ریشه و بهبود تبادلات گازی موجب بهبود عملکرد کمّی و کیفی گیاه در شرایط تنش و غیر تنش می‌گردند. اگرچه نتایج برخی تحقیق‌ها بیان‌کننده آنست که استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی براسینواستروئید و ملاتونین که منشأ طبیعی دارند و نیز سازگار با محیط‌زیست هستند، تأثیر بسزایی در کاهش اثرهای سوء ناشی از تنش‌های محیطی دارند، اما استفاده ترکیبی از این هورمون‌های گیاهی و نیز کاربرد این هورمون‌ها در زیره سبز، کمتر گزارش شده است. بنابراین، این پژوهش با هدف ارزیابی تأثیر محلول‌پاشی براسینواستروئید و ملاتونین بر عملکرد کمّی و کیفی زیره سبز در شرایط تنش خشکی اجرا شد.

مواد و روش‌ها: این پژوهش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با شش تکرار در سال ۱۴۰۱ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل سطوح مختلف تنش خشکی (۱۰۰٪ و ۵۰٪ ظرفیت زراعی مزرعه)، ملاتونین (صفر و ۱۰۰ میکرومولار) و براسینواستروئید (۰ و ۰/۷۵ میکرومولار) بودند.

نتایج: نتایج نشان داد در رویارویی با تنش خشکی میزان مالون‌دی‌آلدئید، پراکسیدهیدروژن، نشت‌یونی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (پراکسیداز (POD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات‌پراکسیداز (APX) و سوپراکسیددیسموتاز (SOD))، غلظت کربوهیدرات‌ها و پرولین در گیاه زیره سبز افزایش یافت. همچنین محلول‌پاشی براسینواستروئید و ملاتونین به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تجمع اسمولیت‌ها را افزایش و سطح مالون‌دی‌آلدئید، پراکسیدهیدروژن و نشت یونی گیاهان رشد کرده در شرایط تنش را کاهش داد. تنش خشکی موجب کاهش عملکرد دانه زیره سبز شد و در مقابل، تحت این شرایط درصد اسانس بذر زیره افزایش یافت. کاربرد براسینواستروئید و ملاتونین در هر دو شرایط تنش و عدم تنش، موجب افزایش عملکرد کمّی و کیفی زیره سبز شد.

نتیجه‌گیری: درمجموع می‌توان بیان کرد که کاربرد براسینواستروئید و ملاتونین، مقاومت زیره سبز در برابر تنش خشکی را از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، افزایش تجمع اسمولیت‌های سازگار پرولین و کربوهیدرات‌ها و نیز حفظ پایداری غشاء افزایش داد و

درنهایت افزایش عملکرد دانه را به‌همراه داشت. استفاده از ملاتونین و براسینواستروئید کیفیت محصول تولیدی را نیز تحت تأثیر قرار داد و موجب افزایش درصد اسانس گردید. قابل توجه است که تأثیر مثبت استفاده توأم از ملاتونین و براسینواستروئید بر روی کمّیت و کیفیت محصول تولیدی زیره سبز در مقایسه با کاربرد هر یک از این هورمون‌های گیاهی به‌تنهایی، بسیار قابل‌ملاحظه‌تر و مشهودتر بود. در مجموع، با توجه به سازگار با محیط زیست بودن براسینواستروئید و ملاتونین و تأثیر مثبت کاربرد آنها بر بهبود کمّیت و کیفیت محصول تولیدی، کاربرد براسینواستروئید و ملاتونین می‌تواند راهکاری مناسب برای افزایش عملکرد کمّی و کیفی گیاه دارویی و اقتصادی ارزشمند زیره سبز در شرایط معمول و تنش خشکی باشد.

واژه‌های کلیدی: *Cuminum cyminum* L.، اسمولیت‌ها، براسینواستروئید، درصد اسانس، ملاتونین، گیاه دارویی.

مقدمه

کشور ایران از نظر تعداد و تنوع گیاهان دارویی، ازجمله غنی‌ترین مناطق دنیا می‌باشد. در این میان، زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.)، یکی از قدیمی‌ترین و مشهورترین گیاهان معطر و ادویه‌ای جهان است که از نظر دارویی به‌عنوان دومین گیاه دارویی اهلی در ایران شناخته شده است (Safari *et al.*, 2017؛ Ghanbari *et al.*, 2017؛ Kafi *et al.*, 2002). این گیاه در مناطق مدیترانه‌ای، جنوب غرب و مرکز آسیا می‌روید و احتمال دارد از مصر منشأ گرفته باشد ولی در سایر مناطق نیز به‌صورت نیمه خودرو و کاشته شده وجود دارد (Bettaieb *et al.*, 2012). این گیاه دارویی ارزشمند و اقتصادی در استان‌های کرمان، اصفهان، یزد، خراسان، آذربایجان شرقی، سمنان، گلستان و فارس کشت می‌شود (Safari *et al.*, 2017). زیره سبز از خانواده چتریان و به‌صورت علفی یک‌ساله است (Bettaieb *et al.*, 2012). زیره سبز به دلیل داشتن رایحه خاص، خواص دارویی- درمانی و خوراکی، دارای ارزش اقتصادی زیادی می‌باشد. از دانه‌های این گیاه در غذا برای ایجاد طعم و بوی شاخص استفاده می‌شود (Ghorbani *et al.*, 2009). زیره سبز در طب ایرانی- سنتی به‌عنوان ضد تشنج، ضد صرع، ضد نفخ و سوء هاضمه، تقویت‌کننده معده، زیاد کننده شیر، ادرارآور و کنترل کننده دیابت شناخته شده است. همچنین علاوه بر مصارف دارویی و غذایی، در صنایع بهداشتی و آرایشی نیز کاربرد دارد (Kafi *et al.*, 2002). قابل توجه است که از نظر اقتصادی و ارزآوری، پس از زعفران، زیره‌سبز دومین گیاه صادراتی می‌باشد و هر روز بر جایگاه و اهمیت آن افزوده می‌شود (Ghorbani *et al.*, 2010).

تنش خشکی ازجمله مهمترین تنش‌های غیر زیستی محدودکننده رشد و نمو گیاهان در سراسر جهان است که تولید محصولات را با محدودیت روبرو کرده و یکی از عمده‌ترین دلایل کاهش عملکرد گیاهان، به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک می‌باشد (Oguz *et al.*, 2022). خشکی به‌عنوان یک تنش اکسیداتیو بر پاسخ‌های بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاه تأثیرگذار است (Billah *et al.*, 2021). مقاومت گیاه به خشکی به تلفیقی از صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک وابسته است که با میزان نسبی آب برگ، میزان نسبی آب از دست رفته، تجمع پرولین و آبسیزیک اسید، کلروفیل فلورسنس، تنظیم اسمزی، اندازه ریشه، تبادلات گازی و غیره در گیاه در ارتباط می‌باشد (Haddad *et al.*, 2022؛ Hossain *et al.*, 2021؛ Pamungkas *et al.*, 2022). صفات فیزیولوژیک اهمیت زیادی در سازگاری گیاه به تنش‌های محیطی ازجمله تنش خشکی دارند، بنابراین ارزیابی شاخص‌های فیزیولوژیک می‌تواند یکی از جنبه‌های مهم مطالعات رشد گیاه در شرایط تنش باشد (Sarshad *et al.*,

2021؛ Ballesta *et al.*, 2020). اگرچه افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی ازجمله تنش خشکی، از راه به‌نژادی عملی است، اما این روش بیشتر بلندمدت و هزینه‌بر می‌باشد (Haddad *et al.*, 2022). یکی از راهکارهای دیگر افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های غیر زیستی، استفاده از هورمون‌های رشد گیاهی و محرک‌های زیستی ازجمله براسینواستروئید و ملاتونین است که در مقایسه با روش‌های به‌نژادی، آسان‌تر و با هزینه کمتر می‌باشد (Barand *et al.*, 2020).

هورمون‌های رشد گیاهی، با تأثیر بر متابولیت‌های گیاه، تحریک بیوسنتز فیتوهورمون‌ها، افزایش میزان جذب عناصر غذایی، بهبود سازوکارهای دفاعی، تحریک رشد ریشه و بهبود تبادلات گازی موجب بهبود عملکرد کمّی و کیفی گیاه در شرایط تنش و غیر تنش می‌گردند (Bano-Otalora *et al.*, 2020؛ Barand *et al.*, 2020؛ Khajeh *et al.*, 2008). ملاتونین به‌عنوان یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی، یک ترکیب ایندولی است که مقدار آن در گونه‌های مختلف گیاهی و حتی در رقم‌های مربوط به یک گونه متفاوت است (Wang *et al.*, 2013؛ Turk *et al.*, 2014). کاربرد ملاتونین به صورت برون‌زا، افزایش زیست‌پذیری و بقای گیاه را در برابر عوامل تنش‌زا به‌همراه دارد (Oloumi *et al.*, 2018؛ Pourhanifeh *et al.*, 2019). در شرایط تنش، ملاتونین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان نقش ایفاء می‌کند و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی را در برابر شرایط تنش‌زای محیطی به راه می‌اندازد که به دنبال آن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد و به‌عنوان نخستین خط دفاعی گیاه در برابر تنش اکسیداتیو محسوب می‌شود (Zhang *et al.*, 2013؛ Zare *et al.*, 2019؛ Naghizadeh *et al.*, 2019). علاوه بر این، ملاتونین پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و نشت یونی را کاهش و در مقابل، تجمع اسمولیت‌ها را در سلول افزایش می‌دهد (Heshmati *et al.*, 2019؛ Li *et al.*, 2019؛ Bano-Otalora *et al.*, 2020؛ Barand *et al.*, 2020؛ Kabiri *et al.*, 2018). ملاتونین همچنین تأثیر قابل توجه‌ای بر فرایندهای جوانه‌زنی، رشد و نمو، افزایش زیست توده، ممانعت از بیوسنتز آنزیم‌های تجزیه کننده کلروفیل، به تعویق انداختن پیری برگ و افزایش فتوسنتز و کربوکسیلاسیون، افزایش میزان کلروفیل و کاروتنوئیدها و در نهایت بهبود کمّیت و کیفیت محصول تولیدی دارد (Arnao & Hernandez-Ruiz, 2018؛ Bajwa *et al.*, 2014؛ Arnao Hernandez-Ruiz, 2014). براسینواستروئید به‌عنوان استروئید طبیعی با دامنه گسترده‌ای از فعالیت‌ها در گیاه، دارای تأثیرات بیولوژیکی منحصر به فردی در رشد و نمو گیاه می‌باشد و عملکرد گیاه را از راه تغییرات متابولیسمی آن و حفاظت گیاه در برابر تنش‌های محیطی افزایش می‌دهد (Nolan *et al.*, 2019؛ Durigan Dalio *et al.*, 2013؛ Bajgaz & Hayat, 2009). این هورمون در سطح مولکولی با تغییر بیان ژن؛ متابولیسم، بیوسنتز اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها را تحت تأثیر قرار داده و با افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی منجر به بهبود عملکرد کمّی و کیفی محصول می‌شود (Sanjari *et al.*, 2019؛ Kaya *et al.*, 2020). بنابراین کاربرد براسینواستروئید می‌تواند مزایای اقتصادی بالقوه‌ای در تولید محصولات به‌همراه داشته باشد (Kaya *et al.*, 2020؛ Sanjari *et al.*, 2019؛ Nolan *et al.*, 2019). اگرچه نتایج برخی تحقیق‌ها بیان کننده آن است که استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی براسینواستروئید و ملاتونین که منشأ طبیعی دارند و نیز سازگار با محیط زیست هستند، تأثیر بسزایی در کاهش اثرهای سوء ناشی از تنش‌های محیطی دارند (Barand *et al.*, 2020؛ Kaya *et al.*, 2020)؛ اما استفاده ترکیبی از این هورمون‌های گیاهی و نیز کاربرد این هورمون‌ها در زیره سبز کمتر گزارش شده؛ بنابراین به دلیل اهمیت گیاه ارزشمند زیره سبز از لحاظ دارویی، ادویه‌ای و اقتصادی، این پژوهش با هدف ارزیابی تأثیر محلول‌پاشی براسینواستروئید و ملاتونین بر عملکرد کمّی و کیفی این گیاه در شرایط تنش خشکی اجرا شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی ملاتونین و براسینواستروئید بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی، عملکرد دانه و درصد اسانس زیره سبز رشد کرده در شرایط تنش خشکی، آزمایشی گلخانه‌ای به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با شش تکرار، در سال ۱۴۰۱ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان اجرا شد (با توجه به وجود ناهمگنی جزئی دمایی در گلخانه این پژوهش، از طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی استفاده شد). گلخانه دارای دمای ۲۸–۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۷۰–۶۰٪ و دوره نوری ۱۶ ساعت بود. تیمارهای آزمایشی شامل سطوح مختلف تنش خشکی (۱۰۰٪ و ۵۰٪ ظرفیت زراعی مزرعه)، ملاتونین (۰ و ۱۰۰ µM) و براسینواستروئید (۰ و ۰/۷۵ µM) بودند. به‌منظور کاهش اثر ترکیبات فنلی بذر و در مقابل افزایش درصد جوانه‌زنی، بذرهای یک‌شکل و سالم زیره سبز گونه محلی ماهان کرمان، به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر خیسانده شد و بعد با اتانول ۷۵٪ ضدعفونی و با آب مقطر شسته شدند.

در گلدان‌های پنج کیلوگرمی مخلوط خاک و خاک‌برگ به نسبت ۱:۴ اضافه و بذرهای خیس شده زیره سبز، کشت شدند. به‌منظور سهولت زهکشی، کفِ گلدان‌ها سوراخ و کمی سنگ‌ریزه ریخته شد. از ابتدای کاشت تا انتهای آزمایش، گلدان‌های مربوط به تیمار شاهد (آبیاری کامل) تا حد ظرفیت زراعی (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی مزرعه) آبیاری شدند. در تیمار تنش خشکی (۵۰ ٪ ظرفیت زراعی مزرعه) تا ۳۰ روز بعد از استقرار گیاه، آبیاری در حد ظرفیت زراعی مزرعه انجام شد و بعد از آن، به‌منظور اعمال تنش خشکی، آبیاری در حد ۵۰٪ ظرفیت زراعی تنظیم گردید.

میزان آب آبیاری براساس تعیین درصد رطوبت وزنی مشخص شد. بدین جهت، ابتدا مقدار آب در خاک خشک نسبت به ظرفیت مزرعه مشخص گردید. به این ترتیب برای محاسبه ظرفیت زراعی خاک، در داخل یک گلدان که در انتهای آن سوراخ‌هایی برای خروج آب اضافی ایجاد شده بود، میزان مشخصی خاک ریخته شد و با اضافه کردن آب به حد اشباع رسانده شد و پس از آن هر ۲۴ ساعت یک‌بار وزن این خاک یادداشت شد. تا وقتی که در دو بازه زمانی تغییری در وزن خاک اشباع با آب مشاهده نشد، این وزن به‌عنوان وزن خاک در حالت ظرفیت زراعی یادداشت شد. سپس خاک مورد نظر در آون و در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و بعد از ۴۸ ساعت وزن آن به‌عنوان وزن خاک خشک، اندازه‌گیری و یادداشت شد. پس از آن، با استفاده از رابطه زیر درصد ظرفیت زراعی خاک محاسبه شد. برای ایجاد درصدهای مختلف از ظرفیت زراعی مزرعه و اعمال تنش خشکی، از توزین مداوم گلدان‌ها و محاسبه مقدار آب مورد نیاز تا سطح تیمار مربوط استفاده گردید.

$$\text{ظرفیت درصد زراعی خاک} = \frac{\text{وزن خاک خشک} - \text{وزن خاک در حالت ظرفیت زراعی}}{\text{وزن خاک خشک}} \times 100$$

۴۰ روز بعد از استقرار گیاه، بوته‌های زیره با غلظت‌های نام برده در بالا با ملاتونین و براسینواستروئید محلول‌پاشی شدند. گیاهان شاهد نیز به‌طور همزمان با آب مقطر محلول‌پاشی شدند. به‌منظور اطمینان از جذب ملاتونین و براسینواستروئید توسط برگ، محلول‌پاشی در سه روز به‌صورت پی‌درپی تکرار شد. با هدف سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، غلظت مالون‌دی‌آلدئید اندازه‌گیری گردید. به این منظور ۰/۲ گرم بافت گیاهی با پنج

میلی‌لیتر اسیدتری‌کلرواستیک سائیده و عصاره حاصل به‌مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ (۱۰۰۰۰ دور) شد. به یک میلی‌لیتر از محلول حاصل از سانتریفیوژ، چهار میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (دارای ۰/۵٪ اسیدتیوباربیتوریک) افزوده شد. مخلوط حاصل در حمام آبگرم (۲۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۳۰ دقیقه حرارت دید و بعد از خنک شدن، به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (۱۰۰۰۰ دور) شد. شدت جذب این محلول در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر به‌وسیله اسپکتروفتومتر مدل Cary50 Varian، خوانده شد. همچنین جذب رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر خوانده و از آن کسر شد. سپس نتایج برحسب نانومول بر گرم وزن تر محاسبه شد (Bates *et al.*, 1973).

برای اندازه‌گیری میزان پراکسیدهیدروژن، بافت گیاه در نیتروژن مایع با اسید تری‌کلرواستیک ۰/۱٪ سائیده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال‌دار در ۱۰۰۰۰ دور قرار گرفت. سپس به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی، ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار و نیز یک میلی‌لیتر یدید پتاسیم یک مولار افزوده و جذب در طول‌موج ۳۹۰ نانومتر قرائت شد. مقدار پراکسیدهیدروژن با استفاده از ضریب خاموشی ۰/۲۸ مولار در سانتی‌متر محاسبه و برحسب میکرومول بر گرم وزن تر گزارش گردید. برای اندازه‌گیری نشت یونی (EL) برگ‌ها (Sullivan & Ross, 1979)، بعد از شستن نمونه‌ها با آب مقطر، ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آنها اضافه شد و در شرایط دمایی ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، بر روی شیکر دورانی قرار گرفتند. سپس هدایت الکتریکی محلول (C_1) اندازه‌گیری شد. در ادامه نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو (۱۲۰ درجه سانتی‌گراد) گذاشته شدند و هدایت الکتریکی آنها (C_2) دوباره اندازه‌گیری گردید. درنهایت براساس رابطه زیر، درصد EL محاسبه شد.

$$EL = (C_1/C_2) \times 100$$

به‌منظور ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز (POD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات‌پراکسیداز (APX) و سوپراکسیددیسموتاز (SOD) بررسی گردید. فعالیت آنزیم‌های POD برحسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل موجود در ۲۰ میکرولیتر عصاره در طول موج ۴۷۰ نانومتر (Dhindsa *et al.*, 1981)، CAT برحسب مقدار پروتئین کل موجود در ۱۰۰ میکرولیتر عصاره در یک دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر (Dhindsa & Matowe, 1981)، APX برحسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل موجود در ۵۰ میکرولیتر عصاره در طول موج ۲۹۰ نانومتر (Nakano & Asada, 1987) و SOD در طول موج ۵۶۰ نانومتر برحسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین در ۵۰ میکرولیتر عصاره اندازه‌گیری و محاسبه شد (Dhindsa *et al.*, 1981).

به‌منظور سنجش وضعیت اسمولیت‌ها در گیاه، غلظت کربوهیدرات‌ها، پرولین و پروتئین اندازه‌گیری شد. برای سنجش میزان کربوهیدرات‌ها (Zhang *et al.*, 2006)، ۰/۲ گرم بافت تر گیاهی در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سائیده و بعد از حرارت دیدن، با کاغذ واتمن صاف شد. به ۲ میلی‌لیتر از عصاره حاصل، ۲ میلی‌لیتر محلول سولفات مس افزوده شد و برای ۲۰ دقیقه در حمام گرم گذاشته شد. پس از سرد شدن، ۲ میلی‌لیتر فسفومولیبدیک اسید به آن اضافه گردید. شدت جذب محلول در طول‌موج ۶۰۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر- مدل Cary50 Varian تعیین و با استفاده از منحنی استاندارد غلظت قندهای احیاءکننده محاسبه برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد. به‌منظور اندازه‌گیری میزان پرولین، ۰/۲ گرم بافت فریز شده گیاهی در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳٪ سولفوسالیسیلیک اسید سائیده شد. عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. به ۲ میلی‌لیتر از مایع رویی سانتریفیوژ شده، ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید اضافه شد. مخلوط در حمام آبگرم قرار گرفت و بعد از خنک

شدن، ۴ میلی‌لیتر تولوئن به آن اضافه شد. با ثابت نگه‌داشتن مخلوط، دو لایه مجزا تشکیل گردید که لایه رنگی فوقانی حاوی پرولین بود و میزان جذب در ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. برای محاسبه مقدار پرولین از منحنی استاندارد پرولین استفاده و نتایج برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید (Bates *et al*., 1973).

برای سنجش میزان پروتئین، یک گرم بافت تر در ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (حاوی اتیلن دی آمین اسید تترا استیک، فنیل متان سولفونیل فلورید و پلی‌وینیل پیرولیدون) سائیده شد. عصاره حاصل به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. از محلول رویی برای سنجش پروتئین و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد. میزان جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر با اسپکتروفتومتر قرائت شد. غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (Bradford, 1976).

اسانس زیره سبز با استفاده از دستگاه کلونجر مدل G-GJ از ۳۰ گرم دانه به روش تقطیر با بخار آب استخراج و اندازه‌گیری شد (Kafi & Keshmiri, 2011).

در نهایت تجزیه واریانس داده‌ها با نرم‌افزار آماری SAS VER 9.2 نسخه ۱۹، انجام و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام گردید.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس اثر براسینواستروئید و ملاتونین بر عملکرد دانه، درصد اسانس و برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی زیره سبز در شرایط تنش خشکی در جدول ۱ ارائه شده است. همانگونه که مشخص است کاربرد براسینواستروئید و ملاتونین و نیز اعمال تنش خشکی به‌طور معنی‌داری تمام پارامترهای اندازه‌گیری شده (بجز پروتئین) را تحت تأثیر قرار داد.

عملکرد دانه و درصد اسانس

نتایج این پژوهش نشان داد اعمال تنش خشکی ۵۰٪ حد ظرفیت زراعی مزرعه موجب کاهش ۱۹/۹ درصدی عملکرد دانه زیره سبز گردید. شایان توجه است که محلول‌پاشی هورمون‌های گیاهی براسینواستروئید و ملاتونین (به‌صورت جداگانه و یا ترکیبی) در شرایط تنش و عدم تنش خشکی به‌طور معنی‌داری میزان عملکرد دانه زیره سبز را تحت تأثیر مثبت قرار داد، البته در هر دو شرایط تنش و عدم تنش تأثیر کاربرد توأم براسینواستروئید و ملاتونین بیشتر از جداگانه آنها بود (جدول ۲). در شرایط عدم تنش (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی مزرعه)، محلول‌پاشی ۱۰۰ میکرو مولار ملاتونین و ۰/۷۵ میکرو مولار براسینواستروئید بدون اختلاف آماری معنی‌داری به‌طور میانگین موجب افزایش ۷/۲ درصدی عملکرد دانه و محلول‌پاشی توأم آنها نیز موجب افزایش ۹/۶ درصدی آن در مقایسه با شاهد گردید (جدول ۲). در شرایط تنش خشکی نیز گیاهان تیمار شده با براسینواستروئید، ملاتونین و کاربرد توأم آنها به‌ترتیب ۱۱/۸، ۹/۲ و ۱۴/۲ درصد عملکرد دانه بیشتری در مقایسه با گیاهان تیمار نشده در شرایط تنش داشتند (جدول ۲). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تنش خشکی ۵۰٪ حد ظرفیت زراعی مزرعه، افزایش ۳۶ درصدی میزان اسانس زیره سبز را به‌همراه داشت. البته درصد اسانس این گیاه در شرایط تنش و عدم تنش خشکی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر کاربرد هورمون‌های رشد گیاهی قرار گرفت (جدول ۲). به‌طوری که در شرایط نرمال (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی مزرعه)، محلول‌پاشی ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین، ۰/۷۵ میکرومولار براسینواستروئید و محلول‌پاشی ملاتونین + براسینواستروئید به‌ترتیب موجب ۱۰، ۱۲ و ۱۷ درصد افزایش در میزان اسانس زیره سبز گردید (جدول ۲). در شرایط تنش خشکی نیز محلول‌پاشی جداگانه ملاتونین و براسینواستروئید و نیز محلول‌پاشی توأم آنها به‌ترتیب افزایش ۴۰، ۴۰ و ۴۹ درصدی میزان اسانس زیره سبز را موجب گردید. همان‌گونه که مشخص است بیشترین تأثیر محلول‌پاشی هورمون‌های مورد بررسی از کاربرد توأم آنها حاصل شد (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر براسینواستروئید و ملاتونین بر عملکرد دانه، درصد اسانس و برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی زیره سبز تحت شرایط تنش خشکی

Table 1. ANOVA of brassinosteroid and melatonin effects on grain yield, essential oil percentage, and some physiological and biochemical parameters of cumin under drought stress conditions

S.O.V.	d.f.	M.S.											
		Grain yield	Essential oil percentage	Malondialdehyde	Hydrogen peroxide	Electerolyte leakage	POD	CAT	APX	SOD	Carbohydrates	Proline	Protein
Replication	5	245.6^{ns}	10.0^{ns}	7.6^{ns}	52.6^{ns}	95.3^{ns}	116.3^{ns}	15.3^{ns}	10.0^{ns}	25.3^{ns}	78.3^{ns}	11.1^{ns}	10.2^{ns}
Melatonin (M)	1	635.1**	26.3*	18.3*	87.0*	178.6**	256.3**	21.3*	19.3*	40.8*	115.8*	17.2*	17.3^{ns}
Brassinosteroid (B)	1	632.2**	31.5*	21.8*	82.5*	123.2*	200.1*	24.3*	18.0*	42.8*	115.6*	26.3**	16.3^{ns}
Drought stress (D)	1	666.8**	52.0**	37.2**	110.9**	163.2**	203.1*	31.5**	27.5**	56.3**	118.0*	28.3**	19.3^{ns}
M*B	1	421.2*	26.3**	35.2**	83.9*	132.0*	281.3**	24.6*	17.3*	44.1*	141.3**	20.3*	15.5^{ns}
M*D	1	487.5*	24.3*	20.6*	101.9**	167.2**	278.2**	22.4*	33.0**	39.9*	112.5*	18.1*	18.0^{ns}
B*D	1	544.3**	42.3**	21.5*	102.2**	154.6**	200.6*	24.3*	31.4**	42.2*	125.6**	19.2*	17.3^{ns}
M*B*D	1	658.2**	32.5**	20.0*	87.3*	125.3*	282.2**	23.6*	28.3**	41.0*	136.1**	25.3**	19.2^{ns}
Experimental erorr	35	361.1	10.5	12.6	65.2	110.3	182.3	18.6	12.4	34.1	98.2	11.3	18.2
C.V. (%)		0.10	0.96	0.32	0.97	2.14	1.98	1.76	2.32	2.41	3.12	1.74	1.68

n.s., *, and **: non-significant, significant at 1%, and 5% probability levels, respectively
POD = peroxidase; CAT = catalase; APX = ascorbate peroxidase; SOD = superoxide dismutase

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر براسینواستروئید و ملاتونین بر درصد اسانس و عملکرد دانه زیره سبز تحت شرایط تنش و عدم تنش خشکی

Table 2. Means comparison of brassinosteroid and melatonin effects on essential oil percentage and grain yield of cumin under drought stress and non-stress conditions

Irrigation level (F.C.)	Brassinosteroid (μM)	Melatonin (μM)	Grain yield (kg.ha^{-1})	Essential oil (%)
100%	0	0	524.4^{c}	1.1^{f}
		100	564.7^{b}	1.2^{e}
	0.75	0	565.8^{b}	1.2^{e}
		100	580.2^{a}	1.3^{d}
50%	0	0	420.0^{g}	1.7^{c}
		100	476.6^{e}	1.8^{b}
	0.75	0	462.7^{ef}	1.8^{b}
		100	490.0^{d}	2.2^{a}

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

میزان مالون‌دی‌آلدئید، پراکسیدهیدروژن و نشت یونی

نتایج اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان دو شاخص مهم برای ارزیابی پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء نشان داد اگرچه اعمال تنش خشکی (۵۰٪ حد ظرفیت زراعی مزرعه) افزایش پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدئید را در گیاه زیره به همراه داشت، اما در مقابل، کاربرد هورمون‌های رشد گیاهی براسینواستروئید و ملاتونین به‌صورت جداگانه و ترکیبی موجب کاهش غلظت پراکسیدهیدروژن و مالون‌دی‌آلدئید شد. استفاده ترکیبی ملاتونین و براسینواستروئید در کاهش میزان پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدئید، اثر هم‌افزایی داشت. به‌طوری که محلول‌پاشی ملاتونین، براسینواستروئید و ملاتونین+ براسینواستروئید به‌ترتیب موجب ۱۸/۹، ۲۳ و ۳۲/۳ درصد کاهش در میزان مالون‌دی‌آلدئید و نیز ۱۰/۶، ۱۱/۳ و ۱۸/۵ درصد کاهش در غلظت پراکسید هیدروژن در شرایط تنش خشکی در گیاه دارویی زیره سبز در مقایسه با شرایط عدم کاربرد این هورمون‌ها گردید (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر براسینواستروئید و ملاتونین بر میزان مالون دی‌آلدئید و پراکسیدهیدروژن و درصد نشت یونی در زیره سبز تحت شرایط تنش و عدم تنش خشکی

Table 3. Means comparison of brassinosteroid and melatonin effects on content of malondialdehyde and hydrogen peroxide and electrolyte leakage percentage of cumin under drought stress and non-stress conditions

Irrigation level (F.C.)	Brassinosteroid (μM)	Melatonin (μM)	Malondialdehyde (nM.g^{-1} FW)	Hydrogen peroxide (μM.g^{-1} FW)	Electrolyte leakage (%)
100%	0	0	3.5^{e}	8.0^{e}	17.1^{e}
		100	3.6^{e}	7.8^{e}	16.5^{e}
	0.75	0	3.3^{e}	7.9^{e}	17.0^{e}
		100	3.0^{e}	8.1^{e}	16.8^{e}
50%	0	0	7.5^{a}	12.4^{a}	32.1^{a}
		100	6.1^{b}	11.1^{b}	26.6^{b}
	0.75	0	5.8^{cd}	11.0^{bc}	28.1^{c}
		100	5.10^{d}	10.12^{d}	24.14^{d}

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

نتایج بدست آمده از اندازه‌گیری نشت یونی حکایت از آن داشت که در شرایط تنش خشکی، میزان نشت یونی زیره سبز در مقایسه با شرایط آبیاری کامل (عدم تنش) به میزان ۴۶/۶٪ افزایش یافت. از سوی دیگر، اگرچه در شرایط عدم تنش خشکی کاربرد هورمون‌های گیاهی تأثیر معنی‌داری بر میزان نشت یونی زیره سبز نداشت، اما محلول‌پاشی ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین، ۰/۷۵ میکرومولار براسینواستروئید و کاربرد توأم این هورمون‌ها نشت یونی زیره سبز را به‌ترتیب ۱۷، ۱۲/۴ و ۲۴/۸ درصد در مقایسه با عدم کاربرد آنها کاهش داد (جدول ۳).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

در شرایط تنش خشکی، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌های پراکسیداز (POD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و سوپراکسیددیسموتاز (SOD) در برگ زیره سبز به‌عنوان سیستم دفاعی این گیاه، در مقایسه با شرایط عدم تنش، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوری که اعمال تنش خشکی، فعالیت این آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را به‌ترتیب ۵۵/۶، ۴۶/۸، ۲۸/۲ و ۲۶/۱ درصد افزایش داد (جدول ۴). محلول‌پاشی هورمون‌های گیاهی براسینواستروئید و ملاتونین (به‌صورت جداگانه و یا ترکیبی) در شرایط تنش و عدم تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر فعالیت این آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی داشت (جدول ۴). در شرایط عدم تنش (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی مزرعه)، محلول‌پاشی ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین موجب افزایش ۸/۱ درصدی فعالیت POD گردید. در شرایط تنش خشکی ، فعالیت آنزیم POD در بوته‌های زیره سبز تیمار شده با هورمون‌های گیاهی مورد آزمایش (به‌صورت جداگانه و یا ترکیبی) در مقایسه با گیاهان بدون تیمار، به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (جدول ۴). اگرچه در شرایط تنش و عدم تنش خشکی، کاربرد جداگانه و یا توأم ملاتونین و براسینواستروئید افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم CAT را به همراه داشت، اما بیشترین تأثیر مثبت، بدون اختلاف آماری معنی‌دار در تیمار براسینواستروئید ۰/۷۵ میکرومولار و نیز تیمار ملاتونین ۱۰۰ میکرومولار + براسینواستروئید ۰/۷۵ میکرومولار مشاهده شد (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر براسینواستروئید و ملاتونین بر فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در زیره سبز تحت شرایط تنش و عدم تنش خشکی

Table 4. Means comparison of brassinosteroid and melatonin effects on some antioxidant enzymes activity of cumin under drought stress and non-stress conditions

Irrigation level (F.C.)	Brassinosteroid (μM)	Melatonin (μM)	POD (U.mg^{-1} protein)	CAT (U.mg^{-1} protein)	APX (U.mg^{-1} protein)	SOD (U.mg^{-1} protein)
100%	0	0	27.1^{e}	4.0^{f}	3.6^{d}	6.5^{f}
		100	29.5^{d}	4.9^{e}	3.5^{d}	7.7^{e}
	0.75	0	27.9^{e}	5.7^{d}	3.7^{d}	7.6^{e}
		100	28.0^{e}	5.6^{d}	3.3^{d}	7.4^{e}
50%	0	0	34.6^{c}	7.5^{c}	5.0^{c}	8.8^{d}
		100	39.1^{b}	8.8^{b}	5.8^{b}	10.1^{c}
	0.75	0	39.5^{b}	10.4^{a}	5.7^{b}	12.5^{ab}
		100	48.3^{a}	10.4^{a}	6.9^{a}	13.1^{a}

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).
POD = peroxidase; CAT = catalase; APX = ascorbate peroxidase; SOD = superoxide dismutase

اگرچه در شرایط آبیاری (عدم تنش خشکی)، محلول‌پاشی ملاتونین و براسینواستروئید تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم APX نداشت، اما در شرایط تنش خشکی، کاربرد این هورمون‌های گیاهی افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم APX را به همراه داشت. به‌طوری که تیمارهای ملاتونین، براسینواستروئید و ملاتونین+ براسینواستروئید به‌ترتیب موجب ۱۳/۴، ۱۲ و ۲۷/۲ درصد افزایش در فعالیت این آنزیم در مقایسه با عدم کاربرد هورمون‌های گیاهی شد (جدول ۴). محلول‌پاشی هورمون‌های رشد گیاهی مورد بررسی در شرایط تنش و عدم تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم SOD داشت و این تأثیر در شرایط تنش خشکی و کاربرد توأم ملاتونین و براسینواستروئید بیشتر بود (جدول ۴).

غلظت کربوهیدرات‌ها، پرولین و پروتئین به‌عنوان اسمولیت‌های سازگار

نتایج بدست‌آمده از این پژوهش بیانگر آن بود که اگرچه کاربرد جداگانه هورمون‌های رشد گیاهی براسینواستروئید و ملاتونین در شرایط عدم تنش خشکی (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی مزرعه)، هیچ‌گونه تأثیر معنی‌داری بر مقدار کربوهیدرات‌های برگ زیره سبز نداشت، اما محلول‌پاشی توأم این هورمون‌های گیاهی، به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای این پارامتر را تحت تأثیر مثبت قرار داد. شایان توجه است که در شرایط تنش خشکی، مقدار کربوهیدرات‌های برگ زیره سبز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در این شرایط، گیاهان زیره سبز تیمار شده با هورمون‌های رشد گیاهی مورد پژوهش، در مقایسه با گیاهان بدون تیمار، دارای میزان کربوهیدرات بیشتری بودند و تأثیر محلول‌پاشی توأم براسینواستروئید و ملاتونین بیشتر از کاربرد جداگانه آنها بود (جدول ۵). تنش خشکی موجب افزایش ۲۷/۵ درصدی مقدار پرولین در برگ زیره سبز شد. در شرایط عدم تنش خشکی، گیاهان زیره سبز تیمار شده با براسینواستروئید ۰/۷۵ میکرومولار+ ملاتونین ۱۰۰ میکرومولار در مقایسه با گیاهان شاهد، به‌طور معنی‌داری میزان پرولین بیشتری داشتند. در شرایط تنش خشکی، کاربرد جداگانه و یا توأم براسینواستروئید و ملاتونین موجب افزایش معنی‌دار این پارامتر گردید. اگرچه تأثیر کاربرد توأم این هورمون‌های گیاهی بیشتر از استفاده جداگانه آنها بود (جدول ۵). شایان توجه است که نتایج بدست‌آمده از این پژوهش حکایت از آن داشت که میزان پروتئین گیاه زیره سبز تحت تأثیر تنش خشکی و نیز محلول‌پاشی هورمون‌های رشد گیاهی قرار نگرفت (جدول ۵).

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر براسینواستروئید و ملاتونین بر میزان کربوهیدرات‌ها، پرولین و پروتئین برگ زیره سبز تحت شرایط تنش و عدم تنش خشکی

Table 5. Means comparison of brassinosteroid and melatonin effects on content of carbohydrates, proline, and protein of cumin under drought stress and non-stress conditions

Irrigation level (F.C.)	Brassinosteroid (μM)	Melatonin (μM)	Carbohydrates (mg.g^{-1} FW)	Proline (mg.g^{-1} FW)	Protein (mg.g^{-1} FW)
100%	0	0	25.1^{g}	4.2^{f}	3.4^{a}
		100	24.9^{f}	4.1^{f}	4.0^{a}
	0.75	0	25.6^{f}	4.1^{f}	3.8^{a}
		100	28.3^{e}	4.8^{e}	3.2^{a}
50%	0	0	34.5^{d}	5.8^{d}	4.0^{a}
		100	37.3^{c}	7.7^{b}	3.1^{a}
	0.75	0	40.6^{b}	6.8^{c}	3.0^{a}
		100	47.5^{a}	8.6^{a}	3.6^{a}

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

بحث

در این پژوهش در شرایط تنش خشکی عملکرد دانه زیره سبز در مقایسه با شرایط نرمال، حدود ۲۰٪ کاهش یافت (جدول ۲). با وجوداین، کشت زیره سبز در مناطق خشک و نیمه‌خشک مانند استان کرمان، در مقایسه با بسیاری از محصولات زراعی، دارای توجیه اقتصادی بالاتری است. اگر براساس درآمد حاصل از یک متر مربع آب محاسبه انجام شود، به نسبت آب مصرفی زیره سبز درآمد قابل قبولی برای کشاورز دارد. از سوی دیگر، با توجه به صادراتی بودن محصول تولیدی زیره سبز، قیمت آن کمتر دچار نوسان شده و سبب اطمینان خاطر کشاورز از فروش محصول به قیمت مناسب می‌گردد (Kafi *et al.*, 2002). به‌طور کلی، در شرایط نرمال آبیاری، با افزایش فتوسنتز و تولید مواد پرورده و به‌دنبال آن، افزایش سرعت پر شدن دانه و وزن دانه، در نهایت عملکرد دانه افزایش می‌یابد (Hossain *et al.*, 2021؛ Pamungkas *et al.*, 2022). در مقابل، تنش خشکی با کاهش محتوای نسبی آب برگ، بسته شدن روزنه و به‌دنبال آن کاهش فتوسنتز و تحت تأثیر قرار دادن فعالیت‌های آنزیمی و فرایندهای متابولیسمی مربوط، موجب کاهش عملکرد دانه می‌شود (Haddad *et al.*, 2022).

استفاده از ملاتونین و براسینواستروئید به‌عنوان تنظیم کننده‌های رشد گیاهی می‌تواند ازجمله راهکارهای عملی و مقرون به صرفه برای کاهش خسارت‌های ناشی از تنش‌های محیطی ازجمله خشکی باشد. این هورمون‌ها اثرهای زیستی به‌سزایی روی رشد و نمو گیاه و کنترل و بهبود فرایندهای فیزیولوژیکی آن دارند و در نهایت باعث افزایش مقاومت گیاه به تنش می‌شوند (Kaya *et al.*, 2020؛ Barand *et al.*, 2020). نتایج این پژوهش نشان داد که بیشترین عملکرد دانه زیره سبز در تیمار محلول‌پاشی توأم براسینواستروئید و ملاتونین در شرایط آبیاری کامل حاصل شد و کمترین مقدار آن، از تیمار عدم محلول‌پاشی در شرایط تنش خشکی بدست آمد (جدول ۲). به عبارت دیگر، محلول‌پاشی ملاتونین ۱۰۰ میکرومولار و نیز براسینواستروئید ۰/۷۵ میکرومولار افزایش عملکرد دانه گیاه دارویی زیره سبز را به همراه داشت (جدول ۲). دیگر پژوهشگران نیز بهبود رشد و افزایش زیست توده و محصول تولیدی را در اثر کاربرد ملاتونین و براسینواستروئید (Kaya *et al.*, 2020؛ Sanjari *et al.*, 2019؛ Arnao & Hernandez-Ruiz, 2015؛ Arnao & Hernandez-Ruiz, 2014) گزارش کردند. براساس نتایج این پژوهش مشخص گردید که بیشترین افزایش درصد اسانس زیره سبز، در تیمار تنش خشکی و محلول‌پاشی توأم براسینواستروئید و ملاتونین حاصل شد که در مقایسه با شاهد، میزان اسانس زیره سبز ۳۶٪ افزایش داشت. در مقابل، کمترین میزان درصد اسانس زیره سبز در شرایط عدم تنش و عدم محلول‌پاشی هورمون‌های رشد گیاهی بدست آمد (جدول ۲). نتایج پژوهش‌ها بیان‌کننده آن است که در اثر محلول‌پاشی گیاه نعناع فلفلی با عناصر ریزمغذی روی، میزان اسانس این گیاه و نیز عملکرد اسانس آن افزایش قابل ملاحظه‌ای یافت (Heidari *et al.*, 2008). در همین رابطه، محققان گزارش کردند که اعمال تنش خشکی منجر به افزایش میزان اسانس گیاه دارویی بابونه (*Matricaria chamomilla*) گردید (Arazmjou *et al.*, 2010). همچنین توسط سایر پژوهشگران بیان شده که میزان اسانس دانه گیاه انیسون (*Pimpinella anisum*) با مقدار آب مصرفی رابطه عکس داشته است (Salmasi, 2001). مشابه نتایج این پژوهش (جدول ۲)، محققان گزارش کردند که در شرایط تنش خشکی درصد اسانس زیره سبز (Ahmadian *et al.*, 2010)، ریحان (*Ocimum basilicum*) (Hassani & Omidbeigi, 2002) و گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*) (Safikhani *et al.*, 2007) به‌طور قابل توجهی افزایش یافت. همچنین گزارش شده است که عملکرد اسانس با صفات عملکرد دانه و درصد اسانس همبستگی دارد (Safaei *et al.*, 2011). تغییر در عوامل محیطی مانند میزان دسترسی به آب، دما، تابش و طول روز بر کمّیت و کیفیت

اسانس تولیدی اثرگذار است (Arazmjou *et al.*, 2010)؛ همانگونه که در این پژوهش نیز کاهش دسترسی به آب، منجر به افزایش میزان اسانس زیره سبز گردید (جدول ۲). البته به‌نظر می‌رسد محتوای اسانس بذر گیاه زیره سبز بیش از هر عاملی تحت تأثیر ژنتیک این گیاه دارویی ارزشمند باشد (Kafi & Keshmiri, 2011). مشابه نتایج حاصل از این پژوهش (جدول ۲)، محققان دیگر نیز گزارش کردند که کاربرد هورمون‌های رشد گیاهی براسینواستروئید و ملاتونین موجب افزایش درصد اسانس و ماده مؤثر گیاهان دارویی مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica* L.) (Eskandari, 2013)، همیشه بهار (*Calendula persica*) (Hemmati *et al.*, 2017) و بادرشبو (Naghizadeh *et al.*, 2019؛ Naghizadeh *et al.*, 2022) شده است.

نتایج بدست‌آمده از این پژوهش بیانگر این موضوع بود که به‌عنوان یک سازوکار مقاومت به تنش خشکی، مقدار اسمولیت‌های سازگار ازجمله کربوهیدرات‌ها و پرولین در گیاه زیره سبز رشد کرده در شرایط آبیاری ۵۰٪ حد ظرفیت زراعی، افزایش یافت (جدول ۵). مشابه نتایج حاصل از این پژوهش، محققان دیگر نیز گزارش کردند که در طیف وسیعی از گیاهان، اسیدآمینه پرولین و کربوهیدرات‌ها در پاسخ به تنش‌های محیطی تجمع می‌یابند (Haddad *et al.*, 2022؛ Pamungkas *et al.*, 2022؛ Hossain *et al.*, 2021؛ Kaya *et al.*, 2020).

اسمولیت‌ها علاوه بر ایفای نقش به‌سزا در تنظیم اسمزی، از تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن نیز ممانعت می‌کنند. جاروب کردن گونه‌های فعال اکسیژن، حفظ پایداری و یکپارچگی غشاء و محافظت از ثبات پروتئین‌ها و آنزیم‌های داخل سلولی از دیگر نقش‌های حیاتی اسمولیت‌ها در گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی و اکسیداتیو است (Haddad *et al.*, 2022؛ Pamungkas *et al.*, 2022). مشابه نتایج حاصل از این پژوهش، سایر محققان نیز گزارش کردند که کاربرد ملاتونین و براسینواستروئید اثر قابل ملاحظه‌ای در کاهش اثرهای سوء تنش‌های محیطی ازجمله تنش خشکی از طریق سازوکار افزایش تجمع اسمولیت‌ها در سلول دارد (Barand *et al.*, 2020؛ Bano-Otalora *et al.*, 2020؛ Mohammadi *et al.*, 2020؛ Nolan *et al.*, 2019).

در فرایندهای متابولیسمی هوازی، اکسیژن یک عنصر ضروریست، با این حال وقتی این عنصر به‌صورت ناقص احیاء گردد منجر به تولید انواع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شود (Billah *et al.*, 2021). در گیاه در مواجهه با تنش‌های محیطی ازجمله تنش خشکی، ROSهایی مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) (مشابه نتایج حاصل این پژوهش و ارائه شده در جدول ۳) و رادیکال‌های هیدروکسیل تولید می‌شود (Haddad *et al.*, 2022). مشخص شده است که H_2O_2 به‌عنوان بازدارنده‌ای قوی در چرخه کلوین عمل می‌کند. میزان ROS در سلول به عوامل مختلفی ازجمله سرعت تولید آنها، سرعت واکنش آنها با مولکول‌های هدف (لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک)، سرعت تجزیه شدن آنها، جاروب شدن و یا خنثی شدن ROSها به‌وسیله آنزیم‌ها و یا توسط آنتی‌اکسیدان‌ها بستگی دارد (Hossain *et al.*, 2021؛ Pamungkas *et al.*, 2022).

در شرایط نرمال میان مقدار تولید ROS و سازوکارهای از بین برنده آنها تعادل وجود دارد؛ اما وقوع تنش‌های محیطی ازجمله خشکی، این تعادل را بهم می‌ریزد و سبب ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاه می‌شود (Haddad *et al.*, 2022).

برای مقاومت در برابر تنش اکسیداتیو، گیاهان سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی (آنزیمی و غیر آنزیمی) دارند که نقش قابل ملاحظه‌ای در کنترل ROSها دارد (Oguz *et al.*, 2022). به عبارت دیگر، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مذکور به‌عنوان فاکتوری مهم در مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی شناخته شده است (Billah *et al.*, 2021). نتایج بدست آمده از این پژوهش نشان داد در شرایط تنش خشکی ۵۰٪ حد ظرفیت زراعی، سیستم

آنتی‌اکسیدانی گیاه زیره سبز، به‌عنوان یک سیستم دفاعی در برابر تنش اکسیداتیو، فعال شد و به تبع آن میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در مقایسه با شرایط عدم تنش به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۴). آنتی‌اکسیدان‌ها رادیکال‌های آزاد را با دادن الکترون به شکل پایدار خود تبدیل و از اثرهای تخریب کننده آنها جلوگیری می‌کنند (Haddad *et al.*, 2022؛ Pamungkas *et al.*, 2022).

یکی از مهمترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، آنزیم سوپراکسیددیسموتاز است و موجب تبدیل سوپراکسید به پراکسیدهیدروژن و اکسیژن مولکولی می‌گردد (Sarshad *et al.*, 2021). نتایج این پژوهش نیز نشان دهنده این موضوع بود که در گیاهان زیره سبز رشد کرده در شرایط تنش خشکی، میزان فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپر اکسیددیسموتاز در مقایسه با شاهد (عدم تنش) به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۴). این متالوآنزیم در خط مقدم کنترل ROS در سلول گیاهی فعالیت می‌کند (Pamungkas *et al.*, 2022). آنزیم پراکسیداز از طریق تجزیه ایندول اسید تری‌استیک، نقش قابل ملاحظه‌ای در مهار ROS و مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی دارد (Sarshad *et al.*, 2021). به‌طور مشابه، نتایج این پژوهش نیز افزایش معنی‌دار آنزیم آنتی‌اکسیدانی پراکسیداز را در زیره سبز رشد کرده در شرایط تنش خشکی نشان داد (جدول ۴). بیشترین خسارت اکسیداتیو در گیاه در سطح سلولی اتفاق می‌افتد و ارتباطی قوی میان مقاومت گیاه به تنش اکسیداتیو و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی وجود دارد (Pamungkas *et al.*, 2022). نتایج این پژوهش نیز به نوعی بیان کننده همین موضوع بود. به‌طوری که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه دارویی زیره سبز رشد کرده در شرایط تنش خشکی (جدول ۴)، بهبود رشد و کاهش اُفت عملکرد دانه زیره سبز را به همراه داشت (جدول ۲). براساس نتایج بدست‌آمده از این پژوهش، به نظر می‌رسد که کاربرد هورمون‌های گیاهی ملاتونین و براسینواستروئید از طریق افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه (جدول ۴) به‌عنوان یک سازوکار دفاعی، موجب شده تا گیاه از تنش خشکی آسیب کمتری ببیند. در همین راستا، محققان دیگر نیز بیان کردند که یکی از مهمترین اثرهای مفید کاربرد هورمون های رشد گیاهی در تعدیل اثرهای تنش در گیاه، تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی در گیاه است (Mohammadi *et al.*, 2020؛ Bano-Otalora *et al.*, 2020؛ Hossain *et al.*, 2021).

یکی از نشانه‌های مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی ازجمله تنش خشکی، ثبات غشاء و حفظ یکپارچگی آن است (Ballesta *et al.*, 2020؛ Sarshad *et al.*, 2021). در نتیجه پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع، مالون دی‌آلدئید تولید شده که این ترکیبات حاصل از پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء به‌عنوان شاخص تنش اکسیداتیو شناخته می‌شوند. نتایج این پژوهش نیز حکایت از آن داشت که در شرایط تنش خشکی، غلظت ROSها ازجمله H_2O_2 (جدول ۳) و نیز غلظت مالون‌دی‌آلدئید (جدول ۳) در زیره سبز افزایش یافت که به دنبال این افزایش، غشای سلولی تخریب و میزان نشت یونی در مقایسه با گیاهان رشد کرده در شرایط آبیاری کامل، به‌طور معنی‌دار افزایش یافت (جدول ۳). مشابه نتایج بدست آمده از این پژوهش (جدول ۳)، گزارش‌های دیگر نیز نشان داد که تنش اکسیداتیو افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و میزان مالون‌دی‌آلدئید و به تبع آن افزایش نشت یونی را به همراه داشته است (Pamungkas *et al.*, 2022؛ Haddad *et al.*, 2022).

نتایج این پژوهش بیانگر آن بود که محلول‌پاشی بوته‌های زیره سبز با هورمون‌های گیاهی ملاتونین و براسینواستروئید در شرایط تنش خشکی باعث حفظ پایداری غشاء سلولی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید (جدول ۳)، کاهش پراکسید هیدروژن (جدول ۳) و نیز کاهش نشت یونی

(جدول ۳) شد. یکی از مسیرهایی که به دنبال کاربرد تنظیم کننده‌های رشد گیاهی در گیاه فعال می‌گردد تغییرات متابولیسمی برای کاهش غلظت مالون‌دی‌آلدئید و حفظ پایداری غشاء سلولی است (Sanjari *et al.*, 2019؛ Oloumi *et al.*, 2018؛ Pourhanifeh *et al.*, 2019؛ Kaya *et al.*, 2020).

به دنبال تأثیر مثبت کاربرد ملاتونین و براسینواستروئید و کاهش اثرهای سوء ناشی از تنش خشکی در فرایندهای مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه زیره سبز در شرایط تنش خشکی، در نهایت عملکرد دانه این گیاه، تحت این شرایط در مقایسه با شاهد افزایش یافت (جدول ۲). براساس نتایج این پژوهش، محلول‌پاشی براسینواستروئید و ملاتونین مقاومت گیاه زیره سبز را در برابر تنش خشکی از طریق افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی (جدول ۴)، افزایش تجمع اسمولیت‌های سازگار پرولین و کربوهیدرات‌ها (جدول ۵) و نیز بهبود پایداری غشاء (جدول ۳) افزایش داد و درنهایت افزایش عملکرد دانه زیره سبز را (جدول ۲) به همراه داشت. در راستای تأیید نتایج حاصل از این پژوهش، اگرچه تأثیر مثبت کاربرد ملاتونین و براسینواستروئید در تعدیل اثرهای سوء تنش‌های محیطی ازجمله تنش خشکی گزارش شده (Bano-Otalora *et al.*, 2020؛ Mohammadi *et al.*, 2020)، اما در زمینه کاربرد توأم براسینواستروئید و ملاتونین کمتر گزارشی منتشر شده است. نکته حائز اهمیت آن است که براساس نتایج این پژوهش، مشخص گردید که استفاده توأم هورمون‌های گیاهی ملاتونین و براسینواستروئید، تأثیر بارزتری در مقایسه با کاربرد هر یک از این هورمون‌ها به‌تنهایی بر روی بهبود فرایندهای فیزیولوژیک (جدول‌های ۳، ۴ و ۵)، عملکرد دانه و درصد اسانس زیره سبز داشت (جدول ۲).

ملاتونین و براسینواستروئید از فعالیت آنزیم کلروفیلاز به‌عنوان یک آنزیم مهم در تجزیه کلروفیل جلوگیری کرده و باعث حفظ و افزایش میزان کلروفیل، به تعویق انداختن پیری برگ، بهبود عملکرد فتوسیستم و بهبود کارایی فتوسنتز گیاه می‌شود (Turk *et al.*, 2014؛ Durigan Dalio *et al.*, 2013). ملاتونین با تغییر بیان ژن مربوط به پروتئینی که در تجزیه کلروفیل در دوره پیری برگ نقش دارد، از کلروفیل حفاظت می‌کند. همچنین ملاتونین و براسینواستروئید با جاروب و مهار کردن ROS و نیز فعال کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تأثیر مثبت بر پایداری غشاء گذاشته و موجب پایداری کلروپلاست و ممانعت از تجزیه کلروفیل می‌گردد (Kaya *et al.*, 2020؛ Sanjari *et al.*, 2019؛ Wang *et al.*, 2013). ملاتونین و براسینواستروئید با بهبود کارایی فتوسیستم II، بهبود هدایت روزنه و انتشار دی اکسید کربن به درون گیاه، سبب حفظ و پایداری آسیمیلاسیون دی‌اکسید کربن با ظرفیت بالا می‌شود (Nolan *et al.*, 2019؛ Li *et al.*, 2019). ملاتونین و براسینواستروئید کنترل‌کننده پیری برگ، کنترل‌کننده رشد ریشه و ساقه و نیز فعال‌کننده ریشه‌زایی گیاه نیز هستند (Kaya *et al.*, 2020). ساختار شیمیایی ملاتونین مشابه با هورمون اکسین است و به نظر می‌رسد که نقشی مشابه با نقش این هورمون بر رشد و نمو گیاه داشته باشد که رشد و تولید بیوماس گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Barand *et al.*, 2020؛ Bano-Otalora *et al.*, 2020؛ Mohammadi *et al.*, 2020). مشابه نتایج حاصل از این پژوهش، محققان دیگر نیز گزارش کردند که استفاده از ملاتونین و براسینواستروئید به صورت برون‌زا، افزایش مقاومت به عوامل تنش‌زا و افزایش محصول تولیدی گیاهان زارعی (Bano-Otalora *et al.*, 2020؛ Mohammadi *et al.*, 2020؛ Arnao & Hemandez-Ruiz, 2018) و گیاهان دارویی را در پی داشته است (Naghizadeh *et al.*, 2022؛ Naghizadeh *et al.*, 2019). براساس نتایج حاصل از این پژوهش، مشخص گردید که کاربرد براسینواستروئید و ملاتونین، مقاومت گیاه زیره سبز را در برابر تنش خشکی از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، افزایش تجمع اسمولیت‌های سازگار پرولین و کربوهیدرات‌ها و نیز حفظ پایداری غشاء افزایش داد و در

نهایت افزایش عملکرد دانه زیره سبز را به همراه داشت. استفاده از ملاتونین و براسینواستروئید کیفیت محصول تولیدی را نیز تحت تأثیر قرار داد و موجب افزایش درصد اسانس زیره سبز گردید. به‌طوری که تأثیر مثبت استفاده توأم از ملاتونین و براسینواستروئید بر روی کمّیت و کیفیت محصول تولیدی زیره سبز در مقایسه با کاربرد هر یک از این هورمون‌های گیاهی به‌تنهایی، بسیار قابل ملاحظه‌تر و مشهودتر بود. در مجموع، با توجه به سازگار با محیط زیست بودن براسینواستروئید و ملاتونین و تأثیر مثبت کاربرد آنها بر بهبود کمّیت و کیفیت محصول تولیدی، کاربرد براسینواستروئید و ملاتونین می‌تواند راهکاری مناسب برای افزایش عملکرد کمّی و کیفی گیاه دارویی و اقتصادی ارزشمند زیره سبز در شرایط نرمال و تنش خشکی باشد.

References

- Ahmadian, A., Ghanbari, A., Galavi, M., Siasar, B. and Arazmjou, A., 2010. Effect of irrigation regimes and manure on the nutrient content, chemical composition and essential oil of cumin. Journal of Crop and Weeds Ecophysiology, 16: 83-94.
- Arazmjou, A., Haidari, M. and Ghanbari, A., 2010. Effects of water stress and manure on yield and quality of chamomile. Iranian Journal of Crop Sciences, 2: 100-111.
- Arnao, M.B. and Hernandez-Ruiz, J., 2014. Melatonin: Plant growth regulator and/or biostimulator during stress? Trends in Plant Science, 19: 789-797.
- Arnao, M.B. and Hernandez-Ruiz, J., 2015. Phytomelatonin: Searching for plants with high levels for use as a natural nutraceutical (519-545), In: Atta-ur, R. (Eds), Studies in Natural Products Chemistry. (volum 46), Elsevier, 567p.
- Arnao, M.B. and Hernandez-Ruiz, J., 2018. Melatonin and its relationship to plant hormones. Annals of Botany, 121: 195-207.
- Bajgaz, A. and Hayat, S.H., 2009. Effect of brassinosteroids on the plant responses to environmental stress. Plant Physiology and Biochemistry, 47: 1-8.
- Bajwa, V.S., Shukla, M.R., Sherif, S.M. and Murch, S.J., 2014. Role of melatonin in alleviating cold stress in *Arabidopsis thaliana*. Journal of Pineal Research, 56: 238-245.
- Ballesta, P., Mora, F. and del Pozo, A., 2020. Association Mapping of Drought Tolerance Indices in Wheat: QTL-Rich Regions on Chromosome 4A. Science of Agricultural, 77: 45-57.
- Bano-Otalora, B., Madrid, J.A. and Rol, M.A., 2020. Melatonin alleviates circadian system disruption induced by chronic shifts of the light-dark cycle in *Octodon degus*. Journal of Pineal Research, 68: 1-13.
- Barand, A., Nasibi, F., Manouchehri Kalantari, K.h. and Moradi, M., 2020. The effects of foliar application of melatonin on some physiological and biochemical characteristics and expression of fatty acid desaturase gene in pistachio seedlings (*Pistacia vera* L.) under freezing stress. Journal of Plant Interaction, 34: 257-265.
- Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.
- Bettaieb, R.I., Jabri-Karoui, I., Hamrouni-Sellami, I., Bourgou, S., Limam, F. and Marzouk, B., 2012. Effect of drought on the biochemical composition and antioxidant activities of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds. Industrial Crops and Products, 36: 238-245.
- Billah, M., Aktar, S., Brestic, M., Zivcak, M., Khaldun, A.B.M., Uddin, M.S., Bagum, S.A., Yang, X., Skalicky, M. and Mehari, T.G., 2021. Progressive genomic approaches to explore drought- and salt-induced oxidative stress responses in plants under changing climate. Plants, 10: 142-156.
- 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: 248-254.
- Dhindsa, R.S. and Matowe, W., 1981. Drought tolerance in two mosses: correlated with enzymatic defense against lipid peroxidation. Journal of Experimental Botany, 32: 79-91.
- Dhindsa, R.A., Plumb-Dhindsa, P. and Thorpe, T.A., 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental Botany, 126: 93-101.
- Durigan Dalio, R.J., Pinheiro, H.P., Sodek, L. and Baptista Haddad, C.R., 2013. 24-epibrassinolide restores nitrogen metabolism of pigeon pea under saline stress. Botanical Studies, 54(9): 1-7.
- Eskandari, M., 2013. Changes in growth parameters and essential oil content of *Satureja bachtiarica* Bunge under the effects of 28-Homobrassinolid and drought stress. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 29: 177-186.
- Ghanbari, J., Khajoei-nejad, Gh.R. and Mohammadi-nejad, Gh., 2017. Study of Ecotype and Sowing Date Interaction in Cumin (*Cuminum cyminum* L.) using Different Univariate Stability Parameters. Iranian Journal of Field Crops Research, 15: 87-102.

under conditions of salinity and drough. Journal of Horticultural Science, 25: 327-334.
- Kafi, M., Rashed Mohassel, M.H., Koocheki, A. and Nassiri, M., 2002. Cumin (*Cuminum cyminum*) Production and Processing. Zaban va Aab Publication, Mashhad, Iran, 200p.
- Kaya, C., Ashraf, M., Alyemeni, M.N. and Ahmad, P., 2020. The role of nitrate reductase in brassinosteroid-induced endogenous nitric oxide generation to improve cadmium stress tolerance of pepper plants by upregulating the ascorbate-glutathione cycle. Ecotoxicology and Environmental Safety, 196: 110-122.
- Khajeh, N., Emam, Y., Pakneyat, H. and Kamgar haghighi, A.A., 2008. Interaction of plant growth regulator chlormequat chloride (CCC) and drought stress on growth and grain yield of three barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.). Iranian Field Crop Science Journal, 39: 215-224.
- Li, T., Jiang, S., Lu, C., Yang, W., Yang, Z., Hu, W., Xin, Z. and Yang, Y., 2019. Melatonin: Another avenue for treating osteoporosis? Journal of Pineal Research, 66: 1-12.
- Mohammadi, H., Moradi, S. and Aghaee, A., 2020. Effect of melatonin on morphological and physiological parameters of *Anise hyssop* under water deficit stress conditions. Journal of Plant Process and Function, 10: 45-57.
- Naghizadeh, M., Kabiri, R. and Maghsoudi, K., 2022. Effects of melatonin and ascorbic acid foliar application on grain yield and mucilage of *Plantago ovata* Forssk. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 37: 908-919.
- Naghizadeh, M., Kabiri, R., Hatami, A., Oloumi, H., Nasibi, F. and 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 of Plants, 25: 881-894.
- Nakano, Y. and Asada, K., 1987. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplast: in inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. Plant Cell Physiology, 28: 131-140.
- Nolan, T., Vukasinovic, N., Liu, D., Russinova, E. and Yin, Y., 2019. Brassinosteroids: multi-dimensional regulators of plant growth, development, and stress responses. The Plant Cell, 63: 52-65.
- Oguz, M.C., Aycan, M., Oguz, E., Poyraz, I. and Yildiz, M., 2022. Drought stress tolerance in plants: interplay of molecular, biochemical and physiological responses in important development stages. Physiologia, 2: 180-197.
- Ghorbani, R., Koocheki, A., Hosseini, A., Jahani, M., Asadi, G., Aghel, H. and Mohammad Abadi, A.A., 2010. Effects of planting date, time and methods of weed control on weed density and biomass in cumin fields. Iranian Journal of Field Crops Research, 8: 120-127.
- Ghorbani, R., Koocheki, A., Jahani, M., Hosseini, A., Mohammad-Abadi, A.A. and Sabet Teimouri, M., 2009. Effect of planting date, weed control time and method on yield and yield components of cumin. Iranian Journal of Field Crops Research, 7: 145-153.
- Haddad, N., Choukri, H., Ghanem, M.E., Smouni, A., Mentag, R., Rajendran, K., Hejjaoui, K., Maalouf, F. and Kumar, S., 2022. High temperature and drought stress effects on growth, yield and nutritional quality with transpiration response to vapor pressure deficit in lentil. Plants, 11: 95-112.
- Hassani, A. and Omidbeigi, R., 2002. Effects of water stress on some morphological, physiological and metabolic characteristics of basil. Journal of Agricultural Sciences, 3: 47-59.
- Heidari, F., Zehtab, S., Javanshir, A., Aliari, H. and Dadpour, M., 2008. The effect of micronutrients consumption and plant density on yield and essential oil of peppermint (*Mentha piperita* L.). Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 24: 9-19.
- Hemmati, Kh., Ebadi, A., Khomari, S. and Sedghi, M., 2017. Effect of brassinosteroid and acid ascorbic on the essence percentage and chlorophylls in pot marigold under water deficit stress. 1st International and 5th National Conference on Organic vs. Conventional Agriculture, Ardabil, Iran, 16-17 August: 1-7.
- Heshmati, S., Akbari. G.A., Soltani, E., Amini, M., Fathi, K. and Maleki, K., 2019. A study on the photosynthetic pigments and phenolic compounds of safflower in response to foliar application of melatonin under water deficit condition. Journal of Plant Process and Function, 9: 347-358.
- Hossain, A., Farooq, M., el Sabagh, A., Hasanuzzaman, M., Erman, M. and Islam, T., 2021. Morphological, Physiobiochemical and Molecular Adaptability of Legumes of Fabaceae to Drought Stress, with Special Reference to *Medicago sativa* L. 289-317. In: Hasanuzzaman, M., Araújo, S. and Gill, S.S., (EdS.). The Plant Family Fabaceae. Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 541p.
- Kabiri, R., Hatami, A., Oloumi, H., Naghizadeh, M., Nasibi, F. and 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.
- Kafi, M. and Keshmiri, E., 2011. Study of yield and yield components of *Cuminium cyminum* indigenous

- Oloumi, H., Nasibi, F. and Mozaffari, H., 2018. Investigation of the growth rate and secondary metabolites content of Lepidium sativum under exogenous melatonin treatment. Nova Biologica Reperta, 5: 144-154.
- Pamungkas, S.S.T., Suwarto, S. and Farid, N., 2022. Drought Stress: Responses and Mechanism in Plants. Reviews in Agricultural Science, 10: 168-185.
- Pourhanifeh, M., Sharifi, M., Reiter, R., Abdolhossein, D. and Asemi, Z., 2019. Melatonin and non-small cell lung cancer: New insights into signaling pathways. Cancer Cell International, 19: 1-7.
- Safaei, L., Zeinali, H. and Afiuni, D., 2011. Study of genetic variation of agronomic characteristics in *Foeniculum vulgare* Mill. genotypes. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 16: 117- 125.
- Safari, B., Mortazavian, S.M.M., Sadat Noori, S.A. and Foghi, B., 2017. Evaluation of drought tolerance in endemic ecotypes of cumin using tolerance indices. Journal of Plant Production Research, 23: 185-204.
- Safikhani, F., Heidari Sharifabad, H., Siadat, S.A., Sharifi Ashorabadi, A., Seyednezhad, S.M. and Abbaszadeh, B., 2007. Effect of drought stress on physiological characteristics and essential oil yield of badrshbi. Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 23: 86-99.
- Salmasi, Z., 2001. Physiological effects of planting date and irrigation on growth, yield, essential oil of anise. Ph.D. Thesis, Faculty of Agriculture, University of Tabriz.
- Sanjari, S., Keramat, B., Nadernejad, N. and Mozafari, H., 2019. Ameliorative effects of 24-epibrassinolide and thiamine on excess cadmium-induced oxidative stress in Canola (*Brassica napus* L.) plants. Journal of Plant Interactions, 14: 359-368.
- Sarshad, A., Talei, D., Torabi, M., Rafiei, F. and Nejatkhah, P., 2021. Morphological and biochemical responses of *Sorghum bicolor* (L.) moench under drought stress. SN Applied Sciences, 3: 81-95.
- Sullivan, C.Y. and Ross, W.M., 1979. Selecting for Drought and Heat Resistance in Grain Sorghum. 263-281. In: Mussell, H. & Staples, R.C., (Eds.), Stress Physiology in Crop Plants. John Wiley and Sons, New York, 897p.
- Turk, H., Erdal, S., Genisel, M., Atici, O., Demir, Y. and Yanmis, D., 2014. The regulatory effect of melatonin on physiological, biochemical and molecular parameters in cold-stressed wheat seedlings. Plant Growth Regulation, 74: 139-152.
- Wang, P., Sun, X., Li, C., Wei, Z., Liang, D. and Ma, F., 2013. Long-term exogenous application of melatonin delays drought-induced leaf senescence in apple. Journal of Pineal Research, 54: 292-302.
- Zare, M., Nasibi, F., Manuchehri Kalantari, Kh. and Ahmadi Mousavi, E., 2019. Effect of melatonin pretreatment on some physiological parameters and reduction of oxidative stress in *Tagetes erecta* seedlings under salt stress. Journal of Plant Process and Function, 10: 115-125.
- Zhang, N., Zhao, B., Zhang, H.J., Weeda, S., Yang, C., Yang, Z.C., Ren, S. and Guo, Y., 2013. Melatonin promotes water-stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.). Journal of Pineal Research, 54: 15-23.
- Zhang, Z.J., Li, H.Z., Zhou, W.J., Takeuchi, Y. and Yoneyama, K., 2006. Effect of 5-aminolevulinic acid on development and salt tolerance of potato (*Solanum tuberosum* L.) microtubers in vitro. Plant Growth Regulation, 49: 27-34.