



<https://ijpb.ui.ac.ir/?lang=en>
Journal of Plant Biological Sciences
E-ISSN: 3041-9603
Vol. 15, Issue 4, No. 58, winter 2023
Document Type: Research Paper
Received: 20/07/2024 Accepted: 05/10/2024

The effect of melatonin and serotonin on photosynthetic parameters in two rapeseed Canola cultivars under lead stress

Zahra Beiranvand¹, Hamzeh Amiri¹ ^{*}, Hamed Khodayari¹

¹ Department of Biology, Faculty of Basic Science, Lorestan University, Khorramabad, Lorestan, Iran

Abstract

The accumulation of heavy metals in the soil due to human activities is one of the most important ecological problems in the world. On the other hand, using plant growth regulators such as melatonin and serotonin is one of the strategies that help reduce the accumulation of heavy metals in plants and improve their tolerance. Based on this, a factorial pot experiment based on a completely random design at 3 levels of Pb heavy metal (0, 2000, and 4000 mg/l) and spraying melatonin and serotonin regulators in a concentration of 100 mM separately in 2 cultivars - RGS00s and Delgan of rapeseed plant was made with 4 replications. The results showed that heavy metal stress has a reducing effect on the shoot fresh and dry weight indices, photosynthetic pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoid), gas exchange (net photosynthesis, transpiration, stomatal conductance, internal CO₂). So, the highest traits were observed in the control and the lowest in severe lead stress. Also, with the increase in Pb concentration, the value of F_m, F_v/F_m, and F_v/F₀ decreased and the value of F₀ and F₀/F_m increased in both rapeseed varieties. External application of serotonin and melatonin in moderate and severe stress most of the measured parameters. According to the results obtained from this research, it can be stated that the Delgan variety is more sensitive to lead stress compared to the RGS00s variety, and the use of melatonin and serotonin can improve the growth and photosynthesis parameters and create resistance in the rapeseed plant against heavy metal stress.

Keywords: Delgan cultivar, Maximum quantum efficiency of photosystem II, Net photosynthesis rate, Pb

*Corresponding author: amiri_h_lu@yahoo.com



Introduction

Today, the increase of environmental pollutants, especially heavy metals such as lead, cadmium, copper, zinc, chromium, and arsenic, is one of the major environmental and health problems, which has polluted agricultural lands in all parts of the world. This pollution is caused by the excessive consumption of phosphate fertilizers, urban and industrial effluents, and factory dust, which is a threat to the health of living organisms. Using urban and industrial wastewater to irrigate crops under the conditions of a lack of freshwater resources is a common method in different parts of the world. Unfortunately, long-term irrigation of agricultural lands with untreated urban wastewater leads to the accumulation of high levels of various heavy metals in the soil. Recently, foliar spraying of various materials such as nanoparticles, polyamines, proline, and melatonin to reduce the distribution of heavy metals in plants and improve their tolerance has attracted a lot of attention. Previous studies have shown that melatonin has a high ability to reduce heavy metal stress in plants. Serotonin and melatonin are both important signaling and antioxidant molecules in plants that are functionally correlated in various plant processes. The biosynthesis of both is initially started with L-tryptophan precursor, but melatonin is synthesized from serotonin through a series of enzymatic reactions. Considering that the photosynthetic indices are suitable measurements for comparing the physiological responses of plants, this study investigates the possible reducing effects of lead toxicity by the plant growth regulators melatonin and serotonin on the photosynthetic responses of RGS00s (as a cultivar resistant to abiotic stresses) and Delgan (as a cultivar sensitive to abiotic stresses) were investigated.

Material and Methods

This research was conducted in a factorial experiment based on a completely randomized design with four repetitions in the research greenhouse of Lorestan University. The seeds of two Canola cultivars (Delgan and RGS00s) were obtained from the Karaj Seed and Plant Breeding Research Institute. The seeds were disinfected with 5% sodium hypochlorite solution and after washing with distilled water, they were transferred to pots containing perlite. The pots were placed in the growth chamber (16 h of light and 8 h of darkness with a temperature of 25 °C). Watering and adding Hoagland's nutrient solution were done at regular intervals. In the sixth week, melatonin and serotonin treatments were done separately in the form of foliar spray with concentrations of 100 µM three times a day at 4h intervals so that all the aerial parts of the plant were wet and at the same time applied stress. Lead heavy metal was used from lead acetate salt with 2000 and 4000 mg/l concentrations. Finally, the samples were collected in the ninth week and the frozen samples were used to perform the measurements.

Result and Discussion

The results showed that heavy metal stress had a decreasing effect on the wet and dry weight indices of aerial parts, photosynthetic pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoid), gas exchange (net photosynthesis, transpiration, stomatal conductance, internal CO₂). It has figures in both. So, the highest amount was observed in the control treatment and the lowest in severe lead stress. Also, with the increase of lead heavy metal stress, the value of F_m , F_v/F_m , and F_v/F_0 decreased and the value of F_0 and F_0/F_m increased in both rape varieties. The exogenous application of serotonin and melatonin in both moderate and severe stress had an improvement effect on most of the measured parameters. Exogenous melatonin improves the photosynthesis rate under heavy metal toxicity by stimulating photosynthesis and pigment biosynthesis enzymes. Foliar application of melatonin by reducing the degradation of chlorophyll by inhibiting the activity of chlorophyllase and pheophorbidoxygenase (PAO) enzymes on the one hand and increasing the activity of δ -ALAD, CA, RuBisco and as a result increasing the content of δ -ALA on the other hand leads to an increase in chlorophyll content. The positive role of melatonin in increasing chlorophyll synthesis may be attributed to its role in the biosynthesis of porphyrins, glycine, and succinyl-coenzyme A by regulating the activity of δ -aminogluline synthase. Also, melatonin prevents the decomposition of chlorophylls by increasing ferredoxin

levels. Since ferredoxins reduce the excessive production of energetic electrons from the photosynthetic electron transport chain and ultimately protect chlorophylls by reducing ROS.

Conclusion

The application of melatonin and serotonin with a positive effect on growth characteristics, chlorophyll fluorescence indices, and gas exchange parameters in two rapeseed cultivars (RGS00s and Delgan) in both the control group and the lead stress treatment group, resulted in a reduction of the negative effect of lead stress on these characteristics. The application of melatonin and serotonin led to an increase in the fresh and dry weight of the plant in both cultivars. Additionally, the use of these compounds increased the content of photosynthetic pigments, including chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoids. Examination of gas exchange parameters in the rapeseed cultivar showed that although melatonin and serotonin led to an increase in the rate of photosynthesis, the concentration of CO₂ under the stomatal chamber, and stomatal conductance, this effect was more pronounced in the melatonin treatment. In the RGS00s cultivar, the highest values for gas exchange parameters were also obtained in the serotonin treatments. Chlorophyll fluorescence characteristics in both cultivars were affected by lead stress and foliar application of melatonin and serotonin, and the best results were recorded in the group treated with the ameliorating compounds. Therefore, based on the results, foliar application of melatonin and serotonin can be recommended to improve the growth of rapeseed plants under heavy metal stress conditions.

تأثیر ملاتونین و سروتونین بر فاکتورهای فتوسنتزی در دو رقم گیاه کلزا تحت تأثیر تنش فلز سنگین سرب

زهرا بیرانوند^۱، حمزه امیری*^۱، حامد خدایاری^۱

^۱گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

چکیده

تجمع فلزات سنگین در خاک به واسطه فعالیت‌های انسانی یکی از مشکلات اکولوژیکی مهم در جهان است. از سوی دیگر، استفاده از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مانند ملاتونین و سروتونین از جمله راهکارهایی هستند که به کاهش تجمع فلزات سنگین در گیاهان و بهبود تحمل آن‌ها کمک می‌کند. بر این اساس آزمایش گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در سه سطح فلز سنگین سرب (صفر، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی گرم بر لیتر) و محلول پاشی تنظیم کننده‌های ملاتونین و سروتونین در غلظت ۱۰۰ میکرومولار به صورت جداگانه در دو رقم RGS00s و دلگان گیاه کلزا در چهار تکرار انجام شد. نتایج نشان دادند تنش فلز سنگین اثر کاهشی بر شاخص‌های وزن تر و خشک اندام هوایی، رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید)، تبادلات گازی (فتوستتز خالص، تعرق، هدایت روزنه‌ای، CO_2 درونی) در هر دو رقم دارد. به طوری که بیش‌ترین مقدار در تیمار شاهد و کم‌ترین مقدار در تنش شدید سرب مشاهده شد. همچنین با افزایش تنش فلز سنگین سرب مقدار فلورسانس حداکثر (F_m)، حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m) و F_v/F_0 و سایر فاکتورهای فلورسانس در هر دو رقم کلزا کاهش و مقدار فلورسانس حداقل (F_0) و F_0/F_m افزایش یافت. استفاده خارجی سروتونین و ملاتونین در هر دو تنش متوسط و شدید تأثیر بهبوددهندگی بر بیشتر فاکتورهای سنجش شده داشت. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان بیان کرد رقم دلگان به تنش سرب در مقایسه با رقم RGS00s حساس‌تر است و همچنین استفاده از ملاتونین و سروتونین، می‌تواند سبب بهبود فاکتورهای رشدی و فتوسنتزی و ایجاد مقاومت در گیاه کلزا در برابر تنش فلز سنگین سرب شود.

واژه‌های کلیدی: رقم دلگان، حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II، سرب، نرخ فتوستتز خالص

*Corresponding author: amiri_h_lu@yahoo.com



مدیریت روش‌هایی که می‌توانند تحمل فلزات سنگین را در گونه‌های براسیکا بهبود بخشند انجام شده است. یکی از موثرترین این روش‌ها استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی است (Rizwan et al., 2016).

به تازگی محلول‌پاشی مواد مختلف مانند نانوذرات، پلی‌آمین‌ها، پرولین و ملاتونین برای کاهش توزیع فلزات سنگین در گیاهان و بهبود تحمل آن‌ها توجه زیادی را به خود جلب کرده است. پژوهش‌های قبلی نشان دادند ملاتونین دارای توانایی بالا برای کاهش تنش فلزات سنگین در گیاهان است (Dradrach et al., 2022). تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی می‌توانند رشد و نمو گیاهان را با تغییر در فرآیندهای زیستی کاهش یا افزایش دهند. این ترکیبات به عنوان مولکول‌های سیگنالینگ عمل می‌کنند و با حفظ انعطاف‌پذیری گیاه در طول رشد و نمو از عوامل اصلی پاسخ دهنده به تنش‌های زیستی و غیر زیستی در گیاهان محسوب می‌شوند (Sabagh et al., 2021) که در غلظت‌های کم نیز فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Hemmati Hassan Gavyar et al., 2023). سروتونین (۵-هیدروکسی تریپتامین) و ملاتونین (ان-استیل-۵-متوکسی تریپتامین) هر دو از مولکول‌های مهم سیگنال‌دهی و آنتی‌اکسیدانی در گیاهان هستند که در فرآیندهای مختلف گیاهی همبستگی عملکردی دارند. بیوسنتز هر دو در ابتدا با پیش‌ساز ال-تریپتوفان شروع شده ولی ملاتونین با یکسری واکنش‌های آنزیمی از سروتونین سنتز می‌شود (Mannino et al., 2021; Pelagio-Flores & Lopez-Bucio, 2016). ملاتونین با

Mitra et al., 2022; Ma et al., 2016; Mahmoudi et al., 2023) و از فعالیت تعدادی آنزیم به علت تشابه ساختاری یونی با کلسیم جلوگیری می‌کند (Amari et al., 2017). مهم‌ترین تأثیر این فلز، اثر بر سیستم فتوسنتزی گیاه است و سبب کاهش ۴ یا ۵ برابری کارایی فتوسیستم II می‌شود. فتوسنتز از حساس‌ترین فرآیندهای متابولیکی نسبت به سمیت سرب است و پژوهش‌های متعددی بازدارندگی فتوسنتز تحت تنش سرب در گیاهان مختلف نشان داده است (Asadi et al., 2019). فتوسنتز یک فرآیند متابولیک بسیار مهم در گیاهان و برگ است و فلورسانس کلروفیل ارتباط نزدیکی با فرآیندهای مختلف واکنش در فتوسنتز دارد. تأثیر هر عامل محیطی بر فتوسنتز را می‌توان با دینامیک فلورسانس کلروفیل برگ منعکس کرد؛ بنابراین، فلورسانس کلروفیل یک پروب داخلی ایده‌آل برای تشخیص تغییرات دینامیکی فتوسنتز گیاهان است (Qin et al., 2023). تنش فلز سنگین اغلب منجر به کاهش فعالیت PSI و PSII گیاه می‌شوند (Baycu et al., 2017). F_v/F_m یک شاخص مهم از فعالیت فتوشیمیایی در PSII در نظر گرفته می‌شود و $\Delta I/I_0$ شاخص مهمی برای نشان دادن فعالیت PSI است (Mlinaric et al., 2017; Zhang et al., 2018). همچنین غلظت بالای این فلز سبب اختلال یا حتی مهار فعالیت‌های آنزیمی کلیدی مانند اسیدفسفاتاز، استرازها، پراکسیدازها، مالیک دهیدروژناز با واکنش گروه‌های سولفیدریل می‌شود. همچنین غلظت بالای سرب محرک تولید گونه‌های اکسیژن فعال بوده و در نتیجه سبب استرس اکسیداتیو در بافت‌ها می‌شود (Pourrut et al., 2011). در همین راستا چندین پژوهش با هدف

پژوهشی بر روی گیاه *Brassica juncea* تحت تنش فلز سنگین مس مشاهده شد اسپری ملاتونین در غلظت ۴۰ میکرومولار با بهبود فاکتورهای فلورسانس و فتوستتزی، کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود جذب و انتقال مواد به اندام‌های هوایی، تحمل گیاه در برابر تنش را افزایش داد (Mir et al., 2022). علاوه بر این گزارش‌های مختلفی در زمینه نقش ملاتونین در بهبود پاسخ‌های گیاه به تنش‌هایی از جمله خشکی (Sher et al., 2023; Jensen et al., 2023) و شوری (Ahmad et al., 2023; Eisa et al., 2023) ارائه شده است. پژوهشگران بر تأثیر رقم، روی پاسخ‌های زراعی گیاهان نسبت به تنش‌های محیطی تأکید دارند (Abdel-Motagally & El-Zohri, 2021; Chiango et al., 2021). در پژوهشی با بررسی رقم‌های مختلف کلزا تحت تنش خشکی مشخص شد رقم RGS003 به عنوان رقم سازگار با آب و هوای گرم و خشک برای کشت در شرایط ناپایدار منابع آبی مناسب‌تر بود و رقم دلگان با میانگین عملکرد دانه و روغن بیش‌تر در تمامی تاریخ‌های کشت پائیزه و زمستانه، به عنوان رقم برتر برای کاشت در مناطق معتدل سرد با اقلیم‌های خشک و نیمه خشک توصیه شده است (Eslam, 2018; Qasemi et al., 2022). ملاتونین بر کارایی فتوستتزی و نیز در کاهش تخریب کلروفیل و افزایش کارایی فتوستتزی تحت تنش غیرزیستی با تنظیم تجمع و عملکرد بیومولکول‌های کلیدی، از جمله آنزیم روبیسکو، پروتئین‌ها، کلروفیل‌ها و ترکیبات مرتبط با نیتروژن نقش دارد (Lin et al., 2020). در گیاهان ذرت (*Zea mays*) با تیمار ملاتونین، محتوای روبیسکو افزایش یافت (Zhao et al., 2015). در برنج، تیمار با ملاتونین

حفظ عملکرد فتوسیستم II و کاهش بیان ژن‌های مربوط به آنزیم کلروفیل‌از کاهش در محتوای کلروفیل را به تأخیر می‌اندازد. ملاتونین با اعمالی از جمله تنظیم رشد، تولید مثل، رشد ریشه و شاخساره، تأخیر در روند پیری بافت، حفاظت از اندام‌های گیاهی در طی تنش‌ها را تنظیم می‌کند. ملاتونین به علت اندازه کوچک و طبیعت دوگانه آبدوستی- چربی دوستی به آسانی از غشاء عبور می‌کند و وارد سلول می‌شود (Shi et al., 2020). اثرات آلودگی سرب بر ویژگی‌های فتوستتزی و فاکتورهای فلورسانس کلروفیل در جمعیت‌های مختلف گیاه *Miscanthus floridulus* نشان داد مقدار F_v/F_m با افزایش درجه تنش کاهش یافته که می‌تواند به علت تنش نوری یا آسیب به مرکز واکنش PSII باشد (Qin et al., 2023). نتایج تأثیر سمی فلزات سنگین سرب و کادمیوم بر روی عملکرد فتوستتزی نهال توت (*Morus alba*) نشان داد تنش سرب و کادمیوم سبب کاهش فعالیت فتوشیمیایی PSII و PSI در برگ توت و نیز محدودیت انتقال الکترون خطی در PSII شد (Huihui et al., 2020). نتایج پژوهش دیگری نشان داد تجمع فلز سرب در ریشه گیاه کلزا بیش‌تر از ساقه است و سبب مهار فعالیت آنزیم‌ها، اختلال در تغذیه و رشد گیاه، آسیب به دیواره سلولی و غشاء شده و با افزایش غلظت سرب در خاک میزان فتوستتزی و رنگدانه‌های فتوستتزی نیز کاهش می‌یابد (Ferreyroa et al., 2017). همچنین نتایج نشان دادند کاربرد خارجی ملاتونین بر تنش فلز سنگین کبالت روی گیاه کلزا سبب بهبود ریخت شناسی گیاه، دستگاه فتوستتزی، تنظیمات اسمزی و دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌شود (Ali et al., 2023). در

سبب کاهش قابل توجهی در تخریب کلروفیل، همراه با سرکوب در سطوح رونوشت ژن‌های مرتبط با پیری شد (Liang et al., 2015). در برگ‌های درخت سیب که ظرفیت فتوسنتزی آن‌ها به علت تنش تا حدی مهار شد، ملاتونین توانست کارایی فتوسیستم II را در شرایط تاریکی و روشنایی بهبود بخشد، همچنین به برگ اجازه داد تا ظرفیت بالاتری را برای جذب CO₂ و هدایت روزنه‌ای ایجاد کند (Wang et al., 2013). تأثیر مثبت استفاده از ملاتونین بر رنگدانه‌های فتوسنتزی و افزایش مراکز واکنش فتوسیستم II نیز گزارش شده است (Lazar et al., 2013). با توجه به اینکه شاخص‌های فتوسنتزی سنجش‌های مناسبی برای مقایسه پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاهان هستند، در پژوهش حاضر، برای بررسی تأثیر کاهش دهنده احتمالی تنظیم کننده‌های رشد گیاهی ملاتونین و سروتونین بر سمیت سرب، پاسخ‌های فتوسنتزی رقم-های RGS00s (به عنوان رقم مقاوم به تنش‌های غیر زیستی) و دلگان (به عنوان رقم حساس به تنش‌های غیر زیستی) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در قالب آزمایشی فاکتوریل بر پایه طرح کامل تصادفی در چهار تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه لرستان انجام شد. بذره‌های دو رقم از گیاه کلزا (دلگان و RGS00s) از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد. بذرها با محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی و پس از شستشو با آب مقطر به گلدان‌های حاوی پرلیت منتقل شدند.

گلدان‌ها در اتاقک رشد (۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. آبیاری و اضافه کردن محلول غذایی هوگلند با فواصل منظم انجام شد. در هفته ششم، ابتدا تیمارهای ملاتونین و سروتونین به صورت جداگانه به شکل اسپری برگی با غلظت‌های ۱۰۰ میکرومولار سه بار در روز با فواصل ۴ ساعت انجام شد (Huang et al., 2019) به طوری که تمامی اندام‌های هوایی گیاه خیس شدند و همزمان برای اعمال تنش فلز سنگین سرب از نمک استات سرب با غلظت‌های ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر استفاده شد. اعمال تنش به صورت تدریجی و در طی دو مرحله به فاصله زمانی سه روز انجام شد. علت این امر ایجاد سازگاری بهتر گیاه با تنش فلز سنگین و جلوگیری از بروز تنش ناگهانی ناشی از افزودن فلز سنگین بود. در هفته نهم رشد هنگامی که گیاهان آثار ریخت‌شناسی تنش فلز سنگین سرب را نشان دادند، میزان فلورسنس کلروفیل a و تبادلات گازی اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها پس از سنجش داده‌های فلورسنس جهت اندازه‌گیری وزن تر و خشک و سنجش محتوای رنگیزه‌ها جمع‌آوری و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

اندازه‌گیری وزن تر و خشک اندام هوایی

وزن تر نمونه‌ها هنگام برداشت توسط ترازوی دقیق اندازه‌گیری انجام شد و نمونه‌ها تا زمان خشک شدن به مدت ۷۲ ساعت در آون ۷۲ درجه سانتی-گراد قرار گرفتند، سپس وزن خشک آن‌ها نیز اندازه‌گیری شد (Moradi Rikabad et al., 2019).

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی

مقدار ۰/۱ گرم از برگ تازه را وزن کرده و در هاون چینی، با نیتروژن مایع پودر و به خوبی له شد. سپس ۱۰ میلی لیتر استون ۱۰۰ درصد به نمونه اضافه کرده، سپس نمونه ها در دستگاه سانتریفیوژ (مدل Sigma 3-16K، آلمان) با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند. جذب عصاره جدا شده توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل UV-3200, MAPADA، شانگهای) در طول موج‌های ۶۶۲، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد و در نهایت با فرمول‌های زیر میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر نمونه به دست آمد (Lichtentaler, 1987).

$$\text{Chl a} = 11.24 \times A_{662} - 2.04 \times A_{645}$$

$$\text{Chl b} = 20.13 \times A_{645} - 4.19 \times A_{662}$$

$$\text{Carotenoid} = 1000 \times (A_{470} - 1.90 \text{ Chl a} - 63.14 \text{ Chl b}) / 214$$

سنجش تبادلات گازی

برای سنجش فتوسنتز خالص، CO_2 درون سلولی، هدایت روزنه‌ای و تعرق از دستگاه سنجش تبادلات گازی برگ (مدل CI-340 Handheld

photosynthesis system) استفاده شد. اساس کار این دستگاه بر میزان CO_2 مصرفی است و برای رعایت شرایط استاندارد در تمامی تیمارها از برگ‌های دوم و سوم (برگ‌های یک پنجم بالایی گیاه) استفاده شد (Parad et al., 2016).

سنجش فلورسانس کلروفیل a

برای سنجش فاکتورهای فلورسانس کلروفیل (جدول ۱) از محل میانه برگ و بین رگبرگ اصلی و لبه آخرین برگ توسعه یافته هر گیاه از دستگاه فلوریمتر (Pockt PEA, Hansatech, UK) استفاده شد. برای این کار برگ‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شدند و نور قرمز در حد اشباع (۳۰۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه) با LEDهای مخصوص به سطح برگ تابانده شد. پس از ثبت اطلاعات اولیه فلورسانس توسط دستگاه فلوریمتر، فاکتورهای F_m ، F_0 ، F_v ، F_v/F_m ، F_v/F_0 و $\omega_o/(1-\gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC}))$ ، PI total، PI Ins.، F_0/F_m و ω_o ، $\Phi_{po}/(1-\Phi_{po})$ و $\delta_{Ro}/(1-\delta_{Ro})$ تعیین شدند (Yaghoubian et al., 2016).

جدول ۱- شاخص‌های استخراج شده از اطلاعات اولیه فلورسانس کلروفیل a

Table 1- Parameters extracted from the initial information of chlorophyll a fluorescence

تعریف شاخص	شاخص
بیشترین فلورسانس در برگ سازگار شده با تاریکی	F_m
کمترین فلورسانس در برگ سازگار شده با تاریکی	F_0
فلورسانس متغیر در برگ سازگار شده با تاریکی	F_v
بیشترین کارایی عملکرد کوانتومی فتوسنتز II در شرایط سازگار شده با تاریکی	F_v/F_m
شاخص کارایی کمپلکس تجزیه کننده آب در فتوسنتز II	F_v/F_0
شاخص کارایی دستگاه فتوسنتزی از ابتدای فتوسنتز II تا پذیرنده‌های انتهایی فتوسنتز I	PI total
شاخص کارایی مراکز فعال واکنش در فتوسنتز II	$\gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})$
شاخص کارایی واکنش‌های بیوشیمیایی در فتوسنتز II	$\omega_o/(1-\omega_o)$
شاخص کارایی واکنش‌های نوری در فتوسنتز II	$\Phi_{po}/(1-\Phi_{po})$
شاخص کارایی انتقال الکترون از پلاستوکینون احیا شده به پذیرنده‌های نهایی الکترون در فتوسنتز I	$\delta_{Ro}/(1-\delta_{Ro})$

آنالیز آماری

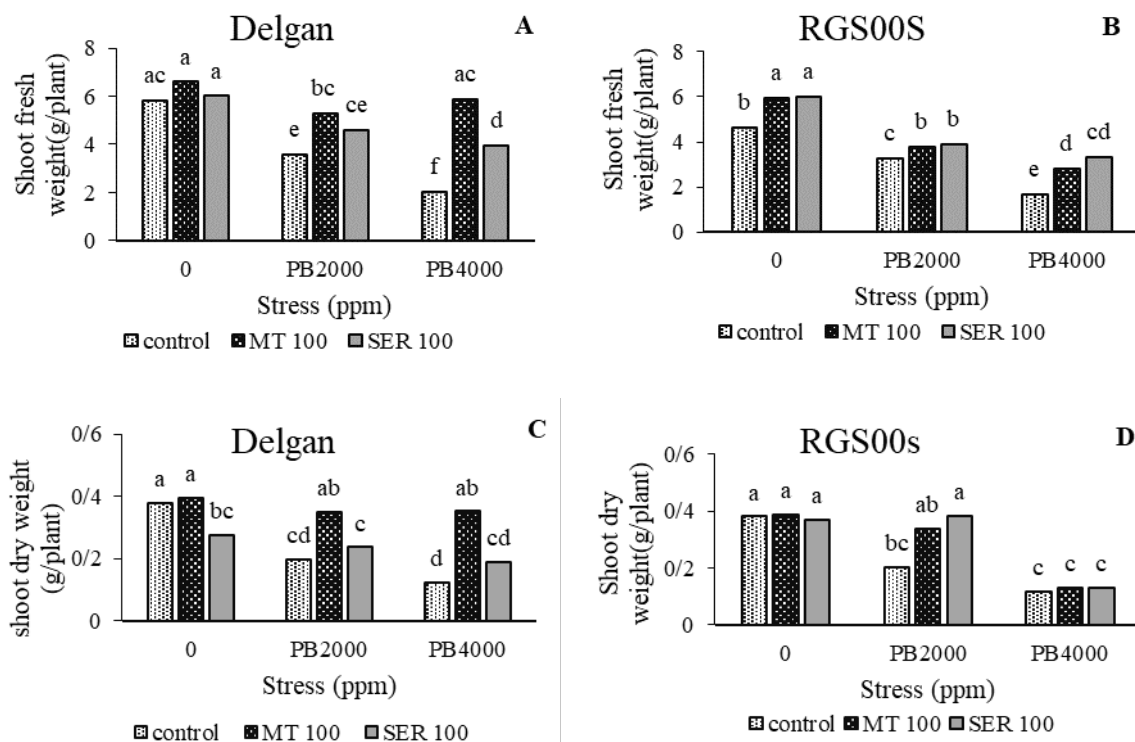
تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS 22، مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن (در سطح پنج درصد) و رسم شکل‌ها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

وزن تر و خشک گیاه

نتایج نشان دادند تنش فلز سنگین سرب میزان وزن تر اندام هوایی را در هر دو رقم کلزا به طور معنی‌داری کاهش داد. به طوری که بیش‌ترین میزان وزن تر در گروه شاهد به ترتیب در رقم‌های RGS00s و

دلگان (۴/۶۲ و ۵/۸ گرم) و کم‌ترین میزان وزن تر در تنش شدید سرب (۱/۶۹ و ۲/۰۱ گرم) مشاهده شد. همچنین با افزایش تنش فلز سنگین سرب میزان وزن خشک اندام هوایی هر دو رقم کلزا کاهش یافت. کاربرد خارجی ملاتونین و سروتونین در هر دو رقم در تنش‌های متوسط و شدید سرب منجر به بهبود وزن خشک اندام هوایی شد. از سوی دیگر، بیش‌ترین وزن خشک در رقم دلگان و RGS00s متعلق به تیمار ملاتونین در تیمار شاهد (بدون تنش سرب) به ترتیب به میزان ۰/۳۹۳ و ۰/۳۸۷ گرم بود (شکل ۱).



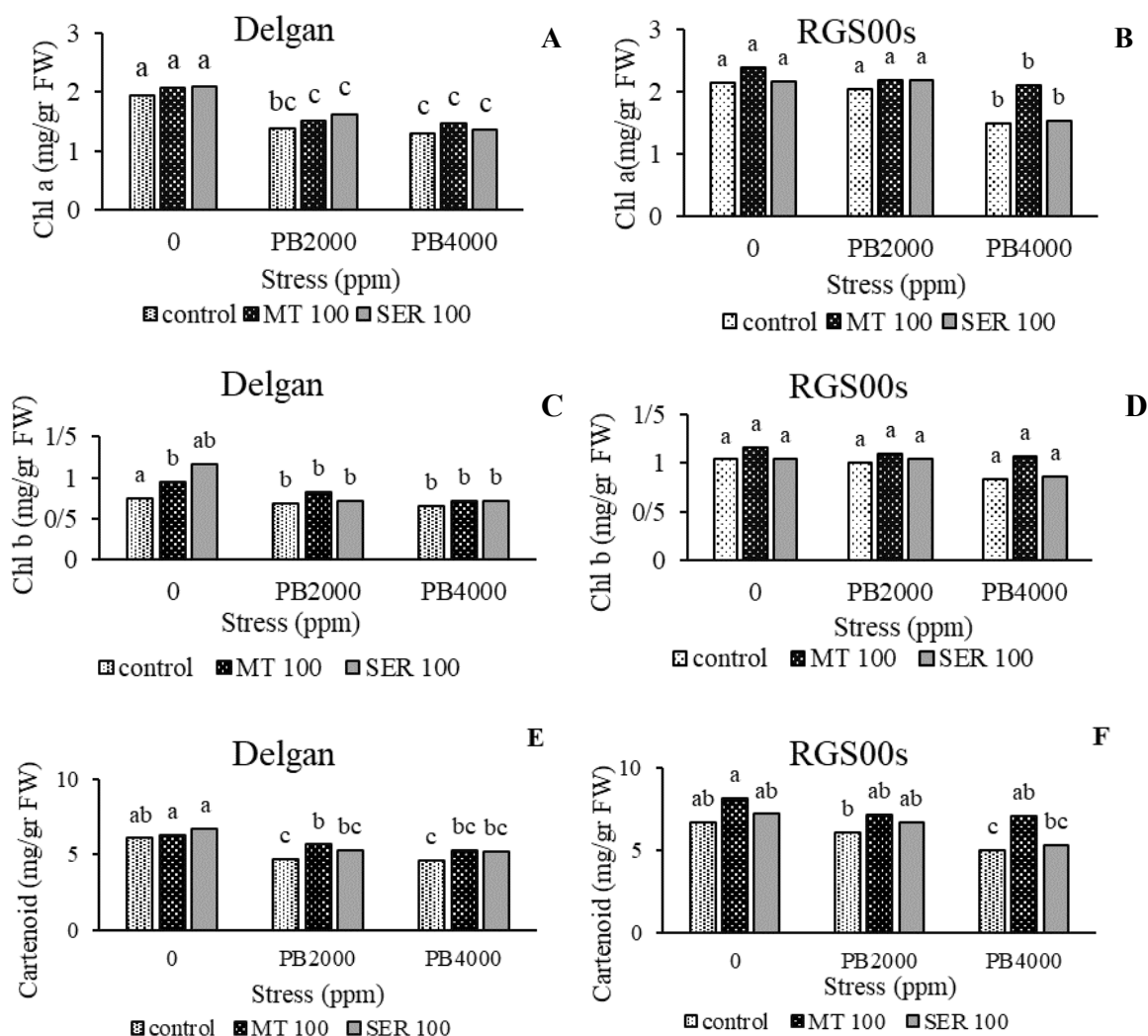
شکل ۱- تأثیر کاربرد برگ‌ری ملاتونین و سروتونین بر وزن تر و خشک گیاه کلزا تحت تنش فلز سنگین. میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (در سطح پنج درصد)

Figure 1- The effect of foliar application of Melatonin (MT) and Serotonin (SER) on shoot fresh and dry weight of *Brassica napus* L. on heavy metal stress. Means with common letters in each column do not have a statistically significant difference (5% level).

شد و این افزایش در تیمار ملاتونین مشهودتر بود. بیشترین محتوای کلروفیل a (۲/۳۹ میلی گرم بر گرم وزن تر)، کلروفیل b (۱/۱۶ میلی گرم بر گرم وزن تر) و کارتنوئید (۸/۱۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) در تیمار ملاتونین در شرایط بدون تنش به دست آمد (شکل ۲).

محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی

تنش فلز سنگین سرب منجر به کاهش میزان کلروفیل‌ها و کارتنوئید در مقایسه با گروه شاهد شد. در رقم RGS00s و در شرایط تنش شدید سرب، کاربرد خارجی ملاتونین و سروتونین سبب افزایش معنی‌دار محتوای کلروفیل a، b و کارتنوئید



شکل ۲- تأثیر کاربرد برگی ملاتونین و سروتونین بر محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی کلزا تحت تنش فلز سنگین. میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (در سطح پنج درصد)

Figure 2- The effect of foliar application of Melatonin (MT) and Serotonin (SER) on photosynthesis pigments content of *Brassica napus* L. on heavy metal stress. Means with common letters in each column do not have a statistically significant difference (5% level).

سروتونین افزایشی بود. بیشترین میزان کلروفیل a (۲/۰۸ میلی گرم بر گرم وزن تر)، کلروفیل b (۰/۹۴

در رقم دلگان نیز، در تیمارهای تحت تنش سرب، محتوای رنگدانه‌ها تحت تأثیر کاربرد ملاتونین و

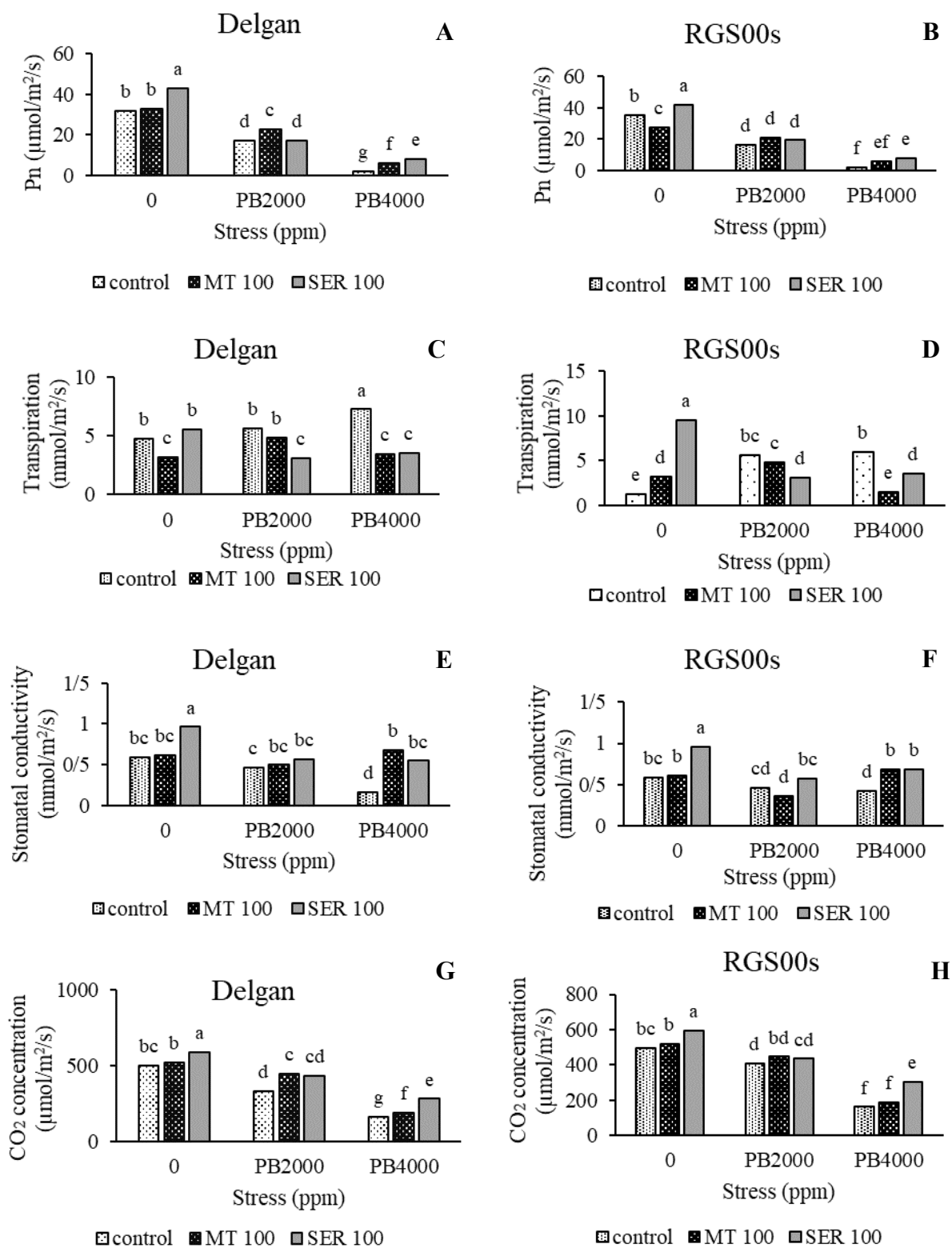
تنش فلز سنگین سرب میزان تعرق را در هر دو رقم RGS00s و دلگان را به طور معنی‌داری افزایش داد و کاربرد ملاتونین و سروتونین تأثیر متفاوتی بر جای گذاشت و در گروه شاهد موجب افزایش و در گروه‌های تنش سبب کاهش میزان تعرق شد. بیش‌ترین مقدار تعرق در رقم RGS00s و دلگان به ترتیب در گروه شاهد (۹/۵۶ و ۷/۲۶ میلی‌مول بر مترمربع بر ثانیه) و کم‌ترین مقدار در تیمار شدید سرب (۱/۲۶ و ۳/۲ میلی‌مول بر مترمربع بر ثانیه) مشاهده شد (شکل ۳). در هر دو رقم در تیمار تنش شدید سرب، افزایش برای رقم RGS00s ۳۶ و در رقم دلگان ۵۲/۴۴ درصد بود (جداول ۲ و ۳).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد هدایت روزنه‌ای هر دو رقم کلزا تحت تنش فلز سنگین سرب بود، به گونه‌ای که با افزایش تنش در هر دو رقم میزان هدایت روزنه‌ای کاهش یافت. بیش‌ترین مقدار هدایت روزنه‌ای در رقم‌های RGS00s و دلگان به ترتیب در تیمار سروتونین در گروه‌های شاهد (۰/۹۶ و ۰/۹۶۱ میلی‌مول بر مترمربع بر ثانیه) و کم‌ترین میزان به ترتیب در تیمار ملاتونین در تنش متوسط و تیمار شدید سرب (۰/۳۶ و ۰/۴۶ میلی‌مول بر مترمربع بر ثانیه) مشاهده شد (شکل ۳). استفاده خارجی ملاتونین و سروتونین در هر دو رقم در هر دو تیمار متوسط و شدید سرب سبب افزایش هدایت روزنه‌ای شد. کاهش هدایت روزنه‌ای در تیمار شدید سرب در رقم دلگان ۷۲/۶۲ درصد و برای رقم RGS00s ۲۸/۶۱ درصد بود (جداول ۲ و ۳).

میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کارتنوئید (۶/۶۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در رقم دلگان، متعلق به تیمار سروتونین در شرایط بدون تنش بود. در شرایط تنش سرب، تیمارهای ملاتونین مقادیر کلروفیل و کارتنوئید بالاتری نسبت به گروه شاهد از خود نشان دادند (شکل ۲).

شاخص‌های تبادلات گازی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد افزایش تنش فلز سنگین سرب منجر به کاهش معنی‌دار نرخ فتوسنتز خالص در هر دو رقم دلگان و RGS00s شد. این کاهش در مقایسه با گروه شاهد در رقم RGS00s برای تیمارهای متوسط و شدید سرب به ترتیب ۵۳/۰۴ و ۹۴/۴۸ درصد و برای رقم دلگان به ترتیب ۴۶ و ۹۳/۹۰ درصد بود (شکل ۳). در هر دو رقم تأثیر تعدیل‌کننده سروتونین و ملاتونین در تیمار تنش شدید فلز سنگین سرب قابل توجه بود و سبب کاهش در روند تأثیر مخرب تنش سرب شد (جداول ۲ و ۳). بیش‌ترین (۴۳/۰۶ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) و کم‌ترین (۱/۹۳ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) میزان فتوسنتز خالص در رقم دلگان به ترتیب متعلق به تیمارهای سروتونین در شرایط بدون تنش و تیمار تنش شدید سرب بود (شکل ۲). بیش‌ترین (۴۱/۷۳ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) و کم‌ترین (۱/۹۳ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) میزان فتوسنتز برای رقم RGS00s نیز در تیمارهای سروتونین در شرایط بدون تنش و تیمار تنش شدید سرب به دست آمد (شکل ۳).



شکل ۳- تأثیر کاربرد برگ‌گی ملاتونین و سروتونین بر شاخص‌های تبادلات گازی کلزا تحت تنش فلز سنگین. میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (در سطح پنج درصد)

Figure 3- The effect of foliar application of Melatonin (MT) and Serotonin (SER) on gas exchange index of *Brassica napus* L. on heavy metal stress. Means with common letters in each column do not have a statistically significant difference (5% level).

و ۵۸۸/۶۶ میکرومول CO₂ بر مترمربع) و کم‌ترین میزان CO₂ در تنش شدید سرب (۱۶۰/۵ و ۱۶۰/۶۶ میکرومول CO₂ بر مترمربع) مشاهده شد. میزان کاهش غلظت CO₂ در تنش شدید برای رقم RGS00s ۶۷/۶۷ درصد و برای رقم دلگان ۶۵/۱ درصد بود (شکل ۳).

با افزایش تنش فلز سنگین سرب روند کاهشی معنی‌داری در مقدار CO₂ درونی هر دو رقم گیاه کلزا مشاهده شد. در تنش سرب، استفاده خارجی سروتونین و ملاتونین در رقم دلگان و RGS00s سبب افزایش غلظت CO₂ درونی شد، به طوری که بیش‌ترین مقدار CO₂ در تیمار سروتونین در گروه شاهد به ترتیب در رقم RGS00s و دلگان (۵۹۵/۳۳)

جدول ۲- درصد تغییرات شاخص‌های تبادلات گازی کلزا با کاربرد برگ‌گی ملاتونین و سروتونین تحت تنش فلز سنگین در رقم RGS00s.

Table 2- Percentage changes of gas exchange indices of *Brassica napus* L. with foliar application of melatonin and serotonin under heavy metal stress in RGS00s CV.

Traits	Treatment	Percent	
		Stress (ppm)	
		2000 Pb	4000 Pb
Photosynthetic rate ($\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)	0	-53.04	-94.48
	Melatonin	-23.90	-78.76
	Serotonin	-53.67	-80.43
Transpiration ($\text{mmol}/\text{m}^2/\text{s}$)	0	-34.73	-36.42
	Melatonin	-51.04	-54.16
	Serotonin	-67.94	-63.06
Stomatal conductance ($\text{mmol}/\text{m}^2/\text{s}$)	0	-21.43	-28.61
	Melatonin	-3.43	-11.17
	Serotonin	-40.65	-29.28
CO ₂ Int. ($\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2$)	0	-17.84	-67.67
	Melatonin	-14.35	-63.78
	Serotonin	-62.79	-48.76

Means with common letters in each column do not have a statistically significant difference (5% level).

جدول ۳- درصد تغییرات شاخص‌های تبادلات گازی کلزا با کاربرد برگ‌گی ملاتونین و سروتونین تحت تنش فلز سنگین در رقم دلگان.

Table 3- Percentage changes of gas exchange indices of *Brassica napus* L. with foliar application of melatonin and serotonin under heavy metal stress in Delgan CV.

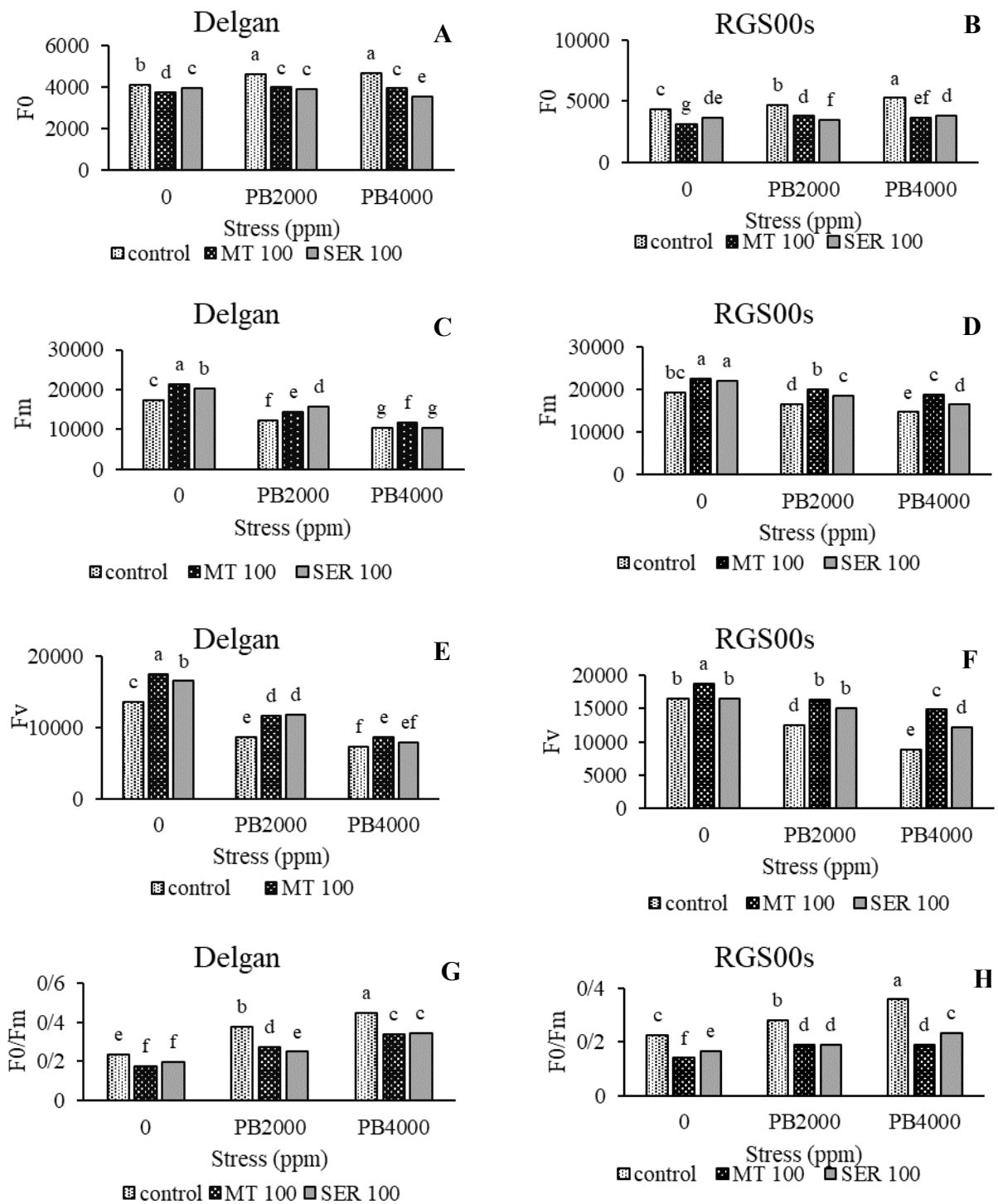
Traits	Treatment	Percent	
		Stress (ppm)	
		2000 Pb	4000 Pb
Photosynthetic rate ($\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)	0	-46.00	-93.90
	Melatonin	-31.19	-82.21
	Serotonin	-59.75	-81.03
Transpiration ($\text{mmol}/\text{m}^2/\text{s}$)	0	-18.18	-52.44
	Melatonin	-51.04	-8.33
	Serotonin	-44.91	-36.52
Stomatal conductance ($\text{mmol}/\text{m}^2/\text{s}$)	0	-21.43	-72.62
	Melatonin	-18.91	-11.17
	Serotonin	-40.65	-43.15
CO ₂ Int. ($\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2$)	0	-17.84	-65.1
	Melatonin	-14.35	-63.78
	Serotonin	-27.09	-48.76

Means with common letters in each column do not have a statistically significant difference (5% level).

شاخص‌های فلورسانس کلروفیل

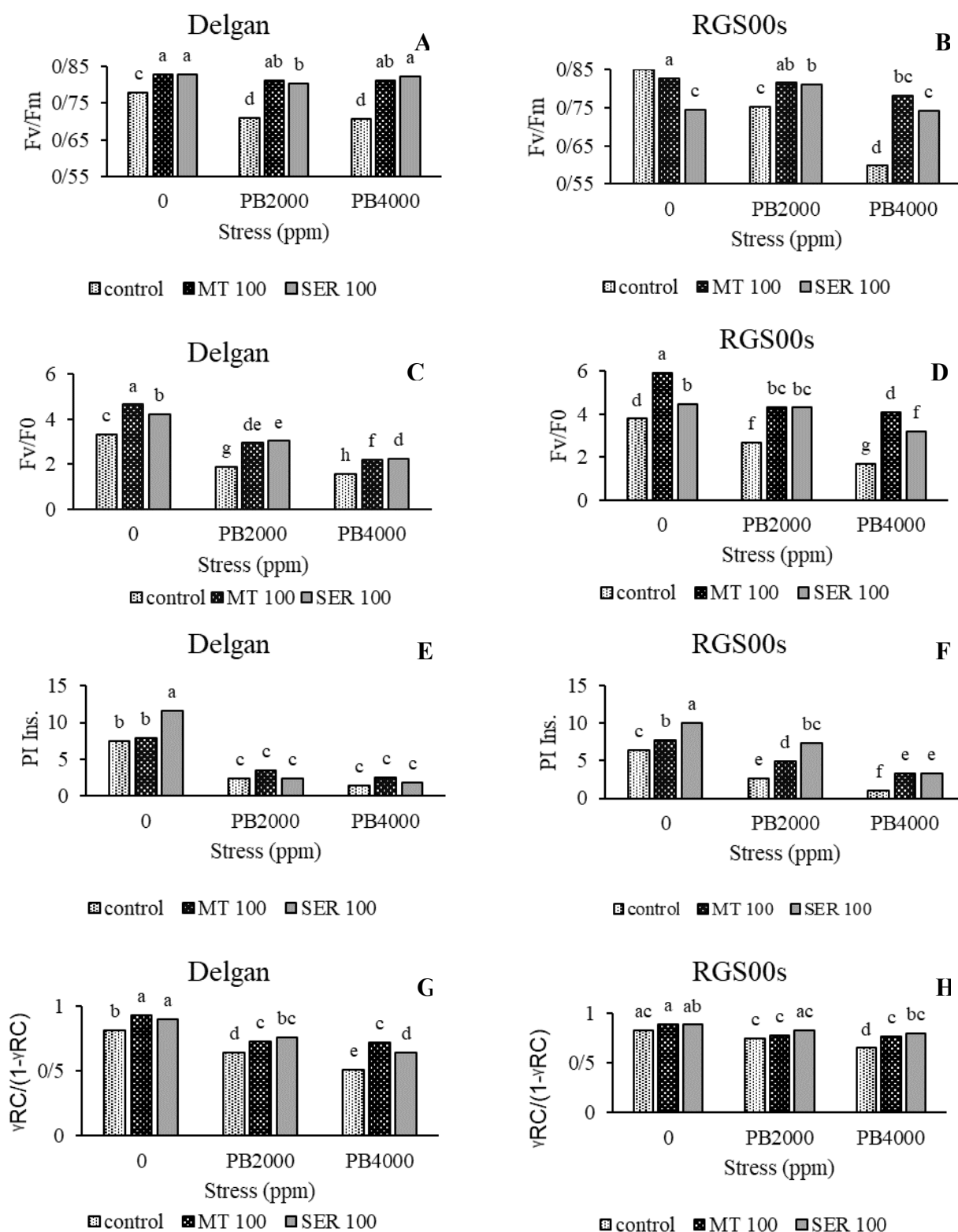
بر اساس نتایج، تنش سرب موجب افزایش کم‌ترین فلورسانس در برگ سازگار شده با تاریکی (F_0) و F_0/F_m شد و کاهش بیش‌ترین فلورسانس در برگ سازگار شده با تاریکی (F_m)، فلورسانس متغیر در برگ سازگار شده با تاریکی (F_v)، بیش‌ترین کارایی عملکرد کوانتومی فتوسیستم II در شرایط سازگار شده با تاریکی (F_v/F_m) و شاخص کارایی کمپلکس تجزیه کننده آب در فتوسیستم II (F_v/F_0) در این شرایط مشاهده شد (شکل‌های ۴، ۵ و ۶). در رقم دلگان بیش‌ترین ($4670/33$) و کم‌ترین (3568) میزان F_0 به ترتیب در تنش شدید سرب و تیمار ملاتونین در تنش شدید مشاهده شد (شکل ۴). در رقم RGS00s نیز تیمار تیمار تنش شدید سرب بیش‌ترین (5255) و در تیمار ملاتونین در تنش متوسط، کم‌ترین (3169) میزان F_0 را ثبت کردند. کاربرد ملاتونین و سروتونین در تمام سطوح موجب افزایش میزان F_m و F_v شد، به طوری که در رقم دلگان بیش‌ترین مقادیر برای تیمار ملاتونین در غیاب تنش سرب (به ترتیب $21262/67$ برای F_m و $17519/33$ برای F_v) مشاهده شد (شکل ۴). در رقم RGS00s، بیش‌ترین F_m ($22636/67$) و F_v (18749) در تیمار ملاتونین در تیمار غیاب تنش و کم‌ترین میزان F_m ($14720/67$) و F_v (8785) تحت تنش شدید سرب به دست آمد. در رقم دلگان بیش‌ترین میزان F_0/F_m ($0/445888$) در تنش شدید سرب و بیش‌ترین میزان F_v/F_m ($0/823587$) در تیمار سروتونین در تنش شدید سرب و بیش‌ترین میزان F_v/F_0 ($4/6479$) در تیمار ملاتونین در غیاب تنش سرب مشاهده شد. در غیاب ملاتونین و

سروتونین در تیمار تنش شدید سرب، بیش‌ترین میزان F_0/F_m ($0/35$)، در تیمار شاهد و بدون تنش، بیش‌ترین میزان F_v/F_m ($0/851$) و تیمار ملاتونین در گروه شاهد، بیش‌ترین میزان F_v/F_0 ($5/9211$) را در رقم RGS00s به خود اختصاص دادند (شکل ۴). در رقم دلگان بیش‌ترین میزان PI Ins. ($1/838$)، شاخص کارایی دستگاه فتوسنتزی از ابتدای فتوسیستم II تا پذیرنده‌های انتهایی فتوسیستم I (PI total) ($16/3739$)، شاخص کارایی مراکز فعال واکنش در فتوسیستم II ($0/9347$) ($\gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})$)، شاخص کارایی واکنش‌های بیوشیمیایی در فتوسیستم II ($4/1326$) ($\omega_0/(1-\omega_0)$) در تیمار ملاتونین و سروتونین در گروه شاهد وجود داشت. همچنین در همین تیمار، بیش‌ترین میزان شاخص کارایی واکنش‌های نوری در فتوسیستم II ($\Phi_{po}/(1-\Phi_{po})$) و شاخص کارایی انتقال الکترون از پلاستوکینون احیاء شده به پذیرنده‌های نهایی الکترون در فتوسیستم I ($3/0114$) ($\delta_{Ro}/(1-\delta_{Ro})$) مشاهده شد (شکل ۵). بیش‌ترین میزان PI Ins. ($10/017$)، PI total ($14/0691$) ($\gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})$)، ($891/0$) ($\omega_0/(1-\omega_0)$)، ($3/6973$) ($\Phi_{po}/(1-\Phi_{po})$) و ($006/4$) ($\delta_{Ro}/(1-\delta_{Ro})$) در تیمار سروتونین در گروه شاهد را در رقم RGS00s به خود اختصاص دادند. با افزایش تنش سرب کلیه فاکتورهای فتوسنتزی ذکر شده روند کاهشی را نشان دادند، به طوری که کمترین مقادیر این داده‌ها در تیمار 4000 سرب مشاهده شد. همچنین کاربرد سروتونین و ملاتونین در کلیه تیمارهای تحت تنش سرب منجر به افزایش فاکتورهای فتوسنتزی اندازه-گیری شده شد (شکل ۶).



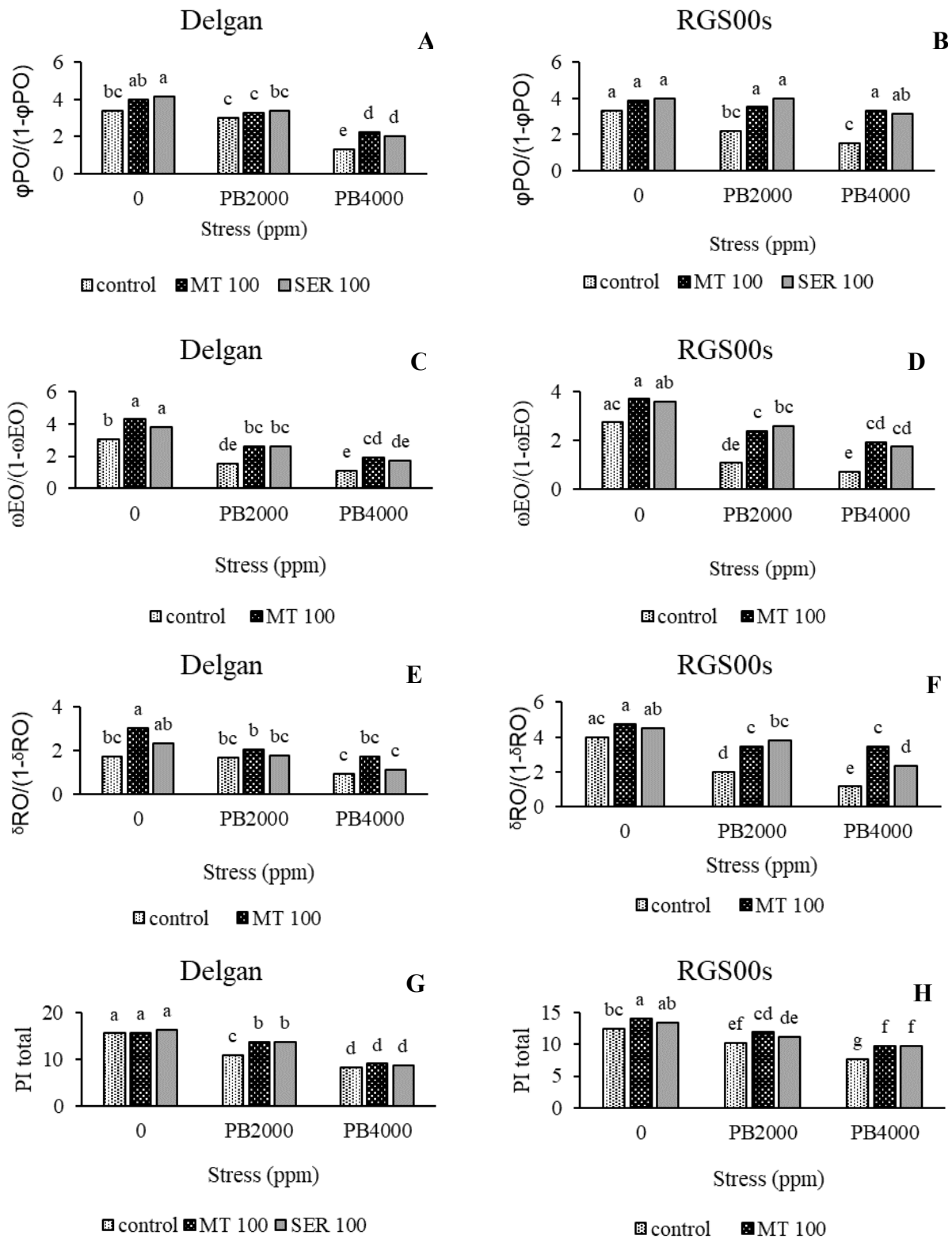
شکل ۴- تأثیر کاربرد برگی ملاتونین و سروتونین بر شاخص‌های کلروفیل فلورسانس کلزا تحت تنش فلز سنگین. میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (در سطح پنج درصد)

Figure 4- The effect of foliar application of Melatonin (MT) and Serotonin (SER) on chlorophyll fluorescence index of *Brassica napus* L. on heavy metal stress. Means with common letters in each column do not have a statistically significant difference (5% level).



شکل ۵- تأثیر کاربرد برگ‌گی ملاتونین و سروتونین بر شاخص‌های کلروفیل فلورسانس کلزا تحت تنش فلز سنگین. میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (در سطح پنج درصد)

Figure 5- The effect of foliar application of Melatonin (MT) and Serotonin (SER) on chlorophyll fluorescence index of *Brassica napus* L. on heavy metal stress. Means with common letters in each column do not have a statistically significant difference (5% level).



شکل ۶- تأثیر کاربرد برگی ملاتونین و سروتونین بر شاخص‌های کلروفیل فلورسانس کلزا تحت تنش فلز سنگین. میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (در سطح پنج درصد)

Figure 6- The effect of foliar application of Melatonin (MT) and Serotonin (SER) on chlorophyll fluorescence index of *Brassica napus* L. on heavy metal stress. Means with common letters in each column do not have a statistically significant difference (5% level).

بحث

قرار گرفتن گیاهان در معرض سطوح سمی فلزات سنگین با تاثیر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی منجر به کاهش رشد می‌شود. نتایج پژوهش حاضر با نتایج سایر پژوهشگران مینی بر کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی با افزایش فلز سنگین سرب مطابقت دارد (Ma et al., 2022; Farooq et al., 2022). وزن تر گیاه، به عنوان نماد عملکرد رشد گیاهی در نظر گرفته می‌شود و هر عاملی که تاثیر مهاری بر رشد داشته باشد، سبب کاهش وزن گیاه می‌شود. علت اصلی کاهش وزن اندام هوایی در شرایط آلودگی خاک با فلزات سنگین، کاهش رشد ریشه در نتیجه توسعه نامناسب سلول‌های ریشه و کاهش انتقال آب و مواد غذایی به قسمت‌های هوایی گیاه بیان شده است (Tagliotti et al., 2021; Bhat et al., 2019). مطابق با پژوهش حاضر، در بررسی دو رقم گیاه کلزا گزارش شده است که استفاده خارجی ملاتونین ۵ و ۱۰ میکرومولار سبب بهبود رشد کلزا در تنش ۵۰ یا ۱۰۰ میکرومولار کروم شده و این افزایش در اثر استفاده خارجی بهبود دهنده‌های سروتونین و ملاتونین به افزایش بیوسنتز میزان فیتوهورمون‌ها از جمله اکسین و سیتوکینین و تسهیل جذب مواد غذایی نسبت داده شده است (Ayyaz et al., 2021). سطح کلروفیل به طور مستقیم ظرفیت فتوسنتزی و رشد گیاهان را منعکس می‌کند. تعداد زیادی از نتایج نشان دادند شرایط تنشی سبب کاهش محتوای کلروفیل در برگ گیاه می‌شود (Huihui et al., 2020). استرس ناشی از سرب مستقیماً منجر به کاهش تعداد کلروپلاست یا اختلال ساختاری کلروپلاست می‌شود، تخریب

کلروفیل را تسریع می‌بخشد و ظرفیت فتوسنتزی را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Zolfiqar et al., 2019; Liu et al., 2021). در پژوهش حاضر، تنش فلز سنگین سرب سبب کاهش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل‌ها و کاروتنوئید) در هر دو رقم گیاه کلزا شد که با نتایج ارائه شده درباره محتوای کلروفیل گیاهان خردل و علف شور در پاسخ به فلزات سنگین مطابقت دارد (Sun et al., 2018; Sheetal et al., 2016). تغییرات محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت تاثیر تنش سرب در رقم دلگان در مقایسه با رقم RGS00s مشخص تر بود و به نظر می‌رسد رقم دلگان از این نظر به تنش فلز سنگین سرب حساس تر است. پژوهشگران گزارش کردند تنش فلزات سنگین از یک سو با افزایش فعالیت آنزیم تجزیه کننده کلروفیل (کلروفیلاز) سبب افزایش تخریب کلروفیل می‌شود و از سوی دیگر محتوای پیش‌سازهای رنگدانه‌های فتوسنتزی دلتاآمینولولینیک اسید دهیدراتاز (δ -ALA) را کاهش می‌دهند (Jahan et al., 2020). نتایج این پژوهش با مشاهدات ارائه شده در رابطه با تاثیر تنش فلز سنگین کروم، کادمیوم، آلومینیوم بر گیاه کلزا مشابه است (Sami et al., 2020). استفاده خارجی ملاتونین به ویژه در تیمار شدید سرب، منجر به افزایش محتوای قابل ملاحظه رنگیزه‌های فتوسنتزی در رقم RGS00s شد، در حالی که چنین افزایشی در رقم دلگان مشاهده نشد. در هر دو رقم کلزای مورد پژوهش، اسپری برگی سروتونین در شرایط کنترل و تحت سطوح مختلف تنش سرب تاثیر معنی‌داری بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی نداشت. ملاتونین آگزوژن سرعت فتوسنتز را تحت سمیت فلزات سنگین با تحریک آنزیم‌های درگیر

(2017) در مورد گیاهان کلم و کاهو تحت تنش سرب و نیز در مورد گیاه نخود (Hayat, et al 2021) تحت تنش کادمیوم و مس مشابه هستند. کاهش Pn می‌تواند به کاهش توانایی کربوکسیلاسیون سلول‌های مزوفیل‌ها نسبت داده شود. علاوه بر این، ساختار کلروپلاست ارتباط نزدیکی با فتوسنتز دارد و هرچه تعداد گرانا‌های کلروپلاست بیشتر باشد، چینش لاملاهای گرانا متراکم‌تر و ظرفیت فتوسنتزی قوی‌تر است. این نتایج نشان دادند کاهش Pn تحت تنش متوسط و شدید سرب عمدتاً ناشی از کاهش فعالیت فتوسنتزی سلول‌های مزوفیل با محدودیت غیر روزنه‌ای است (Qin et al., 2023).

در پژوهش حاضر، نرخ فعال فتوسنتز رقم دلگان با افزایش تنش سرب کاهش بیشتری را نسبت به رقم RGS00s نشان داد، بنابراین به نظر می‌رسد رقم دلگان به تنش فلز سنگین سرب حساس‌تر است که با نتایج تغییرات محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی همخوانی دارد. نرخ فعال فتوسنتز می‌تواند توسط عوامل روزنه‌ای یا غیر روزنه‌ای محدود شود. وقتی نرخ فعال فتوسنتز و محتوای CO₂ درونی در یک جهت تغییر کنند و همزمان هر دو کاهش یابند، این کاهش نرخ فعال فتوسنتز، عمدتاً توسط عوامل روزنه‌ای ایجاد می‌شود و کاهش هدایت روزنه‌ای منجر به کاهش CO₂ درونی می‌شود. در غیر این صورت این تغییر به کاهش توانایی کربوکسیلاسیون سلول‌های مزوفیل نسبت داده می‌شود. در این پژوهش، هم راستا با نتایج (Qin et al. 2023) کاهش نرخ فعال فتوسنتز با کاهش محتوای CO₂ درونی و هدایت روزنه‌ای همراه بود. در نتیجه

در مسیر فتوسنتزی و بیوسنتز رنگدانه بهبود می‌بخشد. محلول‌پاشی ملاتونین با کاهش تخریب کلروفیل با مهار فعالیت آنزیم‌های کلروفیل‌از و فتوفوربیداکسیژناز (PAO) از یک سو و افزایش فعالیت ALAD- δ ، RuBisco و در نتیجه افزایش محتوای ALA- δ از سوی دیگر، منجر به افزایش محتوای کلروفیل گیاهان تحت تنش فلزات سنگین می‌شود (Al-Huqail et al., 2020). این نقش مثبت ملاتونین در افزایش سنتز کلروفیل ممکن است به نقش آن در بیوسنتز پورفیرین‌ها، گلیسین و سوکسینیل-کوآنزیم آ با تنظیم فعالیت δ -آمینولولینات سنتاز نسبت داده شود. همچنین ملاتونین با افزایش سطح فردوکسین از تجزیه کلروفیل‌ها جلوگیری می‌کند. از آنجایی که فردوکسین‌ها تولید بیش از حد الکترون‌های پرانرژی را از زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی کاهش می‌دهند، در نهایت با کاهش ROS از کلروفیل‌ها محافظت می‌کنند (Lin et al., 2013). سایر پژوهش‌ها نشان دادند تیمار ملاتونین می‌تواند محتوای کلروفیل را در جو (Wang et al., 2022) و کلزا (Ayyaz et al., 2021) تحت تنش سرب حفظ کند.

فلزات سنگین به علت تغییر در روابط آبی گیاه با کاهش فشار تورژسانس و تغییر در توزیع کلسیم، پتاسیم و هورمون آبسزیک اسید، هدایت روزنه‌ای را در گیاه تحت تنش کاهش می‌دهند. در پژوهش حاضر، تنش فلز سنگین سرب سبب کاهش نرخ فعال فتوسنتز، تعرق، غلظت CO₂ درونی و هدایت روزنه‌ای در هر دو رقم گیاه کلزا شد که با پژوهش‌های (Tan et al. 2022) و (Silva et al.

کاهش نرخ فعال فتوسنتز تحت تنش سرب عمدتاً به علت عوامل روزنه‌ای است. پژوهش‌های قبلی نشان دادند انتقال CO_2 مزوفیل تحت تأثیر فلز سنگین قرار می‌گیرد. بدین صورت که تنش روی منجر به کاهش ۴۴ درصدی هدایت روزنه‌ای CO_2 شد و احتمالاً عوامل متعددی از جمله تغییر ریخت‌شناسی کلروپلاست و سلول‌های نگهبان و برهمکنش کم‌تر بین کلروپلاست و غشاء سلول‌ها مسئول انتقال کم‌تر CO_2 مزوفیلی هستند (Sagardoy et al., 2010). استفاده خارجی تعدیل‌کننده‌های ملاتونین و سروتونین در گیاهان تحت تنش فلز سنگین سرب به ویژه در تیمار شدید تنش سرب، منجر به افزایش معنی‌دار نرخ فعال فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، محتوای CO_2 درونی، تعرق در هر دو رقم مورد بررسی شد. نتایج ما مبنی بر تأثیر بهبود دهنده سروتونین بر شاخص‌های فتوسنتزی با نتایج Liu et al. (2021) بر روی گیاه کلزا تحت تنش شوری همخوانی دارد.

فلورسانس کلروفیل یکی از قابل اطمینان‌ترین روش‌ها برای تعیین پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاهان که تحت تنش‌های محیطی قرار می‌گیرند است. مولفه‌های فلورسانس کلروفیل شامل F_0 (کم‌ترین فلورسانس در برگ سازگار شده با تاریکی)، F_m (بیش‌ترین فلورسانس در برگ سازگار شده با تاریکی)، F_v (فلورسانس متغیر در برگ سازگار شده با تاریکی) و F_v/F_m (بیش‌ترین کارایی عملکرد کوانتومی فتوسیستم II در شرایط سازگار شده با تاریکی) هستند. در حالت طبیعی فیزیولوژیکی این مقدار نسبتاً پایدار و حدود ۰/۸ است که با افزایش درجه تنش کم می‌شود. این

کاهش در شرایط تنش ممکن است به علت آسیب به مرکز واکنش فتوسیستم II و کاهش میزان حفاظت نوری باشد که کاهش محتوای کاروتنوئیدها در این پژوهش این موضوع را تایید می‌کند (Zhu et al., 2021; Banks, 2017). در این پژوهش، مقدار F_v/F_m در هر دو رقم کلزا در شرایط کنترل حدود ۰/۸ بود که با افزایش تنش سرب این مقدار کاهش یافت که نتایج مشابهی در گیاه *Miscanthus floridulus* تحت تنش سرب گزارش شده است (Qin et al., 2023; Hachani et al., 2021). در پژوهش دیگری، مشخص شد ملاتونین تغییراتی را در بازده فتوسنتزی ایجاد کرد و سبب بهبود تحمل به تنش کروم در کلزا (*Brassica napus*) شد و مشاهده شد تنش کروم تعداد مرکز واکنش فعال را کاهش داد، در حالی که مراحل بعدی برای زنجیره انتقال الکترون کم‌تر تحت تأثیر قرار گرفتند و همچنین، شاخص کارایی دستگاه فتوسنتزی از ابتدای فتوسیستم II تا پذیرنده‌های انتهایی فتوسیستم I (PI_{total}) در هر دو شرایط تنش و محلول‌پاشی به وضوح متمایز بود (Ayyaz et al., 2020). در پژوهش حاضر، مشاهده شد با افزایش میزان تنش، مقدار کم‌ترین فلورسانس در برگ سازگار شده با تاریکی (F_0) هر دو رقم کلزا افزایش یافت. این در حالی است که مقایسه بین دو رقم کلزا نشان دادند F_0 در رقم RGS00s دارای میانگین بالاتری نسبت به رقم دلگان است. در حقیقت مقدار F_0 هر چه کم‌تر باشد، نشان دهنده فعالیت فتوسنتزی مطلوب‌تر و آغاز انتقال الکترون و تثبیت سریع‌تر کربن است و مقدار F_0 بالاتر نشان از آسیب به زنجیره انتقال الکترون در اثر کاهش ظرفیت Q_A و عدم اکسیداسیون کامل آن به علت

دهد، که کاربرد ملاتونین و سروتونین مقادیر PI و ارتباط احتمالی بین ET0/RC را افزایش دهد (Ayyaz et al., 2020). در پژوهش حاضر، تأثیر بهبود دهندگی ملاتونین همانند پژوهش‌های سایر محققان در فاکتورهای فلورسانس دیده شد. محلول‌پاشی ملاتونین همچنین فتوسنتز گیاهان را با برخی از مسیرهای محرک زیستی و تنظیم کارایی فتوسیستم II در شرایط خاص نور و تاریکی تحت تأثیر قرار می‌دهد. علاوه بر این با اتصال به لیگاندهای متالوئیدی مثل پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها و اسیدهای آلی سمیت فلزات را کاهش می‌دهد و از آنجایی که سروتونین هم متابولیت واسطه ملاتونین است و هم شباهت ساختاری با آن دارد احتمال می‌رود با سازوکارهای مشابه و یا با تبدیل به ملاتونین فاکتورهای مربوط به فتوسنتز را بهبود بخشیده و از این طریق منجر به تقویت فرآیند فتوسنتز شده است (Ayyaz et al., 2020; Farooq et al., 2020). تمام تنش‌های غیر زنده از جمله تنش فلزات سنگین سبب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) می‌شوند. در حالی که ROS برای رشد و عملکرد به عنوان پیام رسان‌های ثانویه در انتقال سیگنال مورد نیاز است (Baxter et al., 2014)، اما غلظت بالای آن می‌تواند منجر به مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی، ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی در غشای سلولی، دنا توره شدن پروتئین، اکسیداسیون کربوهیدرات، تجزیه رنگدانه و اختلال در فعالیت آنزیمی شود (Bose et al., 2014). کلروپلاست‌ها و میتوکندری‌ها منبع اصلی تولید ROS در سلول‌های گیاهی هستند و به واسطه فرآیندهای فتوسنتزی و تنفسی، ROS تولید می-

جریان کندتر الکترون است. بنابراین احتمال می‌رود رقم RGS00s آسیب بیشتری را در فتوسیستم خود تجربه کرده است. اگرچه در این پژوهش مشاهده شد رقم دلگان کاهش بیش تری در میزان بیش ترین فلورسانس در برگ سازگار شده با تاریکی (F_m) داشته است. بنابراین با افزایش تنش سرب از کارایی کم تری در مقایسه با رقم RGS00s برخوردار است و این نتیجه را که رقم دلگان به تنش سرب حساس تر است را تأیید می‌کند. در این آزمایش در هر دو رقم کلزا مشاهده شد که در شرایط تنش میزان فلورسانس متغیر (F_v) و نسبت F_v/F_0 (شاخص کارایی کمپلکس تجزیه کننده آب در فتوسیستم II) کاهش یافته و این کاهش می‌تواند به علت مهار الکترون و جلوگیری از انتقال الکترون از سمت دهنده‌ی الکترون در فتوسیستم II به گیرنده-های اولیه الکترون شامل مولکول‌های Q_A و Q_B در فتوسیستم II باشد (Komarkova et al., 2022; Esmailzahi et al., 2023). تأثیر تنش سرب بر کاهش F_v/F_0 توسط سایر پژوهشگران هم گزارش شده که با نتایج حاضر مطابقت دارد (Qin et al., 2023). استفاده خارجی ملاتونین با افزایش تجمع ملاتونین در کلروپلاست با توجه به ویژگی آنتی-اکسیدانی (Lei et al., 2020) و تنظیم سیستم انتقال الکترون مانند بهبود خاموش کردن غیر فتوشیمیایی و یا خاموش کردن فتوشیمیایی منجر به بهبود نسبت F_v/F_0 می‌شود (Qin et al., 2023; Lei et al., 2017; Fleita-Soriano et al., 2022) و به این ترتیب از آسیب به کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی جلوگیری می‌کند. PI حساس ترین فاکتور فلورسانس است و تغییرات ساختاری را نشان می-

ملاتونین در تنش فلزات سنگین، از تخریب رنگدانه‌ها جلوگیری می‌کند که به بهبود فرآیند کلی فتوسنتز کمک می‌کند (Mizushima et al., 2019). کاربرد ملاتونین خارجی نرخ ردوکس PQ را افزایش و در نهایت تأثیر تنش را کاهش می‌دهد. در گیاهان تیمار شده با ملاتونین مقادیر F_0 کاهش یافته و در نتیجه راندمان انتقال الکترون از کمپلکس آنتن به واکنش PSII مرکز افزایش می‌یابد، در حالی که مقادیر F_m (حداکثر فلورسانس) نیز تحت تنش سرب کاهش یافت که کاهش انتقال الکترون به PSII را نشان می‌دهد و نشان دهنده تغییرات القایی در نرخ کاهش QA است. محلول پاشی ملاتونین و سروتونین، گیاهان را قادر می‌سازد تا تعادل خود را در حالت ردوکس پلاستوکینون با انتقال الکترون به PSI حفظ کنند (Ayyaz et al., 2020).

جمع بندی

استفاده ملاتونین و سروتونین با تأثیر مثبت بر ویژگی‌های رشدی، شاخص‌های کلروفیل فلورسانس و فاکتورهای تبادلات گازی در دو رقم RGS00s و دلگان کلزا هم در گروه شاهد و هم در گروه تیماری تنش سرب، سبب کاهش تأثیر منفی تنش بر این ویژگی‌ها شد. استفاده ملاتونین و سروتونین منجر به افزایش وزن تر و خشک گیاه در هر دو رقم شد. همچنین استفاده از این ترکیبات منجر به افزایش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل a، کلروفیل b و کارنوئید شد. بررسی فاکتورهای تبادلات گازی در رقم دلگان نشان داد اگرچه ملاتونین و سروتونین موجب

کنند. شواهد تأیید می‌کنند ملاتونین یک آنتی‌اکسیدان مستقیم با طیف گسترده است که می‌تواند ROS را با میزان بالایی از بین ببرد (Zhang et al., 2015). علاوه بر این، مشخص شده که ملاتونین سطح رونوشت آنزیم فتوفورید A اکسیژناز (PAO) که آنزیم کلیدی دیگری در تخریب کلروفیل است را مهار می‌کند (Wang et al., 2013). یکی دیگر از پدیده‌های رایج مشاهده شده ناشی از کاربرد برون‌زای ملاتونین، افزایش سطح برگ است، وضعیتی که به نفع فرآیند فتوسنتز است (Campos et al., 2019). این فرآیند شامل بهبود حفظ تورگور سلولی و تعادل آب در سلول-های مزوفیل توسط ملاتونین است، که این شرایط در هدایت روزنه‌ای منعکس می‌شود (Antoniou et al., 2020; Li et al., 2017). ملاتونین همچنین متابولیت‌های تثبیت کربن و مسیرهای متابولیسم کربن را با تعدیل بیان RuBisCO (ریبولوز بیس فسفات کربوکسیلاز)، FBA (فروکتوز-بیس فسفات آلدولاز)، FBP (فروکتوز ۱،۶-بیس فسفات آلدولاز)، RPI (ریبوز ۵-فسفات ایزومراز) و SEBP (سدوهپتولوز-۱،۷-بیس فسفاتاز) تنظیم می‌کند (Liang et al., 2019). برای عملکرد کارآمد فتوسنتز، تبادل گازی بسیار مهم است، تیمار ملاتونین بر این فرآیند نیز تأثیر داشته و منجر به افزایش طول و عرض روزنه در گیاهان شده و همه این پدیده‌ها منجر به بهبود رسانایی روزنه، تبادل گازی بهتر و افزایش ظرفیت فتوسنتزی می‌شوند (Li et al., 2015). از سوی دیگر، ملاتونین در بازیابی محتوای کلروفیل، با تنظیم پائین بیان آنزیم‌های کلروفیلاز (CHLASE) که تخریب کننده کلروفیل است نقش دارد (Mannino et al., 2021). کاربرد

تحت تأثیر تنش سرب و محلول پاشی ملاتونین و سروتونین قرار گرفتند و بهترین نتایج در گروه تیمار شده با ترکیبات بهبوددهنده به ثبت رسید، بنابراین بر اساس نتایج، محلول پاشی برگ‌گی ملاتونین و سروتونین برای بهبود رشد گیاه کلزا در شرایط تنش سرب می‌تواند قابل توصیه باشد.

References

- Abdel-Motagally, F. M. F., & El-Zohri, M. (2018). Improvement of wheat yield grown under drought stress by boron foliar application at different growth stages. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(2), 178-185. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.03.005>
- Ahmad, R., Manzoor, M., Muhammad, H. M. D., Altaf, M. A., & Shakoar, A. (2023). Exogenous melatonin spray enhances salinity tolerance in *Zizyphus* germplasm: a brief theory. *Life*, 13(2), 493. <https://doi.org/10.3390/life13020493>
- Al-Huqail, A. A., Khan, M. N., Ali, H. M., Siddiqui, M. H., Al-Huqail, A. A., AlZuaibr, F. M., & Al-Humaid, L. A. (2020). Exogenous melatonin mitigates boron toxicity in wheat. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 201, 110822. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110822>
- Ali, S., Gill, R. A., Ulhassan, Z., Zhang, N., Hussain, S., Zhang, K., & Zhou, W. (2023). Exogenously applied melatonin enhanced the tolerance of *Brassica napus* against cobalt toxicity by modulating antioxidant defense, osmotic adjustment, and expression of stress response genes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 252, 114624. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114624>
- Amari, T., Ghnaya, T., & Abdelly, C. (2017). Nickel, cadmium and lead phytotoxicity and potential of halophytic plants in heavy metal extraction. *South African Journal of Botany*, 111, 99-110. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.03.011>
- Antoniou, C., Chatzimichail, G., Xenofontos, R., Pavlou, J. J., Panagiotou, E., Christou, A., & Fotopoulos, V. (2017). Melatonin systemically ameliorates drought stress-induced damage in *Medicago sativa* plants by modulating nitro-oxidative homeostasis and proline metabolism. *Journal Pineal Research*, 62, 12401. <https://doi.org/10.1111/jpi.12401>
- Asadi, S., Moghaddam, M., Ghasemi Pirbalouti, A., & Fotovat, A. (2019). Evaluation of physiological characteristics and antioxidant activity of sweet basil (*Ocimum basilicum* cv. Keshkeni luvelou) under different levels of methyl jasmonate and lead toxicity. *Journal of Plant Environmental Physiology*, 51, 1-16. <https://sid.ir/paper/185672/fa> [In Persian].
- Ayyaz, A., Amir, M., Umer, S., Iqbal, M., Bano, H., Saima Gul, H., Noor, Y., Kanwal, A., Khalid, A., Javed, M., Athar, H. R., Ullah Zafar, Z., & Farooq, M. A. (2020). Melatonin induced changes in photosynthetic efficiency as probed by OJIP associated with improved chromium stress tolerance in canola (*Brassica napus* L.). *Heliyon*, 6, 04364. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.04364>
- Ayyaz, A., Noor, Y., Bano, H., Ghani, M. A., Javed, M., Iqbal, M., & Farooq, M. A. (2021). Effects of exogenously applied melatonin on growth, photosynthesis, ion accumulation and antioxidant capacity of rapeseed (*Brassica napus* L.) under chromium

- stress. *Pakistan Journal of Botany*, 53(5), 1561-1570. [http://doi.org/10.30848/PJB2021-5\(25\)](http://doi.org/10.30848/PJB2021-5(25))
- Banks, J. M. (2017). Continuous excitation chlorophyll fluorescence parameters: a review for practitioners. *Tree Physiology*, 37(8), 1128-1136. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpx059>
- Baxter, A., Mittler, R., & Suzuki, N. (2014). ROS as key players in plant stress signaling. *Journal of Experimental Botany*, 65, 1229-1240. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert375>
- Baycu, G., Gevrek-Kürüm, N., Moustaka, J., et al., (2017). Cadmium-zinc accumulation and photosystem II responses of *Noccaea caerulescens* to Cd and Zn exposure. *Environmental Science and Pollutant Control*, 24, 2840-2850. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-8048-4>
- Bhat, J., Akhter, S. M., Singh, P., Navadagi, B., Tripathi, D., Dash, K., Solanke, U., Sonah, H., & Deshmukh, R. (2019). Role of silicon in mitigation of heavy metal stresses in crop plants. *Plants*, 8(3), 71-82. <https://doi.org/10.3390/plants8030071>
- Bose, J., Rodrigo-Moreno, A., & Shabala, S. (2014). ROS homeostasis in halophytes in the context of salinity stress tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 65, 1241-1257. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert430>
- Campos, C. N., Avila, R. G., de Souza, K. R. D., Azevedo, L. M., & Alves, J. D. (2019). Melatonin reduces oxidative stress and promotes drought tolerance in young *Coffea arabica* L. plants. *Agricultural Water Management*, 211, 37-47. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.09.025>
- Chakraborty, S., & Newton, A. C. (2011). Climate change, plant diseases and food security: an overview. *Plant Pathology*, 60(1), 2-14. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02411.x>
- Chiango, H., Figueiredo, A., Sousa, L., Sinclair, T., & da Silva, J. M. (2021). Assessing drought tolerance of traditional maize genotypes of Mozambique using chlorophyll fluorescence parameters. *South African Journal of Botany*, 138, 311-317. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.01.005>
- Dradrach, A., Iqbal, M., Lewińska, K., Jędrozka, N., Rana, M. A. K., & Tanzeem-ul-Haq, H. S. (2022). Effects of soil application of chitosan and foliar melatonin on growth, photosynthesis, and heavy metals accumulation in wheat growing on wastewater polluted soil. *Sustainability*, 14(14), 8293. <https://doi.org/10.3390/su14148293>
- Eisa, E. A., Honfi, P., Tilly-Mandy, A., & Mirmazloum, I. (2023). Exogenous melatonin application Induced morpho-physiological and biochemical regulations conferring salt tolerance in *Ranunculus asiaticus* L. *Horticulturae*, 9(2), 228. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9020228>
- Eslam, B. P. (2018). Evaluation of physiological and agronomic characteristics related to drought tolerance in spring rapeseed. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 8, 295. <https://jcesc.um.ac.ir/index.php/arable/article/view/62800>
- Esmailzahi, A., Mehrban, A., Mobaser, H., Ganjali, H. R., & Miri, K. (2023). Quantitative and qualitative response of quinoa cultivars to irrigation cycle and nanofertilizer. *Crop Science Research in Arid Regions*, 4(2), 559-576. <https://doi.org/10.22034/csrar.2023.318837.1164>
- Farooq, T. H., Rafay, M., Basit, H., Shakoob, A., Shabbir, R., Riaz, M. U., & Jaremko, M. (2022). Morpho-physiological growth performance and phytoremediation capabilities of selected xerophyte grass species toward Cr and Pb stress. *Frontiers in Plant Science*, 13, 997120. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.997120>
- Ferreiroa, G. V., Lagorio, M. G., Trinelli, M. A., Lavado, R. S., & Molina, F. V. (2017). Lead effects on *Brassica napus* photosynthetic organs. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 140, 123-

130.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.02.031>
- Fleta-Soriano, E., Díaz, L., Bonet, E., & Munne-Bosch, S. (2017). Melatonin may exert a protective role against drought stress in maize. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 203(4), 286-294.
<https://doi.org/10.1111/jac.12201>
- Gavrilescu, M. (2022). Enhancing phytoremediation of soils polluted with heavy metals. *Current Opinion in Biotechnology*, 74, 21-31.
<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.10.024>
- Guadie, A., Yesigat, A., Gatew, S., Worku, A., Liu, W., Ajibade, F. O., & Wang, A. (2021). Evaluating the health risks of heavy metals from vegetables grown on soil irrigated with untreated and treated wastewater in Arba Minch, Ethiopia. *Science of the Total Environment*, 761, 143302.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143302>
- Hachani, C., Lamhamedi, M. S., Zine El Abidine, A., Abassi, M., Khasa, D. P., & Bejaoui, Z. (2021). Water relations, gas exchange, chlorophyll fluorescence and electrolyte leakage of ectomycorrhizal *Pinus halepensis* seedlings in response to multi-heavy metal stresses (Pb, Zn, Cd). *Microorganisms*, 10(1), 57.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms10010057>
- Hayat, K., Khan, A., Bibi, F., Murad, W., Fu, Y., Batiha, G. E. S., & Al-Harrasi, A. (2021). Effect of cadmium and copper exposure on growth, physio-chemicals and medicinal properties of *Cajanus (Pigeon pea)*. *Metabolites*, 11(11), 769.
<https://doi.org/10.3390/metabo11110769>
- Hemmati Hassan Gavyar, P., Amiri, H., Arnao, M. B., & Bahramikia, S. (2023). Morphophysiological and biochemical responses of *Crocus sativus* during the interaction of melatonin and drought stress. *Iranian Journal of Plant Biology*, 14(2), 91-108.
<https://doi.org/10.22108/ijpb.2023.138544.1329> [In Persian].
- Huang, B., Chen, Y. E., Zhao, Y. Q., Ding, C. B., Liao, J. Q., Hu, C., & Yuan, M. (2019). Exogenous melatonin alleviates oxidative damages and protects photosystem II in maize seedling under drought stress. *Frontiers in Plant Science*, 10, 677.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00677>
- Huihui, Z., Xin, L., Zisong, X., Yue, W., Zhiyuan, T., Meijun, A., & Guangyu, S. (2020). Toxic effects of heavy metals Pb and Cd on mulberry (*Morus alba* L.) seedling leaves: Photosynthetic function and reactive oxygen species (ROS) metabolism responses. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 195, 110469.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110469>
- Jahan, M. S., Guo, S., Baloch, A. R., Sun, J., Shu, S., Wang, Y., & Roy, R. (2020). Melatonin alleviates nickel phytotoxicity by improving photosynthesis, secondary metabolism and oxidative stress tolerance in tomato seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 197, 110593.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110593>
- Jensen, N. B., Ottosen, C. O., & Zhou, R. (2023). Exogenous melatonin alters stomatal regulation in tomato seedlings subjected to combined heat and drought stress through mechanisms distinct from ABA signaling. *Plants*, 12(5), 1156.
<https://doi.org/10.3390/plants12051156>
- Khan, I., Iqbal, M., Ashraf, M. Y., Ashraf, M. A., & Ali, S. (2016). Organic chelants-mediated enhanced lead (Pb) uptake and accumulation is associated with higher activity of enzymatic antioxidants in spinach (*Spinacea oleracea* L.). *Journal of Hazardous Materials*, 317, 352-361.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.06.007>
- Komarkova, M., Kovalikova, Z., Simek, J., Skarka, A., & Tuma, J. (2022). Physiological and biochemical responses of *Brassica napus* L. cultivars exposed to Cd stress. *Plant Soil and*

- Environment*, 68(9), 431-440.
<https://doi.org/10.17221/148/2022-PSE>
- Lazar, D., Murch, S. J., Beilby, M. J., & Al Khazaaly, S. (2013). Exogenous melatonin affects photosynthesis in characeae *Chara australis*. *Plant Signaling Behavior*, 8, 23279.
<https://doi.org/10.4161/psb.23279>
- Lei, Y., He, H., Raza, A., Liu, Z., Xiaoyu, D., Guijuan, W., & Xiling, Z. (2022). Exogenous melatonin confers cold tolerance in rapeseed (*Brassica napus* L.) seedlings by improving antioxidants and genes expression. *Plant Signaling and Behavior*, 17(1), 2129289.
<https://doi.org/10.1080/15592324.2022.2129289>
- Li, C., Tan, D. X., Liang, D., Chang, C., Jia, D., & Ma, F. (2015). Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behavior in two *Malus species* under drought stress. *Journal of Experimental Botany*, 66, 669-680.
<https://doi.org/10.1093/jxb/eru476>
- Li, D., Wei, J., Peng, Z., Ma, W., Yang, Q., Song, Z., Sun, W., Yang, W., Yuan, L., & Xu, X. (2020). Daily rhythms of phyto-melatonin signaling modulate diurnal stomatal closure via regulating reactive oxygen species dynamics in *Arabidopsis*. *Journal of Pineal Research*, 68, 12640.
<https://doi.org/10.1111/jpi.12640>
- Liang, C., Zheng, G., Li, W., Wang, Y., Hu, B., Wang, H., Wu, H., Qian, Y., Zhu, X. G., & Tan, D. X. (2015). Melatonin delays leaf senescence and enhances salt stress tolerance in rice. *Journal of Pineal Research*, 59, 91-101.
<https://doi.org/10.1111/jpi.12243>
- Liang, D., Ni, Z., Xia, H., Xie, Y., Lv, X., Wang, J., Lin, L., Deng, Q., & Luo, X. (2019). Exogenous melatonin promotes biomass accumulation and photosynthesis of kiwifruit seedlings under drought stress. *Science Horticultural*, 246, 34-43.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.10.058>
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382.
[https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
- Lin, X. Q., Li, Z. L., Zhu, Y. Y., Chen, F., Liang, B., Nan, J., & Wang, A. J. (2020). Palladium/iron nanoparticles stimulate tetrabromobisphenol a microbial reductive debromination and further mineralization in sediment. *Environment International*, 135, 105353.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.10.5353>
- Lin, Y. H., Pan, K. Y., Hung, C. H., Huang, H. E., Chen, C. L., Feng, T. Y., & Huang, L. F. (2013). Overexpression of ferredoxin, PETF, enhances tolerance to heat stress in *Chlamydomonas reinhardtii*. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(10), 20913-20929.
<https://doi.org/10.3390/ijms141020913>
- Liu, Y., Ding, X., Lv, Y., Cheng, Y., Li, C., Yan, L., & Zou, X. (2021). Exogenous serotonin improves salt tolerance in rapeseed (*Brassica napus* L.) seedlings. *Agronomy*, 11(2), 400.
<https://doi.org/10.3390/agronomy11020400>
- Ma, J., Saleem, M. H., Ali, B., Rasheed, R., Ashraf, M. A., Aziz, H., & Marc, R. A. (2022). Impact of foliar application of syringic acid on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) under heavy metal stress-insights into nutrient uptake, redox homeostasis, oxidative stress, and antioxidant defense. *Frontiers in Plant Science*, 13, 950120.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.950120>
- Ma, Y., Rajkumar, M., Zhang, C., & Freitas, H. (2016). Beneficial role of bacterial endophytes in heavy metal phytoremediation. *Journal of Environmental Management*, 174, 14-25.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.02.047>
- Mahmoudi, F., Shikhzadehmosadegh, P., Zare, N., & Esmailpour, B. (2023). Effect of seed pretreatment with salicylic acid on seed germination, growth and biochemical indices of quinoa seedlings (*Chenopodium quinoa*

- willd.) under cadmium stress. *Journal of Plant Biological Sciences*, 15(1), 1-26. <https://doi.org/10.22108/IJPB.2024.138548.1330> [In Persian].
- Mannino, G., Pernici, C., Serio, G., Gentile, C. & Berteau, C. M. (2021). Melatonin and phytemelatonin: Chemistry, biosynthesis, metabolism, distribution and bioactivity in plants and animals-An overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(18), 9996. <https://doi.org/10.3390/ijms22189996>
- Mir, A. R., Alam, P., & Hayat, S. (2022). Perspective of melatonin-mediated stress resilience and Cu remediation efficiency of *Brassica juncea* in Cu-contaminated soils. *Frontiers in Plant Science*, 13, 910714. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.910714>
- Mitra, S., Chakraborty, A. J., Tareq, A. M., Emran, T. B., Nainu, F., Khusro, A. & Simal-Gandara, J. (2022). Impact of heavy metals on the environment and human health: Novel therapeutic insights to counter the toxicity. *Journal of King Saud University-Science*, 34(3), 101865. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.101865>
- Mizushima, M., Ferreira, B., França, M., Almeida, A. A., Cortez, P., Silva, J., Jesus, R., Prasad, M., & Mangabeira, P. (2019). Ultrastructural and metabolic disorders induced by short-term cadmium exposure in *Avicennia schaueriana* plants and its excretion through leaf salt glands. *Plant Biology*, 21, 844-853. <https://doi.org/10.1111/plb.12992>
- Mlinaric, S., Antunovic Dunic, J. & Skendrovic Babojelic, M. (2017). Differential accumulation of photosynthetic proteins regulates diurnal photochemical adjustments of PSII in common fig (*Ficus carica* L.) leaves. *Journal of Plant Physiology*, 209, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.12.020>
- Moradi Rikabad, M. M., Pourakbar, L., Moghaddam, S. S., & Popović-Djordjević, J. (2019). Agrobiological, chemical and antioxidant properties of saffron (*Crocus sativus* L.) exposed to TiO₂ nanoparticles and ultraviolet-B stress. *Industrial Crops and Products*, 137, 137-143. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.017>
- Parad, G. A., Tabari Kouchaksaraei, M., Striker, G. G., Sadati, S. E., & Nourmohammadi, K. (2016). Growth, morphology and gas exchange responses of two-year-old *Quercus castaneifolia* seedlings to flooding stress. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 31(5), 458-466. <https://doi.org/10.1080/02827581.2015.1072240>
- Pelagio-Flores, R. & Lopez-Bucio, J. (2016). Serotonin and melatonin in plant growth and development, In G. A. Ravishankar, & A. Rmakrishna (Eds.) *Serotonin and Melatonin: Their Functional Role in Plants, Food, Phytomedicine, and Human Health*. (pp. 97-110). CRC Press.
- Pourrut, B., Shahid, M., Dumat, C., Winterton, P., & Pinelli, E. (2011). Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 213, 113-136. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9860-6_4
- Qasemi, S. H., Mostafavi, K., Khosroshahli, M., Bihamta, M. R. & Ramshini, H. (2022). Genotype and environment interaction and stability of grain yield and oil content of rapeseed cultivars. *Food Science and Nutrition*, 10(12), 4308-4318. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3023>
- Qin, J., Jiang, X., Qin, J., Zhao, H., Dai, M., Liu, H., & Chen, X. (2023). Effects of lead pollution on photosynthetic characteristics and chlorophyll fluorescence parameters of different populations of *Miscanthus floridulus*. *Processes*, 11, 1562. <https://doi.org/10.3390/pr11051562>
- Rabonatahiry, N., Li, H., Yu, L., & Li, M. (2021). Rapeseed (*Brassica napus*): Processing, utilization, and genetic improvement. *Agronomy*, 11(9), 1776.

- <https://doi.org/10.3390/agronomy11091776>
- Rizwan, M., Ali, S., Rizvi, H., Rinklebe, J., Tsang, D. C., Meers, E. & Ishaque, W. (2016). Phytomanagement of heavy metals in contaminated soils using sunflower: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 46(18), 1498-1528. <https://doi.org/10.1080/10643389.2016.1248199>
- Rosca, M., Cozma, P., Minut, M., Hlihor, R. M., Bețianu, C., Diaconu, M., & Gavrilăscu, M. (2021). New evidence of model crop *Brassica napus* L. in soil clean-up: comparison of tolerance and accumulation of lead and cadmium. *Plants*, 10(10), 2051. <https://doi.org/10.3390/plants10102051>
- Sabagh, A. E., Mbarki, S., Hossain, A., Iqbal, M. A., Islam, M. S., Raza, A., & Farooq, M. (2021). Potential role of plant growth regulators in administering crucial processes against abiotic stresses. *Frontiers in Agronomy*, 3, 648694. <https://doi.org/10.3389/fagro.2021.648694>
- Sagardoy, R., Vazquez, S., Florez-Sarasa, I. D., Albacete, A., Ribas-Carbo, M., Flexas, J., & Morales, F. (2010). Stomatal and mesophyll conductances to CO₂ are the main limitations to photosynthesis in sugar beet (*Beta vulgaris*) plants grown with excess zinc. *New Phytologist*, 187(1), 145-158. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03241.x>
- Sami, A., Shah, F. A., Abdullah, M., Zhou, X., Yan, Y., Zhu, Z., & Zhou, K. (2020). Melatonin mitigates cadmium and aluminum toxicity through modulation of antioxidant potential in *Brassica napus* L. *Plant Biology*, 22(4), 679-690. <https://doi.org/10.1111/plb.13093>
- Sharma, A., Kumar, V., Shahzad, B., Ramakrishnan, M., Singh Sidhu, G. P., Bali, A. S., & Zheng, B. (2020). Photosynthetic response of plants under different abiotic stresses: a review. *Journal of Plant Growth Regulation*, 39, 509-531. <https://doi.org/10.1007/s00344-019-10018-x>
- Sheetal, K. R., Singh, S. D., Anand, A., & Prasad, S. (2016). Heavy metal accumulation and effects on growth, biomass and physiological processes in mustard. *Indian Journal of Plant Physiology*, 21, 219-223. <https://doi.org/10.1007/s40502-016-0221-8>
- Sher, A., Hassan, M. U., Sattar, A., Ul-Allah, S., Ijaz, M., Hayyat, Z., & Qayyum, A. (2023). Exogenous application of melatonin alleviates the drought stress by regulating the antioxidant systems and sugar contents in sorghum seedlings. *Biochemical Systematics and Ecology*, 107, 104620. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2023.104620>
- Shi, J., Zufen, X., Tao, P., Hongyan, L., Kewen, H., Dingyou, L., & Tingyou, H. (2020). Effects of melatonin-treated *Nasturtium officinale* on the growth and cadmium accumulation of subsequently grown rice seedlings. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 101(14), 1-9. <https://doi.org/10.1080/03067319.2019.1700972>
- Silva, S., Pinto, G., & Santos, C. (2017). Low doses of Pb affected *Lactuca sativa* photosynthetic performance. *Photosynthetica*, 55(1), 50-57. <https://doi.org/10.1007/s11099-016-0220-z>
- Sun, X., Xu, Y., Zhang, Q., Li, X., & Yan, Z. (2018). Combined effect of water inundation and heavy metals on the photosynthesis and physiology of *Spartina alterniflora*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 153, 248-258. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.02.010>
- Tagliotti, M. E., Deperi, S. I., Bedogni, M. C., & Huarte, M. (2021). Genome-wide association analysis of agronomical and physiological traits linked to drought tolerance in a diverse potato *Solanum tuberosum* panel. *Plant Breeding*, 140(4), 654-664. <https://doi.org/10.1111/pbr.12938>
- Tan, Z., Wu, C., Xuan, Z., Cheng, Y., Xiong, R., Su, Z., & Wang, D. (2022).

- Lead exposure dose-dependently affects oxidative stress, AsA-GSH, photosynthesis, and mineral content in pakchoi (*Brassica chinensis* L.). *Frontiers in Plant Science*, 13, 1007276. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1007276>
- Turan, V., Khan, S. A., Iqbal, M., Ramzani, P. M. A., & Fatima, M. (2018). Promoting the productivity and quality of brinjal aligned with heavy metals immobilization in a wastewater irrigated heavy metal polluted soil with biochar and chitosan. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 161, 409-419. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.05.082>
- Wang, K., He, J., Zhao, N., Zhao, Y., Qi, F., Fan, F., & Wang, Y. (2022). Effects of melatonin on growth and antioxidant capacity of naked oat (*Avena nuda* L) seedlings under lead stress. *Peer Journal*, 10, 13978. [10.7717/peerj.13978](https://doi.org/10.7717/peerj.13978)
- Wang, P., Sun, X., Li, C., Wei, Z., Liang, D., & Ma, F. (2013). Long-term exogenous application of melatonin delays drought-induced leaf senescence in apple. *Journal of Pineal Research*, 54, 292-302. <https://doi.org/10.1111/jpi.12017>
- Yadav, S. K. (2010). Heavy metals toxicity in plants: an overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *South African Journal of Botany*, 76(2), 167-179. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2009.10.007>
- Yaghoubian, Y., Siadat, S., Telavat, M. M. & Pirdashti, H. (2016). Quantify the response of purslane plant growth, photosynthesis pigments and photosystem II photochemistry to cadmium concentration gradients in the soil. *Russian Journal of Plant Physiology*, 63(1), 77-84. <https://doi.org/10.1134/S1021443716010180>
- Zhang, N., Sun, Q., Zhang, H., Cao, Y., Weeda, S., Ren, S., & Guo, Y. D. (2015). Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants. *Journal of Experimental Botany*, 66(3), 647-656. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru336>
- Zhang, H. H., Xu, N., & Wu, X. Y. (2018). Effects of 4 kinds of sodium salt stress on plant growth, PSII and PSI function in leaves of Sorghum. *Journal of Plant Interaction*, 13(1), 506-513. <https://doi.org/10.1080/17429145.2018.1526978>
- Zhao, H., Su, T., Huo, L., Wei, H., Jiang, Y., Xu, L., & Ma, F. (2015). Unveiling the mechanism of melatonin impacts on maize seedling growth: Sugar metabolism as a case. *Journal of Pineal Research*, 59, 255-266. <https://doi.org/10.1111/jpi.12258>
- Zhu, H., Teng, Y., Wang, X., Zhao, L., Ren, W., Luo, Y., & Christie, P. (2021). Changes in clover rhizosphere microbial community and diazotrophs in mercury-contaminated soils. *Science of the Total Environment*, 767, 145473. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145473>
- Zulfiqar, U., Farooq, M., Hussain, S., Maqsood, M., Hussain, M., Ishfaq, M., & Anjum, M.Z. (2019). Lead toxicity in plants: Impacts and remediation. *Journal of Environmental Management*, 250, 109557. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109557>

