The effect of melatonin foliar spraying on some phytochemical and antioxidant indices of safflower petals (*Carthamus tinctorius*)

Pages
63-75

F. Balouchi [1] and Gh. Sharifi [2*]

1&2) Department of Agricultural Biotechnology, ShahidBahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

*Corresponding author Email: **sharifi@uk.ac.ir**

Received date: 2025.10.04 **Accepted date: 2026.01.10**

Abstract

Melatonin is known as one of the endogenous cellular regulators that can improve the quantity and quality of the product by affecting the growth and development processes of plants. Considering the importance of secondary plant compounds and their role in physiological characteristics, the aim of this study was to investigate the effects of foliar spraying of melatonin on the contents of total anthocyanins, total phenolics, total flavonoids, and free radical scavenging capacity of safflower petals (*Carthamus tinctorius*). A field study was started in March 2025 in Shahdad region, Kerman province. Foliar spraying was performed on safflower plants twenty days after planting and at the stage of capitulum completion and before the opening of flowers. Experimental treatments included distilled water (control), melatonin at a concentration of 0.25 mM, and melatonin at a concentration of 0.5 mM. Data analysis was performed using a completely randomized design with three replications. The results showed that foliar application of melatonin at concentrations of 0.25 and 0.5 mM significantly increased the levels of various compounds measured in safflower petals (P<0.001). The highest levels of these compounds were observed in samples treated with 0.5 mM melatonin, which was significantly higher than the control. Also, samples treated with 0.25 mM melatonin increased the contents of each compound compared to the control (P<0.001). Based on the findings of this study, foliar application of melatonin at a concentration of 0.5 mM is recommended as an effective method for increasing phenolic, flavonoid, anthocyanin compounds and antioxidant capacity in safflower petals.

Keywords: phenol, flavonoid, anthocyanin, safflower and petals.

اثرمحلول‌پاشی ملاتونین بر برخی شاخص‌های فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی گلبرگ گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius*)

شماره صفحات
۶۳-۷۵

فائزه بلوچی۱ و غلامرضا شریفی۲*

۱ و ۲) گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

*نویسنده مسئول: **sharifi@uk.ac.ir**

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۲۰

چکیده

ملاتونین به عنوان یکی از تنظیم‌کننده‌های درون‌زاد سلولی شناخته می‌شود که با تأثیر بر فرآیندهای رشد و نمو گیاهان می‌تواند موجب بهبود کمیت و کیفیت محصول شود. با توجه به اهمیت ترکیبات ثانویه‌ی گیاهی و نقش آن‌ها در ویژگی‌های فیزیولوژیکی، هدف از این پژوهش بررسی اثر محلول‌پاشی برگی ملاتونین بر میزان آنتوسیانین‌کل، فنول‌کل، فلاونوئیدکل، ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد گلبرگ‌های گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) بود. مطالعه مزرعه‌ای در فروردین‌ماه سال ۱۴۰۴ در منطقه شهداد، استان کرمان آغاز شد. عملیات محلول‌پاشی برگی بر روی گیاهان گلرنگ، بیست روز پس از کاشت و در مرحله تکمیل غوزه‌ها (قبل از باز شدن گل‌ها) انجام‌شد. تیمارهای آزمایشی شامل آب مقطر (شاهد)، ملاتونین با غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار و ملاتونین با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار بودند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار صورت گرفت. نتایج نشان داد که محلول‌پاشی برگی ملاتونین در غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌مولار موجب افزایش معنی‌دار در مقادیر ترکیبات مختلف سنجش شده درگلبرگ‌های گیاه گلرنگ شد (P<۰/۰۰۱). بیشترین میزان این ترکیبات در نمونه‌های تیمار شده با ۰/۵ میلی‌مولار ملاتونین مشاهده شد که افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت. همچنین نمونه‌های تیمار شده با ملاتونین ۰/۲۵ میلی‌مولار هم مقادیر هر یک از ترکیبات را نسبت به شاهد افزایش نشان داده‌اند (P<۰/۰۰۱). بر اساس یافته‌های این تحقیق، محلول‌پاشی با ملاتونین در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار به‌عنوان روشی مؤثر برای افزایش ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی، آنتوسیانینی و ظرفیت آنتی اکسیدانی درگلبرگ‌های گیاه گلرنگ پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین، گلرنگ و گلبرگ.

مقدمه

گلرنگ با نام علمی (*Carthamus tinctorius* L.) گیاهی از تیره کاسنیان است که به صورت بوته‌ای قائم رشد می‌کند. مطالعات ژنتیکی روی جمعیت‌های مختلف گلرنگ در ایران نیز تنوع زیاد در صفات دانه و روغن آن را نشان داده‌اند، که نشانگر قدمت و تنوع ژنتیکی این گونه در کشور است (Panahi, and Ghorbanzadeh Neghab, 2013). گیاه گلرنگ درایران با نام‌های محلی گوناگونی ازجمله گل‌خشت، کافشه، کاجیره و کاژیره شناخته می‌شود ودرزبان انگلیسی آن را Safflower می‌نامند (Özçinar, 2021). این گیاه از دیرباز در طب‌سنتی چین جایگاه ویژه‌ای داشته و به دلیل ویژگی‌های دارویی خاص خود، بیش از دو هزار و پانصد سال است که مورد استفاده قرار می‌گیرد (Li *et al.,* 2013). گل‌های این گیاه دارای ترکیبات رنگی از نوع کالکون‌ها هستند که به رنگ‌های زرد و قرمز مشاهده می‌شوند؛ از جمله سافلاور زرد A و B، سافلامین C، پریکارتامین و کارتامین (Cho and Hahn, 2000). این ترکیبات در واقع اصلی‌ترین فلاونوئیدهای گلیکوزیله‌ی موجود در گلرنگ محسوب می‌شوند که تاکنون در دیگر منابع طبیعی گزارش نشده‌اند (Salem *et al.,* 2014). از بخش‌های مختلف گلرنگ ترکیبات شیمیایی، از جمله آلکانوئیدها، فلاونوئیدها، کینوکالکون‌ها، پلی‌استیلن‌ها، استروئیدها و اسیدهای چرب گوناگونی استخراج شده‌اند. در میان این ترکیبات، فلاونوئیدها و کینوکالکون‌ها به عنوان اجزای فعال و شاخص این گیاه شناخته می‌شوند. گلبرگ‌های گلرنگ نیز به عنوان منبعی از رنگدانه‌های طبیعی در صنایع غذایی و نساجی همچنین در تهیه‌ی دمنوش‌های گیاهی و نیز برای اهداف دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرند. از نظر اثرات دارویی، این گیاه دارای خواص ضددرد، ضدالتهابی، ضددیابتی، آنتی‌اکسیدانی و حتی پادزهری گزارش شده‌است (Asgarpanah and Kazemivash, 2013). در مطالعه‌ای که توسط سالم و همکاران در سال ۲۰۱۱ انجام دادند، نشان دادند که میزان ترکیبات فنولی در طول دوره رشد گیاه تغییر می‌کند و گل‌های گلرنگ می‌توانند به‌عنوان منبعی ارزشمند از ترکیبات زیست‌فعال مورد استفاده قرارگیرند. ترکیبات فنلی به عنوان متابولیت‌های ثانویه در گیاهان عمل می‌کنند و از ساختارهایی چون اسیدهای فنلی، تانن‌ها و لیگنین‌ها تشکیل شده‌اند؛ این ترکیبات به تقویت دیواره‌های سلولی، جذب نور ماورای بنفش و مقابله با عوامل استرس‌زا محیطی کمک می‌کنند (Wilton, 2023). فلاونوئیدها که زیرمجموعه‌ای مهم از ترکیبات فنلی هستند، نقش‌های متعدد و حیاتی در گیاهان دارند؛ از جمله این نقش‌ها می‌توان به محافظت در برابر نور UV، فعال‌سازی مکانیسم‌های دفاعی در برابر عوامل بیولوژیکی (مثل قارچ‌ها و باکتری‌ها)، تنظیم فرآیندهای رشد و نمو گیاه، و حمله به رادیکال‌های آزاداشاره کرد (Kuljarusnont *et al.,* 2024). آنتوسیانین‌ها گروهی از رنگدانه‌های طبیعی محلول در آب از خانواده فلاونوئیدها هستند که رنگ‌های قرمز، بنفش و آبی را در بسیاری از اندام‌های گیاهی مانند گل‌ها، میوه‌ها و برگ‌ها ایجاد می‌کنند. این ترکیبات علاوه بر نقش زیستی در جذب گرده‌افشان‌ها و محافظت در برابر استرس‌های محیطی، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قوی بوده و در سلامت انسان از جمله در کاهش خطر بیماری‌های قلبی–عروقی و التهابات

نقش دارند (He and Giusti, 2010). ملاتونین[1] به‌عنوان یک هورمون در گیاهان شناسایی شده و نقش آن در تنظیم رشد، پاسخ به تنش‌های محیطی و متابولیسم ثانویه گزارش شده‌است. به‌طور مثال، پژوهشی درانگور نشان داد که استفاده از ملاتونین باعث افزایش محتوای فنلکل، فلاونوئید و پروآنتوسیانیدین‌ها شد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را بهبود بخشید در این پژوهش خوشه‌های انگور در مرحله شروع رنگ‌گیری دو بار با محلول ملاتونین ۱۰۰ میکرومولار حاوی ۰/۰۵٪ Triton X-100, و به‌صورت غوطه‌وری کوتاه‌مدت تیمار شدند (Xu *et al.,* 2017). در پژوهش دیگری تخمه‌های کلم سفید و قرمز به‌طور ۱۲ ساعت خیسانده شدند (با ملاتونین در غلظت‌های ۱۰، ۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ µmol/L)، و پس از رشد، درمان با ملاتونین موجب افزایش ۱ تا ۲ برابری میزان آنتوسیانین شد؛ همچنین بیان ژن‌های مسیر بیوسنتز آنتوسیانین (از جمله PAL, CHS, DFR و ...) و فاکتورهای رونویسی تنظیم‌کننده (MYB, bHLH, WD40) افزایش یافت و ظرفیت اسکن‌کنندگی رادیکال‌های آزاد بالا رفت (Zhang *et al.,* 2016). ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، آنتی‌اکسیدان‌ها و آنتوسیانین‌ها، نقش کلیدی در سلامت گیاه و کیفیت محصولات کشاورزی و دارویی دارند و ملاتونین به عنوان یک تنظیم کننده رشد و ماده ضداسترس می‌تواند بر افزایش این ترکیبات زیست‌فعال گلبرگ گیاه گلرنگ تأثیر مثبت داشته باشد. این پژوهش با هدف بررسی اثر محلول پاشی ملاتونین بر ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی، آنتی‌اکسیدانی و آنتوسیانین گلبرگ‌های گلرنگ انجام شده‌است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه گیاهی

به منظور انجام این آزمایش بذرهای گلرنگ رقم گلمهر (*Carthamus tinctorius* L.) در فروردین ماه سال ۱۴۰۴ به صورت کشت در اراضی کشاورزی شهرستان شهداد، استان کرمان با طول جغرافیایی ۵۷/۶۹۹ و عرض جغرافیایی ۳۰/۴۱۸ کشت شدند، به طوری‌که فاصله‌ی هر بوته از بوته‌ی دیگر ۵۰ سانتی متر و آبیاری به صورت غرقابی با آب معمولی صورت گرفت. اعمال تیمار ملاتونین بر روی بوته‌های گلرنگ در سه سطح (شاهد، ۰/۲۵ میلی‌مولار (M1) و ۰/۵ میلی‌مولار (M2)) و به صورت پاششی و ۲۰ روز بعد از کشت (درزمان کامل شدن غوزه ها و قبل از گلدهی) انجام گرفت. پس از باز شدن گلبرگ‌های گلرنگ و نمو کامل آن‌ها نمونه‌ها در ازت مایع ابتدا جمع‌آوری و نگهداری شدند. سپس، در محل آزمایشگاه زیست‌فناوری دانشگاه شهید باهنر کرمان در فریزر در دمای ۸۰- تا زمان انجام آنالیزها نگهداری شدند. با توجه به اینکه در پژوهشی اسپری برگی با غلظت ۰/۵mM ملاتونین بر روی گوجه فرنگی سبب افزایش معنی‌دار در وزن خشک و تازه ساقه و ریشه، افزایش ترکیبات فنولی، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، بهبود مقاومت به شوری، کاهش نشت یونی و بهبود ثبات غشایی برگ شد (Masoumi *et al.,* 2024). همچنین اسپری ملاتونین در غلظت ۰/۱ و ۰/۲ میلی مولار بر روی گیاه سورگوم باعث بهبود مقاومت به شوری؛ کاهش پراکنش H_2O_2

[1]. N-acetyl-5-methoxytryptamine

وMDA، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تثبیت غشاء سلولی و بهبود نسبت یونی (Na^+/K^+) را صورت گرفت (Helal *et al.*, 2024). با توجه به تحقیقات فوق غلظت های ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌مولار برای این تحقیق انتخاب شدند اگر چه احتمال سمیت غلظت‌های بالاتر ملاتونین برای گیاه مورد نظر وجود دارد که نیاز به بررسی دارد. با این حال در مطالعات اخیر درباره ملاتونین در گیاهان تأکید شده که ملاتونین عملکردی چندکاره دارد و اثر آن مانند هر تنظیم‌کننده رشدی وابسته به گونه، مرحله رشد، روش کاربرد، شرایط محیطی و غلظت است؛ بنابراین غلظت بهینه باید برای هر گونه/شرایط تجربه شود (Luo *et al.*,2024).

عصاره‌گیری از نمونه

برای تهیه عصاره از نمونه‌های گیاهی گلبرگ‌های گلرنگ عصاره‌گیری به روش خیساندن صورت گرفت به طوری‌که نمونه مورد نظر از فریزر در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد خارج و در ازت مایع پودر شدند. سپس با حلال اتانول٪۷۵ به نسبت (۱به۱۰) ترکیب و درون فالکون۵۰ به مدت ۲۴ساعت درون شیکرانکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و سرعت ۸۰ دور دردقیقه قرارگرفت. سپس، نمونه مورد نظر با دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار (۲۶/۸۳۲g) به مدت ۱۵دقیقه در دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و از کاغذ صافی واتمن عبور داده شد. عصاره‌های بدست آمده تا زمان انجام تست‌های مختلف داخل فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Ziani *et al.*, 2023).

تعیین آنتوسیانین‌کل

جهت اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین موجود در عصاره، از روش (Wagner, 1979) استفاده شد. جذب نوری عصاره بدست‌آمده در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتری خوانده شد. غلظت آنتوسیانین‌کل با استفاده از فرمول زیر و با در نظر گرفتن ضریب خاموشی(ε) معادل ۳۳۰۰۰ سانتی‌متر بر مول محاسبه شد:

رابطه ۱: $A= \varepsilon bc$

A=جذب خوانده شده، b=عرض کووت،C= غلظت آنتوسیانین

تعیین فنل‌کل

مقدار فنل کل با استفاده از روش فولین–سیوکالتیو (Slinkard and Singleton, 1977) تعیین گردید. به‌طور مختصر، ۰/۱ میلی‌لیتر از هر عصاره با ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین–سیوکالتیو ٪۱۰ مخلوط و پس از ۵ دقیقه، ۰/۴ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ٪۷/۵ به آن افزوده شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و دمای اتاق نگهداری و جذب آنها در طول موج ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. نتایج به صورت معادل میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم عصاره (mg GAE/g) بر اساس منحنی کالیبراسیون گالیک اسید گزارش شدند.

تعیین فلاونوئیدکل

میزان فلاونوئیدکل با روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید تعیین گردید (Chang *et al.*, 2002). برای رسم منحنی استاندارد، محلول‌های کوئرستین با غلظت‌های ۰، ۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تهیه و سپس، ۱ میلی‌لیتر از هر عصاره یا محلول استاندارد با ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار مخلوط شد پس از ۵ دقیقه، ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ٪۹۵ به آن افزوده شد. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۹۰ نانومتر قرائت گردید و نتایج به صورت معادل میلی‌گرم کوئرستین در لیتر عصاره گزارش شد.

اندازه‌گیری توان آنتی‌اکسیدانی با روش مهار رادیکال آزاد DPPH

برای تعیین درصد مهارراديکال آزاد ۳/۹ میلی‌لیتر محلول مرجع DPPH (۰/۰۰۴گرمDPPH در ۱۰۰میلی‌لیتر اتانول ۷۰درصد) با ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک و دمای اتاق نگهداری‌شد و در نهایت با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر جذب آن خوانده‌شد. (برای بلانک کردن دستگاه از محلول اتانول استفاده‌شد) در نهایت درصد بازدارندگی رادیکال DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Moure *et al.*, 2000):

رابطه ۲: فعالیت مهارکنندگی (درصد) = $(A_{کنترل} - A_{نمونه}/A_{کنترل}) * ۱۰۰$

آنالیز آماری

این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی یک‌طرفه با سه تیمار و سه تکرار انجام شد، در این پژوهش برای انجام تحلیل‌های آماری از نرم‌افزار (IBM SPSS Statistics) نسخه ۲۳ استفاده شد. این نرم‌افزار توسط شرکت IBM واقع در ایالات متحده آمریکا توسعه یافته است و یکی از پرکاربردترین نرم‌افزارها در تحلیل داده‌های علوم انسانی، کشاورزی، پزشکی و مهندسی به شمار می‌رود. داده‌ها با تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و از آزمون چند دامنه‌ای دانکن جهت مقایسه میانگین‌های تیمارها استفاده شد.

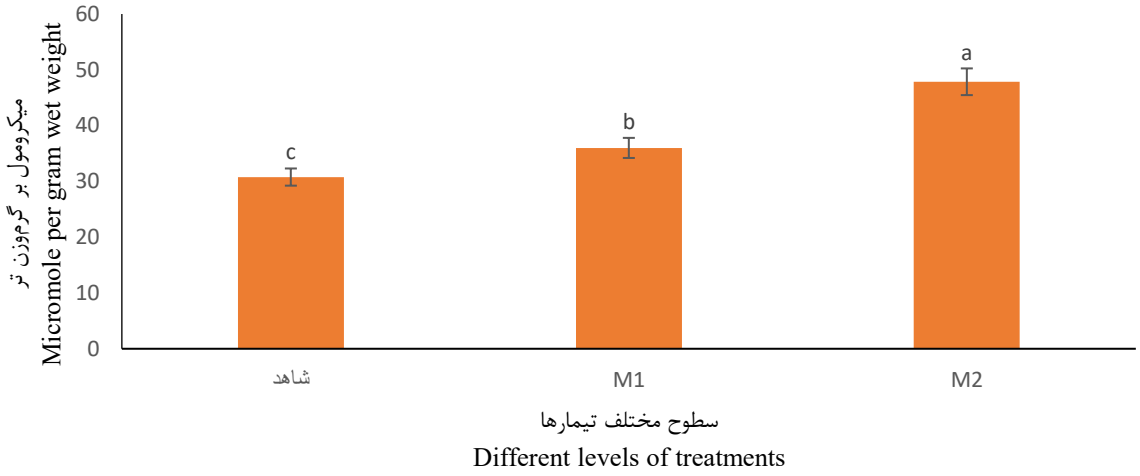
نتایج و بحث

نتایج نشان‌داد که اعمال محلول پاشی ملاتونین بر گلبرگ‌های گلرنگ باعث افزایش معنادار ($P<۰/۰۰۱$) درترکیبات آنتوسیانین‌کل، فنل‌کل، فلاونوئیدکل وفعالیت آنتی‌اکسیدانی در این گیاه شد.

نتوسیانین

در هر دو سطح پاشش ملاتونین، افزایش آنتوسیانین‌کل گلبرگ‌ها، نسبت به شاهد دیده شد. میزان آنتوسیانین با اعمال تیمار۰/۲۵ میلی‌مولار (M1) باعث افزایش ۱/۱۶۹۷ برابری نسبت به شاهد و با اعمال ۰/۵ میلی‌مولار (M2) ۱/۵۵۵ برابر نسبت

به شاهد میزان آنتوسیانین افزایش پیدا کرده‌است (شکل) همچنین آنالیز آماری نشان داد که اختلاف معنی داری در سطح ۰/۰۱ بین تیمارها وجود دارد.



شکل ۱: میزان ترکیبات آنتوسیانین گلبرگ گلرنگ رقم گلمهر بعد از محلول پاشی با ملاتونین (M1 نشان دهنده مقدار این ترکیب در نمونه تیمار شده با سطح۰/۲۵ میلی‌مولار ملاتونین و M2 نمونه تیمار شده با ۰/۵ میلی‌مولار ملاتونین، حروف انگلیسی متفاوت در بالای ستون هر تیمار نشان از تفاوت معنی‌دارآماری در سطح احتمال ۱ درصد است.)

Figure1. Anthocyanin content of safflower petals of Golmehr cultivar after foliar spraying with melatonin(M1 represents the anthocyanin level in the plants treated with 0.25 mM melatonin, and M2 represents the plants treated with 0.5 mM melatonin. Different lowercase letters above the bars indicate statistically significant differences at the 1% probability level.)

فنل

میزان فنل‌کل در سطح ۰/۲۵ میلی مولار ۱/۱۳۴ برابر بیشتر از شاهد و در سطح ۰/۵ میلی‌مولار ۱/۸۶ برابر بیشتر از شاهد اندازه‌گیری شد. همچنین آنالیز داده‌ها، تفاوت معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ را در بین سطوح مختلف پاشش مشخص نمودند و نشان داده‌اند که ملاتونین تاثیر معنی‌داری در میزان ترکیبات فنل‌کل موجود در گلبرگ گلرنگ رقم گلمهر دارد (شکل).

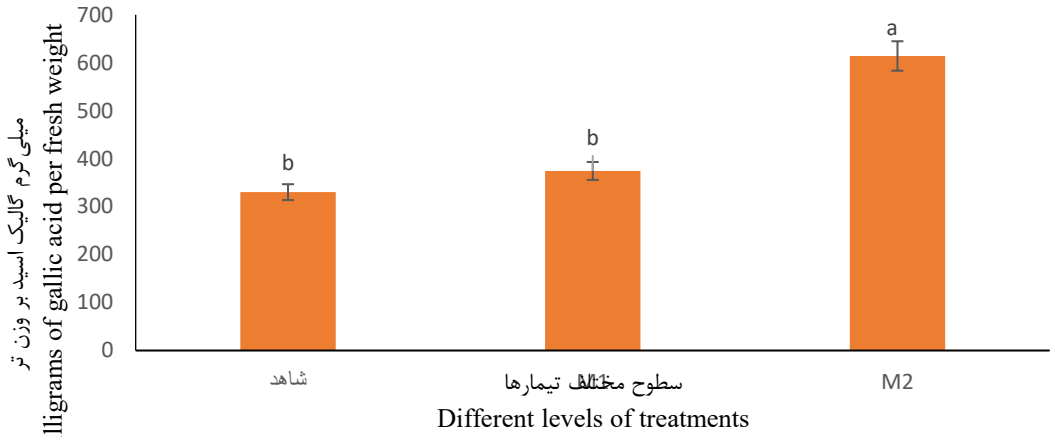
فلاونوئید

استفاده از سطوح ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌مولار ملاتونین موجب افزایش ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه گلرنگ شد که این افزایش در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار بود و نشان‌داد که استفاده از سطح ۰/۲۵ میلی‌مولار باعث افزایش ترکیبات فلاونوئیدی درگلبرگ‌های گلرنگ به میزان ۱/۱۵۴ برابر نسبت به شاهد شد و در سطح ۰/۵ میلی‌مولار باعث افزایش ۱/۲۰۵ برابری نسبت به شاهد شد (شکل۳).

آنتی اکسیدان

میزان ترکیبات آنتی اکسیدان با اعمال تیمار ملاتونین در هر دو سطح افزایش یافت. میزان این ترکیبات در سطح ۰/۲۵ میلی مولار ۸/۵۴ برابر و در سطح ۰/۵ میلی مولار ۹/۶۲ برابر بیشتر از شاهد نشان داده شد. و بیانگر اخلاف معنی‌دار بین

سطوح مختلف تیمار پاشی در سطح۰/۰۱ بود (شکل).



شکل۲: میزان ترکیبات فنل‌کل گلبرگ گلرنگ رقم گلمهر بعد از محلول پاشی با ملاتونین (M1 نشان دهنده مقدار این ترکیب در نمونه تیمار شده با سطح۰/۲۵ میلی‌مولار ملاتونین و M2 نمونه تیمار شده با ۰/۵ میلی‌مولار ملاتونین، حروف انگلیسی متفاوت در بالای ستون هر تیمار نشان از تفاوت معنی‌دارآماری در سطح احتمال ۱ درصد است.)

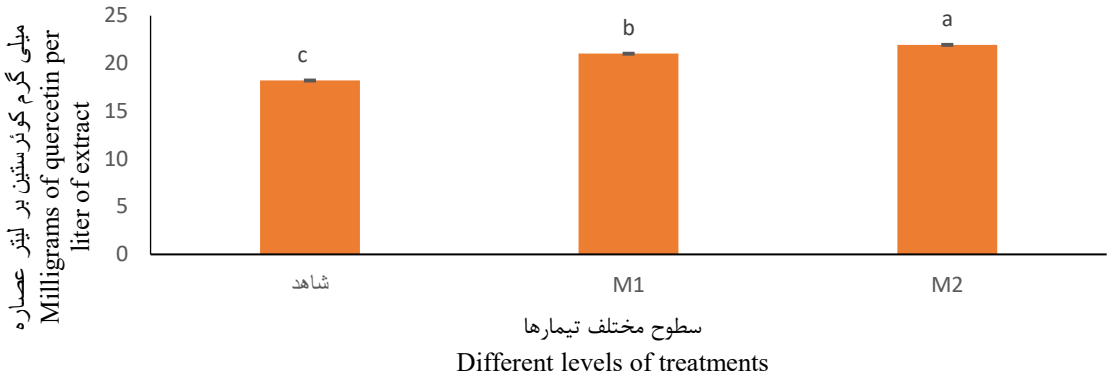
Figure2. Total phenolic compounds content of safflower petals of Golmehr cultivar after foliar spraying with melatonin(M1 represents the anthocyanin level in the plants treated with 0.25 mM melatonin, and M2 represents the plants treated with 0.5 mM melatonin. Different lowercase letters above the bars indicate statistically significant differences at the 1% probability level.)

فلاونوئید

استفاده از سطوح ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌مولار ملاتونین موجب افزایش ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه گلرنگ شد که این افزایش در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار بود و نشان‌داد که استفاده از سطح ۰/۲۵ میلی‌مولار باعث افزایش ترکیبات فلاونوئیدی درگلبرگ‌های گلرنگ به میزان ۱/۱۵۴ برابر نسبت به شاهد شد و در سطح ۰/۵ میلی‌مولار باعث افزایش ۱/۲۰۵ برابری نسبت به شاهد شد (شکل۳).

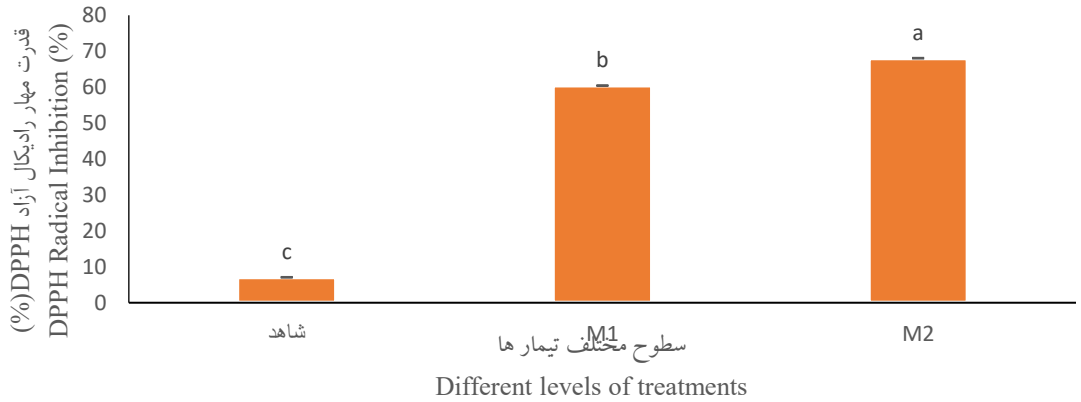
آنتی اکسیدان

میزان ترکیبات آنتی اکسیدان با اعمال تیمار ملاتونین در هر دو سطح افزایش یافت. میزان این ترکیبات در سطح ۰/۲۵ میلی مولار ۸/۵۴ برابر و در سطح ۰/۵ میلی مولار ۹/۶۲ برابر بیشتر از شاهد نشان داده شد. و بیانگر اخلاف معنی‌دار بین سطوح مختلف تیمار پاشی در سطح۰/۰۱ بود (شکل).



شکل ۱: میزان ترکیبات فلاونوئیدی کل گلبرگ گلرنگ رقم گلمهر بعد از محلول پاشی با ملاتونین (M1 نشان دهنده مقدار این ترکیب در نمونه تیمار شده با سطح۰/۲۵ میلی‌مولار ملاتونین و M2 نمونه تیمار شده با ۰/۵ میلی‌مولار ملاتونین، حروف انگلیسی متفاوت در بالای ستون هر تیمار نشان از تفاوت معنی‌دارآماری در سطح احتمال ۱ درصد است.)

Figure3. Total flavonoid content of safflower petals of Golmehr cultivar after foliar spraying with melatonin(M1 represents the anthocyanin level in the plants treated with 0.25 mM melatonin, and M2 represents the plants treated with 0.5 mM melatonin. Different lowercase letters above the bars indicate statistically significant differences at the 1% probability level.)



شکل۴: میزان ترکیبات آنتی اکسیدان گلبرگ گلرنگ رقم گلمهر بعد از محلول پاشی با ملاتونین (M1 نشان دهنده مقدار این ترکیب در نمونه تیمار شده با سطح۰/۲۵ میلی‌مولار ملاتونین و M2 نمونه تیمار شده با ۰/۵ میلی‌مولار ملاتونین، حروف انگلیسی متفاوت در بالای ستون هر تیمار نشان از تفاوت معنی‌دارآماری در سطح احتمال ۱ درصد است).

Figure4. Total antioxidant content of safflower petals of Golmehr cultivar after foliar spraying with melatonin(M1 represents the anthocyanin level in the plants treated with 0.25 mM melatonin, and M2 represents the plants treated with 0.5 mM melatonin. Different lowercase letters above the bars indicate statistically significant differences at the 1% probability level.)

بحث

در مطالعه حاضر، مقادیر کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها در گلرنگ پس از تیمار ملاتونین افزایش یافت. این یافته‌ها با گزارش‌های متعدد در سایر گونه‌ها همخوانی دارد؛ برای مثال، اسپری خارجی ملاتونین درفلفل‌گلدانی و تیمار بذری آویشن موجب افزایش قابل توجه مقدار کل ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی شده‌است (Eghlima *et al.*, 2025). این افزایش احتمالاً ناشی از فعال شدن مسیر فنیل‌پروپانوئید است که توسط ملاتونین تقویت می‌شود و بیان آنزیم‌های کلیدی مانند PAL، CHS

و CHI را افزایش می‌دهد، در نتیجه تولید ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی ارتقا می‌یابد (Gao *et al.,* 2025). مطالعه‌ای بر روی بلوبری نشان‌داد که استفاده از ملاتونین باعث افزایش میزان فنل‌کل، فلاونوئیدکل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، سایر ترکیبات و متابولیت‌های ثاتویه در این گیاه می‌شود (Zheng *et al.,* 2024). مطالعه‌ای بر روی انگور نشان‌داد که تیمار گیاهان با ملاتونین موجب افزایش تجمع آنتوسیانین‌ها، ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها و در نتیجه ارتقای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود (Xu *et al.,* 2017). این یافته با نتایج مطالعه حاضر در گلرنگ همسو است و نشان می‌دهد که ملاتونین می‌تواند به تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان کمک کند. ملاتونین به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم نقش روسکلایمر[2] دارد؛ یعنی می‌تواند رادیکال‌های آزاد (ROS) را خنثی کند و زنجیره‌ی آسیب اکسیداتیو را شکسته یا کاهش دهد(Michałek *et al.,* 2025). با کاهش تنش اکسیداتیو، سلول گیاهی کمتر دچار آسیب می‌شود و شرایط مناسب‌تری برای سنتز متابولیت‌های ثانویه (آنتوسیانین، فنول‌ها، فلاونوئیدها و ...) فراهم می‌شود (Zhao *et al.,* 2023). در نتیجه یکی از دلایل افزایش فنول و آنتی‌اکسیدان پس از پاشش ملاتونین، تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه و کاهش استرس اکسیداتیو است. در مطالعه‌ای روی میوه‌های آلو پس از اسپری یا درمان ملاتونین، محققان افزایش قابل توجه آنتوسیانین، فلاونوئید، فنول و پروآنتوسیانیدین گزارش کرده‌اند، همراه با افزایش فعالیت آنزیم‌های مسیر بیوسنتز. افزایش معنی‌دار محتوای آنتوسیانین، فنول‌ها، فلاونوئیدها و پس از اسپری ملاتونین احتمالاً ناشی از تحریک مسیر بیوسنتز فنول‌پلی‌فنولی و فلاونوئید / آنتوسیانین است؛ چرا که ملاتونین به‌طور مستند افزایش بیان ژن‌های کلیدی این مسیر (مانند CHS, CHI, F3H و غیره) را موجب می‌شود (Zhu *et al.,* 2025). ملاتونین علاوه بر اثرات آنتی‌اکسیدانی، به‌عنوان یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی شناخته شده است؛ بر فتوسنتز، متابولیسم، تنظیم اسمزی، جذب مواد و ریشه‌زایی تأثیر می‌گذارد. این نقش‌ها می‌تواند شرایط فیزیولوژیکی را بهبود داده و منابع (کربن، انرژی، پیش‌سازها) لازم برای بیوسنتز ترکیبات ثانویه را فراهم کند (Oloumi, 2022). علاوه بر این، ملاتونین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان مستقیم و غیرمستقیم (از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند SOD, CAT, POD, APX) عمل می‌کند و غلظت ROS و آسیب غشایی (لپید پراکسیداسیون) را کاهش می‌دهد؛ این مکانیسم می‌تواند به حفظ غشای سلولی، پایداری سلول و امکان سنتز و تجمع متابولیت‌های ثانویه کمک کند (Zhang *et al.,* 2016).

نتیجه گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان داد که اعمال ملاتونین در غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۲۵ میلی‌مولار می‌تواند به طور قابل توجهی میزان ترکیبات فنول‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی گلبرگ گیاه گلرنگ را افزایش دهد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که ملاتونین می‌تواند به عنوان یک محرک مؤثر در بهبود کیفیت متابولیت‌های ثانویه و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

[2] free radical scavenger

گیاهان مورد استفاده قرار گیرد. از این رو، استفاده از ملاتونین در مدیریت تغذیه و افزایش ارزش غذایی و دارویی گیاهان می‌تواند راهکار مناسبی باشد.

منابع

Asgarpanah, J., &Kazemivash, N. (2013). Phytochemistry, pharmacology and medicinal properties of *Carthamus tinctorius* L. Chinese *Journal of Integrative Medicine*, 19(2), 153–159. https://doi.org/10.1007/s11655-013-1354-5

Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., &Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3).

Cho, M. H., Paik, Y. S., and Hahn, T. R. (2000). Enzymatic conversion of precarthamin to carthamin by a purified enzyme from the yellow petals of safflower. *Journal of agricultural and food chemistry,* 48(9), 3917- 3921.

Eghlima, G., Aghamir, F., Hajizadeh, H. S., &Zarbakhsh, S. (2025). Role of melatonin in promoting growth attributes, thymol, rosmarinic acid and biochemical properties in Thymus vulgaris L. under water deficiency. *BMC Plant Biology*, *25*(1), 603.

Gao, F., Han, K., Ma, W., Zhang, J., &Xie, J. (2025). Exogenous Melatonin Application Enhances Pepper (Capsicum annuum L.) Fruit Quality via Activation of the Phenylpropanoid Metabolism. *Foods*, *14*(7), 1247.

He, J., &Giusti, M. M. (2010). Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. *Annual review of food science and technology*, *1*(1), 163-187.

Helal, N. M., Saudy, H. S., Hamada, M. M., El-Yazied, A. A., El-Gawad, H. G. A., Mukherjee, S., ... & Ibrahim, M. F. (2024). Potentiality of melatonin for reinforcing salinity tolerance in sorghum seedlings via boosting photosynthetic pigments, ionic and osmotic homeostasis and reducing the carbonyl/oxidative stress markers. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, *24*(3), 4243-4260

Kuljarusnont, S., Iwakami, S., Iwashina, T., &Tungmunnithum, D. (2024). Flavonoids and other phenolic compounds for physiological roles, plant species delimitation, and medical benefits: A promising view. *Molecules*, *29*(22), 5351.

Li, L., Yang, Y., Hou, X., Gu, D., Ba, H., Abdulla, R., and Aisa, H. A. (2013). Bioassay-guided separation and purification of water-soluble antioxidants from Carthamustinctorius L. by combination of chromatographic techniques. *Separation and Purification Technology*, 104: 200-207.

Luo, M., Zhang, D., Tang, W., Delaplace, P., Chen, M., & Ma, Y. (2024). Recent advances in melatonin regulation of drought tolerance in plants. *Tropical Plants*, *4*(1).

Masoumi, Z., Haghighi, M., & Mozafarian, M. (2024). Effects of foliar spraying with melatonin and chitosan Nano-encapsulated melatonin on tomato (Lycopersicon esculentum L. cv. Falcato) plants under salinity stress. *BMC Plant Biology*, *24*(1), 961.

Michałek, M., Ogrodowicz, P., Kempa, M., Kuczyńska, A., & Mikołajczak, K. (2025). Melatonin in crop plants: from biosynthesis through pleiotropic effects to enhanced stress resilience. *Journal of Applied Genetics*, 1-21.

Moure, A., Franco, D., Sineiro, J., Domínguez, H., Núñez, M. J., &Lema, J. M. (2000). Evaluation of extracts from Gevuinaavellana hulls as antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(9), 3890-3897.

Nasr, H. G., Katkhuda, N., &Tannir, L. (1978). Effects of N Fertilization and Population Rate-Spacing on Safflower Yield and other Characteristics 1. *Agronomy Journal*, *70*(4), 683-685.

Oloumi, H. (2022). Melatonin; Growth regulator and strong antioxidant in plants. *Journal of Plant Process and Function*, (1), 37-54.

Özçinar, A. B. (2021). Safflower (Carthamus tinctorius L.): utilisation, genetics and agronomy. *MAS Journal of Applied Sciences*, *6*(Özel Sayı), 1130-1136.

Panahi, B., & Ghorbanzadeh Neghab, M. (2013). Genetic characterization of Iranian safflower (Carthamus tinctorius) using inter simple sequence repeats (ISSR) markers. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *19*(2), 239-243.

Salem, N., Msaada, K., Elkahoui, S., Mangano, G., Azaeiz, S., Ben Slimen, I., and Marzouk, B. (2014). Evaluation of antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of safflower natural dyes during flowering. BioMed research international, 2014.

Salem, N., Msaada, K., Hamdaoui, G., Limam, F., &Marzouk, B. (2011). Variation in phenolic composition and antioxidant activity during flower development of safflower (Carthamustinctorius L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *59*(9), 4455-4463.

Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American journal of enology and viticulture*, 28(1), 49-55.

Wagner, G. J. (1979). Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. *Plant physiology*, 64(1), 88-93.

Wilton R (2023). Role of Phenols in the Development and Growth of Plants. *J Plant Biochem Physiol.* 11:269.

Xu, L., Yue, Q., Bian, F. E., Sun, H., Zhai, H., & Yao, Y. (2017). Melatonin enhances phenolics accumulation partially via ethylene signaling and resulted in high antioxidant capacity in grape berries. *Frontiers in Plant Science*, *8*, 1426.

Xu, L., Yue, Q., Bian, F. E., Sun, H., Zhai, H., & Yao, Y. (2017). Melatonin enhances phenolics accumulation partially via ethylene signaling and resulted in high antioxidant capacity in grape berries. *Frontiers in Plant Science*, *8*, 1426.

Zeynali, E. (2000). Safflower: Identification, production, and utilization. Gorgan, Iran: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Zhang, N., Sun, Q., Li, H., Li, X., Cao, Y., Zhang, H & Guo, Y. D. (2016). Melatonin improved anthocyanin accumulation by regulating gene expressions and resulted in high reactive oxygen species scavenging capacity in cabbage. *Frontiers in Plant Science*, 7, 197.

Zhang, N., Sun, Q., Li, H., Li, X., Cao, Y., Zhang, H., ... &Guo, Y. D. (2016). Melatonin improved anthocyanin accumulation by regulating gene expressions and resulted in high reactive oxygen species scavenging capacity in cabbage. *Frontiers in Plant Science*, *7*, 197.

Zhao, Z., Yun, C., Gu, L., Liu, J., Yao, L., Wang, W., & Wang, H. (2023). Melatonin enhances biomass, phenolic accumulation, and bioactivities of rosemary (Rosmarinus officinalis) in vitro shoots under UV-B stress. *Physiologia Plantarum*, *175*(4), e13956.

Zheng, H., Yang, Y., Wu, S., Jia, F., Jiang, J., Yu, L & Qin, W. (2024). Effects of pre-harvest application of melatonin, 24-epibrassinolide, and methyl jasmonate on flavonoid content in blueberry fruit. *Frontiers in Nutrition*, *11*, 1495655.

Zhu, J., Huang, Z., Guo, M., Xiao, Y., Li, Y., Zhang, X & Lin, L. (2025). Exogenous melatonin promotes anthocyanin accumulation and coloration in Chinese plum peels. BMC Plant Biology, 25(1), 1184.

Ziani, I., Bouakline, H., Yahyaoui, M. I., Belbachir, Y., Fauconnier, M. L., Asehraou, A & El Bachiri, A. (2023). The effect of ethanol/water concentration on phenolic composition, antioxidant, and antimicrobial activities of Rosmarinus tournefortii de Noé hydrodistillation solid residues. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *17*(2), 1602-1615.