

بررسی نقش سروتونین در بهبود رشد گیاه زعفران تحت تنش خشکی

پروانه همتی حسن‌گاوایار^۱ حمزه امیری*، مارینو بی. آرنائو^۲ و سیف‌الله بهرامی کیا^۱

^۱ ایران، خرم‌آباد، دانشگاه لرستان. دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

^۲ اسپانیا، ۳۰۱۰۰ مورسیا، دانشگاه مورسیا، دانشکده زیست‌شناسی گروه زیست‌شناسی گیاهی (فیزیولوژی گیاهی).

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۲۳

چکیده

نقش سروتونین به عنوان یک بیومولکول تنظیم‌کننده‌ی رشد گیاهی موثر در افزایش مقاومت گیاهان به تنش و کاهش اثرات ناشی از آن طی سالیان اخیر مورد توجه محققان قرار گرفته است. هدف از این مطالعه بررسی اثر سروتونین بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی زعفران در شرایط تنش خشکی بود. به منظور اعمال تنش از پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ استفاده شد و تنش خشکی در سطوح ۱۰٪ و ۲۰٪ اعمال گردید. تیمار ریشه‌ای سروتونین در غلظت ۱۰۰ میکرومولار اعمال شد. نتایج نشان داد که تنش خشکی و به ویژه تنش ۲۰٪ منجر به کاهش وزن تر (۴۲٪/۱۹)، وزن خشک (۵۰٪/۳۰)، ارتفاع (۴۶٪/۴۴)، محتوای آب نسبی (۲۱٪/۳۲)، کلروفیل a (۳۶٪/۴۱)، کلروفیل b (۳۰٪/۶۶)، کاروتنوئیدها (۳۹٪/۷۱) و میزان فتوسنتز (۵۷٪/۲۶) در مقایسه با گروه کنترل شد. در این شرایط قند، پرولین، فنل، فلاونوئید، پراکسید هیدروژن و نشت یونی به ترتیب ۰/۷۳۳٪، ۲۸/۳۷٪، ۱۸/۰۸٪، ۱۹/۷۵٪، ۳۴/۷۷٪ و ۷/۵۶٪ افزایش یافت. در شرایط تنش ۲۰٪ تیمار سروتونین، ۲۲/۳۷٪ وزن تر، ۲۴/۵۱٪ وزن خشک، ۴۶/۷۲٪ ارتفاع و ۶/۲۵٪ محتوای آب نسبی را افزایش داد. در طی کاربرد سروتونین کلروفیل a ۱۷/۳۸٪، کلروفیل b ۲۰/۲۶٪، کاروتنوئیدها ۱۸/۴۴٪ و میزان فتوسنتز خالص ۴۱/۵۵٪ افزایش یافت. در این شرایط میزان قند، پرولین، نشت یونی و H₂O₂ ۳/۳۷٪، ۱۰/۴٪، ۱۵/۲۹٪ و ۱۱/۴۱٪ کاهش نشان دادند. همچنین فنل و فلاونوئید به ترتیب ۱۷/۱۴٪ و ۱۸/۷۰٪ افزایش یافتند. در کل نتایج این مطالعه نشان داد که کاربرد سروتونین خارجی با متاثر کردن شاخص‌های فیزیولوژیکی از قبیل پارامترهای فتوسنتزی و سیستم آنتی‌اکسیدانی اثر مثبت در افزایش تحمل گیاه به تنش خشکی دارد.

واژه‌های کلیدی: میزان فتوسنتز، زعفران، اسمولیت‌های سازگار، سروتونین

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: amiri_h_lu@yahoo.com

مقدمه

تنش‌های غیر زیستی رشد و عملکرد گیاهان را تا حد زیادی محدود می‌کنند. با افزایش دمای هوای کره زمین تنش خشکی بعنوان عامل اصلی محدود کننده رشد و توسعه گیاهان به یک مسئله مهم تبدیل شده است. به طور کلی تنش خشکی سبب ایجاد یک سری واکنش‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مانند بسته شدن روزنه، کاهش محتوای کلروفیل، کاهش تعرق و کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌شود (۱۱ و ۳۶). از طرف دیگر تنش خشکی سبب ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن و تحریک پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی می‌شود (۱۳). زمانی که تعادل بین تجمع رادیکال‌های آزاد و سیستم‌های جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد مختل می‌شود سیستم‌های غشایی آسیب می‌بینند و این امر منجر به عدم تعادل در متابولیسم گیاه

می‌شود (۱۶). گیاهان مکانیسم‌هایی را برای مبارزه و جلوگیری از این آسیب‌های مضر توسعه داده‌اند. توسعه سیستم آنتی‌اکسیدانی (آنزیمی و غیر آنزیمی) یکی از بهترین مکانیسم‌هایی است که گیاهان را در برابر تنش مقاوم می‌کند. در سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز رادیکال‌های آزاد را جاروب می‌کنند (۲۲). تغییرات در شرایط محیطی مانند ایجاد تنش‌های غیر زیستی از قبیل خشکی، شوری، گرما و... سیستم آنتی‌اکسیدانی داخلی گیاه را فعال می‌کند تا واکنش‌های فیزیولوژیکی طبیعی حفظ شود و به طور مستقیم بر توانایی گیاه در مقاومت در برابر تنش‌ها تأثیر بگذارد (۳۶). علاوه بر آن گروه‌های هیدروکسیل موجود در ترکیبات فنلی (ترکیب آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی) نیز نقش مهمی در جاروب کردن رادیکال‌های آزاد و افزایش مقاومت گیاهان به تنش دارند (۳۱).

تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی ترکیبات آلی سنتزی یا طبیعی هستند که در غلظت‌های کم بر فرآیندهای فیزیولوژیک گیاهان عالی موثر هستند؛ این ترکیبات به عنوان مولکول‌های سیگنالینگ عمل می‌کنند و از عوامل اصلی پاسخ دهنده به تنش‌های زیستی و غیر زیستی در گیاهان محسوب می‌شوند. توانایی تنظیم‌کننده‌های رشد در بهبود شرایط تنشی به عوامل محیطی که بر جذب آنها تأثیر می‌گذارد، غلظتی که از آن استفاده می‌شود و وضعیت فیزیولوژیکی گیاه بستگی دارد (۳۴).

سروتونین (۵-هیدروکسی تریپتامین) یک ایندول آمین است که ارتباط نزدیک با ملاتونین (متوکسی تریپتامین) دارد (۱۴). سروتونین از نظر ساختاری شبیه به ایندول-۳-استیک اسید (اکسین و IAA) بوده و بیوسنتز آن از ال-تریپتوفان صورت می‌گیرد (۳۳). سروتونین یک مولکول سیگنالی نوین در گیاهان است که نقش کلیدی در توسعه و دفاع ایفا می‌کند. از زمان شناسایی سروتونین در *Mucuna pruriens* گزارش‌های زیادی مبنی بر توزیع گسترده آن در طیف وسیعی از غلظت‌ها در گیاهان وحشی و خوراکی در قلمرو گیاهی ارائه شده است (۳۳). تعداد زیادی از گزارش‌ها نقش حیاتی سروتونین را در تعدیل رشد و فرآیندهای نموی گیاه، از جمله جوانه زنی، گلدهی، پیری، معماری ریشه، سازگاری با تنش‌های محیطی و محافظت در برابر عوامل بیماری‌زا نشان داده است (۱۵، ۲۳، ۳۰ و ۳۳).

زعفران با نام عمومی Saffron و نام علمی *Crocus sativus* از خانواده زنبق (Iridaceae) گیاهی است ژئوفیت و چند ساله که در پاییز گل می‌دهد (۲۸). بنه تنها راه تکثیر این گیاه بسیار مهم است. کلاله‌های جدا شده از گل که به صورت رشته‌های قرمز رنگ هستند پس از خشک شدن به عنوان ادویه غذا استفاده می‌شوند. زعفران به عنوان گران‌ترین محصول کشاورزی و دارویی جهان، جایگاه ویژه‌ای در بین محصولات صنعتی و صادراتی ایران دارد (۱۲). کلاله‌های زعفران حاوی سه متابولیت ثانویه اصلی کروسین (رنگیزه‌های کاروتنوئیدی محلول در آب؛ مسئول رنگ)، پیکروکروسین (گلیکوزید تلخ مزه؛ مسئول طعم زعفران) و سافرانال (جزء اصلی مواد فرار؛ مسئول طعم و مزه) است. کلاله‌ها دارای کربوهیدرات‌ها (پکتین‌ها و پنتوزان‌ها)، مواد معدنی، ویتامین‌ها و اسیدهای چرب نیز هستند (۳۸).

از آنجایی که ایران کشوری کم‌آب است بنابراین مطالعه در زمینه پاسخ‌های گیاهان به تنش کم‌آبی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است تا زمینه کشت وسیع‌تر محصولات مهمی از قبیل زعفران فراهم گردد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات احتمالی بهبود دهنده سروتونین بر پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی و فتوسنتزی گیاه *Crocus sativus* L در شرایط تنش خشکی است.

آماده‌سازی و کاشت

در اواخر شهریور ماه، بنه‌ها با محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد و سپس آب مقطر شستشو شده و به گلدان‌های حاوی پرلیت منتقل شدند. گلدان‌ها به اتاقک رشد (با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۱۰ ساعت روشنایی و ۱۴ ساعت تاریکی) منتقل شده، آبیاری و اضافه کردن محلول غذایی هوگلند با فواصل یک هفته‌ای انجام شد، لازم به ذکر است که تا زمان بیرون آمدن جوانه‌ها از سطح پرلیت، گلدان‌ها فقط آب مقطر دریافت کردند. در هفته ششم به منظور اعمال تنش خشکی از پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ در دو سطح ۱۰٪ و ۲۰٪ که بترتیب معادل ۱/۴۸- و ۴/۹۱- بار است، استفاده شد. تیمار ریشه‌ای سروتونین یک بار به اندازه حجم مورد نیاز برای آبیاری گیاه (۱۰۰ میلی لیتر) و با غلظت ۱۰۰ میکرومولار بعد از اعمال تنش خشکی انجام شد. گلدان‌ها به شش گروه تقسیم شدند به این صورت که گروه اول هیچگونه تنش و یا تیمار سروتونین را دریافت نکردند، گروه دوم فقط تحت تنش ۱۰٪ خشکی قرار گرفتند، گروه سوم فقط تحت تنش ۲۰٪ خشکی قرار گرفتند، گروه چهارم فقط تیمار ریشه‌ای سروتونین را دریافت کردند، گروه پنجم تنش خشکی ۱۰٪ و تیمار ریشه‌ای سروتونین را دریافت کردند و گروه ششم تنش خشکی ۲۰٪ و تیمار ریشه‌ای سروتونین را دریافت کردند. برداشت نمونه‌ها در هفته دوازدهم انجام شد و جهت انجام سنجش‌های مد نظر از نمونه‌های فریز شده استفاده گردید.

اندازه‌گیری وزن تر، وزن خشک، ارتفاع گیاه، محتوای آب نسبی (RWC)

وزن تر برگ‌ها هنگام برداشت اندازه‌گیری شد، نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت درون آون در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و سپس وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد (۲۹).

به منظور اندازه‌گیری محتوای آب نسبی وزن تر برگ بلافاصله بعد از برداشت اندازه‌گیری شد، سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر قرار گرفتند، در ادامه آب سطحی آن‌ها با دستمال کاغذی گرفته شد و مجدداً وزن آن‌ها (وزن آماس) یادداشت شد، سپس نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و سپس وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد. محتوای آب نسبی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۲۷).

$$RWC (\%) = (FW - DW / TW - DW) \times 100$$

FW: وزن تر، DW: وزن خشک، TW: وزن تورژسانس

اندازه‌گیری رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید)

محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی مطابق با روش آرنون اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۰/۰۶ گرم از بافت تازه برگ با ۱ میلی لیتر استون (V/V) ۸۰٪ ساییده شد. عصاره استخراج شده به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۶۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. سپس جذب محلول رویی در سه طول موج ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید و میزان رنگدانه‌ها با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید (۹).

$$\text{Chlorophyll a} = ((19.3 * A663) - (0.86 * A645) * V) / 100W$$

$$\text{Chlorophyll b} = ((19.3 * A645) - (3.6 * A663) * V) / 100W$$

$$\text{Carotenoids} = ((1000 * A470) - (3.27 * \text{mg chl } a)) - (104 * \text{mg chl } (b)) / 227$$

که در آن، A663، A645، و A470 مقادیر جذب رنگدانه‌ها را در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر را نشان می‌دهد. W و V به ترتیب نشان دهنده حجم عصاره برحسب میلی‌لیتر پس از فیلتراسیون و وزن تر نمونه برگ بر حسب میلی‌گرم هستند.

حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (FV/Fm) II

میزان فلورسانس کلروفیل برگ‌ها با استفاده از دستگاه فلورومتر مدل (Pocket PEA) ساخت کشور انگلیس اندازه‌گیری شد. بدین ترتیب که بعد از اعمال تنش، و تیمار برگ‌ها به مدت ۲۰ دقیقه توسط گیره‌های مخصوص در تاریکی قرار گرفت و میزان فلورسانس آن‌ها ثبت گردید.

میزان فتوستنتر خالص (Pn)

میزان فتوستنتر خالص با استفاده از دستگاه تبادل گاز قابل حمل مدل CI-340 ساخت CID آمریکا، اندازه‌گیری شد. اساس کار این دستگاه بر میزان دی‌اکسید کربن مصرفی می‌باشد. میزان فتوستنتر بر اساس میکرومول (دی‌اکسید کربن) بر متر مربع در ثانیه اندازه‌گیری شد.

سنجش پرولین

جهت سنجش محتوای پرولین از نین هیدرین به عنوان معرف و از پرولین به عنوان استاندارد استفاده شد. برای این منظور ۰/۳ گرم از بافت تازه برگ با ۱ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳٪ ساییده شد. نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در rpm ۱۴۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. به ۲۰۰ میکرولیتر از محلول رویی ۲۰۰ میکرولیتر نین هیدرین و ۲۰۰ میکرولیتر اسید استیک گلاسیال اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند، پس از خنک شدن، ۲۰۰ میکرولیتر تولوئن اضافه شد و نمونه‌ها به مدت ۱۰ تا ۱۵ ثانیه ورتکس شدند و در نهایت جذب آن‌ها در ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. میزان پرولین آن‌ها با استفاده از معادله حاصل از نمودار استاندارد (در محدوده غلظتی ۰/۰۰۵ تا ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و بر حسب میلی‌گرم پرولین بر میلی‌گرم وزن تر گیاه گزارش شد (۱۰).

قند کل

۰/۰۱ گرم از بافت تازه برگ توسط نیتروژن مایع پودر شد و در ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰ میلی‌مولار ساییده شد. نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دور rpm ۱۳۰۰۰، سانتریفیوژ شدند سپس محلول رویی جدا شد. ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره به ۳۰۰ میکرولیتر اسیدسولفوریک اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس شد، در ادامه نمونه‌ها در حمام یخ قرار گرفتند و سپس جذب

آن‌ها در طول موج ۳۱۵ نانومتر قرائت گردید. میزان قند نمونه‌ها با استفاده از نمودار استاندارد گلوکز (در محدوده غلظتی ۰/۰۵ تا ۳/۵ میلی گرم بر میلی لیتر) و بر حسب میلی گرم گلوکز بر گرم وزن تر گیاه محاسبه شد (۶).

نشت یونی

جهت تعیین میزان نشت الکترولیت‌های سلول‌های برگ، ۰/۲ گرم از بافت برگ جدا و با آب مقطر شستشو شد، سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در لوله‌های شیشه‌ای حاوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر قرار گرفتند، سپس هدایت الکتریکی محلول با استفاده از دستگاه سنجش هدایت الکتریکی تعیین شد (EC_1). در ادامه ظروف حاوی نمونه در دستگاه اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت (به مدت ۲۰ دقیقه) و پس از کاهش دما، مجدداً هدایت الکتریکی آن اندازه‌گیری شد (EC_2). درصد نشت الکترولیت با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (۲۵):

$$EC (\%) = (EC_1 / EC_2) \times 100$$

سنجش H_2O_2

۰/۳ گرم از بافت تازه برگ با ۱ سی سی تری کلرواستیک اسید ۰/۱٪ ساییده شد و به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد و محلول رویی جدا شد. ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره با ۵۰ میکرولیتر بافر فسفات ۱۰ میلی مولار مخلوط شد، سپس ۲۰۰ میکرولیتر پتاسیم یدید ۱ مولار به آن اضافه گردید و به مدت ۱ ساعت در تاریکی قرار گرفتند و نهایتاً جذب نمونه‌ها در ۳۹۰ نانومتر قرائت گردید. میزان H_2O_2 بر حسب میکرومولار در گرم وزن تر گیاه با استفاده از ضریب خاموشی ($0.28 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) محاسبه شد (۲۲).

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH

۰/۳ گرم از بافت تازه برگ در ۲ میلی لیتر اتانول ۹۵٪ ساییده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دور ۱۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند. ۵۰ میکرولیتر از محلول رویی به ۱ میلی لیتر از محلول ۰/۰۰۴٪ وزنی حجمی DPPH حل شده در متانول (۰/۰۴ گرم DPPH در ۱۰۰ میلی لیتر متانول حل شد) اضافه شد. پس از نیم ساعت (نمونه‌ها در تاریکی و در دمای اتاق قرار داشتند) جذب آن‌ها در ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. در صد مهار رادیکال‌های آزاد با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$I\% = (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{blank}}$$

در این رابطه A_{blank} جذب واکنش کنترل منفی و A_{sample} جذب نمونه مورد نظر در مخلوط واکنشی است (۴).

سنجش محتوای فنل

۰/۳ گرم از بافت تازه برگ پودر شد و در ۲ میلی لیتر اتانول ۹۵٪ ساییده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دور ۱۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند، به ۲۰ میکرولیتر از محلول رویی ۳۰۰ میکرولیتر فولین ۰/۱ رقیق شده در آب مقطر و ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه شد، بعد از گذشت ۶۰ ثانیه ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۲۰٪ اضافه گردید، نمونه‌ها به مدت دو

ساعت به مکانی تاریک در دمای اتاق منتقل شدند، سپس جذب آن‌ها در ۷۶۰ نانومتر قرائت گردید. در نهایت میزان فنل موجود در عصاره‌ها با استفاده از معادله حاصل از نمودار استاندارد (در محدوده غلظتی ۵۰ تا ۷۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر) و برحسب میکروگرم گالیک اسید بر میلی گرم وزن تر گیاه گزارش شد. (۲۱).

سنجش محتوای فلاونوئید

۰/۳ گرم از بافت تازه برگ در ۲ میلی لیتر اتانول ۹۵٪ ساییده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دور rpm ۱۴۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. به ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رویی ۳۰۰ میکرولیتر متانول و ۲۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰٪، ۲۰ میکرولیتر استات پتاسیم ۱ مولار و ۵۶۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه شد، بعد از گذشت ۴۰ دقیقه جذب آن‌ها در ۴۲۰ نانومتر قرائت گردید. در نهایت میزان فلاونوئید موجود در عصاره‌ها با استفاده از معادله حاصل از نمودار استاندارد (در محدوده غلظتی ۵۰ تا ۷۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر) و برحسب میکروگرم کوئرستین بر میلی گرم وزن تر گیاه گزارش شد (۲۱).

مطالعات آماری

این مطالعه به صورت فاکتوریل در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. همه داده‌ها بصورت میانگین و مقادیر انحراف از استاندارد آن‌ها در سه تکرار آزمایش گزارش شد، جهت آنالیز داده‌ها از نرم افزار مینی تب ۱۶ استفاده شد و تعیین سطوح معنی داری تفاوت بین نمونه‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵٪ انجام شد. جهت رسم نمودارها از نرم افزار اکسل ۲۰۱۳ استفاده گردید.

نتایج

پارامترهای رشد

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تنش خشکی منجر به کاهش معنی دار وزن تر، وزن خشک، ارتفاع و محتوای آب نسبی گیاه در مقایسه با گروه شاهد شد؛ این کاهش در سطح ۲۰٪ چشمگیر تر از ۱۰٪ بود به طوریکه وزن تر (۲۴/۹۵٪) و ۱۹/۴۲٪، وزن خشک (۱۵/۲۷٪ و ۵۰/۳۰٪)، ارتفاع (۱۰/۵۰٪ و ۴۶/۴۴٪) و محتوای آب نسبی (۱۱/۱۴٪ و ۲۱/۳۲٪) بترتیب برای تنش‌های ۱۰ و ۲۰ تغییرات کاهشی نسبت به گروه کنترل نشان دادند. تیمار سروتونین در مقایسه با گروه شاهد سبب افزایش وزن تر، وزن خشک، ارتفاع و محتوای آب نسبی شد بطوریکه کاربرد این تنظیم کننده رشد در شرایط تنش ۲۰٪ ۲۲/۳۷٪ وزن تر، ۲۴/۵۱٪ وزن خشک، ۴۶/۷۲٪ ارتفاع و ۶/۲۵٪ محتوای آب نسبی را افزایش داد (جدول ۱).

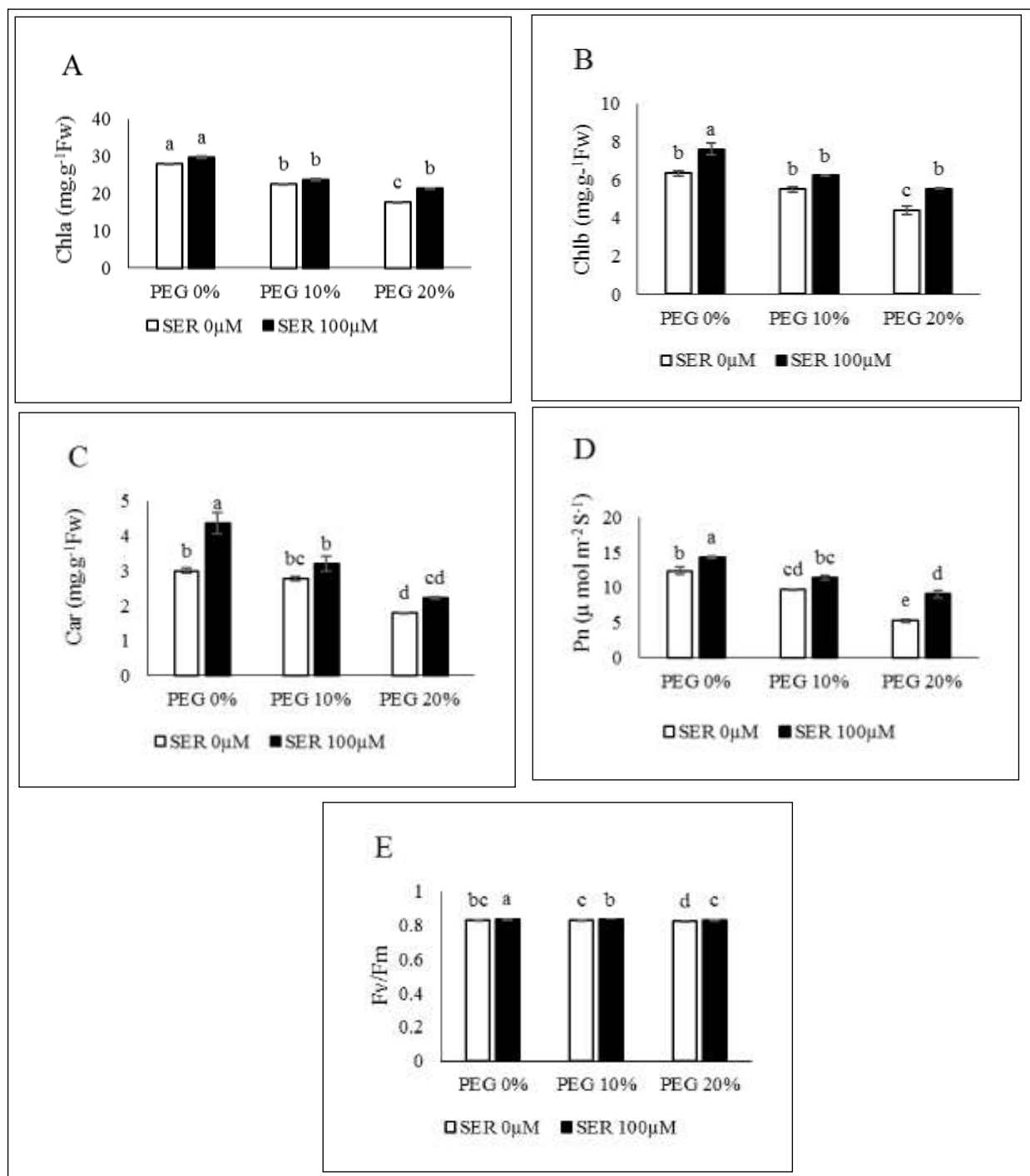
جدول ۱. مقایسه میانگین صفات وزن تر (FW)، وزن خشک (DW)، ارتفاع (SH) و محتوای آب نسبی (RWC) گیاه زعفران در شرایط تنش خشکی (۱۰٪ و ۲۰٪) و سروتونین (۱۰۰ میکرومولار).

Treatment	FW (g)	DW (g)	Shoot height(cm)	RWC%
PEG 0 %				
SER 0 μ M	4.634 \pm 0.04a	0.7833 \pm 0.01ab	26.27 \pm 0.33a	81.18 \pm 0.01a
SER100 μ M	4.589 \pm 0.05a	0.908 \pm 0.01a	22.27 \pm 0.29a	78.77 \pm 0.00ab
PEG10%				
SER 0 μ M	3.478 \pm 0.07b	0.6637 \pm 0.02b	18.5 \pm 52b	72.14 \pm 0.02bc
SER100 μ M	3.568 \pm 0.19b	0.731 \pm 0.04b	21.17 \pm 0.15a	74.12 \pm 0.02bc
PEG20%				
SER 0 μ M	2.679 \pm 0.08c	0.3893 \pm 0.03c	11.07 \pm 0.33c	63.87 \pm 0.01d
SER100 μ M	3.451 \pm 0.23b	0.5157 \pm 0.04c	18.17 \pm 0.60b	68.13 \pm 0.01cd

داده‌ها به صورت انحراف استاندارد \pm میانگین و با سه تکرار نشان داده شده‌اند. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.05$ است. گروه کنترل (C)؛ سروتونین (SER).

پارامترهای فتوسنتزی گیاه

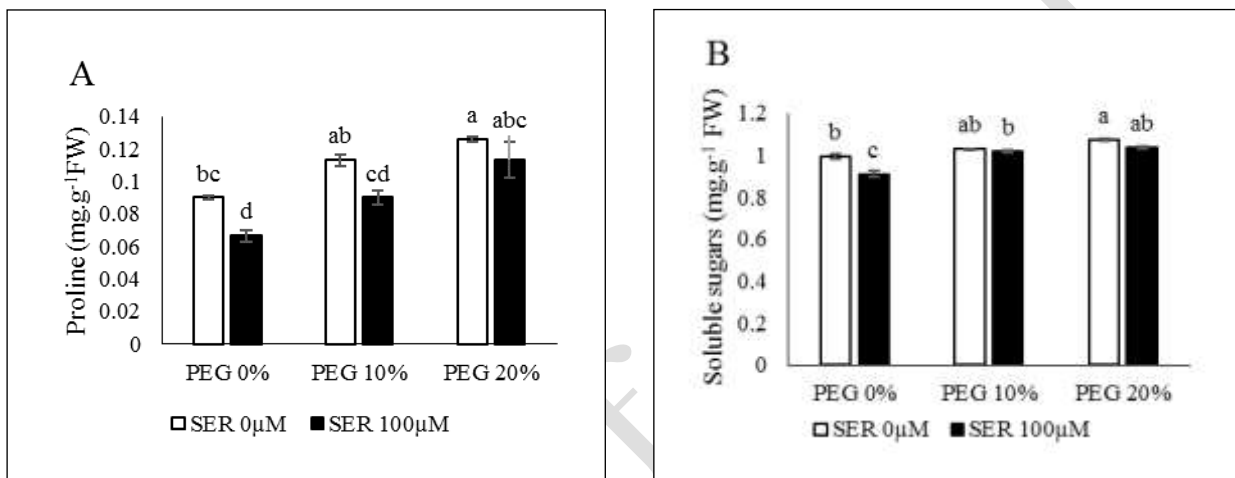
تنش خشکی ۱۰٪ و ۲۰٪ در مقایسه با گروه شاهد میزان کلروفیل a (۱۹/۲۱٪ و ۳۶/۴۱٪)، کلروفیل b (۱۳/۴۷٪ و ۳۰/۶۶٪) و کاروتنوئیدها (۷/۵۹٪ و ۳۹/۷۱٪) را کاهش دادند (شکل ۱)، در غیاب تنش و در حضور تنظیم کننده رشد این اثر کاهشی به افزایشی تبدیل شد. این مقادیر افزایشی برای کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید بترتیب ۶/۱۴٪، ۱۶/۶۵٪ و ۳۱/۴۱٪ در مقایسه با گروه شاهد بود. این اثر افزایشی در گروه‌های تحت تنش ۱۰٪ و ۲۰٪ و دریافت کننده سروتونین نیز مشاهده شد. درصد این افزایش برای کلروفیل a (۴/۹۶٪ و ۱۷/۳۸٪)، کلروفیل b (۱۱/۷۰٪ و ۲۰/۲۶٪) و کاروتنوئیدها (۱۳/۳۶٪ و ۱۸/۴۴٪) بترتیب برای تنش‌های ۱۰٪ و ۲۰٪ بود. میزان فتوستتزر در شرایط تنش ۱۰٪ و ۲۰٪ در مقایسه با گروه شاهد بترتیب (۲۱/۷۷٪ و ۵۷/۲۶٪) کاهش یافت، سروتونین در گروه شاهد میزان فتوستتزر را ۱۳/۲۸٪ افزایش داد. این افزایش برای گروه‌های دریافت کننده سروتونین تحت تنش ۱۰٪ و ۲۰٪ به ترتیب ۱۵/۱۶٪ و ۴۱/۵۵٪ بود. کارایی فتوسیستم II نیز مشابه با میزان فتوستتزر در شرایط تنش کاهش یافت، بالاترین مقدار در گروه دوم یعنی گروهی که فقط سروتونین را دریافت کرد و کم‌ترین مقدار در گروه سوم یعنی گروهی که فقط تنش ۲۰٪ را دریافت کرد مشاهده شد.



شکل ۱. مقایسه میانگین کلروفیل a (A)، کلروفیل b (B)، کاروتنوئیدها (C)، میزان فتوسنتز (Pn) (D) و کارایی فتوسیستم II (Fv/Fm) (E)، گیاه زعفران در شرایط تنش خشکی (۱۰٪ و ۲۰٪) و سروتونین (۱۰۰ میکرومولار). داده‌ها به صورت انحراف استاندارد ± میانگین و با سه تکرار نشان داده شده‌اند. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.05$ است.

اسمولیت‌های سازگار

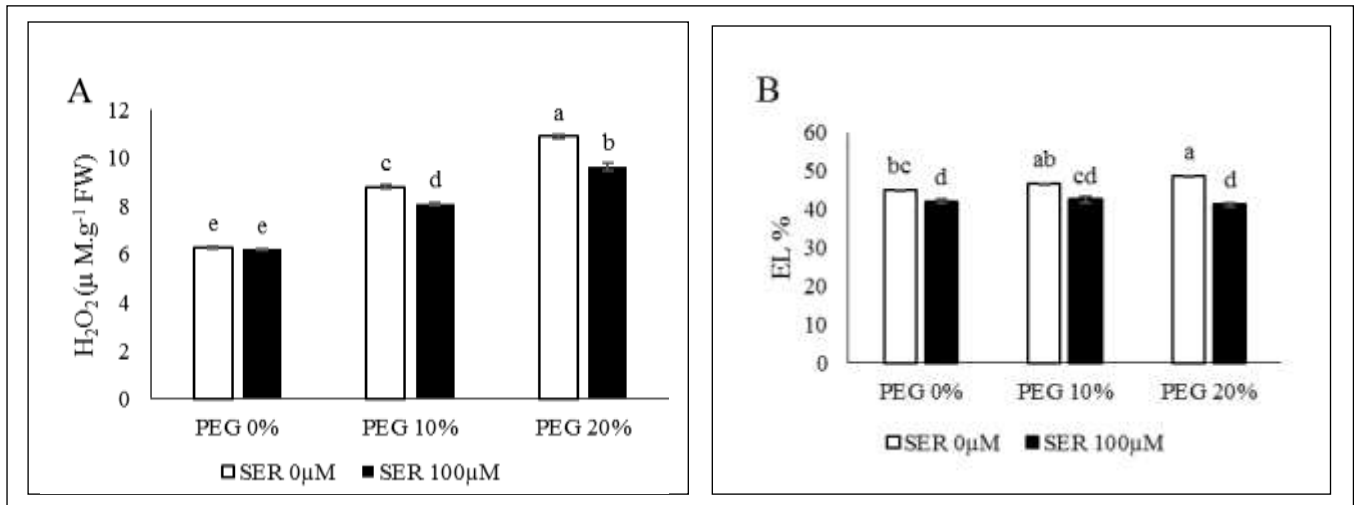
تنش خشکی منجر به افزایش در میزان پرولین و قند شد و با افزایش شدت تنش خشکی محتوای پرولین و قند نیز افزایش یافت. بالاترین میزان قند (۱/۰۷ میلی گرم بر گرم وزن تر) و پرولین (۰/۱۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) در تنش خشکی ۲۰٪ مشاهده شد. کاربرد سروتونین در کلیه تیمارها اثر کاهشی بر میزان پرولین و قند داشت. کمترین میزان پرولین و قند در گروه دریافت کننده سروتونین ۱۰۰ میکرومولار در غیاب تنش مشاهده شد، این اثرکاهشی برای پرولین و قند بترتیب ۲۶/۱۷٪ و ۸/۴۱٪ در مقایسه با گروه شاهد بود. میزان قند در تنش‌های ۱۰٪ و ۲۰٪ نیز در حضور سروتونین بترتیب ۱/۰۹٪ و ۳/۳۷٪ کاهش نشان داد. میزان کاهش پرولین در این تیمارها نیز بترتیب ۲۰/۳۸٪ و ۱۰/۴٪ بود (شکل ۲).



شکل ۲. مقایسه میانگین پرولین (A) و قندهای محلول (B) گیاه زعفران در شرایط تنش خشکی (۱۰٪ و ۲۰٪) و سروتونین (۱۰۰ میکرومولار) داده‌ها به صورت انحراف استاندارد \pm میانگین و با سه تکرار نشان داده شده‌اند. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.05$ است.

پراکسید هیدروژن و نشت یونی

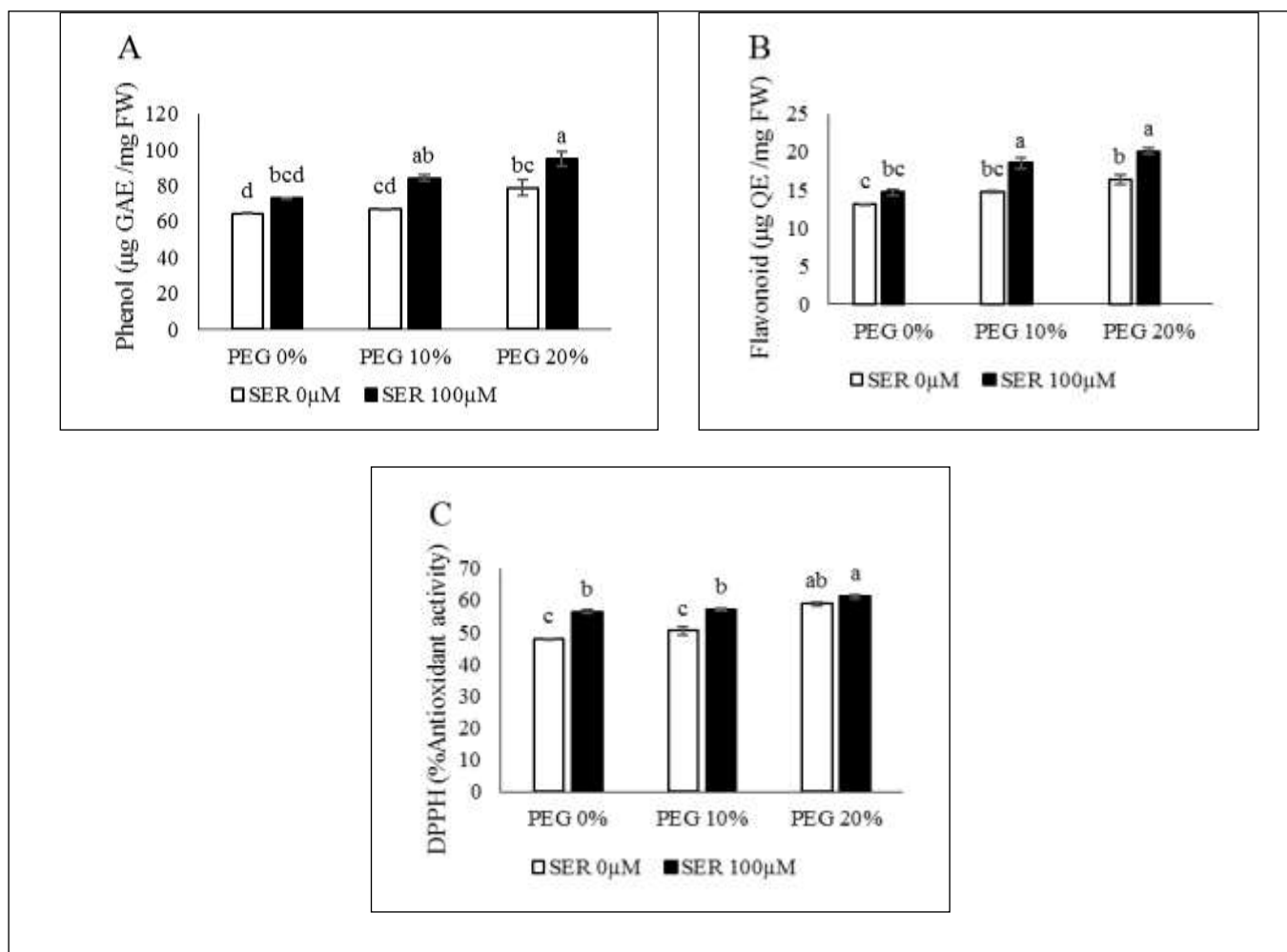
نتایج نشان داد که تنش خشکی منجر به افزایش نشت یونی و H_2O_2 در سلول‌ها شد. این افزایش در تیمارهای ۱۰٪ و ۲۰٪ تنش خشکی برای نشت یونی (۳٪/۰۶۲ و ۷٪/۵۶) و H_2O_2 (۲۲٪/۱ و ۳۴٪/۷۷) در مقایسه با گروه شاهد بود. نتایج نشان داد که در حضور و عدم حضور سروتونین ثبات و پایداری غشا سلولی تغییر می‌کند زیرا در بین گروه‌های مورد مطالعه، گروه دریافت کننده تنش ۲۰٪ بالاترین میزان نشت یونی (۴۸٪/۶۵) و بالاترین مقدار H_2O_2 (۱۰/۸۸۵) میکرومولار بر گرم وزن تر گیاه را داشتند و گروه کنترل دریافت کننده سروتونین، کمترین نشت یونی (۴۱٪/۲۱) و کمترین مقدار H_2O_2 (۶/۱۹۹) میکرومولار بر گرم وزن تر گیاه را نشان دادند (شکل ۳).



شکل ۳. مقایسه میانگین نشت یونی (A) و پراکسید هیدروژن (B) گیاه زعفران در شرایط تنش خشکی (۱۰٪ و ۲۰٪) و سروتونین (۱۰۰ میکرومولار) داده‌ها به صورت انحراف استاندارد \pm میانگین و با سه تکرار نشان داده شده‌اند. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی در سطح $p < 0.05$ است.

آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی

محتوای فنل و فلاونوئید گیاه با افزایش شدت تنش خشکی افزایش پیدا کرد. این افزایش برای فنل و فلاونوئید در تنش‌های ۱۰٪ و ۲۰٪ به ترتیب (۳٪/۲۸ و ۱۸/۰۹٪) و (۱۱٪/۲۳ و ۱۹/۷۶٪) بود. در این شرایط تیمار سروتونین نیز اثر مثبت و بهبود دهنده در محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی داشته است (افزایش ۱۱/۵۵٪ و ۱۰/۷۴٪ به ترتیب برای فنل و فلاونوئید در مقایسه با گروه شاهد). در بین گروه‌های مورد مطالعه بالاترین میزان فنل (۹۵/۱۵ میکروگرم گالیک اسید بر میلی‌گرم وزن تر) و فلاونوئید (۲۰/۱۱ میکروگرم کوئرستین بر میلی‌گرم وزن تر) در گروه ششم یعنی گروهی که همزمان تنش خشکی ۲۰٪ و تیمار ریشه‌ای سروتونین را دریافت کردند مشاهده شد و کمترین مقدار فنل (۶۴/۵۸ میکروگرم گالیک اسید بر میلی‌گرم وزن تر) و فلاونوئید (۱۳/۱۲ میکروگرم کوئرستین بر میلی‌گرم وزن تر) نیز در گروه شاهد مشاهده شد. با افزایش محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نیز افزایش یافت بطوریکه در این آزمایش نیز گروه ششم (گروهی که همزمان تنش ۲۰٪ و سروتونین ۱۰۰ میکرومولار را دریافت کردند) بالاترین درصد مهار (۶۱٪/۱۳) و گروه شاهد (۴۷/۹۸٪) کم‌ترین درصد مهار رادیکال‌های آزاد را نشان دادند (شکل ۴).



شکل ۴. مقایسه میانگین محتوای فنل (A)، محتوای فلاونوئید (B) و درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (C) گیاه زعفران در شرایط تنش خشکی (۱۰٪ و ۲۰٪) و سروتونین (۱۰۰ میکرومولار) داده‌ها به صورت انحراف استاندارد \pm میانگین و با سه تکرار نشان داده شده‌اند. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی در سطح $p < 0.05$ است.

بحث و نتیجه‌گیری

تنش خشکی با تأثیر بر فرآیندهای فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و متابولیکی منجر به کاهش رشد در گیاهان می‌شود. نتایج ما نشان داد که تنش خشکی سبب کاهش ارتفاع، وزن تر و وزن خشک گیاه شده است. نتایج حاصل از بررسی‌های انجام شده روی برگ جمعیت‌های مختلف زعفران زراعی (دیپوک، نطنز و آریانشهر) نشان داد که تنش خشکی منجر به کاهش وزن تر و وزن خشک هر سه جمعیت مورد مطالعه می‌شود (۱). پژوهش نوری و همکاران (۱۴۰۰) نشان داد که کاهش مقدار آب آبیاری از ۱۰۰ درصد به ۷۰ و ۴۰ درصد به علت ایجاد تنش خشکی سبب کاهش معنی دار وزن تر و وزن خشک برگ زعفران می‌شود (۳). کاهش جذب آب، اختلال در فتوسنتز و کاهش تولید هورمون‌ها که از تبعات تنش خشکی است از دلایل احتمالی این کاهش رشد است (۳۱). تنش خشکی سبب کاهش در محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل‌ها و کارتنوئید)، P_n و F_v/F_m شد. نتایج پژوهش حاضر مشابه با پژوهش‌های سایر محققین از جمله Liu و همکاران، صدیقی مشکنانی و همکاران،

Sheikhalipour و همکاران، Altaf و همکاران بیان می‌کند که تنش خشکی با کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل‌ها و کاروتنوئید)، P_n و F_v/F_m سبب ایجاد اختلال در فعالیت فتوسنتزی گیاه شده و آسیب‌هایی را به دستگاه فتوسنتزی وارد می‌کند. کاهش فتوسنتز ممکن است به علت بستن روزنه‌ها که یکی از ابتدایی‌ترین پاسخ‌های گیاهان به تنش خشکی است (۲۴، ۲، ۳۶ و ۸) اتفاق بیفتد زیرا در این شرایط برگ‌ها و کلروپلاست‌های گیاه به CO_2 اتمسفری دسترسی ندارد در نتیجه آسمیلاسیون کربن در گیاه رفته رفته کاهش می‌یابد و این امر سبب کاهش فتوسنتز و رشد گیاه می‌شود (۲۴).

تنظیم اسمزی توسط اسمولیت‌ها یکی از پاسخ‌های فوری گیاهان به تنش خشکی است. پرولین و قندهای محلول دو تنظیم‌کننده اسمزی مهم هستند که در شرایط تنشی افزایش پیدا می‌کنند (۱، ۵، ۱۹ و ۳۱). نتایج ما نشان داد که تنش خشکی منجر به افزایش میزان قند و پرولین در گیاه زعفران می‌شود. مطالعات صدیقی مشکنانی و همکاران، Altaf و همکاران و Sheikhalipour و همکاران نیز همسو با نتایج ما نشان دادند که تنش خشکی منجر به افزایش قند و پرولین در گیاهان می‌شود (۲، ۳۷ و ۸). از آنجایی که قندها دو وظیفه مهم متابولیسم انرژی و تنظیم رشد و نمو در گیاهان را برعهده دارند. افزایش قند تحت شرایط تنش خشکی یک سیگنال مهم برای تنظیم پاسخ به تنش و ایجاد مکانیسم تحمل محسوب می‌شود (۳۲). افزایش در پرولین یکی از مهم‌ترین شاخص‌های تحمل تنش محسوب می‌شود. این مولکول‌های کوچک تحت شرایط تنش ایفای نقش نموده و با محافظت از غشا و پروتئین‌ها، تسهیل جذب آب، حفظ هیدراتاسیون پروتوپلاست و تورگور سلولی، تحمل گیاه به تنش خشکی را افزایش می‌دهند (۵).

نتایج ما نشان داد که تنش خشکی منجر به افزایش H_2O_2 ، نشت یونی و آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی از جمله فنل‌ها فلاونوئیدها می‌شود. همسو با نتایج ما مطالعات روی گوجه‌فرنگی توسط Altaf و همکاران نشان داد که H_2O_2 و نشت یونی در شرایط تنش خشکی در سلول‌ها افزایش می‌یابد (۸). مطالعات روی گیاه استویا نیز نشان داد که تنش خشکی سبب افزایش H_2O_2 و افزایش ترکیبات فنلی می‌شود (۳۷). می‌توان گفت که تنش خشکی سبب تولید ROS و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب به غشاهای سلولی می‌شود در این شرایط نفوذپذیری غشای پلاسمایی و به تبع آن نشت یونی افزایش می‌یابد (۱۹). که منجر به فعال شدن مکانیسم‌های خودتنظیمی گیاه می‌شود، یکی از بارزترین این مکانیسم‌های خودتنظیمی دفاعی گیاهان برای کاهش آسیب‌های ناشی از تنش، فعال کردن سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی است. در واقع هنگامی که تنش خشکی منجر به افزایش H_2O_2 و نشت یونی می‌شود، فنل‌ها فلاونوئیدها به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی افزایش یافته و با مهار و جلوگیری از تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد باعث بهبود شرایط ردوکس گیاه می‌شوند. مطالعات نشان می‌دهد که ۵-متوکسی تریپتامین که یکی از متابولیت‌های مسیر سروتونین است تحت شرایط تنش سبب فعال کردن پمپ $H^+-ATPase$ می‌شود و از این طریق به حفظ ثبات غشای سلولی کمک می‌کند (۴۰).

همانطور که در بالا بیان شد تنش خشکی با تاثیر بر فرآیندهای مهم زیستی گیاه منجر به کاهش رشد گردید. تحت این شرایط استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مانند سروتونین سبب تعدیل در فرآیندهای زیستی شده و با تقویت مکانیسم‌های دفاعی منجر به افزایش رشد و بهره‌وری گیاه گردید. به عنوان مثال نتایج تحقیقات روی *Mimosa pudica* L نشان داد که ارتفاع ساقه، و وزن تر ریزنمونه‌های کشت شده در شرایط آزمایشگاهی تحت تیمار سروتونین به طور قابل توجهی افزایش یافت (۳۰). تحقیقات انجام شده توسط Giridhar و همکاران نشان می‌دهد که کاربرد سروتونین ۱۰۰ میکرومولار رشد ساقه را تا ۶۰٪ افزایش می‌دهد (۱۷). همچنین شواهد نشان می‌دهد که سروتونین دارای نقش بالقوه در نگهداری بافت‌های فتوسنتزی است. مطالعات روی کلروپلاست‌های جدا شده نخود (*Pisum sativum* L) نشان داد که سروتونین قادر به افزایش جریان

منیزیم (Mg^{2+}) و کلسیم (Ca^{2+}) است و از این طریق می‌تواند بر حفاظت از بافت‌های فتوسنتزی موثر واقع شود (۱۵). گزارشات نشان می‌دهد که اضافه کردن سروتونین ۱۰۰ میکرومولار به محیط کشت موراشیگ و اسکوگ جنین زایی سوماتیکی را در *Coffea canephora* افزایش می‌دهد (۳۵). مطالعات نشان می‌دهد که سروتونین به عنوان یک سوبسترای آمینی برای تشکیل هیدروکسی سینامیک اسیدها عمل می‌کند و به تنش‌های مختلف پاسخ می‌دهد (۲۶). مسیر بیوسنتز سروتونین با مسیر فنیل پروپانوئید همپوشانی دارد و از طریق تشکیل اسیدهای فنولیک از قبیل مشتقات سینامیک اسید سبب خاموش کردن رادیکال‌های آزاد می‌شود. در واقع سروتونین با افزایش محتوای متابولیت‌های ثانویه گیاهی مانند فنل‌ها و فلاونوئیدها سبب مهار رادیکال‌های آزاد شده و از این طریق تحمل گیاه به تنش خشکی را افزایش داده است. از طرف دیگر سروتونین با تعدیل فعالیت پلی فنل اکسیداز (PPO) از طریق متاثر کردن متابولیسم ترکیبات فنلی به تحمل شرایط تنشی کمک می‌کند (۲۰ و ۳۹).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که سروتونین با تنظیم پاسخ‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه زعفران سبب افزایش مقاومت این گیاه در مقابل تنش خشکی می‌شود. توانایی سروتونین در افزایش رشد و کمک به کاهش اثرات مخرب تنش‌ها بر گیاهان نه تنها نشان دهنده اهمیت این مولکول در کشاورزی است، بلکه آن را به ابزاری مهم برای مقابله با تنش‌ها و مسائلی که کشاورزی و حفاظت از گیاهان با آن مواجه هستند تبدیل می‌کند.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه لرستان به دلیل حمایت مالی از انجام این پژوهش تشکر می‌کنند.

منابع

- [۱] اصل زعیب، ف.، نیکنام، و.، ابراهیم زاده معبود، ح و شریفی، گ. ۱۳۹۷. مقایسه تاثیر تنش خشکی و سالیسیلیک اسید بر روی جمعیت‌های مختلف زعفران مزروعی (*Crocus Sativus*). (مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) ۵۶۹-۵۵۴، ۳(۳) ۳۱.
- [۲] صدیقی، مشکانی، فرحناز، نیکنام، و، شریفی، گ.، و سیفی کلهر، م. ۱۳۹۹. اثر گاما آمینو بوتیریک اسید بر بهبود تحمل تنش خشکی در زعفران زراعی (*Crocus sativus* L.). فرآیند و کارکرد گیاهی، ۵۰-۲۹، ۹(۳۹) ۹
- [۳] نوری، ا.، با نژاد، ح.، و کریمی فرزقی، م. ۱۴۰۰. تاثیر روش‌های مختلف آبیاری در شرایط تنش آبی بر خصوصیات بنه دختری و سطح فتوسنتزی گیاه زعفران (*Crocus sativus* L.). مدیریت آب در کشاورزی. ۱۵-۲، ۸(۲۶) ۸
- [۴] همتی حسن گاویار، پ.، امیری، ح.، و آرمنند، ن. ۱۴۰۰. شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس، بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل و فلاونوئید اندام‌های مختلف *Postia puberula* در مرحله بعد از گل‌دهی. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران). ۸۱۸-۸۰۶، ۳(۳) ۳۴

- [5] Abboud S, Vives-Peris V, Dbara S, Gómez-Cadenas A, Pérez-Clemente R. M, Abidi W, Braham M. 2021. Water status, biochemical and hormonal changes involved in the response of *Olea europaea* L. to water deficit induced by partial root-zone drying irrigation (PRD). *Sci. Hortic*, 276, 109737.
- [6] Albalasmeh A. A, Berhe A. A, Ghezzehei T. A, 2013. A new method for rapid determination of carbohydrate and total carbon concentrations using UV spectrophotometry. *Carbohydr. Polym*, 97(2), 253-261.
- [7] Alexieva V, Sergiev I, Mapelli S, Karanov E, 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant Cell Environ*, 24(12), 1337-1344.
- [8] Altaf M. A, Shahid R, Ren M. X et al, 2022. Melatonin improves drought stress tolerance of tomato by modulating plant growth, root architecture, photosynthesis, and antioxidant defense system. *Antioxidants*, 11(2), 309.
- [9] Arnon D. I, 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.*, 24(1), 1-15.
- [10] Bates L. S, Waldren R. A, Teare, I. D, 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39, 205-207.
- [11] Cao B. L, Ma Q, Zhao Q, Wang L, Xu, K, 2015. Effects of silicon on absorbed light allocation, antioxidant enzymes and ultrastructure of chloroplasts in tomato leaves under simulated drought stress. *Sci. Hortic*, 194, 53-62.
- [12] Cardone L, Castronuovo D, Perniola M, Cicco N, Candido V, 2020. Saffron (*Crocus sativus* L.), the king of spices: An overview. *Sci. Hortic*, 272, 109560.
- [13] Cui G, Zhao X, Liu S, Sun F, Zhang C, Xi Y, 2017. Beneficial effects of melatonin in overcoming drought stress in wheat seedlings.

- Plant Physiol. Biochem, 118, 138-149.
- [14] Erland L. A, Turi C. E, Saxena P. K, 2016. Serotonin: An ancient molecule and an important regulator of plant processes. *Biotechnol. Adv.*, 34(8), 1347-1361.
- [15] Erland, L. A., Turi, C. E., & Saxena, P. K, 2019. Serotonin in plants: origin, functions, and implications. *Serotonin*, 23-46.
- [16] Gill S. S, Tuteja N, 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem*, 48(12), 909-930.
- [17] Giridhar, A. R. P., & Ravishankar, G. A, 2009. Indoleamines and calcium channels influence morphogenesis in in vitro cultures of *Mimosa pudica* L. *Plant Signal. Behav*, 4(12), 1136-1141.
- [18] Guijarro-Díez M, Castro-Puyana M, Crego A. L, Marina, M. L, 2017. Detection of saffron adulteration with gardenia extracts through the determination of geniposide by liquid chromatography–mass spectrometry. *J Food Compost Anal*, 55, 30-37.
- [19] Han Q. H, Huang B, Ding C. B et al, 2017. Effects of melatonin on anti-oxidative systems and photosystem II in cold-stressed rice seedlings. *Front. Plant Sci.*, 8, 785-801.
- [20] He Q, Luo Y, Chen P, 2008. Elucidation of the mechanism of enzymatic browning inhibition by sodium chlorite. *Food Chem*;110: 847-851.
- [21] Hemmati Hassan Gavyar P, Amiri, H, 2018. Chemical composition of essential oil and antioxidant activity of leaves and stems of *Phlomis lurestanica*. *Int. J. Food Prop*, 21(1), 1414-1422.
- [22] Imran M, Latif Khan A, Shahzad R et al, 2021. Exogenous melatonin induces drought stress tolerance by promoting plant growth and antioxidant defence system of soybean plants. *AoB Plants*, 13(4), 1-12.
- [23] Kang K, Kim Y. S, Park S, Back K, 2009. Senescence-induced serotonin biosynthesis and its role in delaying senescence in rice leaves. *Plant Physiol*, 150(3), 1380-1393.
- [24] Liu L, Li D, Ma Y, Shen H, Zhao S, Wang Y, 2020. Combined application of arbuscular mycorrhizal fungi and exogenous

- melatonin alleviates drought stress and improves plant growth in tobacco seedlings. *J. Plant Growth Regul*, 40(3), 1074-1087.
- [25] Lutts S, Kinet J. M, Bouharmont J, 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Ann. Bot*, 78 (3): 389-398.
- [26] Macoy D. M, Kim W. Y, Lee S. Y, Kim M. G, 2015. Biosynthesis, physiology, and functions of hydroxycinnamic acid amides in plants. *Plant Biotechnol. Rep*, 9, 269-278.
- [27] Martínez J. P, Lutts S, Schanck A, Bajji M, Kinet J. M, 2004. Is osmotic adjustment required for water stress resistance in the Mediterranean shrub *Atriplex halimus* L?. *J. Plant Physiol*, 161(9), 1041-1051.
- [28] Molina R. V, Valero M, Navarro Y, Guardiola J. L, García-Luis A. J. S. H, 2005. Temperature effects on flower formation in saffron (*Crocus sativus* L.). *Sci. Hortic*, 103(3), 361-379.
- [29] Moradi Rikabad 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. *Ind Crops Prod*, 137, 137-143.
- [30] Murch SJ, Campbell SSB, Saxena PK, 2001. The role of serotonin and melatonin in plant morphogenesis: regulation of auxin-induced root organogenesis in in vitro-cultured explants of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.). *In Vitro Cell. Dev. Biol. e Plant*; 37,786-793.
- [31] Naghizadeh M, Kabiri R, Hatami A, Oloumi H, Nasibi F, Tahmasei Z, 2019. Exogenous application of melatonin mitigates the adverse effects of drought stress on morpho-physiological traits and secondary metabolites in Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica*). *Physiol Mol Biol Plants*, 25, 881-894.
- [32] Ozturk M, Turkyilmaz Unal B, García-Caparrós P, Khursheed A, Gul A, Hasanuzzaman M, 2021. Osmoregulation and its actions during the drought stress in plants. *Physiol. Plant*, 172(2), 1321-1335.
- [33] Pelagio-Flores R, Ruiz-Herrera L. F, López-Bucio J, 2016. Serotonin modulates *Arabidopsis* root growth via

- changes in reactive oxygen species and jasmonic acid-ethylene signaling. *Physiol. Plant*, 158(1), 92-105.
- [34] Quamruzzaman M, Manik S. N, Shabala S, Zhou M, 2021. Improving performance of salt-grown crops by exogenous application of plant growth regulators. *Biomolecules*, 11(6), 788.
- [35] Ramakrishna A, Giridhar P, Jobin M., Paulose C. S, Ravishankar G. A, 2012. Indoleamines and calcium enhance somatic embryogenesis in *Coffea canephora* P ex Fr. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 108(2), 267-278.
- [36] Sharma A, Zheng B, 2019. Melatonin mediated regulation of drought stress: Physiological and molecular aspects. *Plants*, 8(7), 190.
- [37] Sheikhalipour M, Gohari G, Esmailpour B, Panahirad S, Milani M. H, Kulak M, Janda T, 2022. Melatonin and TiO₂ NPs Application-Induced Changes in Growth, Photosynthesis, Antioxidant Enzymes Activities and Secondary Metabolites in *Stevia rebaudiana Bertoni* Under Drought Stress Conditions. *J. Plant Growth Regul*, 1-18.
- [38] Vahedi M, Kabiri M, Salami S. A, Rezadoost H, Mirzaie M, Kanani M. R, 2018. Quantitative HPLC-based metabolomics of some Iranian saffron (*Crocus sativus* L.) accessions. *Ind Crops Prod*, 118, 26-29.
- [39] Vaughn KC, Duke SO, 1984. Function of polyphenol oxidase in higher plants. *Physiol Plant*;60(1), 106- 112.
- [40] Wang M, Duan S, Zhou Z, Chen S, Wang D, 2019. Foliar spraying of melatonin confers cadmium tolerance in *Nicotiana tabacum* L. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 170, 68-76.

Investigating the role of serotonin in improving the growth of saffron under drought stress

Parvaneh Hemmati Hassan Gavyar¹, Hamzeh Amiri^{1*}, Marino B. Arnao², Seifollah Bahramikia¹,

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

²Department of Plant Biology (Plant Physiology), Faculty of Biology, University of Murcia, 30100 Murcia, Spain

Abstract

In recent years the role of serotonin as a plant growth regulator which is effective in increasing plants' resistance to stress has been considered. The aim of this study was to investigate the effect of serotonin on some morphophysiological and biochemical characteristics of saffron under drought stress conditions. Polyethylene glycol 6000 was used and drought stress was applied at 10% and 20% levels. The root treatment of serotonin was applied at a concentration of 100 μ M. The results showed that drought stress, especially 20% stress, led to a decrease in fresh weight (42.19%), dry weight (50.30%), height (46.44%), relative water content (21.32%), Chlorophyll a (36.41%), chlorophyll b (30.66%), carotenoids (39.71%) and photosynthesis rate (57.26%) compared to the control group. In these conditions, the content of sugar, proline, phenol, flavonoid, hydrogen peroxide and ion leakage were increased by 7.33%, 28.37%, 18.08%, 19.75%, 34.77% and 7.56%, respectively. In the condition of 20% drought stress, serotonin treatment, 22.37% fresh weight, 24.51% dry weight, 46.72% height and 6.25% the relative water content were increased. During serotonin application chlorophyll a chlorophyll b carotenoids and net photosynthesis were increased by 17.38%, 20.26%, 18.44%, 41.55% respectively. The amount of sugar, proline, ion leakage and H₂O₂ were decreased by 3.37%, 10.4%, 15.29% and 11.41% respectively. Also, phenol and flavonoid were increased by 17.14% and 18.70%, respectively. Overall, due to the positive effects of serotonin, its exogenous application by affecting physiological characteristics such as photosynthetic and antioxidant parameters leads to an increase in plant resistance to drought stress.

Key words: photosynthesis rate, saffron, compatible osmolytes, Serotonin

*amiri_h_lu@yahoo.com