"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد هفتم، شماره ۱، بهار و تابستان ۹۷
(ص ۴۰-۲۵)

Iranian Journal of
Seed Science and Technology
Vol.: 7, No.: 1, Spring and Summer 2018
(pp: 25-40)
DOI: 10.22034/ijsst.2018.108351.1027

مطالعه تاثیر ملاتونین بر رشد اولیه و برخی خصوصیات جوانه‌زنی و فیزیولوژیکی بذر و گیاهچه بادرشبویه (*Dracocephalum moldavica* L.) در شرایط تنش اسمزی

رزیتا کبیری[۱]، علی حاتمی[۲*]، حکیمه علومی[۳]، مهدی نقی‌زاده[۴]، فاطمه نصیبی[۵]، زهرا طهماسبی[۶]

۱. دانشجوی دکتری دانشگاه ایلام
۲و۶. استادیار دانشگاه ایلام
۳. گروه اکولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران
۴و۵. استادیار و دانشیار دانشگاه شهید باهنر کرمان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۸/۲۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۱۴)

چکیده

به منظور بررسی اثر پیش‌تیمار ملاتونین بر جوانه‌زنی، رشد اولیه و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه دارویی بادرشبویه تحت شرایط تنش اسمزی، آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲۵ تیمار و ۳ تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل غلظت‌های مختلف ملاتونین (µmol ۰، ۵، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰) و تنش اسمزی (MPa ۰، ۰/۲-، ۰/۴-، ۰/۶- و ۰/۸-) بودند. بذرهای بادرشبویه، به مدت ۲۴ ساعت در غلظت‌های مختلف ملاتونین پیش‌تیمار شدند، سپس به منظور انجام آزمون جوانه‌زنی به پتری دیش‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محلول پلی‌اتیلن گلایکول با غلظت‌های ذکر شده منتقل شدند. نتایج نشان داد با افزایش تنش، درصد و سرعت جوانه‌زنی، وزن خشک گیاهچه، شاخص بنیه بذر، طول ریشه چه، وزن خشک ریشه چه، طول اندام هوایی و خشک اندام هوایی، رنگیزه‌های فتوسنتزی و محتوی پروتئین در بادرشبویه بطور معنی‌داری کاهش و محتوی قندهای محلول افزایش یافت. پیش تیمار بذر با ملاتونین موجب افزایش تحمل گیاه در برابر تنش اسمزی گردید. ملاتونین موجب افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر و در نهایت موجب افزایش وزن خشک گیاهچه‌های بادرشبویه تحت شرایط تنش گردید. بذرهایی که با غلظت‌های بالاتر ملاتونین (µmol ۵۰ و ۱۰۰) پیش‌تیمار شده بودند، افزایش صفات فیزیولوژیکی مذکور (رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوی قندهای محلول و پروتئین) تحت شرایط تنش نسبت به شاهد مشاهده گردید. در تنش اسمزی ۰/۶- و ۰/۸- مگاپاسکال، بذرهایی که با آب مقطر پیش‌تیمار شده بودند، هیچ‌گونه جوانه‌زنی نداشتند، در حالیکه بذرهایی که با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین پیش‌تیمار شده بودند جوانه‌زنی در تمامی سطوح تنش مشاهده گردید.

کلمات کلیدی: بادرشبویه، تنش اسمزی، جوانه‌زنی بذر، رنگیزه‌های فتوسنتزی، ملاتونین

Study the Effect of Melatonin on Early Growth and Some Physiological and Germination Characteristics of Seed and Moldavian Balm (*Dracocephalum moldavica*) Seedling under Osmotic Stress

R. Kabiri[1], A. Hatami[2*], H. Oloomi[3], M. Naghizadeh[4], F. Nasibi[5], Z. Tahmasebi[6]

1. PhD Student, Ilam University
2, 6. Assistant Professor, Ilam University
3. Department of Ecology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman,Iran.
4, 5. Assistant and Associate Professor, Shahid Bahonar University of Kerman

(Received: Nov. 12, 2016 – Accepted: Mar. 04, 2017)

Abstract

To evaluate the effect of melatonin pretreatment on germination, early seedling growth and some physiological characteristics of *Dracocephalum moldavica* under osmotic stress, an experiment was conducted in a factorial arrangement based on completely randomized design with 25 treatments and three replications. The experimental treatments were including different concentrations of melatonin (0, 5, 10, 50 and 100 µmol) and osmotic stress (0, -0.2, -0.4, -0.6 and -0.8 MPa). The seeds of moldavian balm which were primed with different concentrations of melatonin for 24 hours, then in order to germination test under osmotic stress, they transferred into sterile petri dishes which contain 10 ml PEG. Results showed that increasing in stress caused reducing of germination percentage and rate, seedling dry weight, seed vigor index, radicle length, radicle dry weight, shoot length, shoot dry weight, photosynthetic pigments, protein content ,increasing and soluble sugar content. Seed priming with melatonin caused an increase of plant tolerance to osmotic stress. Melatonin caused the increment of germination percentage and rate of germination, seed vigor index and ultimately enhanced dry weight of moldavian balm seedlings under stress condition. The seeds which were pretreated with higher concentrations of melatonin (50 and 100 µmol) showed an increasing of physiological characteristics (photosynthetic pigments, soluble sugar content and protein) under stress condition compared to control. No germination was observed in seeds which were pretreated with distilled water at the levels of -0.6 and -0.8 MPa, while the concentrations of 50 and 100 µmol melatonin caused a seed germination at all levels of osmotic stress.

Keywords: moldavian balm, osmotic stress, seed germination, photosynthetic pigments, melatonin

* Email: a.hatami@ilam.ac.ir

DOI: 10.22034/ijsst.2018.108351.1027

مقدمه

بادرشبویه با نام علمی *Dracocephalum moldavica* L. گیاهی معطر، علفی، یکساله، به ارتفاع ۱۵ تا ۴۰ سانتی‌متر و برگ‌ها متقابل، دارای گل‌های درشت آبی متمایل به بنفش یا سفید و از تیره Lamiaceae بوده که در شمال غرب ایران بیشتر می‌روید و تمامی پیکره گیاه حاوی اسانس می‌باشد. ترکیبات اصلی اسانس این گیاه ژرانیال، نرال، ژرانیل استات و ژرانیول می‌باشد. این ترکیبات مونوترپن‌های حلقوی اکسیژن‌دار هستند و ۹۰٪ اسانس را تشکیل می‌دهند. اسانس دارای خاصیت ضدمیکروبی و باکتریایی بوده و التیام‌دهنده زخم و جراحات می‌باشد. از اسانس آن در صنایع غذایی، نوشابه‌سازی، آرایشی و بهداشتی نیز استفاده می‌شود. از عصاره بادرشبویه برای رفع سردرد و سرماخوردگی، ضعف عمومی بدن و به عنوان مسکن در دردهای عصبی و اسپاسم‌های معدی و کلیوی و برای شستشوی دهان و در دندان دردها کاربرد دارد، همچنین می‌توان از آن به عنوان ضماد در دردهای رماتیسمی استفاده نمود. این گیاه خاصیت ضد توموری نیز دارد و موجب کاهش تپش قلب و تعداد نبض می‌گردد (D. Emami and M. Hosseini, 2008).

برخورداری بیشتر مناطق کشور از اقلیمی خشک و نیمه‌خشک باعث گردیده است که غالب گیاهان در مراحل مختلف رشد با تنش کم‌آبی مواجه شوند. کم‌آبی یکی از تنش‌های محیطی است که روی اکثر مراحل رشد گیاه، ساختار اندام و فعالیت آن‌ها آثار مخرب و زیان‌آوری وارد می‌سازد (Yordanov and Tsoev, 2000). پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی از جمله کم‌آبی در سطوح مورفولوژی، آناتومی، سلولی و مولکولی متفاوت است. توانایی گیاهان برای سازگاری به تنش کم‌آبی بستگی به نوع، شدت و مدت تنش و همچنین گونه گیاهی و مرحله وقوع تنش دارد (Yordanov and Tsoev, 2000). یکی از مهمترین مراحل چرخه زندگی گیاهان، جوانه‌زنی بذر است. این مرحله به شدت تحت تاثیر تنش ناشی از کمبود آب قرار می‌گیرد. تنش‌های محیطی از طریق محدود کردن جذب آب توسط بذر، تاثیر بر فراهمی مواد ذخیره‌ای بذر و یا با ایجاد اختلال در نقش ترکیبات ساختاری و تولید پروتئین‌ها در جنین در حال رشد، در عمل جوانه‌زنی اختلال ایجاد می‌کنند (Soltani *et al.,* 2006). بر اساس تحقیقات صورت گرفته بذوری که جوانه‌زنی مناسب‌تری داشته باشند، در مراحل بعدی رشد، گیاهانی با بنیه بهتر و سیستم ریشه‌ای قوی‌تر تولید می‌کنند.

علاوه براین جوانه‌زنی مطلوب در تعیین تراکم مناسب بوته در واحد سطح یک عامل تعیین کننده در میزان عملکرد به حساب می‌آید (Opoku *et al.,* 1996). به علت غیر یکنواختی خاک و نیز عدم امکان کنترل عوامل محیطی در شرایط مزرعه، برای ایجاد پتانسیل منفی در مطالعات تنش ناشی از کمبود آب در مرحله جوانه‌زنی تحت شرایط کنترل شده معمولا از پلی‌اتیلن گلایکول (PEG_{6000}) استفاده می‌شود. آزمایشات نشان داده است که درصد جوانه‌زنی بذرها در محلول PEG_{6000} با درصد جوانه‌زنی در خاک در همان پتانسیل حدودا برابر بوده است (Emmerich and Hardgree, 1990). گزارش‌های مختلف حاکی از کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی و کاهش تولید ماده خشک با افزایش تنش اسمزی در اکثر گیاهان نظیر اسفرزه (Hosseini and Rezvani Moghadam, 2006)، زنیان و شوید (Broomand Reza Zadeh and Koochaki, 2005)، سیاهدانه (Khorramdel *et al.,* 2013) و رازیانه (Kabiri *et al.,* 2014) بوده است. با توجه به مطالب ذکر شده پیش تیمار بذر (Seed Priming) به عنوان یک راهکار برای تحریک جوانه‌زنی، کاهش زمان بین کشت بذر و سبز شدن آن، ظهور یکنواخت و افزایش استقرار گیاهچه به ویژه در شرایط نامطلوب محیطی مطرح است. پیش تیمار بذر یکی از روش‌های تیمار بذر قبل از کاشت می‌باشد. استفاده از این روش باعث آبنوشی و فعال شدن فرآیندهای متابولیکی آغاز کننده جوانه‌زنی می‌گردد، ولی ظهور ریشه‌چه رخ نمی‌دهد (Judi and Sharifzadeh, 2004). گزارش‌های

مختلف حاکی از آن است که پیش تیمار بذر موجب بهبود جوانه‌زنی، افزایش بنیه بذر و افزایش دامنه جوانه‌زنی بذرها در شرایط محیطی تنش‌زا از قبیل تنش خشکی، شوری، دما و عناصر سنگین می‌شود (Posmyk *et al.,* 2008; Kabiri *et al.,* 2014; Tan *et al.,* 2007).

استفاده از ترکیبات یا تنظیم کننده‌های رشد بصورت برون‌زا در بسیاری از موارد در کاهش اثرات تنش‌های محیطی موثر بوده است. امروزه استفاده از ترکیباتی که بتوانند اثرات تنش‌های محیطی را کاهش دهند، از لحاظ تئوری و کاربردی اهمیت فراوانی دارند. یکی از ترکیباتی که در ایجاد تحمل در برابر تنش کم‌آبی در گیاه موثر است، ملاتونین می‌باشد (Li *et al.,* 2014; Zhang *et al.,* 2015). ملاتونین (N-استیل ۵-متوکسی تریپتامین) یک ترکیب ایندولی است که بطور طبیعی در گیاهان سنتز می‌شود. در گیاهان ملاتونین به عنوان محرک زیستی شناخته شده که موجب افزایش تحمل به تنش‌های زنده و غیرزنده و بهبود رشد و توسعه گیاه می‌گردد (Li *et al.,* 2014; Tan *et al.,* 2007; Zhang *et al.,* 2015; Janas and Posmyk, 2013). اثر محرک‌های زیستی (Biostimulators) در گیاه، حاصل تاثیر آن‌ها بر روی متابولیت‌های گیاه می‌باشد که سبب تحریک بیوسنتز فیتوهورمون‌ها، تسهیل جذب عناصر غذایی، تحریک رشد ریشه و افزایش کیفیت و کمیت محصول می‌گردند. ملاتونین ریشه‌زایی را از طریق القای اکسین و تولید اندام هوایی را از طریق افزایش سیتوکینین تنظیم می‌کند، به همین دلیل از ملاتونین به عنوان تنظیم کننده رشد گیاهی (plant growth regulator) نام می‌برند (Arnao, 2014).

در گیاهان ملاتونین در قسمت‌های مختلفی از جمله ریشه، هیپوکوتیل، برگ، ساقه، گل، میوه و بذر وجود دارد (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2007). بنابراین حضور ملاتونین در بذر جهت حفاظت از جنین و بافت‌های تولیدمثلی در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی و شوری ضروری است (Zhang *et al.,* 2015; Turk *et al.,* 2014; Janas and Posmyk, 2013). تان و همکاران (Tan *et al.,* 2007) گزارش کردند پیش‌تیمار ملاتونین قبل از اعمال تنش شوری، سبب تخفیف اثرات مضر شوری شده و از کاهش رشد گیاه *Malus hupehensis* جلوگیری می‌کند. این محققان گزارش کردند ملاتونین خط مقدم برای مقابله با تنش خشکی و شوری بوده و سایر آنتی‌اکسیدان‌ها به صورت پشتیبان بعد از ملاتونین وارد عمل می‌شوند. ملاتونین هم تحریک کننده و هم بازدارنده رشد بوده که اثر تحریک‌کنندگی و بازدارندگی ملاتونین به غلظت آن بستگی دارد (Sarropoulou *et al.,* 2012). تاکنون گزارشی مبنی بر تاثیر ملاتونین بر خصوصیات جوانه‌زنی گیاه دارویی بادرشبویه منتشر نشده است بنابراین هدف از این پژوهش، بررسی اثرات سطوح مختلف تنش اسمزی بر خصوصیات جوانه‌زنی و فیزیولوژیکی بذر و گیاهچه بادرشبویه و اینکه پیش تیمار بذر با ملاتونین می‌تواند اثرات مضر این تنش زا کاهش دهد، انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر پیش تیمار ملاتونین بر جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه بادرشبویه، آزمایشی در سال ۱۳۹۵ در آزمایشگاه تحقیقاتی مرکز آموزش عالی کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی جمعاً با ۲۵ تیمار و ۳ تکرار انجام گرفت. پس از ضدعفونی بذرهای هم اندازه (تهیه شده از شرکت پاکان بذر اصفهان) با هیپوکلریت سدیم، بذرها به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی درون محلول‌هایی با غلظت (۰ (آب مقطر)، ۵، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) ملاتونین (تهیه شده از شرکت سیگما) بطور جداگانه خیسانده شدند. پس از آن، تعداد ۳۰ عدد از بذرهای خیس خورده در آب مقطر و محلول ملاتونین، به پتری دیش‌های استریل با قطر ۹ سانتیمتر که حاوی یک لایه کاغذ صافی واتمن شماره ۱ و ۱۰ میلی‌لیتر محلول پلی‌اتیلن گلایکول (PEG_{6000}) با غلظت‌های (۰، ۰/۲-،

DOI: 10.22034/ijsst.2018.108351.1027

۰/۴-، ۰/۶- و ۰/۸- مگاپاسکال) بودند، منتقل گردیدند. پتری‌ها در اتاقک رشد و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۴ روز قرار داده شدند (Kaya and Day, 2008) و تعداد بذرهای جوانه‌زده هر روز تا روز چهاردهم مورد شمارش قرار گرفتند. بذرهایی جوانه زده تلقی شدند که طول ریشه‌چه آن‌ها دو میلی متر یا بیشتر بود (Kaya and Day, 2008). در روز چهاردهم، ریشه‌چه و ساقه‌چه جهت سنجش پارامترهای مورفولوژیکی از یکدیگر جدا شدند. طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و اندام هوایی اندازه‌گیری شد. برگ‌های همه گیاهان در نیتروژن مایع تا زمان سنجش پارامترهای فیزیولوژیکی (شامل رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوی قندهای محلول و محتوی پروتئین) در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد قرار داده شدند.

درصد جوانه‌زنی از رابطه (۱) بدست می‌آید که در آن G درصد جوانه‌زنی، n تعداد نهایی بذرهای جوانه زده و N تعداد بذرهای کشت شده می‌باشد (Maguire, 1962).

$$\%G = \left(\frac{n}{N}\right)/100$$

رابطه ۱

سرعت جوانه‌زنی نیز از طریق رابطه (۲) محاسبه گردید، که در آن GR سرعت جوانه‌زنی، N_i تعداد بذرهای جوانه زده در هر شمارش و T_i زمان از ابتدای کاشت تا شمارش nام بر حسب روز است. (Maguire, 1962).

$$GR = \sum_{i=1}^{n} \frac{Ni}{Ti}$$

رابطه ۲

= وزن خشک گیاهچه

وزن خشک اندام هوایی + وزن خشک ریشه چه

شاخص بنیه بذر نیز به روش عبدالباکی و اندرسون (Abdul-baki and Anderson, 1970) با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

شاخص بنیه بذر = (میانگین طول گیاهچه‌ها× درصد جوانه‌زنی) /100

اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های گیاهی

برای سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئیدها از روش لیچتنتالر (Lichtenthaler, 1987) استفاده شد. ۰/۱ گرم از برگ‌های تازه گیاه در هاون چینی حاوی ۱۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد سائیده شد و پس از صاف کردن، جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. غلظت رنگیزه‌های گیاهی با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه گردید.

$$Chl.a = (12.25A_{663.2} - 2.79A_{646.8})$$
$$Chl.b = (21.21A_{646.8} - 5.1\ A_{663.2})$$
$$Chl.T = Chl.a + Chl.b$$
$$Car = [(1000A_{470} - 1.8\ Chl.a - 85.02\ Chl.b)/198]$$

در این فرمول Chl.T, Chl.b, Chl.a و Car به ترتیب غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها (شامل کاروتن و گرانتوفیل) می‌باشد.

اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول

محتوای قند محلول نمونه‌ها با استفاده از معرف آنترون تعیین گردید. ۰/۱ گرم بافت تر برگ در ۲/۵ میلی لیتر اتانول ۸۰ درصد در دمای ۹۵°C به مدت ۶۰ دقیقه قرار گرفت و کربوهیدرات‌های محلول استخراج شدند. عصاره حاصل با استفاده از کاغذ صافی صاف گردید و سپس الکل آن تبخیر شد. رسوب حاصل در ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر حل گردید. ۲۰۰ میکرولیتر از هر نمونه در یک لوله آزمایش ریخته شد و ۵ میلی لیتر معرف آنترون به آن اضافه گردید. پس از مخلوط شدن به مدت ۱۷ دقیقه در بن ماری ۹۰°C قرار گرفت و پس از سرد شدن، جذب نمونه‌ها در ۶۲۵ نانومتر خوانده شد (Roe, 1995).

سنجش مقدار پروتئین

برای سنجش غلظت پروتئین، به لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی، ۵ میلی لیتر معرف بیوره افزوده شد و سریعاً ورتکس گردید. پس از ۲۵ دقیقه جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. غلظت پروتئین با استفاده از منحنی

استاندارد محاسبه گردید (Bradford, 1976).

آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزارهای آماری SAS (ver. 9.1) و MSTATC صورت گرفت و با مشاهده تفاوت معنی‌دار در آنالیز واریانس (ANOVA)، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تاثیر پیش‌تیمار ملاتونین، تنش اسمزی و اثر متقابل آن‌ها روی کلیه مولفه‌های جوانه‌زنی شامل درصد و سرعت جوانه‌زنی، وزن خشک گیاهچه، شاخص بنیه بذر، طول و وزن خشک ریشه‌چه، طول و وزن خشک اندام هوایی (جدول ۱) و صفات فیزیولوژیکی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئیدها، محتوی قندهای محلول و پروتئین) (جدول ۲) گیاهچه بادرشبویه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱ و ۲).

در غلظت‌های ۰/۶- و ۰/۸- مگاپاسکال از محلول پلی اتیلن گلایکول، هیچ گونه جوانه‌زنی در تیمار شاهد مشاهده نگردید (جدول ۳)، در بالاترین سطح تنش اسمزی (۰/۸- MPa) در بذرهایی که با غلظت‌های ۵ و ۱۰ میکرومولار ملاتونین پیش‌تیمارشده بودند، نیز جوانه‌زنی صورت نگرفت (جدول ۳).

درصد و سرعت جوانه‌زنی در سطح ۰/۴- MPa، در مقایسه با شاهد به ترتیب حدود ۵۴/۸٪ و ۶۵/۸٪ کاهش نشان داد (جدول ۳). اما پیش‌تیمار بذر با ملاتونین (غلظت‌های ۵۰ µmol و ۱۰۰) موجب افزایش صفات مذکور در شرایط تنش و عدم تنش گردید (جدول ۳).

جدول ۱- تجزیه واریانس پیش تیمار ملاتونین بر روی خصوصیات جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه بادرشبویه تحت تنش اسمزی.

Table 1- Analysis of variance of melatonin pretreatment on germination and early growth seedling of *Dracocephalum moldavica* L. under osmotic stress.

منابع تغییر SOV	درجه آزادی DF	میانگین مربعات Mean Squares							
		درصد جوانه‌زنی Germination Percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination Rate	وزن خشک گیاهچه Seedling Dry Weight	شاخص بنیه بذر Seed Vigor Index	طول ریشه‌چه Radicle Length	وزن خشک ریشه‌چه Radicle Dry Weight	طول اندام هوایی Shoot Length	وزن خشک اندام هوایی Shoot Dry Weight
ملاتونین (Melatonin)	4	2193.67**	7.085**	1.978**	1840.29**	634.87**	0.218**	978.615**	0.881**
تنش اسمزی (Osmotic Stress)	4	13782**	44.119**	13.95**	13288.6**	3010.58**	1.651**	4304.1**	6.032**
ملاتونین × تنش اسمزی (Melatonin × Osmotic Stress)	16	73.04**	0.238**	0.261**	55.93**	101.23**	0.0178**	221.089**	0.156**
خطا (Error)	50	27.67	0.0140280	0.0028	12.718	0.325	0.00115	0.177	0.0014
ضریب تغییرات (CV)		11.17	4.96	3.41	9.69	2.22	7.02	1.25	3.5

*، ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪، ۱٪ و بدون اختلاف معنی‌دار

*, ** and ns denote significant differences at 0.05, 0.01 % levels, and not significant respectively.

جدول ۲- تجزیه واریانس پیش تیمار ملاتونین بر روی برخی صفات فیزیولوژیکی گیاهچه بادرشبویه تحت تنش اسمزی.

Table 2- Analysis of variance of melatonin pretreatment on some physiological traits of *Dracocephalum moldavica* L. seedling under osmotic stress.

منابع تغییر SOV	درجه آزادی DF	میانگین مربعات Mean Squares					
		کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کاروتنوئیدها Carotenoids	محتوی قندهای محلول Soluble Sugar Content	پروتئین Protein Content
ملاتونین (Melatonin)	4	7.715**	2.365**	18.603**	3.7036**	895.376**	31.3172**
تنش اسمزی (Osmotic Stress)	4	83.589**	23.193**	194.665**	27.257**	1193.346**	171.53**
ملاتونین × تنش اسمزی (Melatonin × Osmotic Stress)	16	0.9015**	0.108**	1.5128**	0.2529**	751.193**	3.8162**
خطا (Error)	50	0.0258	0.022	0.0521	0.0052	0.0308	0.0141
ضریب تغییرات (CV)		5.86	10.62	5.52	3.65	0.565	2.79

*، ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪، ۱٪ و بدون اختلاف معنی‌دار

*, ** and ns denote significant differences at 0.05, 0.01 % levels, and not significant respectively.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری وزن خشک گیاهچه بادرشبویه نشان داد که مقدار این صفت با افزایش تنش اسمزی ($p\leq0.01$) کاهش یافت (جدول۱). این کاهش در تمامی سطوح مختلف تنش معنی‌دار بود (جدول ۳)، بطوریکه هیچ‌گونه اندام هوایی در تیمار شاهد و غلظت ۵ µmol ملاتونین در سطوح MPa ۰/۶- و ۰/۸- مشاهده نشد (جدول ۳). پیش‌تیمار بذر با غلظت ۱۰ µmol ملاتونین قادر به تولید بیوماس در بالاترین سطح تنش (۰/۸ MPa-) نگردید (جدول ۳)، در حالیکه غلظت‌های ۵۰ µmol و ۱۰۰ ملاتونین اثرات مضر تنش را کاهش دادند (جدول ۳). در گیاهچه‌های شاهد بیشترین مقدار این صفت متعلق به غلظت ۱۰۰ µmol ملاتونین بود (۲/۶۵۷mg.plant^{-1}). در سطوح MPa ۰/۲- و ۰/۴- محلول PEG، تمامی غلظت‌های ملاتونین موجب افزایش معنی‌دار وزن خشک گیاهچه در مقایسه با شاهد گردید. اما در سطوح MPa ۰/۶- و ۰/۸-، تنها غلظت‌های بالاتر ملاتونین (۵۰ µmol و ۱۰۰) با شاهد و غلظت‌های ۵ µmol و ۱۰ ملاتونین تفاوت معنی‌داری را نشان دادند (جدول ۳). در شرایط عدم تنش و سطح MPa ۰/۴-، بالاترین غلظت ملاتونین به ترتیب موجب افزایش ۳/۳۴٪ و ۴۰/۲٪ در وزن خشک گیاهچه بادرشبویه گردید.

با افزایش تنش اسمزی، شاخص بنیه بذر بطور معنی‌دار کاهش یافت و کلیه سطوح تنش از لحاظ آماری با یکدیگر تفاوت داشتند (جدول ۳). بیشترین و کمترین مقدار این صفت به ترتیب متعلق به تیمار شاهد و تیمار MPa ۰/۴- بود و کاهش در این شاخص در تیمار MPa ۰/۴-، نسبت به شاهد حدود ۷۲/۶٪ بود (جدول ۳). پیش‌تیمار بذر با ملاتونین در غلظت‌های ۵۰ µmol و ۱۰۰

بیشترین تاثیر را در حفاظت از گیاهچه‌های بادرشبویه علیه تنش اسمزی داشت (جدول ۳). در سطح تنش MPa ۰/۴- بذرهایی که با غلظت‌های µmol ۵۰ و ۱۰۰ ملاتونی پیش‌تیمار شده بودند به ترتیب باعث افزایش حدود ۵۶/۶٪ و ۶۷/۵٪ در شاخص بنیه بذر در مقایسه با بذرهایی که با آب مقطر پیش‌تیمار شده بودند، گردید (جدول ۳).

در شرایط کنترل از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین شاهد و سطوح مختلف ملاتونین از نظر طول ریشه‌چه مشاهده نگردید، اما در شرایط تنش اسمزی، غلظت‌های µmol ۵۰ و ۱۰۰ ملاتونین موجب افزایش طول ریشه‌چه گردید (جدول ۳). در تنش MPa ۰/۴-، طول ریشه‌چه حدود ۴۳/۴٪ در غلظت µmol ۵۰ و ۴۳/۶٪ در غلظت µmol ۱۰۰ ملاتونین نسبت به شاهد افزایش نشان داد (جدول ۳). بنابراین در شرایط تنش، غلظت بالاتر ملاتونین موثرتر می‌باشد (جدول ۳). با کاهش پتانسیل آب از صفر به MPa ۰/۴-، وزن خشک ریشه‌چه بذرهایی که با آب مقطر پیش‌تیمار شده بودند، حدود ۶۴/۳٪ کاهش یافت (جدول ۳). پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های µmol ۵۰ و ۱۰۰ ملاتونین منجر به افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه‌چه در مقایسه با شاهد هم در شرایط کنترل و هم در شرایط تنش گردید (جدول ۳). بطوریکه بیشترین مقدار صفت مذکور به ترتیب متعلق به غلظت‌های µmol ۵۰ و ۱۰۰ ملاتونین در شرایط کنترل و تنش گردید (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر پیش تیمار ملاتونین بر خصوصیات جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه بادرشبویه تحت سطوح مختلف اسمزی.

Table 3- Mean comparison of melatonin (Mel) pretreatment effect on germination and early growth seedling of *Dracocephalum moldavica* L. under different levels of osmotic stress.

ملاتونین × تنش اسمزی Mel × Osmotic Stress	درصد جوانه‌زنی Germination Percentage (%)	سرعت جوانه‌زنی Germination Rate (Seed.day^{-1})	وزن خشک گیاهچه Seedling Dry Weight (mg.plant^{-1})	شاخص بنیه بذر Seed Vigor Index	طول ریشه‌چه Radicle Length (mm)	وزن خشک ریشه‌چه Radicle Dry Weight (mg.plant^{-1})	طول اندام هوایی Shoot Length (mm)	وزن خشک اندام هوایی Shoot Dry Weight (mg.plant^{-1})
Control								
Control	$70^{efg} \pm 2.8$	$3.667^{e} \pm 0.088$	$2.569^{b} \pm 0.007$	$62.02^{d} \pm 2.56$	$39.763^{a} \pm 0.0317$	$0.8317^{b} \pm 0.0055$	$48.843^{d} \pm 0.029$	$1.737^{a} \pm 0.008$
-0.2 MPa	$60^{h} \pm 2.8$	$2.463^{j} \pm 0.0317$	$1.9363^{c} \pm 0.011$	$43.79^{gh} \pm 2.06$	$31.567^{c} \pm 0.0881$	$0.6183^{de} \pm 0.0127$	$41.438^{g} \pm 0.0716$	$1.318^{c} \pm 0.003$
-0.4 MPa	$31.67^{kl} \pm 4.4$	$1.253^{k} \pm 0.156$	$1.21^{g} \pm 0.0251$	$16.99^{l} \pm 2.357$	$20.033^{g} \pm 0.0145$	$0.2967^{ghi} \pm 0.0033$	$33.645^{i} \pm 0.1746$	$0.913^{e} \pm 0.028$
-0.6 MPa	$0^{n} \pm 0$	$0^{m} \pm 0$	$0^{i} \pm 0$	$0^{n} \pm 0$	$0^{i} \pm 0$	$0^{k} \pm 0$	$0^{l} \pm 0$	$0^{g} \pm 0$
-0.8 MPa	$0^{n} \pm 0$	$0^{m} \pm 0$	$0^{i} \pm 0$	$0^{n} \pm 0$	$0^{i} \pm 0$	$0^{k} \pm 0$	$0^{l} \pm 0$	$0^{g} \pm 0$
5µmol Mel								
Control	$76.67^{cde} \pm 1.6$	$3.836^{c} \pm$	$2.5688^{b} \pm 0.0172$	$68.086^{c} \pm 1.438$	$39.79^{a} \pm 0.049$	$0.85^{ab} \pm 0.0057$	$49.02^{cd} \pm 0.0665$	$1.7189^{a} \pm 0.0124$
-0.2 MPa	$60^{h} \pm 2.8$	$3.253^{g} \pm$	$2.215^{c} \pm 0.0896$	$47.582^{fg} \pm 2.3915$	$35.90^{b} \pm 0.0057$	$0.675^{c} \pm 0.068$	$43.386^{f} \pm 0.169$	$1.54^{b} \pm 0.026$
-0.4 MPa	$43.33^{ij} \pm 3.3$	$2.1067^{j} \pm$	$1.3835^{f} \pm 0.0353$	$26.383^{k} \pm 1.8316$	$24.9^{f} \pm 0.4932$	$0.3435^{fg} \pm 0.031$	$36.05^{h} \pm 0.077$	$1.04^{d} \pm 0.0057$
-0.6 MPa	$25^{l} \pm 2.8$	$0.6^{l} \pm$	$0^{i} \pm 0$	$0^{n} \pm 0$	$0^{i} \pm 0$	$0^{k} \pm 0$	$0^{l} \pm 0$	$0^{g} \pm 0$
-0.8 MPa	$0^{n} \pm 0$	$0^{m} \pm 0$	$0^{i} \pm 0$	$0^{n} \pm 0$	$0^{i} \pm 0$	$0^{k} \pm 0$	$0^{l} \pm 0$	$0^{g} \pm 0$
10µmol Mel								
Control	$80^{cd} \pm 2.8$	$4.74^{bc} \pm 0.057$	$2.6167^{ab} \pm 0.019$	$71.859^{bc} \pm 2.53$	$40.087^{a} \pm 0.0284$	$0.865^{ab} \pm 0.0067$	$49.74^{b} \pm 0.08$	$1.7517^{a} \pm 0.0139$
-0.2 MPa	$65^{gh} \pm 2.8$	$3.46^{f} \pm 0.057$	$2.2554^{c} \pm 0.029$	$54.754^{e} \pm 2.56$	$36.137^{b} \pm 0.0852$	$0.701^{c} \pm 0.028$	$48.081^{e} \pm 0.13$	$1.554^{b} \pm 0.0072$
-0.4 MPa	$46.67^{ij} \pm 4.4$	$2.553^{i} \pm 0.058$	$1.909^{c} \pm 0.0065$	$33.977^{ij} \pm 3.21$	$31.403^{c} \pm 0.1121$	$0.5986^{e} \pm 0.0084$	$41.4^{g} \pm 0.19$	$1.3103^{c} \pm 0.0054$
-0.6 MPa	$30^{kl} \pm 2.8$	$1.33^{k} \pm 0.175$	$1.1935^{g} \pm 0.0352$	$15.936^{l} \pm 1.491$	$19.976^{g} \pm 0.0887$	$0.2835^{hig} \pm 0.0142$	$33.^{167} \pm 0.48$	$0.91^{e} \pm 0.0493$
-0.8 MPa	$0^{n} \pm 0$	$0^{m} \pm 0$	$0^{i} \pm 0$	$0^{n} \pm 0$	$0^{i} \pm 0$	$0^{k} \pm 0$	$0^{l} \pm 0$	$0^{g} \pm 0$
50µmol Mel								
Control	$91.67^{ab} \pm 1.6$	$4.9^{b} \pm 0.06$	$2.643^{ab} \pm 0.0384$	$84.03^{a} \pm 1.92$	$40.33^{a} \pm 0.0881$	$0.893^{a} \pm 0.012$	$51.323^{a} \pm 0.6617$	$1.75^{a} \pm 0.026$
-0.2 MPa	$75^{def} \pm 2.8$	$4.12^{d} \pm 0.06$	$2.578^{ab} \pm 0.0065$	$66.89^{cd} \pm 2.517$	$39.63^{a} \pm 0.1452$	$0.8547^{ab} \pm 0.0081$	$49.55^{bc} \pm 0.0685$	$1.723^{a} \pm 0.012$
-0.4 MPa	$50^{i} \pm 2.8$	$3.03^{h} \pm 0.035$	$1.989^{de} \pm 0.0275$	$39.14^{hi} \pm 2.268$	$35.42^{b} \pm 0.0404$	$0.652^{cde} \pm 0.0151$	$42.86^{f} \pm 0.0513$	$1.336^{c} \pm 0.02$
-0.6 MPa	$38.33^{jk} \pm 1.6$	$2.0033^{j} \pm 0.058$	$1.372^{f} \pm 0.01015$	$23.86^{k} \pm 1.095$	$26.067^{e} \pm 0.463$	$0.338^{fgh} \pm 0.0346$	$36.182^{h} \pm 0.2437$	$1.034^{d} \pm 0.028$
-0.8 MPa	$15^{m} \pm 5.7$	$0.623^{l} \pm 0.098$	$0.85^{h} \pm 0.0425$	$6.65^{m} \pm 2.541$	$17.83^{h} \pm 1.189$	$0.24^{j} \pm 0.0075$	$26.152^{k} \pm 0.257$	$0.61^{f} \pm 0.047$
100µmol Mel								
Control	$96.67^{a} \pm 1.6$	$5.2^{a} \pm 0.057$	$2.6577^{a} \pm 0.014$	$88.81^{a} \pm 2.09$	$40.423^{a} \pm 0.124$	$0.8887^{a} \pm 0.007$	$51.438^{a} \pm 0.44$	$1.769^{a} \pm 0.0075$
-0.2 MPa	$85^{bc} \pm 2.8$	$4.62^{c} \pm 0.057$	$2.601^{ab} \pm 0.011$	$76.08^{b} \pm 2.641$	$40.046^{a} \pm 0.0417$	$0.857^{ab} \pm 0.007$	$49.454^{bcd} \pm 0.072$	$1.743^{a} \pm 0.012$
-0.4 MPa	$66.67^{fgh} \pm 4.4$	$3.28^{fg} \pm 0.057$	$2.0237^{d} \pm 0.022$	$52.4^{ef} \pm 3.427$	$35.523^{b} \pm 0.0788$	$0.657^{cd} \pm 0.0089$	$43.083^{f} \pm 0.0521$	$1.367^{c} \pm 0.0185$
-0.6 MPa	$45^{ij} \pm 2.8$	$1.98^{i} \pm 0.077$	$1.454^{f} \pm 0.075$	$28.63^{jk} \pm 1.647$	$28.1^{d} \pm 0.2081$	$0.3706^{f} \pm 0.0269$	$35.578^{h} \pm 0.572$	$1.083^{d} \pm 0.0497$
-0.8 MPa	$25^{l} \pm 4.9$	$0.65^{l} \pm 0.069$	$0.9277^{h} \pm 0.0077$	$11.37^{lm} \pm 2.053$	$17.967^{h} \pm 0.835$	$0.2677^{ij} \pm 0.0095$	$27.814^{j} \pm 0.061$	$0.66^{f} \pm 0.0057$

$P \leq ۰/۰۵$ بعنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند.

DOI: 10.22034/ijsst.2018.108351.1027

تنش اسمزی موجب کاهش طول اندام هوایی گردید، اما پیش‌تیمار بذر با ملاتونین موجب افزایش صفت مذکور گردید. تمام سطوح ملاتونین باعث افزایش طول اندام هوایی در مقایسه با شاهد هم در شرایط کنترل و هم در شرایط تنش گردید (جدول ۳). بطوریکه در سطح تنش ۰/۴ MPa-، غلظت ۱۰۰ µmol ملاتونین باعث افزایش طول اندام هوایی در حدود ۲۲٪ در مقایسه با شاهد گردید (جدول ۳). در شرایط کنترل، بین سطوح مختلف ملاتونین و شاهد از نظر وزن خشک اندام هوایی اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. اما در تمامی سطوح مختلف تنش، غلظت‌های ۵۰ µmol و ۱۰۰ ملاتونین از لحاظ آماری با گیاهچه‌های شاهد تفاوت داشتند (جدول ۳). در بالاترین غلظت ملاتونین، افزایش تنش اسمزی از صفر به ۰/۸ MPa- حدود ۶۲/۷ ٪ کاهش در صفت مذکور مشاهده گردید (جدول ۳).

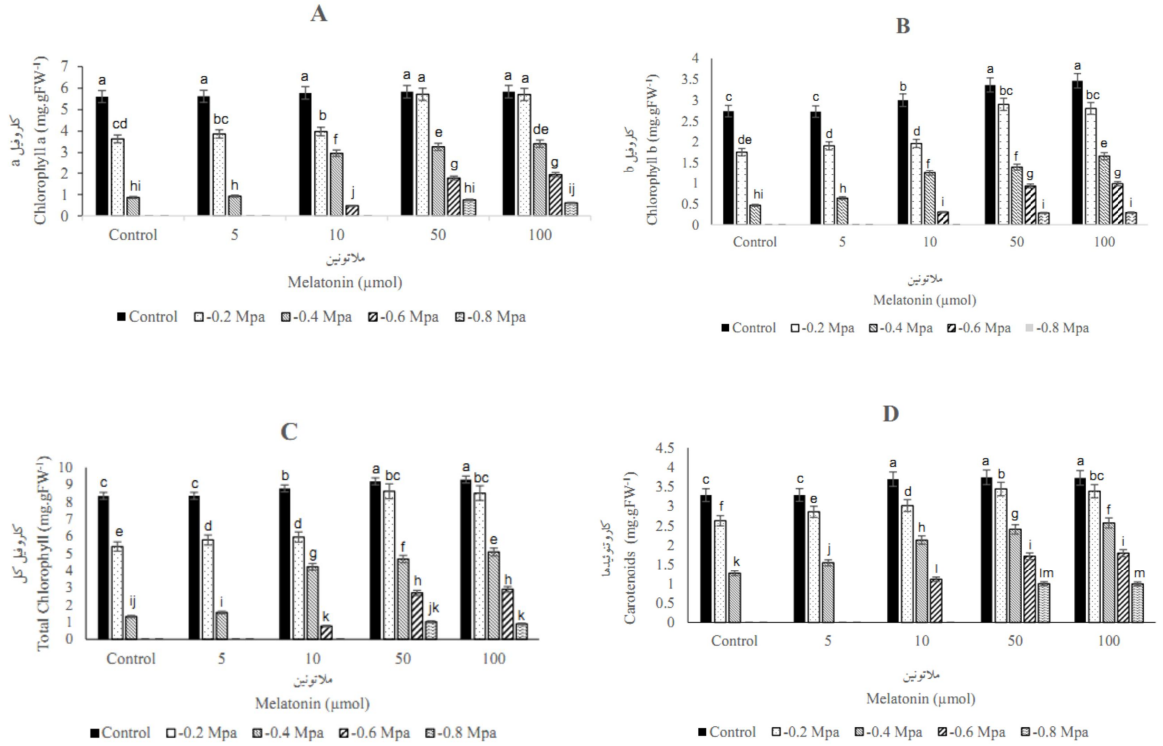
تنش اسمزی ۰/۴ MPa- مقدار کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئیدها را به ترتیب حدود ۸۴/۶ ٪، ۸۳ ٪، ۸۴/۱ ٪ و ۶۱/۵٪ نسبت به گیاهچه‌های شاهد کاهش داد، پیش‌تیمار بذر با ملاتونین مقدار کلروفیل a (شکل A-۱)، کلروفیل b (شکل B-۱)، کلروفیل کل (شکل C-۱) و کاروتنوئیدها (شکل D-۱) را در شرایط تنش افزایش داد. در شرایط کنترل، پیش‌تیمار بذر با ملاتونین اثر معنی‌داری بر مقدار کلروفیل a در مقایسه با شاهد نشان نداد (شکل A-۱). در تیمار ۰/۲ MPa-، غلظت ۵ µmol ملاتونین تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت، و این تفاوت در سایر غلظت‌های ملاتونین از لحاظ آماری معنی‌دار بود (شکل A-۱). در سطح تنش ۰/۴ MPa-، گیاهچه‌های شاهد بدون اختلاف با گیاهچه‌هایی که با غلظت ۵ µmol ملاتونین پیش‌تیمار شده بودند، تفاوت معنی‌داری را با غلظت‌های ۱۰ µmol، ۵۰ و ۱۰۰ ملاتونین نشان دادند (شکل A-۱).

در شرایط کنترل، پیش‌تیمار بذر با غلظت ۵ µmol اثر معنی‌داری بر مقدار کلروفیل b در مقایسه با شاهد نشان نداد ولی این اختلاف در سایر غلظت‌های ملاتونین از لحاظ آماری معنی‌دار بود (شکل B-۱). در تمام تیمارهای تنش اسمزی، مقدار کلروفیل b در بذوری که با غلظت‌های ۵۰ µmol و ۱۰۰ ملاتونین پیش‌تیمار شده بودند بیشتر از بذوری بود که با آب مقطر و غلظت‌های ۵ µmol و ۱۰ ملاتونین پیش‌تیمار شده بودند (شکل B-۱). در غلظت ۱۰۰µmol ملاتونین، با کاهش پتانسیل آب از صفر به ۰/۸ MPa- مقدار کلروفیل b حدود ۹۱/۵٪ کاهش یافت (شکل B-۱).

در شرایط عدم تنش، مقدار کلروفیل کل در غلظت‌های ۵۰ µmol و ۱۰۰ ملاتونین (بدون اختلاف با یکدیگر)، با غلظت‌های ۵ µmol و ۱۰ ملاتونین و شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان دادند (شکل C-۱). در تنش ۰/۲ MPa-، تمامی غلظت‌های ملاتونین از نظر آماری با شاهد تفاوت داشتند (شکل C-۱). در تیمار ۰/۴ MPa-، غلظت ۵ µmol ملاتونین بر مقدار کلروفیل کل تاثیری نداشت و این در حالیست که سایر غلظت‌های ملاتونین موجب افزایش معنی‌دار صفت مذکور گردیدند (شکل C-۱).

در شرایط تنش، مقدار کاروتنوئیدها در تمامی سطوح ملاتونین با شاهد اختلاف معنی‌دار داشت (شکل D-۱). در بذوری که با غلظت‌های ۵۰ µmol و ۱۰۰ ملاتونین پیش‌تیمار شده بودند، مقدار کاروتنوئیدها در بالاترین سطح تنش به ترتیب حدود ۷۳/۵ ٪ و ۷۳/۵ ٪ در مقایسه با شاهد کاهش یافت (شکل D-۱).

در سطح تنش اسمزی ۰/۴ MPa-، مقدار کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئیدها در غلظت ۵۰ µmol ملاتونین به ترتیب حدود ۷۳/۷ ٪، ۶۶/۹ ٪، ۷۱/۶ ٪ و ۴۷/۵ ٪ و در غلظت ۱۰۰ µmol ملاتونین به ترتیب حدود ۷۴/۸٪، ۷۲٪، ۷۳/۹ ٪ و ۵۰/۹ ٪ در مقایسه با بذور پیش‌تیمار نشده افزایش داشتند (شکل ۱).

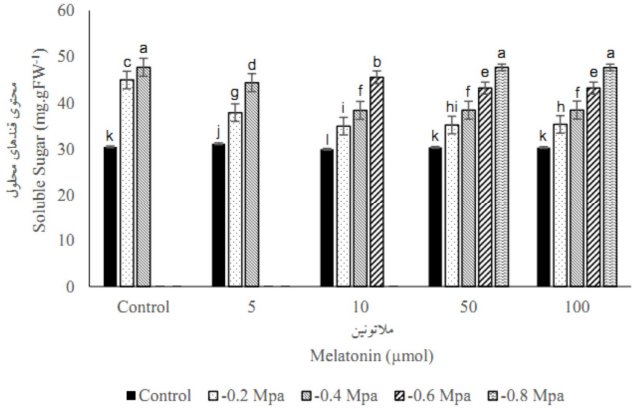


شکل ۱: اثر پیش تیمار ملاتونین بر محتوای کلروفیل a (A)، b (B)، کل (C) و کاروتنوئیدها (D) گیاهچه بادرشبویه تحت تنش اسمزی.
میانگین‌ها با آزمون LSD مقایسه شدند. P≤ ۰/ ۰۵ بعنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.
میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند.

Figure 1: Effect of melatonin pretreatment on chlorophyll a (A), b (B), total (C) and carotenoids (D) of moldavian balm seedling under osmotic stress. The mean comparisons were performed using LSD method at P≤0.05 significant level. Means followed by the same letter(s) are not significantly different.

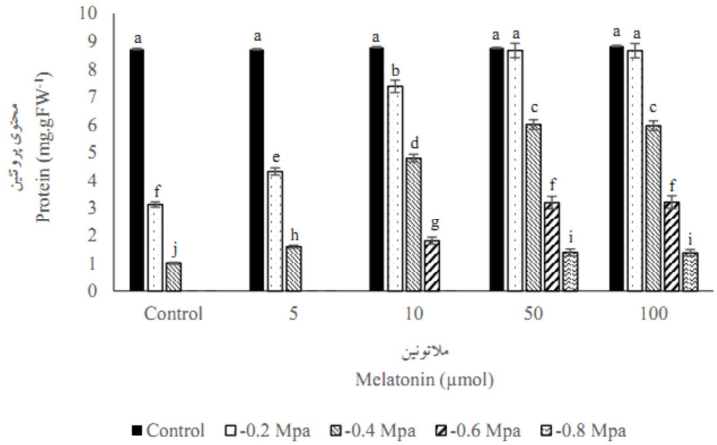
نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول در شکل ۲ آورده شده است. این نتایج نشان داد که مقدار قندهای محلول تحت تنش اسمزی افزایش یافت. در تمامی غلظت‌های ملاتونین با افزایش تنش، مقدار این صفت نیز افزایش یافت. بطوریکه در بالاترین سطح تنش، غلظت‌های ۵۰ µmol و ۱۰۰ ملاتونین به ترتیب باعث افزایش ۳۶/۲ ٪ و ۳۶/۳ ٪ در محتوی قندهای محلول در مقایسه با شاهد گردید (شکل ۲).

محتوی پروتئین گیاهچه بادرشبویه تحت تنش اسمزی کاهش معنی‌دار نشان داد. پیش‌تیمار ملاتونین موجب افزایش مقدار پروتئین در شرایط تنش گردید (شکل ۳). در شرایط کنترل، هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری بین بذور پیش‌تیمار شده با ملاتونین و شاهد مشاهده نگردید. در تنش اسمزی، پیش‌تیمار بذر با ملاتونین باعث افزایش محتوی پروتئین گیاهچه بادرشبویه گردید اما افزایش مقدار صفت مذکور در غلظت‌های ۵۰ µmol و ۱۰۰ ملاتونین مشهودتر بود (شکل ۳). در شرایط تنش ۰/۴ MPa-، محتوی پروتئین در غلظت‌های ۵۰ µmol و ۱۰۰ ملاتونین به ترتیب حدود ۸۳/۵ ٪ و ۸۳/۴ ٪ در مقایسه با بذور بدون پیش‌تیمار افزایش یافت (شکل ۳).



شکل ۲. اثر پیش تیمار ملاتونین بر محتوی قندهای محلول گیاهچه بادرشبویه تحت تنش اسمزی. میانگین‌ها با آزمون LSD مقایسه شدند. P≤ ۰/۰۵ بعنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند.

Figure 2. Effect of melatonin pretreatment on soluble sugar content of moldavian balm seedling under osmotic stress. The mean comparisons were performed using LSD method at P≤0.05 significant level. Means followed by the same letter(s) are not significantly different.



شکل ۳. اثر پیش تیمار ملاتونین بر محتوی پروتئین گیاهچه بادرشبویه تحت تنش اسمزی. میانگین‌ها با آزمون LSD مقایسه شدند. P≤ ۰/۰۵ بعنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند.

Figure 3: Effect of melatonin pretreatment on protein content of moldavian balm seedling under osmotic stress. The mean comparisons were performed using LSD method at P≤0.05 significant level. Means followed by the same letter(s) are not significantly different.

کاهش جذب آب توسط بذر در اثر تنش اسمزی می‌تواند منجر به کاهش فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی بذر شده و در نتیجه فراهمی مواد مورد نیاز برای رشد بذر را با مشکل روبرو کند (Kaya and Day, 2008). پلی‌اتیلن گلایکول با ایجاد تنش اسمزی باعث کاهش هیدرولیز مواد اندوخته‌ای دانه و در نتیجه کاهش درصد جوانه‌زنی می‌شود (Emmerich and Hardgree, 1990). چنین بنظر می‌رسد که کاهش جذب آب توسط بذر، در اثر اعمال پتانسیل‌های آب منجر به کاهش درصد جوانه‌زنی بذر بادرشبویه گردید (جدول ۳). در این پژوهش سرعت جوانه‌زنی با افزایش تنش اسمزی کاهش یافت و بالاترین سرعت جوانه‌زنی در بذور شاهد و

کمترین آن در سطح تنش ۰/۴- مگاپاسکال مشاهده گردید، در صورتیکه هیچ‌گونه جوانه‌زنی در پتانسیل‌های ۰/۶- و ۰/۸- مگاپاسکال وجود نداشت (جدول ۳). لذا بنظر می‌رسد بذر بادرشبویه از توانایی بالایی جهت جوانه‌زنی مناسب در شرایط تنش کم‌آبی برخوردار نیست. چنانچه جذب آب توسط بذر دچار اختلال گردد و یا جذب آب به آرامی صورت گیرد، فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی در داخل بذر به آرامی انجام خواهند شد و در نتیجه مدت زمان لازم برای خروج ریشه چه از بذر افزایش یافته و سرعت جوانه‌زنی کاهش می‌یابد (Kaya and Day, 2008). سرعت جوانه‌زنی یکی از شاخص‌های مهم در ارزیابی تحمل به تنش در مرحله جوانه‌زنی است، زیرا هر چه سرعت جوانه‌زنی بیشتر باشد، شانس سبز شدن تحت شرایط تنش بیشتر خواهد بود (Kaya and Day, 2008). در این تحقیق کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر بادرشبویه با نتایج امیری و همکاران (Amiri *et al.,* 2011) روی زوفا و مارگاریت، خرم‌دل و همکاران (Khorramdel *et al.,* 2013) روی سیاهدانه و کبیری و همکاران (Kabiri *et al.,* 2014) در گیاه رازیانه مطابقت دارد.

یکی از اهداف مهم فیزیولوژی گیاهی، شناسایی موادی است که جوانه‌زنی بذر و رشد گیاه را در شرایط تنش‌های محیطی بهبود بخشد (Posmyk *et al.,* 2008). بنابراین استفاده از تنظیم کننده‌های رشد بصورت برون‌زا می‌تواند راهی مناسب در جهت افزایش تحمل گیاهان حساس به کم آبی باشد. اثرات مفید پیش‌تیمار بذر بر درصد و سرعت جوانه‌زنی به پیش توسعه جنین و تغییرات بیوشیمیایی و فعال شده آنزیم‌ها نسبت داده می‌شود (Kaya and Day, 2008). پیش‌تیمار بذر با ملاتونین با تحریک و انبساط سلولی و مهار فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن حاصل از تنش اسمزی موجب بهبود جوانه‌زنی می‌گردد (Posmyk *et al.,* 2008). تغییرات ملایم و تدریجی درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرهای پیش‌تیمار شده با غلظت‌های مختلف ملاتونین نسبت به شاهد به نوعی شاخصی برای نشان دادن تحمل به تنش اسمزی می‌باشد. کاهش مدت زمان جوانه‌زنی در بذور پیش‌تیمار شده با ملاتونین در مقایسه با شاهد مربوط به کوتاه شدن مدت زمان سوخت و ساز مواد، افزایش سنتز RNA و پروتئین، فعال شدن آنزیم‌ها بخصوص α-آمیلاز در جنین و قابلیت دسترسی بیشتر به ATP و در نتیجه رشد سریع جنین می‌باشد (Posmyk *et al.,* 2008; Arnao and Hernandez, 2014). در این بررسی پیش تیمار بذر با ملاتونین موجب افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی گردید (جدول ۳).

نتایج بدست آمده روی برنج، گیاه *Phacelia tanacetifolia* و خیار بیانگر آن است که ملاتونین محرک مناسبی برای جوانه‌زنی است زیرا ملاتونین بدلیل طبیعت دوگانه (خاصیت چربی‌دوستی و آب‌دوستی) می‌تواند براحتی از موانع مورفولوژی و فیزیولوژی عبور کند و سریعا به سلول منتقل گردد و طی فرآیند پیش‌تیمار، به درون بذر نفوذ کرده و موجب بهبودجوانه‌زنی و حفاظت از بذر در غلظت‌های مختلف PEG می‌شود (Zhang *et al.,* 2015; Arnao and Hernandez-Ruiz, 2014). پیش‌تیمار بذر با ملاتونین جهت حفاظت از جنین و بافت‌های تولید مثلی در برابر آسیب ناشی از تنش اسمزی ضروری است (Janas and Posmyk, 2013). اثر تحریک کننده و مثبت ملاتونین بر درصد و سرعت جوانه‌زنی توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (Posmyk *et al*., 2008; Arnao and Hernandez, 2014; Wang *et al*., 2014; Zhang *et al*., 2015; Byeon and Back, 2013).

نتایج این آزمایش حاکی از روند کاهش وزن خشک گیاهچه بادرشبویه با افزایش تنش اسمزی بود (جدول ۳). در شرایط تنش اسمزی، دسترسی بذر به رطوبت کاهش می‌یابد، لذا عمل هیدرولیز مواد ذخیره‌ای جهت تولید بافت‌های گیاهچه‌ای با مشکل مواجه شده و وزن خشک گیاهچه کاهش می‌یابد (Soltani *et al.,* 2006). کاهش سطوح فتوسنتزکننده و مصرف بیش از حد انرژی در

DOI: 10.22034/ijsst.2018.108351.1027

جهت کنترل و کاهش اثر تنش برای برقراری تعادل اسمزی به منظور حفظ آماس سلولی می‌تواند از علل عمده کاهش عملکرد ماده خشک در بسیاری از گیاهان نظیر رازیانه، سیاهدانه، زوفا و مارگاریت باشد (Amiri *et al.,* 2011; Khorramdel *et al.,* 2013; Kabiri *et al.,* 2014).

در این پژوهش کاربرد ملاتونین موجب افزایش وزن خشک گیاهچه بادرشبویه گردید (جدول ۳). گزارش شده است ملاتونین موجب افزایش وزن خشک گیاهچه *Glycyrhiza uralensis* (Afreen *et al.,* 2006) و سیب (Wang *et al.,* 2014) می‌گردد. ثابت شده است که ترکیبات ایندولی (از جمله ملاتونین) با تأثیر بر فرآیندهایی مانند فتوسنتز، تنفس، جذب یون، نفوذ پذیری غشا، فعالیت آنزیم‌ها و هورمون‌ها میزان رشد و تولید زی‌توده (وزن خشک کل) را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Li *et al.,* 2014; Janas and Posmyk, 2013; Zhang *et al.,* 2015).

همانند یافته‌های برخی محققان (Kabiri *et al.,* 2014; Zhang *et al.,* 2015) در تحقیق حاضر، در هر یک از پیش‌تیمارها و شاهد افزایش تنش اسمزی منجر به کاهش شاخص بنیه بذر گردید. در تمامی سطوح تنش، شاخص بنیه بذر در بذرهای پیش‌تیمار شده با ملاتونین نسبت به شاهد بهبود یافت اگر چه غلظت ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین از بهترین شرایط برخوردار بود (جدول ۳). شاخص بنیه بذر تابعی از درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه به شمار می‌رود. تنش اسمزی با کاهش یا عدم انتقال مواد غذایی از آندوسپرم به جنین بذر مانع تقسیم سلولی و سنتز پروتئین می‌شود و در نتیجه با ایجاد تغییر در تعادل هورمونی، سبب کاهش رشد گیاهچه می‌گردد (Soltani *et al.,* 2006). ملاتونین از طریق تاثیر بر افزایش ترشح هورمون‌های محرک رشد مانند ایندول استیک اسید، سیتوکینین، جیبرلین، اکسین، ترکیبات آنتی‌اکسیدانت و کاروتنوئیدها و کاهش بیوسنتز بازدارنده‌های رشد از جمله اتیلن، میزان تقسیم سلولی بافت‌های مریستمی را افزایش می‌دهد (Li *et al.,* 2014; Janas and Posmyk, 2013; Zhang *et al.,* 2015; Wang *et al.,* 2014).

با کاهش پتانسیل آب از صفر به ۰/۴- مگاپاسکال، طول ریشه‌چه و اندام هوایی بطور چشمگیری کاهش یافت. بیشترین طول ریشه‌چه و اندام هوایی در شرایط عدم تنش و کمترین آن متعلق به پتانسیل ۰/۴- مگاپاسکال بود. بطوریکه طول ریشه‌چه و اندام هوایی به ترتیب از ۳۹/۷۶و ۴۸/۸ میلی‌متر در پتانسیل صفر به ۲۰ و ۳۳/۶ میلی‌متر در پتانسیل ۰/۴- مگاپاسکال رسید (جدول ۳). محققان با بررسی سطوح مختلف تنش کم‌آبی به کاهش طول ریشه‌چه و اندام هوایی اشاره کرده‌اند که با نتایج این آزمایش مطابقت داشت (Hosseini and Rezvani moghadam, 2006; Judi and Sharifzadeh, 2004). همچنین تاکل (Takel, 2000) به کاهش طول ریشه‌چه و اندام هوایی در شرایط تنش کم‌آبی اشاره کرده، که می‌تواند به علت کاهش جذب آب توسط بذر در شرایط تنش، کاهش ترشح هورمون‌ها، کاهش فعالیت آنزیم‌ها، اختلال در فتوسنتز و در نتیجه اختلال در رشد گیاهچه (شامل ریشه چه و اندام هوایی) باشد. بطور کلی گزارش شده است که بذرهای جوانه زده در محیط‌هایی که تحت شرایط تنش می‌باشند، دارای ساقه‌چه‌ها و ریشه‌چه‌های کوتاه‌تری هستند (Yordanov and Tsoev, 2000; Takel, 2000). در شرایط تنش مقدار پروتئین‌های دیواره سلولی که در طویل شدن و رشد سلول نقش دارند کاهش یافته و در نتیجه موجب کاهش طول ریشه‌چه و اندام هوایی می‌گردد (Opoku *et al.,*1996). ملاتونین موجب ریشه‌زایی، تحریک رشد ریشه و اندام هوایی و به تاخیر انداختن پیری برگ در گیاه باقلای مصری (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2007)، خیار (Zhang *et al.,* 2015) و برنج (Byeon and Back, 2013) گردید. ملاتونین از لحاظ ساختاری شبیه اکسین می‌باشد و اثراتی مشابه آن دارد که موجب تشکیل ریشه و طویل شدن کلئوپتیل می‌گردد (Chen *et al.,* 2009). در گیاه خردل، گیلاس و

آرابیدوپسیس، غلظت ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین موجب افزایش رشد ریشه و اندام هوایی گشته در حالیکه غلظت‌های بالاتر بازدارنده رشد ریشه و اندام هوایی بودند (Chen *et al.,* 2009; Sarropoulou *et al.,* 2012).

وزن خشک ریشه‌چه در گیاه بادرشبویه از دیگر پارامترهایی بود که تحت تیمار کم‌آبی بطور معنی‌داری کاهش یافت، که این نشاندهنده کاهش جذب آب توسط بذرها می‌باشد (جدول ۳). امیری و همکاران (Amiri *et al.,* 2011) در زوفا و برومند رضازاده و کوچکی (Broomand Reza Zadeh and Koochaki, 2005) در شوید و رازیانه نیز نتایج مشابهی گزارش کردند. همچنین در این مطالعه، اثر پتانسیل اسمزی بر روی خشک اندام هوایی نیز معنی‌دار بود (جدول ۳). در گیاهان زنیان (Broomand Reza Zadeh and Koochaki, 2005) و اسفرزه (Hosseini and Rezvani Moghadam, 2006) نیز نتایج مشابهی گزارش شده است. در شرایط تنش کم‌آبی رشد اندام هوایی حساسیت بیشتری نسبت به رشد ریشه‌چه دارد که شاید دلیل آن این است که ریشه اولین اندامی است که از بذر خارج شده و در نتیجه رشد آن سریع‌تر از رشد اندام هوایی بوده و همچنین اندام هوایی هیچ گونه تماس مستقیمی با منبع آب ندارد (Kaya and Day, 2008). مکانیسمی که ملاتونین رشد ریشه و بخش هوایی را در گیاهان افزایش می‌دهد بخوبی شناخته نشده است، اما احتمال دارد که ملاتونین تعادل هورمونی را در گیاه تغییر داده و تحت شرایط تنش، سبب افزایش اکسین و سیتوکینین می‌شود (Chen *et al.,* 2009; Sarropoulou *et al.,* 2012).

غلظت کلروفیل برگ شاخص مستقیم فعالیت فتوسنتزی، سلامتی گیاه و وضعیت رشد آن است (Zhang *et al.,* 2013). علاوه بر کاهش رشد گیاه، کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی نیز از مشخصه‌های بروز تنش کم‌آبی در نظر گرفته می‌شود (Li *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2013). در این بررسی، همانند یافته‌های سایر محققان (Afreen *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2013) تنش اسمزی موجب کاهش مقدار کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در گیاهچه بادرشبویه گردید (شکل ۱).

در مطالعات قبلی گزارش شده است که تنش اسمزی مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدها را در گشنیز (Noor zad *et al.,* 2015) و شوید (Setayesh Mehr and Ganjali, 2013) کاهش داده است. کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش اسمزی می‌تواند عمدتاً به دلیل تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها، واکنش آن‌ها با اکسیژن یکتایی، تخریب پیش ماده‌های سنتز کلروفیل و ممانعت از بیوسنتز کلروفیل‌های جدید و فعال شدن آنزیم های تجزیه کننده کلروفیل از جمله کلروفیلاز و اختلالات هورمونی باشد (Ahmadi and Ceiocemardeh, 2004). کاهش مقدار کاروتنوئیدها در شرایط تنش نیز به علت تجزیه بتاکاروتن و تشکیل زئازانترین در چرخه گزانتوفیل می‌باشد (Ahmadi and Ceiocemardeh, 2004). در این مطالعه پیش‌تیمار ملاتونین موجب افزایش مقدار کلروفیل (به عنوان یکی از اجزای اصلی فتوسنتزی و تأثیر گذار بر وزن خشک) و محتوای کاروتنوئیدها در گیاهچه‌های تحت تنش گردید که نشاندهنده توانائی ملاتونین برای بهبود رشد می‌باشد (شکل ۱). پیش‌تیمار ملاتونین از فعالیت آنزیم کلروفیلاز و آنزیم Pheophorbide-a oxygenase (Pao) (آنزیم‌های کلیدی در تجزیه کلروفیل) جلوگیری به عمل می‌آورد (Wang *et al.,* 2014; Turk *et al.,* 2014) و در نتیجه موجب حفظ و افزایش محتوای کلروفیل، به تعویق انداختن پیری برگ، حفظ ثبات و عملکرد PS_{II} و در نهایت افزایش سرعت فتوسنتز تحت شرایط تنش اسمزی خواهد شد (Turk *et al.,* 2014). کاربرد طولانی‌مدت ملاتونین بر روی درختان یکساله سیب تحت تنش کم‌آبی، سبب بهبود کارایی PS_{II}، افزایش هدایت روزنه‌ای (از طریق کاهش سطح ABA) و در نتیجه انتشار CO_2 به داخل گیاه موجب حفظ ظرفیت بالای اسیمیلاسیون CO_2 می‌شود (Wang *et al.,* 2014). القای

سنتز کاروتنوئیدها در شرایط تنش توسط ملاتونین می‌تواند به دلیل نقش حفاظتی آن‌ها در تشکیلات فتوسنتزی باشد. زیرا این رنگیزه‌ها مسئول خاموش کردن اکسیژن یکتایی و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و در نهایت کاهش تنش می‌گردند (Turk *et al.,* 2014).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول در شکل شماره ۲ آورده شده است. این نتایج نشان داد که مقدار قندهای محلول تحت تنش اسمزی افزایش یافت. قندهای محلول جزء اسمو لیت‌هایی هستند که در پاسخ به تنش کم‌آبی برای تنظیم اسمزی در گیاهان تجمع می‌یابند و نقش آن‌ها در حفظ ساختار ماکرو مولکول‌های سلول و از جمله ثبات بخشیدن به ساختار DNA گزارش شده است، به طوری که برخی دانشمندان مقدار قندها را به عنوان شاخص خوبی برای بیان مقاومت به تنش خشکی و شوری ذکر نموده‌اند (Ahmadi and Ceiocemardeh, 2004). در این آزمایش پیش‌تیمار بذر با ملاتونین تاثیر معنی‌داری بر مقدار کربوهیدرات‌های محلول تحت شرایط تنش اسمزی داشت (شکل ۲). ملاتونین به عنوان یک تنظیم کننده اسمزی موجب افزایش محتوای کربوهیدرات‌های محلول در گیلاس (Sarropoulou et al., 2012) و سیب (Wang *et al.,* 2014) تحت شرایط تنش کم‌آبی گردید.

در این آزمایش تنش اسمزی کاهش مقدار پروتئین را به دنبال داشت (شکل ۳). کاهش مقدار پروتئین در گیاه دارویی گشنیز (Noor zad *et al.,* 2015) و شوید (Setayesh Mehr and Ganjali, 2013) در شرایط تنش کم‌آبی گواهی بر نتیجه بدست آمده در این پژوهش می‌باشد. دلایل مختلفی در مورد کاهش مقدار پروتئین در گیاهان تحت تنش اسمزی ذکر شده است. تنش اکسیداتیو و اکسیداسیون پروتئین‌ها، سرکوب سنتز پروتئین و افزایش تجزیه پروتئین‌ها از دلایل کاهش مقدار پروتئین در تنش اسمزی ذکر شده است (Bradford, 1976). در این بررسی ملاتونین، موجب افزایش مقدار پروتئین در شرایط تنش گردید (شکل ۳). تأثیر ملاتونین بر تجمع کربوهیدرات‌های محلول نقش اساسی در تنظیم اسمزی ایفا می‌کند که از اکسیداسیون پروتین‌ها جلوگیری کرده و موجب حفظ ساختار و عملکرد پروتئین‌ها می‌گردد (Arnao and Hernandez-ruiz, 2014).

نتیجه‌گیری

با بررسی مولفه‌های جوانه‌زنی و برخی پارامترهای فیزیولوژی بادرشبویه تحت تنش اسمزی، بنظر می‌رسد این گیاه به تنش اسمزی حساس می‌باشد. اما پیش‌تیمار بذر با ملاتونین بخصوص غلظت‌های بالاتر آن (۵۰ و ۱۰۰ میکرو مولار) افزایش قابلیت جوانه‌زنی بذر و توسعه گیاهچه در شرایط تنش اسمزی به همراه داشت. بنابراین به نظر می‌رسد استفاده از این ترکیب بصورت پرایمینگ بذر می‌تواند جایگزین مناسبی برای بسیاری از ترکیبات القاء کننده جوانه‌زنی در غلظت‌های مناسب برای گیاهچه بادرشبویه باشد. جهت حصول نتیجه‌گیری بهتر پیشنهاد می‌شود تاثیر ملاتونین بر افزایش تحمل گیاه بادرشبویه به تنش خشکی در سطح گلخانه و مزرعه نیز مورد بررسی قرار گیرد.

منابع

Reference

Abdul-baki, A.A., and J.D. Anderson. 1970. Viability and leaching of sugars from germinating barely. Crop Sci. 10: 31-34.

Afreen, F., S. Zobayed, and T. Kozai. 2006. Melatonin in *Glycyrrhiza uralensis*: response of plant roots to spectral quality of light and UV-B radiation. J. Pineal Res. 41:108-115.

Ahmadi, A., and A. Ceiocemardeh. 2004. Effect of drought stress on soluble carbohydrate, chlorophyll and proline in four adopted Wheat cultivars with various climate of Iran. Iranian J. Agr. Sci. 35: 753-763. (In Persian).

Amiri, M.B., P. Rezvani Moghadam, H.R. Ehiaei, J. Falahi, and M. Aghvani Shajari. 2011. Response of germination and seedling growth of Hyssop (*Hyssopus officinalis*) and Marguerite (*Chrysanthemum superbum*) medicinal plants to water stress. J. Plant Ecophysiol. 3: 65-77. (In Persian).

Arnao, M.B. 2014. Phytomelatonin: discovery, content, and role in plants. Adv. Bot. 2014: 1-11.

Arnao, M.B., and J. Hernandez-Ruiz. 2007. Melatonin promotes adventitious and lateral root regeneration in etiolated hypocotyls of *Lupinus albus* L. J. Pineal Res. 42: 147-152.

Arnao, M.B., and J. Hernandez-Ruiz. 2014. Melatonin: plant growth regulator and/or biostimulator during stress. Trends in Plant Sci. 19: 789-797.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254.

Broomand Reza Zadeh, Z., and A. Koochaki. 2005. Study the seed germination response of *Trachyspermum ammi*, *Foeniculum vulgare* and *Anethum graveolens* to matric and osmotic potential induced by NaCl and poly ethylene glycol on different temperatures. Iran. J. Field Crops Res. 3: 207-217. (In Persian).

Byeon, Y., and K.W. Back. 2013. Melatonin synthesis in rice seedlings in vivo is enhanced at high temperatures and under dark conditions due to increased serotonin N-acetyltransferase and N-acetylserotonin methyltransferase activities. J Pineal Res. 56: 189-195.

Chen, Q., W.B. Qi, R.J. Reiter, W. Wei, and B.M. Wang. 2009. Exogenously applied melatonin stimulates root growth and raises endogenous indoleacetic acid in roots of etiolated seedlings of *Brassica juncea*. J Plant Physiol. 166: 324-328.

D. Emami., S., and N. M.Hosseini. 2008. Cultivation and production of certain herbs and spices. Univ. Tehran Press. P.93-97. (In Persian).

Emmerich, W.E., and S.P. Hardgree. 1990. Polyethylene glycol solution contact effect on seed germination. Agron. J. 82:1103-1107.

Hosseini, H., and P. Rezvani Moghadam. 2006. Effect of water and salinity stress in seed germination on Isabgol (*Plantago ovata*). Iran. J. Field Crops Res. 4: 15-22. (In Persian).

Janas, K.M., and M.M. Posmyk. 2013. Melatonin, an underestimated natural substance with great potential for agricultural application. Acta Physiol. Plant. 35:3285-3292.

Judi, M., and F. Sharifzadeh. 2004. Hydropriming effects on different varieties of *Hordeum*. J. Desert. 3: 99-108.

Kabir, R., A. Hatami, and M. Naghizadeh. 2014. Effect of Drought Stress and its Interaction with Salicylic Acid on Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) Germination and Early Seedling Growth. J. Medicinal Plants and By-products. 2: 107-116

Kaya, M.D., and S. Day. 2008. Relationship between seed size and NaCl on germination, seed vigor and early seedling growth of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Afr. J. Agr. Res. 3: 787-791.

Khorramdel, S., P. Rezvani Moghaddam, A. Amin Ghafoori, and J. Shabahang. 2013. Study the effect of priming with salicylic acid and drought stress on germination of black cumin (*Nigella sativa*). Iran. J. Field Crops Res. 10: 709-725. (In Persian).

Li, C., D.X. Tan, D. Liang, C. Chang, D. Jia, and F. Ma. 2014. Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behaviour in two *Malus* species under drought stress. J. Exp. Bot. 66: 669-80.

Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymol.148: 350-382.

Maguire, J.D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Sci. 2: 176-177.

Noor zad, S., A. Ahmadian, and M. Moghaddam. 2015. Study proline content, chlorophyll index, carbohydrate and nutrient absorption in *Coriandrum sativum* under drought stress and fertilizer treatment. Iran. J. Field crops Rese. 13: 131-139. (In Persian).

Opoku, G., F.M. Davies, E.V. Zetrio, and E.E. Camble. 1996. Relationship between seed vigor and yield of white beans (*Phaseolos vulgaris* L.). Plant Variety Seed. 9: 119-125.

Posmyk, M.M., H. Kuran, K. Marciniak, and K.M. Janas. 2008. Presowing seed treatment with melatonin protects red cabbage seedlings against toxic copper ion concentrations. J. Pineal Res. 45: 24-31.

Roe, J.H. 1955. The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent. J. Biol. Chem. 212: 335-343.

Sarropoulou, V.N., K. Dimassi-Theriou, I. Therios, and M. Koukourikou-Petridou. 2012. Melatonin enhances root regeneration, photosynthetic pigments, biomass, total carbohydrates and proline content in the cherry rootstock PHL-C (*Prunus avium×Prunus cerasus*). Plant Physiol. Biochem. 61: 162-168.

Setayesh Mehr, Z., and A. Ganjali. 2013. Study the effect of drought stress on growth and physiological characteristics of *Anethum graveolens*. J Hort. Sci. 27: 27-35. (In Persian).

Soltani, A., M. Gholipoor, and E. Zeinali. 2006. Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity. Environ. Exp. Bot., 55: 195-200.

Takel, A. 2000. Seedling emergence and growth of sorghum genotypes under variable soil moisture deficit. Acta Agron. Hung. 48: 95-102.

Tan, D.X., L.C. Manchester, P. Helton, and R.J. Reiter. 2007. Phytoremediative capacity of plants enriched with melatonin. Plant Signal Behav. 2: 514-516.

Turk, H., S. Erdal, M. Genisel, O. Atici, Y. Demir, and D. Yanmis. 2014. The regulatory effect of melatonin on physiological, biochemical and molecular parameters in cold-stressed wheat seedlings. Plant Growth Regul. 74: 139-152.

Wang, P., X. Sun, Y.P. Xie, M.J. Li, W. Chen, S. Zhang, D. Liang, and F.W. Ma. 2014. Melatonin regulates proteomic changes during leaf senescence in *Malus hupehensis*. J Pineal Res. 57: 291-307.

Yordanov, V., and T. Tsoev. 2000. Plant responses to drought, acclimation and stress tolerance. Photosynthica. 38: 171-186.

Zhang, N., B. Zhao, H.J. Zhang, S. Weeda, C. Yang, Z.C. Yang, S. Ren, and Y.D. Guo. 2013. Melatonin promotes water-stress tolerance, lateral root formation and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.). J. Pineal Res. 54: 15-23.

Zhang, N., Q. Sun, H. Zhang, Y. Cao, S. Weeda, S.H. Ren, and Y.D. Guo. 2015. Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants. J Exp. Bot. 66: 647-56.