

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

رزینا کبیری<sup>۱</sup>، علی حاتمی<sup>۲\*</sup>، حکیمه علومی<sup>۳</sup>، مهدی نقی‌زاده<sup>۴</sup>، فاطمه نصیبی<sup>۵</sup>، زهرا طهماسبی<sup>۶</sup>

۱. دانشجوی دکتری دانشگاه ایلام

۲ و ۶. استادیار دانشگاه ایلام

۳. گروه اکولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران

۴ و ۵. استادیار و دانشیار دانشگاه شهید باهنر کرمان

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

### چکیده

به منظور بررسی اثر پیش‌ تیمار ملاتونین بر جوانه‌زنی، رشد اولیه و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه دارویی بادرشوبه 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 (۰، ۵، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰) و تنش اسمزی (۰، -۰/۲، -۰/۴، -۰/۶ و -۰/۸) بودند. بذرهای بادرشوبه، به مدت ۲۴ ساعت در غلظت‌های مختلف ملاتونین پیش‌ تیمار شدند، سپس به منظور انجام آزمون جوانه‌زنی به پتری دیش‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محلول پلی‌اتیلن گلیکول با غلظت‌های ذکر شده منتقل شدند. نتایج نشان داد با افزایش تنش، درصد و سرعت جوانه‌زنی، وزن خشک گیاهچه، شاخص بنه بذر، طول ریشه چه، وزن خشک ریشه چه، طول اندام هوایی و خشک اندام هوایی، رنگیزه‌های فوستنزی و محتوی پروتئین در بادرشوبه 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 بنه بذر و در نهایت موجب افزایش وزن خشک گیاهچه‌های بادرشوبه تحت شرایط تنش گردید. بذرهایی که با غلظت‌های بالاتر ملاتونین (۵۰ و ۱۰۰) پیش‌ تیمار شده بودند، افزایش صفات فیزیولوژیکی مذکور (رنگیزه‌های فوستنزی، 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 پیش‌ تیمار شده بودند، هیچ‌گونه جوانه‌زنی نداشتند، در حالیکه بذرهایی که با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین پیش‌ تیمار شده بودند جوانه‌زنی در تمامی سطوح تنش مشاهده گردید.

**کلمات کلیدی:** بادرشوبه، تنش اسمزی، جوانه‌زنی بذر، رنگیزه‌های فوستنزی، 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<sup>1</sup>, A. Hatami<sup>2\*</sup>, H. Oloomi<sup>3</sup>, M. Naghizadeh<sup>4</sup>, F. Nasibi<sup>5</sup>, Z. Tahmasebi<sup>6</sup>

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  $\mu\text{mol}$ ) 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  $\mu\text{mol}$ ) 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  $\mu\text{mol}$  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

مرحله به شدت تحت تاثیر تنش ناشی از کمبود آب قرار می گیرد. تنش های محیطی از طریق محدود کردن جذب آب توسط بذر، تاثیر بر فراهمی مواد ذخیره ای بذر و یا با ایجاد اختلال در نقش ترکیبات ساختاری و تولید پروتئین ها در جنین در حال رشد، در عمل جوانه زنی اختلال ایجاد می کنند (Soltani *et al.*, 2006). بر اساس تحقیقات صورت گرفته بذوری که جوانه زنی مناسب تری داشته باشند، در مراحل بعدی رشد، گیاهانی با بنیه بهتر و سیستم ریشه ای قوی تر تولید می کنند.

علاوه بر این جوانه زنی مطلوب در تعیین تراکم مناسب بوته در واحد سطح یک عامل تعیین کننده در میزان عملکرد به حساب می آید (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 جوانه زنی تحت شرایط کنترل شده معمولا از پلی اتیلن گلاکول (PEG<sub>6000</sub>) استفاده می شود. آزمایشات نشان داده است که درصد جوانه زنی بذرها در محلول PEG<sub>6000</sub> با درصد جوانه زنی در خاک در همان پتانسیل حدودا برابر بوده است (Emmerich and Hardgree, 1990). گزارش های مختلف حاکی از کاهش درصد و سرعت جوانه زنی 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 جوانه زنی، 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 روش های تیمار بذر قبل از کاشت می باشد. استفاده از این روش باعث آبنوشی و فعال شدن فرآیندهای متابولیکی آغاز کننده جوانه زنی می گردد، ولی ظهور ریشه چه رخ نمی دهد (Judi and Sharifzadeh, 2004). گزارش های

## مقدمه

بادرشویه با نام علمی *Dracocephalum moldavica* L. گیاهی معطر، علفی، یکساله، به ارتفاع ۱۵ تا ۴۰ سانتی متر و برگ ها متقابل، دارای گل های درشت آبی متمایل به بنفش یا سفید و از تیره Lamiaceae بوده که در شمال غرب ایران بیشتر می روید و تمامی پیکره گیاه حاوی اسانس می باشد. ترکیبات اصلی اسانس این گیاه ژرانیال، نرال، ژرانیل استات و ژرانیول می باشد. این ترکیبات مونوترپن های حلقوی اکسیژن دار هستند و ۹۰٪ اسانس را تشکیل می دهند. اسانس دارای خاصیت ضد میکروبی و باکتریایی بوده و التیام دهنده زخم و جراحات می باشد. از اسانس آن در صنایع غذایی، نوشابه سازی، آرایشی و بهداشتی نیز استفاده می شود. از عصاره بادرشویه برای رفع سردرد و سرماخوردگی، ضعف عمومی بدن و به عنوان مسکن در دردهای عصبی و اسپاسم های معدی و کلیوی و برای شستشوی دهان و در دندان دردها کاربرد دارد، همچنین می توان 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 می گردد (D. Emami and M. Hosseini, 2008).

برخورداری بیشتر مناطق کشور از اقلیمی خشک و نیمه خشک باعث گردیده است که غالب گیاهان در مراحل مختلف رشد با تنش کم آبی مواجه شوند. کم آبی یکی از تنش های محیطی است که روی اکثر مراحل رشد گیاه، ساختار اندام و فعالیت آن ها آثار مخرب و زیان آوری وارد می سازد (Yordanov and Tsoev, 2000). پاسخ گیاهان به تنش های محیطی از جمله کم آبی در سطوح مورفولوژی، آناتومی، سلولی و مولکولی متفاوت است. توانایی گیاهان برای سازگاری به تنش کم آبی 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، جوانه زنی بذر است. این

همکاران (Tan *et al.*, 2007) گزارش کردند پیش تیمار 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 تحریک کننده و بازدارندگی ملاتونین به غلظت آن بستگی دارد (Sarropoulou *et al.*, 2012). تاکنون گزارشی مبنی بر تاثیر ملاتونین بر خصوصیات جوانه‌زنی گیاه دارویی بادرشویه منتشر نشده است بنابراین هدف از این پژوهش، بررسی اثرات سطوح مختلف تنش اسمزی بر خصوصیات جوانه‌زنی و فیزیولوژیکی بذر و گیاهچه بادرشویه و اینکه پیش تیمار بذر با ملاتونین می‌تواند اثرات مضر این تنش را کاهش دهد، انجام گرفت.

### مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر پیش تیمار ملاتونین بر جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه بادرشویه، آزمایشی در سال ۱۳۹۵ در آزمایشگاه تحقیقاتی مرکز آموزش عالی کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً 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، بذرهای 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 پلی اتیلن گلایکول (PEG<sub>6000</sub>) با غلظت‌های (۰، ۰/۲،

مختلف حاکی از آن است که پیش تیمار بذر موجب بهبود جوانه‌زنی، افزایش بنیه بذر و افزایش دامنه جوانه‌زنی بذرهای 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).

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).

### اندازه گیری مقدار رنگیزه های گیاهی

برای سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئیدها از روش لیچنتالر (Lichtenthaler, 1987) استفاده شد. ۰/۱ گرم از برگ های تازه گیاه در هاون چینی حاوی ۱۵ میلی لیتر استن ۸۰ درصد سائیده شد و پس از صاف کردن، جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. غلظت رنگیزه های گیاهی با استفاده از رابطه های زیر محاسبه گردید.

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

در این فرمول Chl.T, Chl.b, Chl.a به ترتیب غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها (شامل کاروتن و گرانوفیل) می باشد.

### اندازه گیری مقدار قندهای محلول

محتوای قند محلول نمونه ها 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 کربوهیدرات های 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 نمونه ها در ۶۲۵ نانومتر خوانده شد (Roe, 1995).

### سنجش مقدار پروتئین

برای سنجش غلظت پروتئین، به لوله های 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

پتری ها در اتاقک رشد و در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۴ روز قرار داده شدند (Kaya and Day, 2008) و تعداد بذرهاى جوانه زده هر روز تا روز چهاردهم مورد شمارش قرار گرفتند. بذرهایی جوانه زده تلقی شدند که طول ریشه چه آن ها دو میلی متر یا بیشتر بود (Kaya and Day, 2008). در روز چهاردهم، ریشه چه و ساقه چه جهت سنجش پارامترهای مورفولوژیکی از یکدیگر جدا شدند. طول ریشه چه و ساقه چه، وزن خشک ریشه چه و اندام هوایی اندازه گیری شد. برگ های همه گیاهان در نیتروژن مایع تا زمان سنجش پارامترهای فیزیولوژیکی (شامل رنگیزه های فتوسنتزی، محتوی قندهای محلول و محتوی پروتئین) در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد قرار داده شدند. درصد جوانه زنی از رابطه (۱) بدست می آید که در آن G درصد جوانه زنی، n تعداد نهایی بذرهاى جوانه زده و N تعداد بذرهاى کشت شده می باشد (Maguire, 1962).

$$\%G = \left(\frac{n}{N}\right) / 100 \quad \text{رابطه ۱}$$

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

$$GR = \sum_{i=1}^n \frac{N_i}{T_i} \quad \text{رابطه ۲}$$

= 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:

$$/100 \left( \frac{\text{میانگین طول گیاهچه} \times \text{درصد جوانه زنی}}{\text{شاخص بنیه بذر}} \right)$$

b، کلروفیل کل، کاروتنوئیدها، محتوی قندهای محلول و پروتئین) (جدول ۲) گیاهچه بادرشویه در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار 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 بذری که با غلظت‌های ۵ و ۱۰ میکرومولار ملاتونین پیش‌تیمار شده 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 و ۱۰۰  $\mu\text{mol}$ ) موجب افزایش صفات مذکور در شرایط تنش و عدم تنش گردید (جدول ۳).

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 معنی دار 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

جدول ۱- تجزیه واریانس پیش‌تیمار ملاتونین بر روی خصوصیات جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه بادرشویه 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

ns و \*\* و \* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵٪، ۱٪ و بدون اختلاف معنی دار

ns, \*\* and \* 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 بادرشوبیه 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 <sup>ns</sup> به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵٪، ۱٪ و بدون اختلاف معنی دار

\*, \*\* and <sup>ns</sup> denote significant differences at 0.05, 0.01 % levels, and not significant respectively.

معنی دار وزن خشک گیاهچه در مقایسه با شاهد گردید. اما در سطوح ۰/۶ MPa و ۰/۸ MPa، تنها غلظت‌های بالاتر ملاتونین (۵۰ و ۱۰۰ μmol) با شاهد و غلظت‌های ۵ μmol و ۱۰ ملاتونین تفاوت معنی داری را نشان دادند (جدول ۳). در شرایط عدم تنش و سطح ۰/۴ MPa، بالاترین غلظت ملاتونین به ترتیب موجب افزایش ۳۴/۳٪ و ۴۰/۲٪ در وزن خشک گیاهچه بادرشوبیه گردید.

با افزایش تنش اسمزی، شاخص بنیه بذر بطور معنی دار 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 ۰/۴ MPa بود و کاهش در این شاخص در تیمار ۰/۴ MPa نسبت به شاهد حدود ۷۲/۶٪ بود (جدول ۳). پیش تیمار بذر با ملاتونین در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰

نتایج حاصل از اندازه گیری وزن خشک گیاهچه بادرشوبیه نشان داد که مقدار این صفت با افزایش تنش اسمزی ( $p \leq 0.01$ ) کاهش یافت (جدول ۱). این کاهش در تمامی سطوح مختلف تنش معنی دار بود (جدول ۳)، بطوریکه هیچ گونه اندام هوایی در تیمار شاهد و غلظت ۵ μmol ملاتونین در سطوح ۰/۶ MPa و ۰/۸ MPa مشاهده نشد (جدول ۳). پیش تیمار بذر با غلظت ۱۰ μmol ملاتونین قادر به تولید بیوماس در بالاترین سطح تنش (۰/۸ MPa) نگردید (جدول ۳)، در حالیکه غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ μmol ملاتونین اثرات مضر تنش را کاهش دادند (جدول ۳). در گیاهچه‌های شاهد بیشترین مقدار این صفت متعلق به غلظت ۱۰۰ μmol ملاتونین بود (۲/۶۵۷ mg.plant<sup>-1</sup>). در سطوح ۰/۲ MPa و ۰/۴ MPa محلول PEG، تمامی غلظت‌های ملاتونین موجب افزایش

بیشترین تاثیر را در حفاظت از گیاهچه‌های بادرشویه علیه تنش اسمزی داشت (جدول ۳). در سطح تنش  $-0.4$  MPa بذرهایی که با غلظت‌های  $50$  و  $100$   $\mu\text{mol}$  ملاتونین پیش‌ تیمار شده بودند به ترتیب باعث افزایش حدود  $56/6\%$  و  $67/5\%$  در شاخص بینه بذر در مقایسه با بذرهایی که با آب مقطر پیش‌ تیمار 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  $50$  و  $100$   $\mu\text{mol}$  ملاتونین موجب افزایش طول ریشه‌چه گردید (جدول ۳). در تنش  $-0.4$  MPa، طول ریشه‌چه حدود  $43/4\%$  در غلظت  $50$   $\mu\text{mol}$  و  $43/6\%$  در غلظت  $100$   $\mu\text{mol}$  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  $-0.4$  MPa، وزن خشک ریشه‌چه بذرهایی که با آب مقطر پیش‌ تیمار شده بودند، حدود  $64/3\%$  کاهش یافت (جدول ۳). پیش‌ تیمار بذر با غلظت‌های  $50$  و  $100$   $\mu\text{mol}$  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  $50$  و  $100$   $\mu\text{mol}$  ملاتونین در شرایط کنترل و تنش گردید (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر پیش‌ تیمار ملاتونین بر خصوصیات جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه بادرشویه 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.

Mel × Osmotic Stress	درصد جوانه‌زنی Germination Percentage (%)	سرعت جوانه‌زنی Germination Rate (Seed/day)	وزن خشک گیاهچه Seedling Dry Weight (mg.plant <sup>-1</sup> )	شاخص بینه بذر Seed Vigor Index	طول ریشه‌چه Radicle Length (mm)	وزن خشک ریشه‌چه Radicle Dry Weight (mg.plant <sup>-1</sup> )	طول اندام هوایی Shoot Length (mm)	وزن خشک اندام هوایی Shoot Dry Weight (mg.plant <sup>-1</sup> )
<b>Control</b>								
Control	70 <sup>ab</sup> ± 2.8	3.667 <sup>a</sup> ± 0.088	2.569 <sup>b</sup> ± 0.007	62.02 <sup>d</sup> ± 2.56	39.763 <sup>a</sup> ± 0.0317	0.8317 <sup>b</sup> ± 0.0055	48.843 <sup>d</sup> ± 0.029	1.737 <sup>a</sup> ± 0.008
-0.2 MPa	60 <sup>a</sup> ± 2.8	2.463 <sup>b</sup> ± 0.0317	1.9363 <sup>c</sup> ± 0.011	43.79 <sup>bc</sup> ± 2.06	31.567 <sup>b</sup> ± 0.0881	0.6183 <sup>bc</sup> ± 0.0127	41.438 <sup>e</sup> ± 0.0716	1.318 <sup>b</sup> ± 0.003
-0.4 MPa	31.67 <sup>cd</sup> ± 4.4	1.253 <sup>d</sup> ± 0.156	1.21 <sup>e</sup> ± 0.0251	16.99 <sup>d</sup> ± 2.357	20.033 <sup>c</sup> ± 0.0145	0.2967 <sup>cd</sup> ± 0.0033	33.645 <sup>f</sup> ± 0.1746	0.913 <sup>c</sup> ± 0.028
-0.6 MPa	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0
-0.8 MPa	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0
<b>50 <math>\mu\text{mol}</math> Mel</b>								
Control	76.67 <sup>ab</sup> ± 1.6	3.836 <sup>a</sup> ±	2.5688 <sup>b</sup> ± 0.0172	68.086 <sup>c</sup> ± 1.438	39.799 <sup>a</sup> ± 0.049	0.85 <sup>ab</sup> ± 0.0057	49.02 <sup>cd</sup> ± 0.0665	1.7189 <sup>a</sup> ± 0.0124
-0.2 MPa	60 <sup>a</sup> ± 2.8	3.253 <sup>b</sup> ±	2.215 <sup>c</sup> ± 0.0896	47.582 <sup>d</sup> ± 2.3915	35.90 <sup>b</sup> ± 0.0057	0.675 <sup>c</sup> ± 0.068	43.386 <sup>e</sup> ± 0.169	1.54 <sup>b</sup> ± 0.026
-0.4 MPa	43.33 <sup>b</sup> ± 3.3	2.1067 <sup>c</sup> ±	1.3835 <sup>d</sup> ± 0.0353	26.383 <sup>e</sup> ± 1.8316	24.9 <sup>c</sup> ± 0.4932	0.3435 <sup>de</sup> ± 0.031	36.05 <sup>f</sup> ± 0.077	1.04 <sup>d</sup> ± 0.0057
-0.6 MPa	25 <sup>c</sup> ± 2.8	0.6 <sup>d</sup> ±	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0
-0.8 MPa	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0
<b>100 <math>\mu\text{mol}</math> Mel</b>								
Control	80 <sup>ab</sup> ± 2.8	4.74 <sup>bc</sup> ± 0.057	2.6167 <sup>ab</sup> ± 0.019	71.859 <sup>bc</sup> ± 2.53	40.087 <sup>a</sup> ± 0.0284	0.865 <sup>ab</sup> ± 0.0067	49.74 <sup>b</sup> ± 0.08	1.7517 <sup>a</sup> ± 0.0139
-0.2 MPa	65 <sup>ab</sup> ± 2.8	3.46 <sup>c</sup> ± 0.057	2.2554 <sup>c</sup> ± 0.029	54.754 <sup>d</sup> ± 2.56	36.137 <sup>b</sup> ± 0.0852	0.701 <sup>c</sup> ± 0.028	48.081 <sup>c</sup> ± 0.13	1.554 <sup>b</sup> ± 0.0072
-0.4 MPa	46.67 <sup>b</sup> ± 4.4	2.553 <sup>d</sup> ± 0.058	1.909 <sup>d</sup> ± 0.0065	33.977 <sup>e</sup> ± 3.21	31.403 <sup>c</sup> ± 0.1121	0.5986 <sup>c</sup> ± 0.0084	41.4 <sup>d</sup> ± 0.19	1.3103 <sup>c</sup> ± 0.0054
-0.6 MPa	30 <sup>c</sup> ± 2.8	1.33 <sup>e</sup> ± 0.175	1.1935 <sup>e</sup> ± 0.0352	15.936 <sup>f</sup> ± 1.491	19.976 <sup>d</sup> ± 0.0887	0.2835 <sup>de</sup> ± 0.0142	33.1 <sup>e</sup> ± 0.48	0.91 <sup>c</sup> ± 0.0493
-0.8 MPa	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0	0 <sup>a</sup> ± 0
<b>50 <math>\mu\text{mol}</math> Mel</b>								
Control	91.67 <sup>ab</sup> ± 1.6	4.9 <sup>b</sup> ± 0.06	2.643 <sup>ab</sup> ± 0.0384	84.03 <sup>a</sup> ± 1.92	40.33 <sup>a</sup> ± 0.0881	0.893 <sup>a</sup> ± 0.012	51.323 <sup>a</sup> ± 0.6617	1.75 <sup>a</sup> ± 0.026
-0.2 MPa	75 <sup>abc</sup> ± 2.8	4.12 <sup>c</sup> ± 0.06	2.578 <sup>ab</sup> ± 0.0065	66.89 <sup>b</sup> ± 2.517	39.63 <sup>a</sup> ± 0.1452	0.8547 <sup>ab</sup> ± 0.0081	49.55 <sup>ab</sup> ± 0.0685	1.723 <sup>a</sup> ± 0.012
-0.4 MPa	50 <sup>c</sup> ± 2.8	3.03 <sup>d</sup> ± 0.035	1.989 <sup>b</sup> ± 0.0275	39.14 <sup>d</sup> ± 2.268	35.42 <sup>b</sup> ± 0.0404	0.652 <sup>bc</sup> ± 0.0151	42.86 <sup>c</sup> ± 0.0513	1.336 <sup>c</sup> ± 0.02
-0.6 MPa	38.33 <sup>b</sup> ± 1.6	2.0033 <sup>d</sup> ± 0.058	1.372 <sup>d</sup> ± 0.01015	23.86 <sup>e</sup> ± 1.095	26.067 <sup>c</sup> ± 0.463	0.338 <sup>cd</sup> ± 0.0346	36.182 <sup>d</sup> ± 0.2437	1.034 <sup>d</sup> ± 0.028
-0.8 MPa	15 <sup>d</sup> ± 5.7	0.623 <sup>e</sup> ± 0.098	0.85 <sup>d</sup> ± 0.0425	6.65 <sup>f</sup> ± 2.541	17.83 <sup>d</sup> ± 1.189	0.24 <sup>d</sup> ± 0.0075	26.152 <sup>e</sup> ± 0.257	0.61 <sup>e</sup> ± 0.047
<b>100 <math>\mu\text{mol}</math> Mel</b>								
Control	96.67 <sup>a</sup> ± 1.6	5.2 <sup>a</sup> ± 0.057	2.6577 <sup>a</sup> ± 0.014	88.81 <sup>a</sup> ± 2.09	40.423 <sup>a</sup> ± 0.124	0.8887 <sup>a</sup> ± 0.007	51.438 <sup>a</sup> ± 0.44	1.769 <sup>a</sup> ± 0.0075
-0.2 MPa	85 <sup>ab</sup> ± 2.8	4.62 <sup>b</sup> ± 0.057	2.601 <sup>ab</sup> ± 0.011	76.08 <sup>b</sup> ± 2.641	40.046 <sup>a</sup> ± 0.0417	0.857 <sup>ab</sup> ± 0.007	49.454 <sup>ab</sup> ± 0.072	1.743 <sup>a</sup> ± 0.012
-0.4 MPa	66.67 <sup>bc</sup> ± 4.4	3.28 <sup>c</sup> ± 0.057	2.0237 <sup>c</sup> ± 0.022	52.4 <sup>c</sup> ± 3.427	35.523 <sup>b</sup> ± 0.0788	0.657 <sup>cd</sup> ± 0.0089	43.083 <sup>c</sup> ± 0.0521	1.367 <sup>b</sup> ± 0.0185
-0.6 MPa	45 <sup>c</sup> ± 2.8	1.98 <sup>d</sup> ± 0.077	1.454 <sup>d</sup> ± 0.075	28.63 <sup>d</sup> ± 1.647	28.1 <sup>c</sup> ± 0.2081	0.3706 <sup>d</sup> ± 0.0269	35.578 <sup>d</sup> ± 0.572	1.083 <sup>c</sup> ± 0.0497
-0.8 MPa	25 <sup>d</sup> ± 4.9	0.65 <sup>e</sup> ± 0.069	0.9277 <sup>d</sup> ± 0.0077	11.37 <sup>e</sup> ± 2.053	17.967 <sup>d</sup> ± 0.835	0.2677 <sup>e</sup> ± 0.0095	27.814 <sup>e</sup> ± 0.061	0.66 <sup>e</sup> ± 0.0057

$P \leq 0.05$  بعنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند.

معنی داری بر مقدار کلروفیل b در مقایسه با شاهد نشان نداد ولی این اختلاف در سایر غلظت‌های ملاتونین از لحاظ آماری معنی دار بود (شکل B-1). در تمام تیمارهای تنش اسمزی، مقدار کلروفیل b در بذوری که با غلظت‌های  $50 \mu\text{mol}$  و  $100 \mu\text{mol}$  ملاتونین پیش تیمار شده بودند بیشتر از بذوری بود که با آب مقطر و غلظت‌های  $5 \mu\text{mol}$  و  $10 \mu\text{mol}$  ملاتونین پیش تیمار شده بودند (شکل B-1). در غلظت  $100 \mu\text{mol}$  ملاتونین، با کاهش پتانسیل آب از صفر به  $-0.8 \text{ MPa}$  مقدار کلروفیل b حدود  $91.5\%$  کاهش یافت (شکل B-1).

در شرایط عدم تنش، مقدار کلروفیل کل در غلظت‌های  $50 \mu\text{mol}$  و  $100 \mu\text{mol}$  ملاتونین (بدون اختلاف با یکدیگر)، با غلظت‌های  $5 \mu\text{mol}$  و  $10 \mu\text{mol}$  ملاتونین و شاهد تفاوت معنی داری را نشان دادند (شکل C-1). در تنش  $-0.2 \text{ MPa}$ ، تمامی غلظت‌های ملاتونین از نظر آماری با شاهد تفاوت داشتند (شکل C-1). در تیمار  $-0.4 \text{ MPa}$ ، غلظت  $5 \mu\text{mol}$  ملاتونین بر مقدار کلروفیل کل تاثیری نداشت و این در حالیست که سایر غلظت‌های ملاتونین موجب افزایش معنی دار صفت مذکور گردیدند (شکل C-1).

در شرایط تنش، مقدار کاروتنوئیدها در تمامی سطوح ملاتونین با شاهد اختلاف معنی دار داشت (شکل D-1). در بذوری که با غلظت‌های  $50 \mu\text{mol}$  و  $100 \mu\text{mol}$  ملاتونین پیش تیمار شده بودند، مقدار کاروتنوئیدها در بالاترین سطح تنش به ترتیب حدود  $73.5\%$  و  $73.5\%$  در مقایسه با شاهد کاهش یافت (شکل D-1).

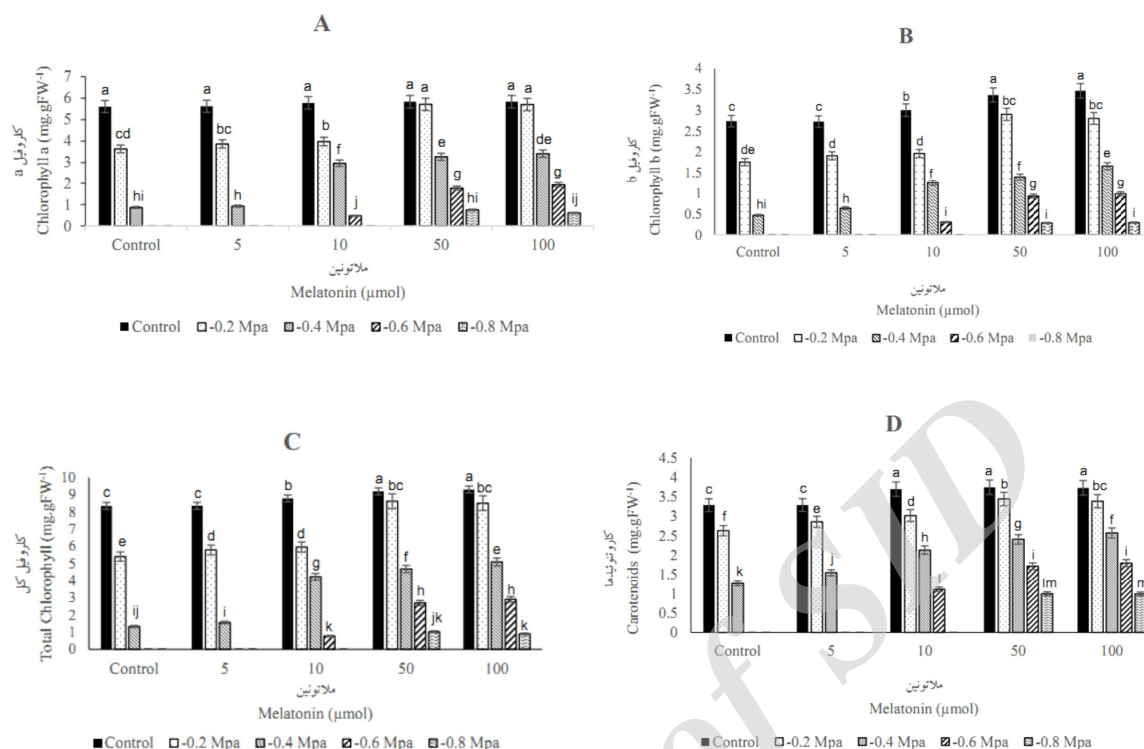
در سطح تنش اسمزی  $-0.4 \text{ MPa}$ ، مقدار کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئیدها در غلظت  $50 \mu\text{mol}$  ملاتونین به ترتیب حدود  $73.7\%$ ،  $66.9\%$ ،  $71.6\%$  و  $47.5\%$  و در غلظت  $100 \mu\text{mol}$  ملاتونین به ترتیب حدود  $74.8\%$ ،  $72\%$ ،  $73.9\%$  و  $50.9\%$  در مقایسه با بذور پیش تیمار نشده افزایش داشتند (شکل 1).

تنش اسمزی موجب کاهش طول اندام هوایی گردید، اما پیش تیمار بذور 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 3). بطوریکه در سطح تنش  $-0.4 \text{ MPa}$ ، غلظت  $100 \mu\text{mol}$  ملاتونین باعث افزایش طول اندام هوایی در حدود  $22\%$  در مقایسه با شاهد گردید (جدول 3). در شرایط کنترل، بین سطوح مختلف ملاتونین و شاهد از نظر وزن خشک اندام هوایی اختلاف معنی داری مشاهده نگردید. اما در تمامی سطوح مختلف تنش، غلظت‌های  $50 \mu\text{mol}$  و  $100 \mu\text{mol}$  ملاتونین از لحاظ آماری با گیاهچه‌های شاهد تفاوت داشتند (جدول 3). در بالاترین غلظت ملاتونین، افزایش تنش اسمزی از صفر به  $-0.8 \text{ MPa}$  حدود  $62.7\%$  کاهش در صفت مذکور مشاهده گردید (جدول 3).

تنش اسمزی  $-0.4 \text{ MPa}$  مقدار کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئیدها را به ترتیب حدود  $84.6\%$ ،  $83\%$ ،  $84.1\%$  و  $61.5\%$  نسبت به گیاهچه‌های شاهد کاهش داد، پیش تیمار بذور با ملاتونین مقدار کلروفیل a (شکل A-1)، کلروفیل b (شکل B-1)، کلروفیل کل (شکل C-1) و کاروتنوئیدها (شکل D-1) را در شرایط تنش افزایش داد. در شرایط کنترل، پیش تیمار بذور با ملاتونین اثر معنی داری بر مقدار کلروفیل a در مقایسه با شاهد نشان نداد (شکل A-1). در تیمار  $-0.2 \text{ MPa}$ ، غلظت  $5 \mu\text{mol}$  ملاتونین تفاوت معنی داری با شاهد نداشت، و این تفاوت در سایر غلظت‌های ملاتونین از لحاظ آماری معنی دار بود (شکل A-1). در سطح تنش  $-0.4 \text{ MPa}$ ، گیاهچه‌های شاهد بدون اختلاف با گیاهچه‌هایی که با غلظت  $5 \mu\text{mol}$  ملاتونین پیش تیمار شده بودند، تفاوت معنی داری را با غلظت‌های  $10 \mu\text{mol}$ ،  $50 \mu\text{mol}$  و  $100 \mu\text{mol}$  ملاتونین نشان دادند (شکل A-1).

در شرایط کنترل، پیش تیمار بذور با غلظت  $5 \mu\text{mol}$  اثر



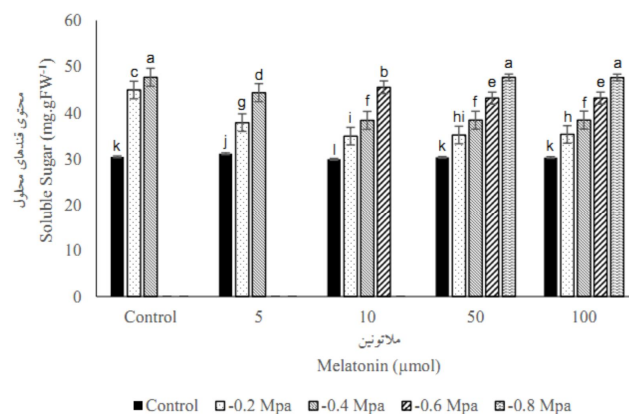


شکل ۱: اثر پیش تیمار ملاتونین بر محتوای کلروفیل a (A)، b (B)، کل (C) و کاروتنوئیدها (D) گیاهچه بادرشوبیه تحت تنش اسمزی. میانگین‌ها با آزمون LSD مقایسه شدند.  $P \leq 0.05$  بعنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند.

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  $P \leq 0.05$  significant level. Means followed by the same letter(s) are not significantly different.

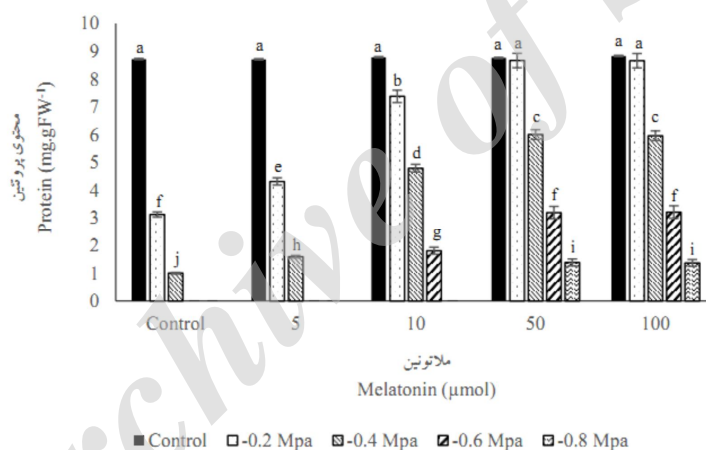
افزایش مقدار پروتئین در شرایط تنش گردید (شکل ۳). در شرایط کنترل، هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری بین بذور پیش تیمار شده با ملاتونین و شاهد مشاهده نگردید. در تنش اسمزی، پیش تیمار بذور با ملاتونین باعث افزایش محتوای پروتئین گیاهچه بادرشوبیه گردید اما افزایش مقدار صفت مذکور در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ μmol ملاتونین مشهودتر بود (شکل ۳). در شرایط تنش ۰/۴ MPa، محتوای پروتئین در غلظت‌های ۵۰ μmol و ۱۰۰ ملاتونین به ترتیب حدود ۸۳/۵٪ و ۸۳/۴٪ در مقایسه با بذور بدون پیش تیمار افزایش یافت (شکل ۳).

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 و ۱۰۰ ملاتونین به ترتیب باعث افزایش ۳۶/۲٪ و ۳۶/۳٪ در محتوای قندهای محلول در مقایسه با شاهد گردید (شکل ۲). محتوای پروتئین گیاهچه بادرشوبیه تحت تنش اسمزی کاهش معنی‌دار نشان داد. پیش تیمار ملاتونین موجب



شکل ۲. اثر پیش تیمار ملاتونین بر محتوی قندهای محلول گیاهیچه بادرشویه تحت تنش اسمزی. میانگین‌ها با آزمون LSD مقایسه شدند.  $P \leq 0.05$  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  $P \leq 0.05$  significant level. Means followed by the same letter(s) are not significantly different.



شکل ۳. اثر پیش تیمار ملاتونین بر محتوی پروتئین گیاهیچه بادرشویه تحت تنش اسمزی. میانگین‌ها با آزمون LSD مقایسه شدند.  $P \leq 0.05$  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  $P \leq 0.05$  significant level. Means followed by the same letter(s) are not significantly different.

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 بادرشویه گردید (جدول ۳). در این پژوهش سرعت جوانه‌زنی با افزایش تنش اسمزی کاهش یافت و بالاترین سرعت جوانه‌زنی در بذور شاهد و

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 گلیکول با ایجاد تنش اسمزی باعث کاهش هیدرولیز مواد اندوخته‌ای دانه و در نتیجه کاهش درصد

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  $\alpha$ -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 پیش‌تیمار بذور 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 دلیل طبیعت دوگانه (خاصیت چربی‌دوستی و آب‌دوستی) می‌تواند براحتی از موانع مورفولوژی و فیزیولوژی عبور کند و سریعاً به سلول منتقل گردد و طی فرآیند پیش‌تیمار، به درون بذور نفوذ کرده و موجب بهبود جوانه‌زنی و حفاظت از بذور در غلظت‌های مختلف PEG می‌شود (Zhang et al., 2015; Arnao and Hernandez-Ruiz, 2014). پیش‌تیمار بذور با ملاتونین جهت حفاظت از جنین و بافت‌های تولید مثلی در برابر آسیب ناشی از تنش اسمزی ضروری است (Janas and Posmyk, 2013). اثر تحریک‌کننده 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 بادرشوبیه با افزایش تنش اسمزی بود (جدول ۳). در شرایط تنش اسمزی، دسترسی بذور 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

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 بذور بادرشوبیه از توانایی بالایی جهت جوانه‌زنی مناسب در شرایط تنش کم‌آبی برخوردار نیست. چنانچه جذب آب توسط بذور دچار اختلال گردد و یا جذب آب به آرامی صورت گیرد، فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی در داخل بذور به آرامی انجام خواهند شد و در نتیجه مدت زمان لازم برای خروج ریشه چه از بذور 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 بذور بادرشوبیه 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 بذور و رشد گیاه را در شرایط تنش‌های محیطی بهبود بخشد (Posmyk et al., 2008). بنابراین استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد بصورت برون‌زا می‌تواند راهی مناسب در جهت افزایش تحمل گیاهان حساس به کم‌آبی باشد. اثرات مفید پیش‌تیمار بذور بر درصد و سرعت جوانه‌زنی به پیش‌توسعه جنین و تغییرات بیوشیمیایی و فعال شده آنزیم‌ها نسبت داده می‌شود (Kaya and Day, 2008). پیش‌تیمار بذور با ملاتونین با تحریک و انبساط سلولی و مهار فعالیت‌گونه‌های فعال اکسیژن حاصل از تنش اسمزی موجب بهبود جوانه‌زنی می‌گردد (Posmyk et al., 2008). تغییرات ملایم و تدریجی درصد و سرعت جوانه‌زنی بذورهای پیش‌تیمار شده با غلظت‌های مختلف ملاتونین نسبت به شاهد به

بافت‌های مرستمی 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 ۳۹/۷۶ و 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 (2000, Takel) 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 کلنوپتیل می‌گردد (Chen et al., 2009). در گیاه خردل، گیلاس و

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 بادرشوبه گردید (جدول ۳). گزارش شده است ملاتونین موجب افزایش وزن خشک گیاهچه *Glycyrrhiza 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 تأثیر 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

Zhang *et al.*, 2013) تنش اسمزی موجب کاهش مقدار کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در گیاهچه بادرشویه 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 آنزیم‌های تجزیه کننده کلروفیل از جمله کلروفیلاز و اختلالات هورمونی باشد (Ahmadi and Ceioemardeh, 2004). کاهش مقدار کاروتنوئیدها در شرایط تنش نیز به علت تجزیه بتاکاروتن و تشکیل زئازانتین در چرخه گزانتوفیل می‌باشد (Ahmadi and Ceioemardeh, 2004). در این مطالعه پیش تیمار 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). پیش تیمار ملاتونین از فعالیت آنزیم کلروفیلاز و آنزیم Pheophorbide-a oxygenase (Pao) 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<sub>II</sub> و در نهایت افزایش سرعت فتوسنتز تحت شرایط تنش اسمزی خواهد شد (Turk *et al.*, 2014). کاربرد طولانی مدت ملاتونین بر روی درختان یکساله سیب تحت تنش کم‌آبی، سبب بهبود کارایی PS<sub>II</sub>، افزایش هدایت روزنه‌ای (از طریق کاهش سطح ABA) و در نتیجه انتشار CO<sub>2</sub> به داخل گیاه موجب حفظ ظرفیت بالای اسیملاسیون CO<sub>2</sub> می‌شود (Wang *et al.*, 2014). القای

آراییدوپسیس، 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 بادرشویه 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 زینان (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 هیچ‌گونه 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; )

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 پروتئین‌ها جلوگیری کرده و موجب حفظ ساختار و عملکرد پروتئین‌ها می‌گردد (Arnao and Hernandez-ruiz, 2014).

### نتیجه‌گیری

با بررسی مولفه‌های جوانه‌زنی و برخی پارامترهای فیزیولوژی بادرشوبیه 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 بادرشوبیه باشد. جهت حصول نتیجه‌گیری بهتر پیشنهاد می‌شود تاثیر ملاتونین بر افزایش تحمل گیاه بادرشوبیه به تنش خشکی در سطح گلخانه و مزرعه نیز مورد بررسی قرار گیرد.

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 اسمولیت‌هایی 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

### 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.

### منابع

- Ahmadi, A., and A. Ceioceмарdeh. 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. Ehiacai, 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.
- Khorrandel, 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. Phyto-remediation 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. Photosynthetica. 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.