

## اثر ملاتونین و هیدروپرایمینگ بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک بذر و گیاهچه نخود (*Cicer arietinum* L.) تحت تنش شوری

معصومه آزادبخت، حمیدرضا بلوچی\*، محسن موحدی دهنوی و علی مرادی

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۲۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۵/۲۲)

### چکیده

ملاتونین (N استیل-۵-متوکسی تریپتامین) به‌عنوان یک تنظیم‌کننده رشد گیاه، ترکیبی طبیعی است که در انواع زیادی از گونه‌های گیاهی در ریشه، برگ، میوه و دانه شناسایی شده است. به‌منظور بررسی اثر ملاتونین بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک بذر و گیاهچه نخود (رقم آرمان) تحت تنش شوری، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج در سال ۱۳۹۶ اجرا گردید. فاکتورهای آزمایش شامل ملاتونین در غلظت‌های بدون پرایم، صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۲۵ میکرومولار به‌عنوان فاکتور اول و سطوح مختلف شوری شامل صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار سدیم کلرید به‌عنوان فاکتور دوم بود. نتایج نشان داد که در سطوح تنش شوری ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌مولار، ملاتونین با غلظت ۱۰۰ میکرومولار، باعث افزایش میزان پرولین گیاهچه گردید. در شرایط عدم تنش پرایمینگ با غلظت‌های ۲۵، ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار، ملاتونین با غلظت ۱۰۰ میکرومولار، باعث افزایش میزان پتاسیم گیاهچه را افزایش داد. همچنین در تنش ۱۰۰ میلی‌مولار شوری پرایمینگ با غلظت‌های ۲۵، ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین باعث افزایش میزان پتاسیم در گیاهچه شد. پرایمینگ با غلظت ۷۵ و ۲۵ میکرومولار ملاتونین به‌ترتیب در سطوح تنش شوری ۱۰۰ و ۷۵ میلی‌مولار باعث کاهش میزان سدیم گیاهچه شد. با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان گفت که نخود در مرحله جوانه‌زنی تا سطح ۱۰۰ میلی‌مولار تنش شوری را تحمل نموده و کاربرد ملاتونین در این مرحله به دلیل تحمل به شوری تأثیر زیادی بر شاخص‌های فیزیولوژیک بذر نداشته است و تنها هیدروپرایمینگ در این شرایط نسبت به شاهد بدون پرایم با کمک به جذب آب توسط گیاه تأثیر مثبتی بر فرایند فیزیولوژیک در حین جوانه‌زنی داشته است.

واژگان کلیدی: پرولین، مالون دی‌آلدئید، پتاسیم، سدیم، پرایمینگ

### مقدمه

(۴/۵۷ درصد) و تولید معادل ۲۷۸ هزار تن مقاوم اول را از نظر تولید و سطح زیر کشت به خود اختصاص داده است (احمدی و همکاران، ۱۳۹۷). نخود یکی از محصولات زراعی مهم در خاورمیانه و ایران است، مقدار تولید و کیفیت پروتئین دانه آن بسیار زیاد بوده و با تثبیت نیتروژن در خاک موجب افزایش حاصلخیزی آن می‌شود. نخود گیاهی حساس به شوری است و

نخود از خانواده بقولات و گیاهی است یکساله که تنها جهت تولید دانه کشت می‌گردد. در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ از حدود ۱۱ میلیون هکتار سطح برداشت محصولات زراعی، حدود ۷۹۹ هزار هکتار معادل ۷/۲۷ درصد سطح برداشت حبوبات است که در بین حبوبات نخود با سطح زیر کشت ۵۰۲ هزار هکتار

چرخه تقسیم سلولی، تکثیر DNA، متابولیسم نشاسته/ ساکارز و بیوسنتز لیپیدها اثر خود را اعمال کند (Wei et al., 2015). ملاتونین روی گیاه سویا به‌عنوان پوشش بذر باعث افزایش رشد و توسعه و عملکرد می‌شود و همچنین آستانه تحمل تنش‌های خشکی و شوری را بهبود می‌بخشد. (Wei et al., 2015). تنش شوری منجر به افزایش مالون دی‌آلدئید و سایر آلدئیدها در اندام‌های هوایی می‌گردد و کاربرد ملاتونین بیرونی در گیاهان تحت تنش شوری منجر به کاهش میزان مالون دی‌آلدئید می‌شود (زارع زینلی، ۱۳۹۵). غلظت مالون دی‌آلدئید تحت تنش شوری افزایش یافته که با کاربرد ملاتونین به‌طور قابل ملاحظه از میزان این شاخص کاسته می‌شود. کاهش غلظت مالون دی‌آلدئید به این موضوع اشاره دارد که ملاتونین بیرونی نقش حفاظتی را برای غشا سلول در شرایط تنش شوری ایفا می‌کند (Wang et al., 2016; Zhang et al., 2015).

با توجه به این مسأله که نخود به تنش شوری حساس بوده و ملاتونین توانایی کاهش اثرات تنش شوری در گیاه را دارد، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر ملاتونین به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد گیاهی بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک بذر و گیاهچه نخود (رقم آرمان) تحت تنش شوری انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

این آزمایش در دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج در سال ۱۳۹۶ اجرا گردید. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل ملاتونین در غلظت‌های بدون پرایم (شاهد)، غلظت صفر (آب مقطر= هیدروپرایم)، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۲۵ میکرومولار به‌عنوان فاکتور اول و سطوح مختلف شوری شامل (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار سدیم کلرید) به‌عنوان فاکتور دوم بود. در این آزمایش، ابتدا بذره‌های نخود (بذر از مؤسسه وابسته شرکت فنی مهندسی کیمیا گستر تهیه شد). در محلول ملاتونین با غلظت‌های بدون پرایم (شاهد)، غلظت صفر (آب مقطر= هیدروپرایم)، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵

خصوصیات جوانه‌زنی آن در شرایط تنش شوری کاهش می‌یابد (احمدپور و همکاران، ۱۳۹۴)

شوری، یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که تولید محصولات زراعی را کاهش می‌دهد. ایران جز مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیا محسوب می‌شود که کم‌بودن نزولات جوی و بالابودن میزان تبخیر در این مناطق باعث تجمع املاح در لایه سطحی خاک می‌شود. شوری علاوه بر تأثیر منفی بر عملکرد و اجزای عملکرد بسیاری از فرآیندهای دخیل در رشد و نمو گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (دره‌کی و همکاران، ۱۳۹۷). تنش شوری نظیر سایر تنش‌های محیطی، از رشد گیاه ممانعت می‌کند. رشد کمتر، یک ویژگی سازشی برای زنده‌ماندن گیاه تحت شرایط تنش است که اجازه می‌دهد گیاه از اسکلت کربنی و انرژی برای مقابله با تنش استفاده کند (پوراسماعیلی و همکاران، ۱۳۹۳).

ملاتونین یک ترکیب طبیعی است که در انواع زیادی از گونه‌های گیاهی در ریشه، برگ، میوه و دانه شناسایی شده است (Zhang et al., 2015). ملاتونین برای کاهش مهار جوانه‌زنی ناشی از تنش شوری دو سازوکار آشکار دارد: ۱- ملاتونین بیرونی با افزایش بیان ژن مرتبط به تولید آنتی‌اکسیدان‌ها باعث کاهش آسیب اکسایشی ناشی از تنش شوری می‌شود و ۲- ملاتونین به‌وسیله کاتابولیسم آبسزیک اسید و بیوسنتز جبرلیک اسید در طول جوانه‌زنی بذر باعث کاهش اثر تنش شوری می‌شود (Zhang et al., 2015). کاربرد ملاتونین وابسته به مقدار آن بوده است. ملاتونین در غلظت‌های ۲۰ و ۵ میکرومولار، به‌طور قابل توجهی جوانه‌زنی را بهبود بخشیده و در غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار، اثر مهارکننده بر جوانه‌زنی داشته است، ملاتونین با غلظت ۲۰ میکرومولار برای بهبود جوانه‌زنی و رشد گیاه استویا (افزایش وزن و تعداد برگ) مطلوب بود (Simlat et al., 2018). غلظت‌های بالای ملاتونین بر جوانه‌زنی نقش مهارکننده یا حتی بی‌اثر داشته، در حالیکه غلظت‌های پایین جوانه‌زنی را بهبود می‌بخشد (Chen et al., 2009; Simlat et al., 2018; Wei et al., 2015). ملاتونین می‌تواند عمده‌تاً از طریق تنظیم فتوسنتز،

نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر (مدل Lambda EZ 210) خوانده شد. جهت رسم منحنی استاندارد از پرولین (ال- پرولین) با غلظت‌های صفر تا ۰/۱ میکرومول بر میلی‌لیتر استفاده شد.

میزان مالون دی‌آلدهید با اندازه‌گیری جذب عصاره گیاهچه در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتوفوتومتر و با استفاده از ضریب خاموشی ( $\epsilon = 155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) محاسبه می‌شود (Heath and Packer, 1968). سپس طبق فرمول زیر محاسبه مالون دی‌آلدهید جذب در طول موج ۵۳۲ از ۶۰۰ کم شد و واحد اندازه‌گیری مالون دی‌آلدهید بر حسب میلی‌مول بر گرم وزن تر برگ محاسبه شد.

$$[\text{A}532\text{nm} / \epsilon] / 0.1 - [(\text{A}600\text{nm} / \epsilon) / 0.1] = \text{mM g}^{-1} \text{ مالون دی‌آلدهید}$$

A532: جذب در ۵۳۲ نانومتر، A600: جذب در ۶۰۰ نانومتر، ۰/۱: وزن تر نمونه (گرم)،  $\epsilon$ : ضریب خاموشی = ۱۵۵ بر میلی‌مولار بر سانتی‌متر

**تجزیه و تحلیل داده‌ها:** تجزیه و تحلیل آماری داده‌های آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS صورت گرفت. با معنی‌دار شدن برهمکنش، برش‌دهی اثر سطوح پرایمینگ برای هر سطح از تنش شوری انجام شد و در نهایت مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

### نتایج و بحث

**پروتئین محلول:** نتایج نشان داد که اثر تنش شوری و اثر برهمکنش تنش شوری و پرایمینگ بر میزان پروتئین محلول در زمان آبنوشی بذر در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شدند، اما اثر پرایمینگ بر میزان پروتئین محلول بذر معنی‌دار نشد (جدول ۱). اثر سطوح مختلف پرایمینگ بر میزان پروتئین محلول بذر در سطوح تنش شوری صفر، ۲۵، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار معنی‌دار نشد، ولی در سطح تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). اثر پرایمینگ بر میزان پروتئین محلول بذر، در سطح تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار نشان داد که تا غلظت ۵۰ میکرومولار میزان پروتئین بذر در سطح بالایی قرار داشت و با افزایش

میکرومولار برای مدت ۱۵ ساعت در تاریکی و دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد خیس شدند (طبق نتایج آزمون اولیه برای دما و زمان پرایمینگ) و بعد از این مرحله برای رسیدن به رطوبت اولیه به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. ۲۵ عدد بذر نخود تیمار شده با غلظت‌های مختلف ملاتونین در هر پتری با قطر ۱۲ سانتی‌متر حاوی کاغذ صافی و غلظت‌های مختلف شوری (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار سدیم کلرید) کشت داده شدند (قبل از کشت بذور با محلول ۳ درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۲ دقیقه ضدعفونی و پس از آن با آب مقطر پنج بار شستشو داده شدند) و در ژرمیناتور در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ روز در تاریکی قرار داده شدند (ISTA, 2010).

میزان فعالیت آلفا آمیلاز و محتوای پروتئین محلول از بذرها در مرحله آبنوشی (۸ ساعت بعد از کاشت) و میزان سدیم و پتاسیم، پرولین و غلظت مالون دی‌آلدهید از گیاهچه‌ها بعد از اتمام دوره جوانه‌زنی اندازه‌گیری شد. مقادیر سدیم و پتاسیم به روش Owen (۱۹۹۲) و با دستگاه فلیم‌فوتومتر اندازه‌گیری شد و با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاهچه محاسبه شد.

به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز بذر عصاره بذرها از روش Makkar و همکاران (۲۰۰۷) استخراج شد و سپس فعالیت آلفا آمیلاز در عصاره بذرها توسط روش Baker (۱۹۹۱) و Bernfeld (۱۹۹۵) (با اندکی تغییرات) تعیین شد. مقدار فعالیت آنزیم به‌صورت میلی‌گرم مالتوز بر گرم بذر (mg maltos/g seed) گزارش گردید.

به‌منظور اندازه‌گیری میزان پروتئین محلول بذر عصاره بذری به روش Kar و Mishra (۱۹۷۶) استخراج و جهت اندازه‌گیری کمی پروتئین از روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده گردید. به‌منظور ترسیم منحنی استاندارد پروتئین از آلبومین سرم گاوی استفاده و سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد.

به‌منظور اندازه‌گیری میزان پرولین از گیاهچه عصاره الکلی با روش Paquin و Lechasseur (۱۹۷۹) تهیه شد. میزان جذب

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تنش شوری (سدیم کلرید) و پرایمینگ برای میزان آنزیم آلفا آمیلاز و پروتئین محلول بذر نخود و شاخص‌های مالون دی‌آلدئید، پرولین، سدیم و پتاسیم گیاهچه نخود

میانگین مربعات							منابع تغییرات
پتاسیم	سدیم	پرولین	مالون دی‌آلدئید	آنزیم آلفا آمیلاز بذر	پروتئین محلول بذر	درجه آزادی	
۱/۹۰ **	۷/۹۶ **	۰/۱۸۹ **	۰/۰۰۰۳ **	۰/۲۳۴۵ **	۲/۳۹ *	۴	تنش شوری (S)
۱/۷۶ **	۰/۸۱۹ **	۰/۲۴۰ **	۰/۰۰۱۳ **	۰/۱۴۳۵ **	۱/۳۴ ns	۶	پرایمینگ ملاتونین (H)
۰/۶۲۲ **	۰/۱۹۴ **	۰/۱۱۶ **	۰/۰۰۰۴۷ **	۰/۰۶۳ **	۱/۵۹ *	۲۴	H × S
۰/۲۰۹	۰/۰۴۰	۰/۰۲۹	۰/۰۰۰۰۶	۰/۰۱۸	۰/۸۱	۷۰	خطای آزمایش
۶	۶	۱۵	۶	۹	۱۰	-	ضریب تغییرات

ns و \*\* و \*\*\* به ترتیب نشانگر معنی‌دار در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و عدم معنی‌داری هستند.

جدول ۲- تجزیه واریانس برش‌دهی سطوح مختلف پرایمینگ در هر سطح تنش شوری (سدیم کلرید) برای آنزیم آلفا آمیلاز و پروتئین محلول بذر نخود و شاخص‌های مالون دی‌آلدئید، پرولین، پتاسیم و سدیم گیاهچه نخود

میانگین مربعات							تنش شوری (میلی-مولار)
پتاسیم	سدیم	پرولین	مالون دی‌آلدئید	آنزیم آلفا آمیلاز بذر	پروتئین محلول بذر	درجه آزادی	
۰/۸۹۰ **	۰/۵۹۱ **	۰/۱۱۷ **	۰/۰۰۱۳ **	۰/۰۸۸ **	۱/۵۶ ns	۶	صفر
۰/۲۰۵ ns	۰/۳۷۷ **	۰/۱۱۴ **	۰/۰۰۰۰۸ ns	۰/۰۹۵ **	۱/۱۶ ns	۶	۲۵
۰/۶۸۲ **	۰/۱۴۷ **	۰/۲۵۸ **	۰/۰۰۰۶ **	۰/۰۱۱ **	۱/۹۷ *	۶	۵۰
۰/۸۴۲ **	۰/۱۰۷ *	۰/۰۳۷ ns	۰/۰۰۰۸ **	۰/۰۷۹ **	۱/۶۶ ns	۶	۷۵
۱/۶۳ **	۰/۳۷۶ **	۰/۱۸۰ **	۰/۰۰۰۳ **	۰/۰۲۳ ns	۱/۳۳ ns	۶	۱۰۰

ns و \*\* و \*\*\* به ترتیب نشانگر معنی‌دار بودن در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و عدم معنی‌داری هستند.

زینلی، ۱۳۹۵). علت تفاوت نتیجه کاربرد ملاتونین را می‌توان با توجه به اینکه عملکرد ملاتونین در گیاهان به نحوه کاربرد، گونه گیاهی و به غلظت وابسته است توجیه کرد (Wang et al., 2016; Jiang et al., 2016). گیاه می‌تواند در پاسخ و سازگاری با تنش‌های شوری با تغییر متابولیسم سلولی و استفاده از مکانیزم‌های دفاعی مختلف عمل کند (Bohnert, 2007). اثرات سودمند پرایمینگ بذر به بازسازی و تجمع اسیدهای نوکلئیک، سنتز پروتئین‌ها و بازسازی غشاها مربوط است (Wang et al., 2013). نقش ملاتونین در جوانه‌زنی بذر و بقا گیاه ممکن است به تغییرات ناشی از ملاتونین در

غلظت هورمون از این سطح میزان پروتئین محلول کاهش یافت (جدول ۳).

در پژوهش حاضر کاربرد ملاتونین به روش پرایمینگ بذر در سطوح مختلف تنش شوری اثر مثبتی بر افزایش میزان پروتئین محلول (بذر) نداشت. kabiri و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که پیش‌تیمار با ملاتونین در شرایط عدم تنش تأثیری در میزان پروتئین نداشت. اما در پژوهش‌های پیشین تنش شوری منجر به کاهش پروتئین و تیمار با ملاتونین سبب افزایش پروتئین (برگ) گیاهچه‌های تیمار شده با ملاتونین (۰/۲۵ میکرومولار) در شرایط تنش شوری می‌گردد (زارع

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف پرایمینگ (ملاتونین) در هر سطح از تنش شوری (سدیم کلرید) برای میزان آنزیم آلفا آمیلاز و پروتئین محلول بذر نخود و شاخص‌های مالون دی‌آلدهید، پرولین، پتاسیم و سدیم گیاهچه نخود

تنش شوری (میلی مولار)	ملاتونین (میکرومولار)	پروتئین محلول (میلی گرم بر گرم بذر)	فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز (میلی گرم مالتوز بر گرم بذر)	مالون دی‌آلدهید (میلی مول بر گرم)	پرولین (میکرومول بر گرم)	سدیم (میلی گرم بر گرم)	پتاسیم (میلی گرم بر گرم)
صفر	بدون پرایم	۹/۷۳ <sup>a</sup>	۲/۶۵ <sup>a</sup>	۰/۰۱۸ <sup>b</sup>	۱/۰۱ <sup>bcd</sup>	۱/۷۹ <sup>c</sup>	۳۸/۶۵ <sup>c</sup>
	صفر	۹/۶۷ <sup>a</sup>	۲/۴۳ <sup>ab</sup>	۰/۰۱۳ <sup>c</sup>	۱/۹۸ <sup>a</sup>	۴/۷۲ <sup>b</sup>	۴۵/۹۵ <sup>bc</sup>
	۲۵	۹/۳۲ <sup>a</sup>	۲/۵۱ <sup>a</sup>	۰/۰۱۷ <sup>b</sup>	۰/۹۱ <sup>cd</sup>	۴/۷۹ <sup>b</sup>	۵۰/۶۴ <sup>ab</sup>
	۵۰	۸/۵۹ <sup>a</sup>	۱/۵۷ <sup>bc</sup>	۰/۰۲۸ <sup>a</sup>	۱/۴۷ <sup>abc</sup>	۴/۵۱ <sup>b</sup>	۳۹/۵۸ <sup>c</sup>
	۷۵	۱۰/۰ <sup>a</sup>	۲/۰۹ <sup>abc</sup>	۰/۰۱۹ <sup>b</sup>	۰/۸۳ <sup>d</sup>	۷/۱۶ <sup>a</sup>	۵۶/۵۴ <sup>a</sup>
	۱۰۰	۹/۸۱ <sup>a</sup>	۱/۴۱ <sup>c</sup>	۰/۰۱۱ <sup>c</sup>	۱/۵۵ <sup>ab</sup>	۴/۰۱ <sup>b</sup>	۵۶/۳۰ <sup>a</sup>
	۱۲۵	۹/۱۴ <sup>a</sup>	۲/۶۵ <sup>a</sup>	۰/۰۱۳ <sup>c</sup>	۱/۷۷ <sup>a</sup>	۷/۰۲ <sup>a</sup>	۴۳/۵۵ <sup>bc</sup>
۲۵	بدون پرایم	۹/۱۴ <sup>a</sup>	۲/۴۹ <sup>ab</sup>	۰/۰۱۴ <sup>a</sup>	۱/۴۵ <sup>abc</sup>	۶/۵۹ <sup>c</sup>	۴۷/۵ <sup>a</sup>
	صفر	۹/۰۸ <sup>a</sup>	۲/۴۹ <sup>ab</sup>	۰/۰۱۷ <sup>a</sup>	۱/۲۶ <sup>abc</sup>	۹/۱۰ <sup>b</sup>	۴۹/۵۶ <sup>a</sup>
	۲۵	۷/۸۶ <sup>a</sup>	۲/۵۸ <sup>a</sup>	۰/۰۱۵ <sup>a</sup>	۱/۶۴ <sup>ab</sup>	۶/۵۹ <sup>c</sup>	۵۵/۸ <sup>a</sup>
	۵۰	۹/۴ <sup>a</sup>	۲/۳۸ <sup>ab</sup>	۰/۰۱۶ <sup>a</sup>	۱/۱۰ <sup>bc</sup>	۶/۸۷ <sup>c</sup>	۵۳/۲ <sup>a</sup>
	۷۵	۸/۶۲ <sup>a</sup>	۳/۱۱ <sup>a</sup>	۰/۰۱۴ <sup>a</sup>	۰/۶۹ <sup>c</sup>	۵/۷۳ <sup>c</sup>	۴۷/۱۵ <sup>a</sup>
	۱۰۰	۹/۰۳ <sup>a</sup>	۲/۲۸ <sup>ab</sup>	۰/۰۱۸ <sup>a</sup>	۱/۷۴ <sup>ab</sup>	۷/۰۹ <sup>c</sup>	۵۲/۶ <sup>a</sup>
	۱۲۵	۷/۹۲ <sup>a</sup>	۱/۳۶ <sup>b</sup>	۰/۰۱۵ <sup>a</sup>	۲/۰۱ <sup>a</sup>	۱۱/۷۵ <sup>a</sup>	۴۵/۷ <sup>a</sup>
۵۰	بدون پرایم	۸/۷۵ <sup>ab</sup>	۲/۶۰ <sup>a</sup>	۰/۰۲۰ <sup>a</sup>	۱/۱۸ <sup>bc</sup>	۸/۷۴ <sup>c</sup>	۴۶/۷ <sup>bc</sup>
	صفر	۹/۴۵ <sup>a</sup>	۱/۷۸ <sup>b</sup>	۰/۰۱۹ <sup>bc</sup>	۱/۵۴ <sup>bc</sup>	۱۰/۴۶ <sup>b</sup>	۵۸/۲ <sup>ab</sup>
	۲۵	۸/۴۶ <sup>ab</sup>	۱/۷۹ <sup>b</sup>	۰/۰۱۸ <sup>bc</sup>	۱/۳۵ <sup>bc</sup>	۸/۸۸ <sup>c</sup>	۶۲/۹۱ <sup>a</sup>
	۵۰	۹/۱۲ <sup>a</sup>	۱/۲۳ <sup>c</sup>	۰/۰۲۱ <sup>b</sup>	۱/۲۱ <sup>bc</sup>	۱۰/۴۶ <sup>b</sup>	۵۴/۷۳ <sup>abc</sup>
	۷۵	۷/۱۲ <sup>c</sup>	۱/۰۳ <sup>c</sup>	۰/۰۱۵ <sup>cd</sup>	۰/۶۵ <sup>c</sup>	۱۰/۱۷ <sup>bc</sup>	۶۰/۹۹ <sup>a</sup>
	۱۰۰	۷/۷۷ <sup>bc</sup>	۱/۴۳ <sup>bc</sup>	۰/۰۱۹ <sup>bc</sup>	۳/۲۰ <sup>a</sup>	۹/۲۴ <sup>bc</sup>	۵۰/۷۶ <sup>abc</sup>
	۱۲۵	۷/۹۸ <sup>bc</sup>	۱/۴۸ <sup>bc</sup>	۰/۰۱۲ <sup>d</sup>	۱/۸۹ <sup>b</sup>	۱۲/۹۷ <sup>a</sup>	۴۴/۵۱ <sup>c</sup>
۷۵	بدون پرایم	۷/۲۴ <sup>a</sup>	۲/۸۶ <sup>a</sup>	۰/۰۲۴ <sup>a</sup>	۱/۴۴ <sup>a</sup>	۱۲/۲۵ <sup>ab</sup>	۵۰/۴۰ <sup>bc</sup>
	صفر	۸/۸۶ <sup>a</sup>	۱/۵۳ <sup>c</sup>	۰/۰۱۶ <sup>bcd</sup>	۱/۱۳ <sup>a</sup>	۱۴/۱۹ <sup>a</sup>	۵۹/۷۹ <sup>ab</sup>
	۲۵	۹/۰۶ <sup>a</sup>	۱/۵۸ <sup>c</sup>	۰/۰۲۰ <sup>b</sup>	۰/۷۷ <sup>a</sup>	۱۰/۶۰ <sup>b</sup>	۶۰/۸۷ <sup>ab</sup>
	۵۰	۹/۲۵ <sup>a</sup>	۱/۹۰ <sup>bc</sup>	۰/۰۱۷ <sup>bc</sup>	۱/۱۲ <sup>a</sup>	۱۲/۳۹ <sup>ab</sup>	۵۷/۸۶ <sup>ab</sup>
	۷۵	۸/۵۹ <sup>a</sup>	۱/۸۹ <sup>bc</sup>	۰/۰۱۲ <sup>de</sup>	۱/۱۲ <sup>a</sup>	۱۲/۰۳ <sup>ab</sup>	۶۴/۸۴ <sup>a</sup>
	۱۰۰	۹/۴۷ <sup>a</sup>	۱/۵۸ <sup>c</sup>	۰/۰۱۵ <sup>cde</sup>	۰/۷۸ <sup>a</sup>	۱۲/۶۱ <sup>ab</sup>	۶۳/۵۱ <sup>ab</sup>
	۱۲۵	۹/۱۶ <sup>a</sup>	۲/۲۰ <sup>b</sup>	۰/۰۱۱ <sup>e</sup>	۰/۸۹ <sup>a</sup>	۱۴/۴۷ <sup>a</sup>	۴۳/۰۷ <sup>c</sup>

اعداد با حروف مشابه در هر ستون و در هر سطح شوری اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD نشان نداده‌اند.

ادامه جدول ۳-

تنش شوری (میلی مولار)	ملاتونین (میکرومولار)	پروتئین محلول (میلی گرم بر گرم بذر)	فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز (میلی گرم مالتوز بر گرم بذر)	مالون دی آلدئید (میلی مول بر گرم)	پرولین (میکرومول بر گرم)	سدیم (میلی گرم بر گرم)	پتاسیم (میلی گرم بر گرم)
بدون پرایم	۹/۰۶ <sup>a</sup>	۲/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۰۲۰ <sup>ab</sup>	۰/۴۳ <sup>c</sup>	۱۳/۶۸ <sup>bc</sup>	۶۴/۳۶ <sup>ab</sup>	
صفر	۹/۶۸ <sup>a</sup>	۱/۹۴ <sup>a</sup>	۰/۰۲۲ <sup>a</sup>	۰/۹۸ <sup>b</sup>	۱۴/۱۱ <sup>bc</sup>	۵۶/۰۶ <sup>bc</sup>	
۲۵	۸/۷۹ <sup>a</sup>	۲/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۰۱۸ <sup>abc</sup>	۰/۸۲ <sup>bc</sup>	۱۴/۹۷ <sup>ab</sup>	۶۹/۸۹ <sup>a</sup>	
۵۰	۸/۰۵ <sup>a</sup>	۱/۴۰ <sup>a</sup>	۰/۰۱۷ <sup>abc</sup>	۱/۲۲ <sup>b</sup>	۱۳/۹۰ <sup>bc</sup>	۶۹/۸۹ <sup>a</sup>	۱۰۰
۷۵	۷/۹۱ <sup>a</sup>	۱/۹۷ <sup>a</sup>	۰/۰۱۸ <sup>abc</sup>	۱/۳۱ <sup>b</sup>	۸/۹۵ <sup>d</sup>	۴۳/۰۶ <sup>d</sup>	
۱۰۰	۸/۶۸ <sup>a</sup>	۱/۸۱ <sup>a</sup>	۰/۰۱۵ <sup>c</sup>	۲/۰۷ <sup>a</sup>	۱۲/۱۱ <sup>c</sup>	۵۴/۶۱ <sup>bc</sup>	
۱۲۵	۹/۴۷ <sup>a</sup>	۱/۶۴ <sup>a</sup>	۰/۰۱۴ <sup>c</sup>	۰/۸۱ <sup>bc</sup>	۱۶/۹۱ <sup>a</sup>	۴۴/۹۹ <sup>cd</sup>	

اعداد با حروف مشابه در هر ستون و در هر سطح شوری اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD نشان نداده اند.

کاهش فعالیت هورمون جبریلین و کاهش سنتز آنزیم های هیدرولیزکننده آلفا آمیلاز، بتا آمیلاز در فرآیند جوانه زنی با کاهش قدرت بذر همراه است (McDonald, 1999). در پژوهش حاضر کاربرد ملاتونین به صورت پرایمینگ بذر و کشت تحت شرایط تنش شوری، میزان فعالیت آلفا آمیلاز در مرحله آنبوشی بذر را افزایش نداد (به استثنای غلظت ۱۲۵ میکرومولار که در تنش ۷۵ میلی مولار، باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز شد).

**مالون دی آلدئید:** اثر تنش شوری، پرایمینگ و برهمکنش آنها نیز بر میزان مالون دی آلدئید در گیاهچه در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شد (جدول ۱). اثر سطوح مختلف پرایمینگ بر میزان مالون دی آلدئید در گیاهچه در تمامی سطوح تنش شوری به استثنای سطح ۲۵ میلی مولار در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شد و در سطح ۲۵ میلی مولار تنش شوری معنی دار نبود (جدول ۲). اثر پرایمینگ در سطوح مختلف تنش شوری بر میزان مالون دی آلدئید در گیاهچه، در شرایط عدم تنش شوری، در بین سطوح مختلف ملاتونین کمترین میزان (۰/۱۱ میلی مول بر گرم) مالون دی آلدئید در سطح ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین که نسبت به سطح بدون پرایم (۰/۱۸ میلی مول بر گرم) ۳۸/۸۹ درصد کاهش داشت. در تنش شوری سطح ۵۰ میلی مولار کمترین میزان (۰/۱۲ میلی مول بر گرم)

**آلفا آمیلاز:** در این تحقیق اثر تنش شوری، پرایمینگ و برهمکنش آنها بر میزان فعالیت آلفا آمیلاز بذر در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شد (جدول ۱). اثر سطوح مختلف پرایمینگ بر میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز بذر در سطوح شوری صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی مولار در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود؛ اما در سطح ۱۰۰ میلی مولار اثر غلظت نمک معنی دار نبود (جدول ۲). اثر پرایمینگ برای میزان فعالیت آلفا آمیلاز بذر، در تنش شوری سطح صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی مولار، در بین سطوح مختلف ملاتونین اثر افزایشی مشاهده نشد (جدول ۳). با اینکه افزایش سطح غلظت نمک میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز را در بذر کاهش داد، اما ملاتونین تنها در سطح شوری ۲۵ میلی مولار با غلظت ۷۵ میکرومولار توانست بیشترین میزان فعالیت آلفا آمیلاز را نشان دهد. تنش شوری بر میزان فعالیت آنزیم ها در گیاهان اثر می گذارد (Smirnov, 1993). در شرایط تنش شوری تجمع املاح مضر و تخریب غشای سلولی و ماکرومولکول ها سبب کاهش فعالیت و کارایی آنزیم آلفا آمیلاز و از طریق کم کردن میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز تأثیر منفی بر فعالیت های آنزیمی بذر و جوانه زنی آن دارد و سبب تأخیر در جوانه زنی و کاهش رشد ارقام نخود می شود (فرهودی و خدارحم پور، ۱۳۹۶). از آنجا که میزان آلفا آمیلاز در زمان جوانه زنی افزایش می یابد (اکرم قادر و همکاران، ۱۳۹۳)،

کاهش دهد و چنین مکانیزمی در تنش شوری ممکن است نقش مهمی در حفاظت از گیاهان در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش شوری داشته باشد (Wang *et al.*, 2016). ملاتونین نفوذپذیری غشاهای پلاسما و پراکسیداسیون لیپید در غشاها را کاهش می‌دهد و باعث حفظ یکپارچگی و عملکرد غشا در گیاه در تنش شوری می‌شود، به این ترتیب سمیت مواد معدنی را کاهش داده و رشد گیاه را بهبود می‌بخشد (Wang *et al.*, 2016). آسیب دیدن غشاهای سلولی تحت تأثیر تنش شوری و تولید مالون دی‌آلدئید برگ که ناشی از تخریب و تجزیه چربی‌های غشا سلولی است می‌تواند به‌عنوان یک معیار مناسب برای بررسی واکنش گیاه به تنش شوری مورد استفاده قرار گیرد (Bandeoglu *et al.*, 2004). در پژوهش حاضر در تمامی سطوح تنش شوری مورد آزمایش کاربرد ملاتونین بیرونی اثر معنی‌داری بر میزان مالون دی‌آلدئید در گیاهچه داشته است. با توجه به اینکه نشت الکترولیت، غلظت مالون دی‌آلدئید هر دو به‌عنوان شاخص‌هایی برای ارزیابی میزان خسارت غشایی در برگ، تحت تنش شوری مورد استفاده قرار می‌گیرند و این که مسأله هورمون ملاتونین اثر محافظتی برای جلوگیری از آسیب دیدن غشا در شرایط تنش شوری از خود نشان می‌دهد.

**پرولین:** اثر تنش شوری، پرایمینگ و برهمکنش آنها بر میزان پرولین در گیاهچه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). اثر سطوح مختلف پرایمینگ بذر بر میزان پرولین در گیاهچه در سطوح تنش شوری صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار ولی در سطح تنش شوری ۷۵ میلی‌مولار معنی‌دار نبود (جدول ۲). در شرایط عدم‌تنش شوری، بیشترین میزان پرولین (۱/۹۸ میکرومولار بر گرم) در سطح هیدروپرایم (که با سطوح ۵۰، ۱۰۰ و ۱۲۵ میکرومولار ملاتونین اختلاف معنی‌داری نداشت) مشاهده شد که نسبت به سطح بدون پرایم ۴۹/۹۹ درصد افزایش داشت. در تنش شوری سطح ۲۵ میلی‌مولار، بیشترین میزان پرولین (۲/۰۱ میکرومولار بر گرم) در سطح ۱۲۵ میکرومولار ملاتونین (که با سطوح هیدروپرایم، ۲۵ و ۱۰۰

مالون دی‌آلدئید مربوط به سطح ۱۲۵ میکرومولار ملاتونین بود (با سطح ۷۵ میکرومولار ملاتونین اختلاف معنی‌داری نداشت) که نسبت به سطح بدون پرایم (۰/۰۲۰ میلی‌مول بر گرم) ۴۰ درصد کاهش داشت. در تنش شوری سطح ۷۵ میلی‌مولار، کمترین میزان مالون دی‌آلدئید (۰/۰۱۱ میلی‌مول بر گرم) مربوط به سطح ۱۲۵ میکرومولار ملاتونین (با سطوح ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار اختلاف معنی‌داری نداشت) که نسبت به سطح بدون پرایم (۰/۰۲۴ میلی‌مول بر گرم) ۵۴ درصد کاهش مشاهده شد. در تنش شوری سطح ۱۰۰ میلی‌مولار، کمترین میزان (۰/۰۱۴ میلی‌مول بر گرم) مالون دی‌آلدئید در سطح ۱۲۵ میکرومولار ملاتونین (با سطوح ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین اختلاف معنی‌داری نداشت) که نسبت به سطح بدون پرایم (۰/۰۲۰ میلی‌مول بر گرم) ۳۰ درصد کاهش داشت (جدول ۳). در این تحقیق ملاتونین با غلظت ۱۰۰ و ۱۲۵ میکرومولار میزان مالون دی‌آلدئید را در تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کاهش داد و همچنین در تنش شوری ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار، غلظت ۱۲۵ میکرومولار ملاتونین باعث کاهش (ممکن است ملاتونین از تولید مالون دی‌آلدئید جلوگیری نماید) میزان مالون دی‌آلدئید شد. کاربرد ملاتونین در شرایط تنش شوری باعث کاهش میزان مالون دی‌آلدئید در گیاهان ذرت، خیار، ماش و جعفری آفریقایی (*Tagetes crecta* L.) شد (زارع زینلی، ۱۳۹۵). Jiang و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند کاربرد ملاتونین در شرایط عدم‌تنش اثر کمی بر محتوای مالون دی‌آلدئید در گیاه داشته اما در شرایط تنش شوری به‌طور قابل ملاحظه‌ای محتوای مالون دی‌آلدئید را کاهش داد. Zhang و همکاران (۲۰۱۵) نیز گزارش کردند که در شرایط تنش شوری در طی مرحله جوانه‌زنی محتوای مالون دی‌آلدئید در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافته که نشان‌دهنده تولید گونه‌های فعال اکسیژن است و کاهش غلظت مالون دی‌آلدئید در تیمارهای که تحت هورمون ملاتونین قرار گرفته‌اند تأیید کرد که استفاده از هورمون ملاتونین از غشاهای سلولی در مقابل آسیب ناشی از تنش شوری بالا محافظت می‌کند. کاربرد ملاتونین می‌تواند آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش شوری را

شاهد افزایش یافته است. پرولین در شرایط تنش شوری بالا تجمع می‌یابد (Yoshibia, 1995). در شرایط تنش شوری، پرولین، از کمپلکس II زنجیره انتقال الکترون میتوکندریایی محافظت کرده بنابراین تنفس میتوکندریایی را پایدار می‌کند (Hamilton and Heckathorn, 2001). کاربرد ملاتونین بیرونی به صورت پرایمینگ بذور نیز بر میزان پرولین مؤثر بوده است. افزایش میزان پرولین در اثر تیمار ملاتونین به علت نقش آن در حفظ آب سلول، محافظت از غشا، پروتئین، مهار ROS و خواص آنتی‌اکسیدانی آن است (Turk et al., 2014). ملاتونین در شرایط تنش و غیر تنش عکس‌العمل متفاوت داشته به غلظت ملاتونین، گونه گیاهی به نحوی کاربرد ملاتونین وابسته است (Jiang et al., 2016).

سدیم: در این آزمایش اثرهای تنش شوری، پرایمینگ و برهمکنش آنها بر میزان سدیم در گیاهچه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شدند (جدول ۱). اثر سطوح مختلف پرایمینگ بر میزان سدیم در گیاهچه در تمامی سطوح تنش شوری به استثنای سطح ۷۵ میلی‌مولار در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد و در سطح ۷۵ میلی‌مولار در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). با افزایش میزان غلظت NaCl میزان سدیم در گیاهچه افزایش یافت و در همه سطوح غلظت نمک بیشترین میزان سدیم در سطح ۱۲۵ میکرومولار ملاتونین مشاهده شد. در تنش شوری سطح ۱۰۰ میلی‌مولار، در سطوح مختلف پرایمینگ کمترین میزان سدیم (۸/۹۵ میلی‌گرم بر گرم) در سطح ۷۵ میکرومولار ملاتونین مشاهده شد که نسبت به سطح بدون پرایم (۱۳/۶۸ میلی‌گرم بر گرم) ۳۴/۵۸ درصد کاهش را نشان داد (جدول ۳). در این پژوهش، در تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار، کاربرد ملاتونین با غلظت ۷۵ میکرومولار و همچنین در سطح تنش شوری ۷۵ میلی‌مولار، ملاتونین با غلظت ۲۵ میکرومولار باعث کاهش محتوای سدیم شد. غلظت پایین سدیم برای رشد و تحمل به تنش غیرزیستی در گیاهان حیاتی است. علاوه بر این، نسبت بالا پتاسیم به سدیم برای حفظ متابولیسم سلولی در گیاه بسیار حیاتی است (Zhu, 2002). اعمال تنش شوری، به‌طور چشمگیری محتوای

میکرومولار اختلاف معنی‌داری نداشت) که نسبت به سطح بدون پرایم (۱/۴۵ میکرومول بر گرم) ۲۷/۸۷ درصد افزایش داشت که این میزان افزایش معنی‌دار نبود (جدول ۳).

در تنش شوری سطح ۵۰ میلی‌مولار، بیشترین میزان پرولین (۳/۲۰ میکرومولار بر گرم) در سطح ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین که نسبت به سطح بدون پرایم (۱/۱۸ میکرومولار بر گرم) ۶۳ درصد افزایش داشت. پرایمینگ در تنش شوری سطح ۷۵ میلی‌مولار، در تمامی سطوح پرایم در میزان پرولین اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در تنش شوری سطح ۱۰۰ میلی‌مولار، بیشترین میزان پرولین (۲/۰۷ میکرومولار بر گرم) در سطح ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین و کمترین میزان (۰/۴۳ میکرومولار بر گرم) در سطح بدون پرایم مشاهده شد، که میزان پرولین در سطح ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین نسبت به سطح بدون پرایم ۷۹ درصد افزایش داشت (جدول ۳). در شرایط تنش شوری پرولین به‌عنوان یک تنظیم‌کننده اسمزی در پاسخ به تنش شوری افزایش می‌یابد. در شرایط تنش شوری یکی از راهکارهای مهم گیاهان عالی انباشتگی ترکیباتی نظیر پرولین است. انباشتگی پرولین در شرایط تنش شوری یک پاسخ دفاعی اولیه برای حفظ فشار اسمزی در سلول است و در مطالعات متعددی گزارش شده است که پرولین در گیاه نقش تنظیم‌کننده اسمزی، محافظت ساختمان سلول و خنثی‌کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن ایفا می‌کند (Ashraf and Foolad, 2007).

در پژوهش حاضر تنش شوری بر میزان پرولین گیاهچه اثر معنی‌داری داشته است. در پژوهش حاضر در سطوح مختلف تنش شوری عمکلرد ملاتونین متفاوت بوده و در سطوح تنش شوری ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌مولار غلظت ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین باعث افزایش میزان پرولین شد.

همچنین در پژوهش‌های پیشین کاربرد ملاتونین در شرایط تنش باعث افزایش میزان پرولین در باقلا (تنش شوری)، گیلاس (تنش شوری)، گیاهچه گندم (تنش سرما) و ماش (تنش سرما) شده است (زارع زینلی، ۱۳۹۵). زارع زینلی (۱۳۹۵) نیز در مطالعات خود گزارش کردند که میزان پرولین تحت تأثیر تیمار ملاتونین در شرایط تنش شوری نسبت به



۳. یون پتاسیم در حفظ پتانسیل اسمزی گیاه نقش مهمی دارد و حضور پتاسیم در گیاه بیانگر بالا بودن مقاومت به شوری است (آزاد و همکاران، ۱۳۹۷). تنش شوری، محتویات پتاسیم در گیاهان آراییدپسیس، گوجه‌فرنگی، صنوبر، آلوورا و ذرت را کاهش می‌دهد (Jiang et al., 2016). در شرایط تنش شوری اثر کاربرد ملاتونین بیرونی به صورت پرایمینگ بذور به طور کلی بیشترین میزان پتاسیم در سطوح غلظت ۲۵ و ۷۵ میکرومولار بوده و کمترین میزان پتاسیم در سطوح شاهد، ۱۲۵ و ۷۵ میکرومولار بوده است. عملکرد ملاتونین در گیاهان وابسته به مقدار و نحوه کاربرد و همچنین گونه گیاهی وابسته است (Jiang et al., 2016). کاربرد ملاتونین تحت شرایط تنش شوری در گیاه ذرت، باقلا و جعفری آفریقایی (*Tagetes crecta* L.) باعث افزایش محتوای پتاسیم می‌شود (زارع زینلی، ۱۳۹۵). یکی از اثرات ملاتونین افزایش جذب یون‌های معدنی ضروری تحت شرایط تنش گزارش شده است (Jiang et al., 2016). کاربرد ملاتونین باعث بالانگهداشتن محتوای پتاسیم در شرایط تنش شوری می‌شود (Jiang et al., 2016; Li et al., 2012). نسبت بالا پتاسیم به سدیم برای حفظ متابولیسم سلولی در گیاه بسیار حیاتی است (پوراسماعیلی و همکاران، ۱۳۹۳). به طور کلی در رابطه با میزان پتاسیم در پژوهش حاضر کارایی کاربرد ملاتونین در سطوح تنش شوری مورد بررسی متفاوت بود، در سطح صفر (سطوح ۲۵، ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین) و ۱۰۰ (سطوح ۵۰ و ۷۵ میکرومولار) میزان افزایش مشاهده شده معنی‌دار ولی در سطوح ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار تنش شوری، در هیچ یک از سطوح ملاتونین نسبت به سطح صفر افزایش معنی‌داری مشاهده نشد.

### نتیجه‌گیری

به طور کلی، چنین نتیجه‌گیری شد که ملاتونین با غلظت‌های ثابت در سطوح مختلف تنش شوری اثر متفاوتی بر میزان مالون دی‌آلدهید، میزان پرولین، میزان پتاسیم و سدیم داشت. اثرات کاربرد ملاتونین احتمالاً ناشی از افزایش توانایی آنتی‌اکسیدانت و ثبات سیستم غشایی است و همچنین کاربرد

سدیم در گیاهان آراییدپسیس، گوجه‌فرنگی، صنوبر، آلوورا و ذرت افزایش می‌دهد (Jiang et al., 2016). کاربرد ملاتونین منجر به کاهش سدیم در گیاهچه‌های پیش تیمار شده نسبت به گیاهچه‌های تیمار نشده می‌گردد (زارع زینلی، ۱۳۹۵; Jiang et al., 2016). Jiang و همکاران (۲۰۱۶) نیز گزارش کردند که استفاده از ملاتونین در شرایط بدون تنش هیچ تأثیری بر محتوای پتاسیم و سدیم نداشته است اما کاربرد ملاتونین به طور واضح محتوای سدیم در ساقه را کاهش داده است. اما در شرایط تنش شوری کاربرد ملاتونین میزان نسبت پتاسیم به سدیم در ساقه‌ها را به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش داده است.

**پتاسیم:** نتایج تجزیه واریانس داده‌ها همچنین نشان دادند که اثرهای تنش شوری، پرایمینگ و برهمکنش آنها بر میزان پتاسیم در گیاهچه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). اثر سطوح مختلف پرایمینگ بر میزان پتاسیم در گیاهچه در سطوح صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار تنش شوری در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد ولی در سطح ۲۵ میلی‌مولار معنی‌دار نبود (جدول ۲). در شرایط عدم تنش شوری، بیشترین میزان پتاسیم (۵۶/۵۴ میلی‌گرم بر گرم) در سطح ۷۵ میکرومولار ملاتونین مشاهده شد که نسبت به سطح بدون پرایم (۳۸/۶۵ میلی‌گرم بر گرم) ۳۱/۶۵ درصد افزایش داشت. در تنش شوری سطح ۵۰ میلی‌مولار، در بین سطوح مختلف ملاتونین بیشترین میزان پتاسیم (۶۲/۹۱ میلی‌گرم بر گرم) در سطح ۲۵ میکرومولار ملاتونین مشاهده شد که با سطح بدون پرایم (۴۶/۷۷ میلی‌گرم بر گرم) ۲۳/۷۷ درصد اختلاف داشت. در تنش شوری سطح ۷۵ میلی‌مولار، بیشترین میزان پتاسیم (۶۴/۸۴ میلی‌گرم بر گرم) در سطح ۷۵ میکرومولار ملاتونین که ۲۲/۲۸ درصد افزایش را نسبت به سطح بدون پرایم (۵۰/۴۰ میلی‌گرم بر گرم) داشت. در تنش شوری سطح ۱۰۰ میلی‌مولار، بیشترین میزان پتاسیم (۶۹/۸۹ میلی‌گرم بر گرم) در سطح ۲۵ و ۵۰ میکرومولار ملاتونین که اختلاف معنی‌داری با سطح بدون پرایم نداشت و غلظت ۱۲۵ میکرومولار ملاتونین سبب کاهش معنی‌دار پتاسیم گیاهچه نسبت به شرایط بدون پرایم و هیدروپرایمینگ گردید (جدول

کمک به جذب آب توسط گیاه تأثیر مثبتی بر فرایند فیزیولوژیک در حین جوانه‌زنی داشته است. اگر سطح تنش در محیط کشت نخود بیش از ۱۰۰ میلی‌مولار باشد گیاه دچار تنش شوری می‌شود و عملکرد آن از شوری ۰/۷ دسی‌زیمنس بر متر به بالا کاهش می‌یابد (احمدپور و همکاران، ۱۳۹۴). لذا پیشنهاد می‌گردد سطوح بالاتر تنش شوری و همچنین تأثیر هورمون در مرحله رشد رویشی نیز بررسی گردد زیرا برخی گیاهان که در زمان جوانه‌زنی به شوری متحمل هستند ممکن است در زمان رشد رویشی به آن حساسیت داشته باشند.

ملاتونین در غلظت‌های کمتر از ۷۵ میکرومولار می‌تواند اثر ناشی از سمیت یونی ناشی از کاهش محتوای پتاسیم و افزایش سدیم را کاهش دهد. غلظت پایین سدیم برای رشد و تحمل به تنش غیرزیستی در گیاهان حیاتی است. با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان گفت که نخود در مرحله جوانه‌زنی تا سطح ۱۰۰ میلی‌مولار تنش شوری را تحمل نموده و کاربرد هورمون در این سطوح به دلیل تحمل به شوری تأثیر زیادی بر شاخص‌های فیزیولوژیک بذر نداشته است با توجه با این نکته که ملاتونین در شرایط عدم تنش عملکرد و تنها هیدروپرایمینگ در این شرایط نسبت به شاهد بدون پرایم با

### منابع

- احمدپور، ر.، آرمنند، ن. و حسین‌زاده، س. ر. (۱۳۹۴) تأثیر عصاره ورمی کمپوست بر برخی خصوصیات جوانه‌زنی نخود (*Cicer arietinum* L.) تحت تنش شوری. پژوهش‌های بذر ایران ۲: ۱۳۵-۱۲۳.
- احمدی، ک.، عبادزاده، ح. ر.، حسین‌پور، ر.، عبدشاه، ه.، کاظمیان، آ. و رفیعی، م. (۱۳۹۷) آمارنامه کشاورزی سال ۹۶-۱۳۹۵، محصولات زراعی. تهران: وزارت جهادکشاورزی، معاونت برنامه ریزی و اقتصادی، مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات ۱: ۲۴-۲۱.
- آزاد، م.، رستمی، م.، قبولی، م. و موحدی، ز. (۱۳۹۷) برهمکنش تنش شوری و سالیسیلیک اسید بر صفات فیزیولوژیک بالنگو (*Lallemantia royleana*). مجله زیست‌شناسی ایران ۳۱: ۳۰۷-۲۹۵.
- اکرم قادر، ف.، کامکار، ب. و سلطانی، ا. (۱۳۹۳) علوم و تکنولوژی بذر. جهاد دانشگاهی (دانشگاه مشهد).
- پوراسماعیلی، م.، رستگار، ج. و زنگی‌آبادی، م. (۱۳۹۳) تحمل شوری و ارتباط آن با تولید زیست‌توده در ژنوتیپ‌های نخود زراعی. به زراعی کشاورزی ۱۶: ۷۶۳-۷۴۹.
- دره‌کی، غ.، زمانی، غ. و سیاری، م. (۱۳۹۷) بررسی اثر تنش شوری بر عملکرد و اجزای عملکرد نخود (*Cicer arietinum* L.) رقم آزاد. پژوهش‌های حبوبات ایران ۱: ۶۷-۵۷.
- زارع زینلی، م. (۱۳۹۵) بررسی اثر محلول‌پاشی با ملاتونین بر کاهش اثرات تنش شوری در گیاه جعفری آفریقایی (*Tagetes erecta* L.). پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.
- فرهودی، ر. و خدا رحم‌پور، ز. (۱۳۹۶) بررسی جوانه‌زنی، رشد گیاهچه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ارقام نخود تحت تأثیر تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی ۲۱: ۱۰۱-۹۱.
- Ashraf, M. and Foolad, M. (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany* 59: 206-216.
- Baker, J. E. (1991) Purification and partial characterization of  $\alpha$ -amylase allozymes from the lesser grain borer, *rhyzopertha dominica*. *Insect Biochemistry* 21: 303-311.
- Bandeoglu, E., Eyidogan, F., Yucel, M and Oktem, H. A. (2004) Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl-salinity stress. *Plant Growth Regulation* 42: 69-77.
- Bernfeld, P. (1955) Amylases alpha and beta, *Methods in Enzymology* 1: 149-158.
- Bohnert, H. J. (2007) *Abiotic Stress*. John Wiley and Sons, Ltd.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye-binding. *Analytical Biochemistry* 38: 248-252.

- Chen, Q., Qi, W. B., Reiter, R. J., Wei, W. and Wang, B. M. (2009) Exogenously applied melatonin stimulates root growth and raises endogenous indole acetic acid in roots of etiolated seedlings of *Brassica juncea*. *Journal of Plant Physiology* 166: 324-328.
- Hamilton, E. W. and Heckathorn, S. A. (2001) Mitochondrial adaptations to NaCl. Complex I is protected by antioxidants and small heat shock proteins, whereas complex ii is protected by proline and betaine. *Plant Physiology* 126: 1266-1274.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
- ISTA (International Seed Testing Association) (2010) International rules for seed testing. International Seed Testing Association (ISTA) Zurichstr, Switzerland.
- Jiang, C., Cui, Q., Feng, K., Xu, D., Li, C. and Zheng, Q. (2016) Melatonin improves antioxidant capacity and ion homeostasis and enhances salt tolerance in maize seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum* 4: 38-82.
- Kabiri, R., Hatami, A. and Naghizadeh, M. (2014) Effect of drought stress and its interaction with salicylic acid on fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) germination and early seedling growth. *Journal Medicinal Plants and By-products* 2: 107-116
- Kang, K., Lee, K., Park, S., Kim, Y. S. and Back, K. (2010) Enhanced production of melatonin by ectopic overexpression of human serotonin n-acetyl transferase plays a role in cold resistance in transgenic rice seedlings. *Journal of Pineal Research* 49: 176-182.
- Kar, M. and Mishra, D. (1976) Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology* 57: 315-319.
- Li, C., Wang, P., Wei, Z., Liang, D., Liu, C., Yin, L., Jia, D., Fu, M. and Ma, F. (2012) The mitigation effects of exogenous melatonin on salinity-induced stress in *Malus hupehensis*. *Journal of Pineal Research* 53: 298-306.
- Makkar, H. P., Siddhuraju, P. and Becker, K. (2007) Plant secondary metabolites (Tannins). Springer 67-81.
- McDonald, M. (1999) Seed deterioration: Physiology, repair and assessment. *Seed Science Technology* 27: 177-237.
- Owen, C. P. (1992) Plant analysis reference producers for the southern region of the United States. The University of Georgia 33-45.
- Paquin, R. and Lechasseur, P. (1979) Observations sur une methode de dosage de la proline libre dans les extraits de plantes. *Canadian Journal of Botany* 57: 1851-1854.
- Posmyk, M. M., Bałabusta, M., Wieczorek, M., Sliwinska, E. and Janas, K. (2009) Melatonin applied to cucumber (*Cucumis sativus* L.) seeds improves germination during chilling stress. *Journal of Pineal Research* 46: 214-223.
- Simlat, M., Ptak, A., Skrzypek, E., Warchol, M., Moranska, E. and Piorkowska, E. (2018) Melatonin significantly influences seed germination and seedling growth of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Peer journal* 6: 5009
- Smirnoff, N. (1993) The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist* 125: 27-58.
- Turk, H., Erdal, S., Genisel, M., Atici, O., Demir, Y. and Yannmis, D. (2014) The regulatory effect of melatonin on physiological, biochemical and molecular parameters in cold-stressed wheat seedlings. *Plant Growth Regulation* 74: 139-152.
- Wang, L., Liu, J., Wang, W. and Sun, Y. (2016) Exogenous melatonin improves growth and photosynthetic capacity of cucumber under salinity-induced stress. *Photosynthetica* 54: 19-27.
- Wang, P., Sun, X., Li, C., Wei, Z., Liang, D. and Ma, F. (2013) Long-term exogenous application of melatonin delays drought-induced leaf senescence in apple. *Journal of Pineal Research* 54: 292-302.
- Wei, W., Li, Q. T., Chu, Y. N., Reiter, R. J., Yu, X. M., Zhu, D. H., Zhang, W. K., Ma, B., Lin, Q. and Zhang, J. S. (2015) Melatonin enhances plant growth and abiotic stress tolerance in soybean plants. *Journal of Experimental Botany* 66: 695-707.
- Yoshibia Y. (1995) Correlation between the induction of a gene for delta 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase and the accumulation of proline in *Arabidopsis thaliana* under osmotic stress. *The Plant Journal* 7: 751-760.
- Zhang, H. J., Zhang, N., Yang, R. C., Wang, L., Sun, Q. Q., Li, D. B., Cao, Y. Y., Weeda, S., Zhao, B. and Ren, S. (2015) Melatonin promotes seed germination under high salinity by regulating antioxidant systems, ABA and GA<sub>4</sub> interaction in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Pineal Research* 57: 269-279.
- Zhao, Y., Qi, L. W., Wang, W. M., Saxena, P. K. and Liu, C. Z. (2011) Melatonin improves the survival of cryopreserved callus of *Rhodiola crenulata*. *Journal of Pineal Research* 50: 83-88.
- Zhu, J. K. (2002) Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Biology* 53: 247-273.

## The effect of melatonin and hydropriming on some physiological characteristics of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) seed and seedling under salinity stress

Masoumeh Azadbakht, Hamidreza Balouchi\*, Mohsen Movahhedi Dehnavi, Ali Moradi

Agronomy and Plant Breeding Department, Yasouj University, Yasouj, Iran

(Received: 19/03/2019, Accepted: 13/08/2019)

### Abstract

Melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine) as a plant growth regulator, is a natural compound that has been known to exist in a large variety of plant species in roots, leaves, fruits and seeds. In order to investigate the effect of melatonin on some physiological characteristics of chickpea seed and seedling (Arman cultivar) under salinity stress, a factorial experiment was conducted based on a completely randomized design with four replications in 2017 at the Yasouj University. The factors included melatonin at concentrations of without-prim, 0, 25, 50, 75, 100 and 125  $\mu\text{M}$  as the first factor, and different levels of salinity included 0, 25, 50, 75 and 100 mM sodium chloride, as the second factor. The results showed that in salinity levels of 100 and 50 mM, melatonin with concentration of 100  $\mu\text{M}$  increased the seedling proline. In non stress conditions, priming with 25, 75 and 100  $\mu\text{M}$  melatonin increased seedling potassium content. Also, in 100 mM salinity stress, priming with 50 and 75  $\mu\text{M}$  melatonin increased potassium content in the seedling. Priming reduced the sodium content of seedling at salinity levels of 100 and 75 mM by 25 and 75  $\mu\text{M}$  melatonin concentrations respectively. Overall, the results of this study showed that chickpea tolerate salinity stress at germination stage up to 100 mM, and the use of melatonin at these stage due to salinity tolerance had not a significant effect on the physiological indices of the seeds, and only hydropriming in this condition compared to the non-primed by helping to absorb water by the plant has had a positive effect on the physiological process during germination.

**Keywords:** Proline, Malondialdehyde, Potassium, Sodium, Priming.