

## The effect of seed pretreatment and foliar application of melatonin and spermidine on germination and physicochemical traits of kodo (*Fagopyum esculentum* Moenc) under drought stress

M. Miri<sup>1\*</sup>, M.R. Amerian<sup>2</sup>, M. Edalat<sup>3</sup>, M. Baradaran Firouzabadi<sup>2</sup>, H. Makarian<sup>2</sup>

1. PhD. Student of Agronomy- Crop Physiology, Faculty of Agriculture, Shahroud University of Technology, Iran

2. Associate professor of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahroud University of Technology, Iran

3. Associate professor of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Iran

Received 10 August 2021; Accepted 09 October 2021

### Extended abstract

#### Introduction

Drought stress is one of the affecting factors on physiological traits in arid and semi-arid regions, especially in Iran. Recently, the role of polyamines has been considered to increasing plant tolerance to stresses, including drought. Polyamines are a new group of growth regulators and are involved in a wide range of physiological and biochemical processes such as stress resistance, phospholipid membrane stability and osmotic regulation (zakai, khosroshahi and duodenal, 2008). The aim of this experiment was to investigate the effect of seed pretreatment and seedling foliar application with melatonin and spermidine on kodo physicochemical traits under drought stress in laboratory and greenhouse.

#### Materials and methods

In this study, experiments were performed in two stages. In the first stage (laboratory), the experiment was performed as a two-factor split factorial in the form of completely randomized blocks with four replications. Experimental treatments including drought stress as the main factor in seven levels of zero osmotic potential (control), -0.2, -0.4, -0.6, -0.8, -1 and -1.2 MPa, pretreatment seeding with spermidine at five levels, zero, 0.5, 1, 1.5 and 2 mM and pre-seeding with melatonin at five levels, zero, 0.125, 0.250, 0.375 and 0.500 mM were sub-factors. After performing the first stage, the best experimental treatments were selected and in the next stage (greenhouse), the experiment was performed as a three-factor split factorial in the form of completely randomized blocks with three replications. Drought stress was the main factor in three levels of irrigation in 10% of field capacity depletion (optimal irrigation), irrigation in 40% of field capacity depletion (mild stress) and irrigation in 70% of field capacity depletion, seed pre-selection as a secondary factor at three levels: no pre-treatment (control), pre-treatment with spermidine, pre-treatment with melatonin and also seedling foliar application was applied as a sub-factor at three levels: no foliar application, spermidine foliar application and solution Spraying with melatonin.

#### Results and discussion

The results showed that concentrations of 1.5 spermidine and 0.375 mM melatonin had the highest percentage and germination rate. In the greenhouse, experimental treatments showed a significant

\* Corresponding author: Meysam Miri; E-Mail: [Miri.Meysam67@gmail.com](mailto:Miri.Meysam67@gmail.com)



effect on increasing stomatal conductance, relative leaf moisture, and catalase enzyme and leaf soluble protein. In general, seed pretreatment as well as seedling foliar application with 0.375 mM melatonin had the greatest effect on drought stress modulation.

### **Conclusion**

The results showed that concentrations of 1.5 spermidine and 0.375 mM melatonin had the highest percentage and germination rate. In the greenhouse, experimental treatments showed a significant effect on increasing stomatal conductance, relative leaf moisture, and catalase enzyme and leaf soluble protein. In general, seed pretreatment as well as seedling foliar application with 0.375 mM melatonin had the greatest effect on drought stress modulation.

**Keywords:** Chlorophyll, Enzyme, Protein, Stomatal conductance

<http://dx.doi.org/10.22077/escs.2022.4577.2043>

مقاله پژوهشی

## بررسی اثر پیش‌ تیمار بذر و محلول‌ پاشی ملاتونین و اسپرمیدین بر جوانه‌زنی و صفات فیزیکی‌ شیمایی دیلار (*Fagopyrum esculentum* Moenc) تحت تنش خشکی

میثم میری<sup>۱\*</sup>، محمدرضا عامریان<sup>۲</sup>، محسن عدالت<sup>۳</sup>، مهدی برادران فیروزآبادی<sup>۴</sup>، حسن مکاریان<sup>۵</sup>

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود

۲. دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود

۳. دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

مشخصات مقاله	چکیده
واژه‌های کلیدی:	به‌منظور تعدیل اثرات تنش خشکی بر گیاه دیلار، پیش‌ تیمار بذر و محلول‌ پاشی گیاهچه با اسپرمیدین و ملاتونین در دو مرحله جداگانه در آزمایشگاه و گلخانه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه شیراز در سال زراعی ۱۳۹۸ - ۱۳۹۹ اجرا شد. در مرحله اول، آزمایش به‌صورت فاکتوریل دو فاکتوره در قالب بلوک‌های کاملاً تصادفی و با چهار تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل تنش خشکی در هفت سطح پتانسیل اسمزی صفر (شاهد)، ۰/۲، -۰/۴، -۰/۶، -۰/۸، -۱، -۱/۲- مگاپاسکال، پیش‌اندازی بذر با اسپرمیدین در پنج سطح، صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی-مولار و پیش‌اندازی بذر با ملاتونین در پنج سطح، صفر، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵۰، ۰/۳۷۵ و ۰/۵۰۰ میلی مولار بودند. پس از اجرای مرحله اول بهترین تیمارهای آزمایشی انتخاب شد و در مرحله بعد (گلخانه)، آزمایش به‌صورت فاکتوریل سه فاکتوره در قالب بلوک‌های کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام گردید. تنش خشکی در سه سطح آبیاری در ۱۰ درصد تخلیه ظرفیت زراعی (آبیاری مطلوب)، آبیاری در ۴۰ درصد تخلیه ظرفیت زراعی (تنش ملایم) و آبیاری در ۷۰ درصد تخلیه ظرفیت زراعی بود. پیش‌اندازی بذر در سه سطح: بدون پیش‌اندازی (شاهد)، پیش‌اندازی با اسپرمیدین، پیش‌اندازی با ملاتونین و همچنین محلول‌ پاشی گیاهچه در سه سطح: بدون محلول‌ پاشی، محلول‌ پاشی با اسپرمیدین و محلول‌ پاشی با ملاتونین اعمال شدند. پیش‌اندازی بذر با بهترین تیمار آزمایشگاه قبل از کشت بذر و محلول‌ پاشی با بهترین تیمار انتخابی آزمایشگاه در مرحله ساقه‌روی و ابتدای گلدهی انجام شد. نتایج نشان داد که غلظت‌های ۱/۵ اسپرمیدین و ۰/۳۷۵ میلی‌مولار ملاتونین بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی را داشتند. در گلخانه نیز تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر افزایش هدایت روزنه، رطوبت نسبی برگ، کاتالاز و پروتئین محلول در برگ نشان دادند. به‌طور کلی پیش‌ تیمار بذر و همچنین محلول‌ پاشی گیاهچه با ۰/۳۷۵ میلی‌مولار ملاتونین بیشترین تأثیر را بر تعدیل تنش خشکی داشت.
تاریخ دریافت:	۱۴۰۰/۰۵/۱۹
تاریخ پذیرش:	۱۴۰۰/۰۷/۱۷
تاریخ انتشار:	تابستان ۱۴۰۲
شماره مقاله:	۳۳۱-۳۱۵ (۲): ۱۶

### مقدمه

امروزه کشت گیاهان دارویی در سطح وسیع به علت تأثیر سوء ناشی از مصرف داروهای شیمیایی در بیماران و همچنین به علت نیاز مواد اولیه کارخانه‌های داروسازی مدنظر محققان قرار گرفته است و از طرفی، شرایط اکولوژیک مختلف در کشور پتانسیل خوبی را برای توسعه کشت این گیاهان فراهم نموده است (Azadvari et al., 2021). دیلار با نام علمی *Fagopyrum esculentum* گیاهی دارویی از خانواده Polygonaceae است (Omidbaigi, 2010) و دارای ترکیبات پروتئینی و آمینواسیدهای متعادلی بوده که مکمل خوبی برای غلات به حساب می‌آید (Ahmed et al., 2014). برخی تحقیقات نشان داده است که دیلار به علت داشتن سازگاری اکولوژیکی بالا مستعد کشت در مناطق گسترده است (Montgomery, 2009). ولی محدودیت آب به‌عنوان بازدارنده رشد در کاهش عملکرد آن تأثیر بسزایی نشان داده

است. دیلار با نام علمی *Fagopyrum esculentum* گیاهی دارویی از خانواده Polygonaceae است (Omidbaigi, 2010) و دارای ترکیبات پروتئینی و آمینواسیدهای متعادلی بوده که مکمل خوبی برای غلات به حساب می‌آید (Ahmed et al., 2014). برخی تحقیقات نشان داده است که دیلار به علت داشتن سازگاری اکولوژیکی بالا مستعد کشت در مناطق گسترده است (Montgomery, 2009). ولی محدودیت آب به‌عنوان بازدارنده رشد در کاهش عملکرد آن تأثیر بسزایی نشان داده

فیزیولوژیکی گیاه از جمله تثبیت غشاء، فعال‌کننده آنزیم‌ها، تقسیم سلولی و در رشد و توسعه سلول‌ها (Kaur- Sawhney et al., 2003)، جنین‌زایی، جوانه‌زنی بذر و واکنش به تنش‌ها محیطی مؤثر واقع شده‌اند (Saeidnejad et al., 2012). اثرات فیزیولوژیکی و عملکرد کتان (*Linum usitatissimum*) را تحت شرایط تنش خشکی مطالعه شد، پژوهشگران گزارش کردند که تنش خشکی در سطوح متوسط نیز موجب افزایش رشد و عملکرد ریشه می‌شود که این افزایش کاهش تولید و درنهایت کاهش عملکرد را در پی خواهد داشت (Niu et al., 2018). در تحقیقی بر روی اثر ملاتونین بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی گیاه لوبیا رقم صدری (*phasweolus vulgaris cv. Sadri*) تحت تنش شوری نشان داد که ملاتونین موجب افزایش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین، قندهای محلول و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شده و تأثیر معنی‌داری بر افزایش مقاومت گیاه لوبیا به تنش شوری داشت (Azizi et al., 2019). بررسی اثرات کاربرد متقابل اسپرمیدین و تنش شوری در گیاه شبلیله نشان داد محلول‌پاشی اسپرمیدین موجب مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های اکسیداتیو می‌شود (Hamzei and IranNezhad, 2013). آزمایش حاضر با هدف بررسی اثر پیش‌تیمار بذر و محلول‌پاشی گیاهچه با ملاتونین و اسپرمیدین بر صفات فیزیوشیمیایی دیلار در شرایط تنش خشکی در آزمایشگاه و گلخانه اجرا شد.

#### مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر اسپرمیدین و ملاتونین بر جوانه‌زنی و صفات فیزیوشیمیایی دیلار تحت تنش خشکی، آزمایش در دو مرحله جداگانه در آزمایشگاه و گلخانه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه شیراز در سال زراعی ۱۳۹۸ - ۱۳۹۹ اجرا شد.

#### الف) مرحله اول (بخش آزمایشگاهی)

انتخاب بهترین تیمار پیش‌اندازی بذر و محلول‌پاشی ملاتونین و اسپرمیدین: در این مرحله تعداد ۲۵ عدد بذر از هر تیمار (پیش‌اندازی بذر) در ظرف‌های پتری دیش نه سانتی‌متر که حاوی دو عدد کاغذ صافی واتمن شماره یک و ۱۰ میلی‌لیتر از آب مقطر یا محلول پلی‌اتیلن گلیکول (۶۰۰۰ PEG6000) بود قرار داده شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل دو فاکتوره در قالب بلوک‌های کاملاً تصادفی و با چهار تکرار و بر اساس

است (Aghighi Shahverdi et al., 2018). اشرفی و همکاران (Ashrafi et al., 2018) با بررسی تأثیر تنش خشکی بر متابولیت‌های ثانویه دو گونه آویشن گزارش دادند که با ایجاد شرایط تنش خشکی، صفات فیزیولوژیکی و متابولیکی هر دو گونه به‌شدت تحت تأثیر قرار گرفت. به اعتقاد برخی پژوهشگران، مراحل اولیه رشد گیاهچه نسبت به تنش خشکی حساسیت زیادی نشان داده است و کشت بذر در بستری با آب ناکافی موجب غیریکنواختی جوانه‌زنی و ضعف گیاهچه‌ها شده است (Rahimi et al., 2019). تنش خشکی با اختلال در عمل روزنه‌ها و سیستم فتوسنتزی، تخریب پروتئین‌ها و آنزیم‌ها، کاهش سطح برگ را موجب می‌شود (Wu et al., 2009). برخی پژوهشگران اثر معنی‌دار تنش خشکی بر رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی، پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاه کینوا (*Chenopodium quinoa*) گزارش نمودند (Dashab and Omid, 2021). به‌طورکلی در سال‌های اخیر مطالعات زیادی بر اثر تنش خشکی بر متابولیسم گیاهان انجام شده است اما در خصوص واکنش گیاهان دارویی به تنش خشکی، اطلاعات محدود است (Salehi Shanjani et al., 2020). با توجه به گزارش‌های اندک منتشرشده یکی از تیمارهایی که در شرایط خشکی بر رشد و تولید گیاه تأثیر مثبت داشته، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی پلی‌آمین‌ها است (Arnao and Hernández, 2015). پلی‌آمین‌ها یکی از تنظیم‌کننده‌های رشد به‌شمار می‌آیند و در سطح وسیعی از فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مانند مقاومت در برابر تنش‌ها، پایداری غشا فسفولیپیدی و تنظیم اسمزی، تقسیم سلولی، طویل شدن سلول نقش ایفاء می‌نمایند (Zokaei Khosroshahi and Esna Ashari, 2008). امروزه اهمیت پلی‌آمین‌ها در افزایش تحمل گیاهان به تنش‌ها از جمله خشکی موردتوجه برخی از پژوهشگران قرار گرفته است (Darvizheh et al., 2018). ملاتونین از مولکول‌های ایندول آمین طبیعی بوده که با غلظت‌های متفاوت در گیاهان گزارش شده است و همچنین به‌عنوان محرک زیستی یا مولکول تحریک‌کننده رشد مدنظر برخی محققین قرار گرفته است (Arnao and Hernández, 2015). برخی یافته‌ها نشان داده است که از محلول ملاتونین می‌توان به‌عنوان ترکیب بسیار مفید برای کاهش اثرات تنش‌های زیست‌محیطی، به‌ویژه تنش خشکی استفاده نمود (Shi et al., 2016). اسپرمیدین پلی‌آمینی با وزن مولکولی کم بوده و در طیف وسیعی از فرآیندهای

فشاری تعیین و بر اساس آن پتانسیل آبی خاک در ۹۰ درصد ظرفیت زراعی، ۶۰ درصد ظرفیت زراعی و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب ۰/۳، ۰/۲ و ۰/۱- مگا پاسکال (تنش سطح طبیعی، تنش متوسط و تنش شدید) است، پیش‌اندازی بذر در سه سطح: بدون پیش‌اندازی (شاهد)، پیش‌اندازی با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اسپرمیدین، پیش‌اندازی با غلظت ۰/۳۷۵ میلی‌مولار ملاتونین و همچنین محلول‌پاشی گیاهچه در سه سطح: بدون محلول‌پاشی، محلول‌پاشی گیاهچه با اسپرمیدین ۱/۵ میلی‌مولار و محلول‌پاشی گیاهچه با ملاتونین ۰/۳۷۵ میلی‌مولار (غلظت مواد پیش‌تیمار و محلول‌پاشی از بهترین تیمارهای آزمایشگاه انتخاب شدند) اعمال شدند. پیش‌اندازی بذر قبل از کشت بذر و محلول‌پاشی در مرحله ساقه‌روی و ابتدای گلدهی انجام شد. پس از پیش‌اندازی بذر، تعداد ۸۱ گلدان با مقادیر یکسان و مشخص از خاک پر شدند و تعداد ۱۰ بذر درون هر گلدان کشت گردید. در این روش ابتدا به هر گلدان وزن مشخصی از خاک مزرعه به‌صورت یکنواخت ریخته شد. برای تعیین مقدار رطوبت موجود در خاک ریخته شده به گلدان‌ها، نمونه‌ها پس از توزین به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد خشک می‌شدند و با استفاده از میانگین وزن نمونه‌ها وزن خشک هر گلدان مشخص گردید. سپس به هر گلدان به‌قدری آب اضافه گردید تا به نقطه اشباع رسید. ۲۴ ساعت پس از آبدهی کامل گلدان‌ها نمونه‌های ده‌تایی دوباره در آون و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند و به این طریق مقدار آب ظرفیت زراعی گلدان‌ها مشخص گردید. صفات مدنظر شامل: محتوای نسبی رطوبت برگ، هدایت روزنه، کلروفیل a، کلروفیل b، شاخص سطح برگ (با استفاده از دستگاه سطح برگ سنج مدل CRLA1- Iran)، آنزیم کاتالاز و میزان پروتئین محلول در برگ بودند که در مرحله ۵۰ درصد گل-دهی ارزیابی شدند.

درصد محتوای نسبی رطوبت برگ با استفاده از تکه‌های یک سانتی‌متری برگ گیاهان هر گلدان و اندازه‌گیری وزن تر آن‌ها و قرار دادن در آب به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و تعیین وزن اشباع و سپس وزن خشک (۲ ساعت در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد) و با استفاده از رابطه ۵ محاسبه شد.

$$100 \times (\text{وزن خشک} - \text{وزن تر شرایط اشباع}) / (\text{وزن خشک} - \text{وزن تر})$$

[۵]

تیمار، پیش‌اندازی بذر در دو ژرمیناتور جداگانه انجام شد. تیمارها شامل تنش خشکی در هفت سطح پتانسیل اسمزی صفر (شاهد)، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸، ۱- و ۱/۲- مگا پاسکال، برای تهیه محلول‌های اسمزی از فرمول میشل و کافمن (Michel and Kaufmann, 1973) استفاده شد.

$$\pi = -(1.18 \times 10^{-2})C - (181 \times 10^{-4})C^2 + (2.67 \times 10^{-4})CT + (8.39 \times 10^{-7})CT^2 \quad [۱]$$

که در آن  $\pi$ : پتانسیل اسمزی (بار)، C: غلظت یا مقدار پلی‌اتیلن گلیکول، T: دمای محیط (درجه سانتی‌گراد) هستند.

پیش‌اندازی بذر با اسپرمیدین در پنج سطح، صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌مولار و پیش‌اندازی بذر با ملاتونین در پنج سطح، صفر، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵۰، ۰/۳۷۵ و ۰/۵۰۰ میلی‌مولار بودند. صفات ارزیابی‌شده در این مرحله شامل درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی بودند که مطابق با روابط زیر محاسبه شدند.

درصد جوانه‌زنی از رابطه ۲ محاسبه شد (Ansari et al., 2012).

$$GP = 100 \times (N/NT) \quad [۲]$$

که در آن GP: درصد جوانه‌زنی، N: تعداد بذر جوانه‌زده، NT: تعداد بذر کشت‌شده هستند

سرعت جوانه‌زنی از رابطه ۳ محاسبه شد (Ellis and Roberts, 1981).

$$GR = \epsilon(n_i/d_i) \quad [۳]$$

که در این معادله، GR: سرعت جوانه‌زنی،  $n_i$ : تعداد بذر جوانه‌زده در روز i ام،  $d_i$ : آامین پس از کشت برحسب روز هستند.

همچنین با استفاده از داده‌های طول گیاهچه و قابلیت جوانه‌زنی بذر شاخص طولی بنیه گیاهچه با استفاده از رابطه (۴) محاسبه می‌گردد (Abdul-Baki and Anderson, 1973).

$$[۴] \text{ طول گیاهچه} \times \text{قابلیت جوانه‌زنی} = \text{شاخص طولی گیاهچه}$$

### ب) مرحله دوم (بخش گلخانه‌ای)

با توجه به بزرگ بودن گلخانه و تفاوت شرایط نور و دما در زمان انجام آزمایش برای گلدان‌ها، در گلخانه آزمایش به‌صورت فاکتوریل سه فاکتوره در قالب بلوک‌های کاملاً تصادفی و در سه تکرار اجرا گردید. تنش خشکی خاک (پتانسیل آب خاک) به‌عنوان فاکتور اصلی در سه سطح با استفاده از منحنی رطوبتی خاک مورد استفاده توسط صفحات

در نهایت پس از ارزیابی صفات، تجزیه واریانس با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C، مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

### نتایج و بحث

#### نتایج بخش آزمایشگاهی

در مطالعات آزمایشگاهی اثر متقابل تنش خشکی در پیش تیمار بذر با ملاتونین و اسپرمیدین بر جوانه‌زنی بذر اثبات شد (جدول ۱) و همچنین مشخص شد که تنش خشکی موجب کاهش درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی بذر دیلار می‌شود به طوری که با افزایش سطوح تنش از ۰/۲- تا ۱/۲- مگاپاسکال، سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی به طور معنی‌داری کاهش نشان داد. شاخص طولی بنیه گیاهچه نیز تحت تأثیر اثر متقابل تنش در پیش تیمار بذر قرار گرفت به طوری که کاربرد پیش تیمار بذر با ملاتونین و اسپرمیدین، هم در شرایط نرمال رطوبتی و هم در شرایط تنش خشکی موجب افزایش شاخص طولی بنیه گیاهچه شدند (جدول ۲).

به منظور اندازه‌گیری میزان هدایت روزنه‌ای (میلی مول آب در مترمربع در ثانیه) از دستگاه IRGA مدل Biosentetic ADC، LTD Hoddoson UK) استفاده گردید. تمامی اندازه‌گیری‌ها در ساعت ۹-۱۱ صبح در شدت نور ۱۲۰۰ تا ۱۴۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع صورت پذیرفت، زیرا تبدلات گازی در این محدوده زمانی تغییرات قابل توجهی ندارد (França et al., 2002).

مقادیر کلروفیل a و b طبق روش آرنون و روی طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل (Jenway 7315- England) ارزیابی شد (Arnon, 1949).

پروتئین‌های محلول از روش برادفورد (Bradford, 1976) و در طول موج ۵۹۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل (Jenway 7315- England) اندازه‌گیری شد.

فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه دیلار به روش ابی (Aebi, 1984) و در طول موج ۲۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل (Jenway 7315- England) اندازه‌گیری شد.

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر تنش خشکی و پیش تیمار بذر با ملاتونین و اسپرمیدین بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر دیلار

Table 1. Analysis of variance effect drought stress and melatonin and spermidine pretreatment on germination and germination rate of seed Buckwheat

S.O. V	منابع تغییر	درجه آزادی df	ملاتونین Melatonin		
			درصد جوانه‌زنی Germination	شاخص طولی بنیه گیاهچه Seedling length vigour index	سرعت جوانه‌زنی Germination rate
Block	بلوک	3	8.09	2941.63	0.09
Drought stress (D.S)	تنش خشکی	6	11023.17**	1779172.67**	10.34**
Pretreatment (P)	پیش تیمار	4	791.60**	45888.63**	5.89**
(D.S) × (P)	(D.S) × (P)	24	20.73**	15037.80**	0.105**
Error	خطا	102	5.19	1552.98	0.014
C.V%	ضریب تغییرات	-	3.59	10.49	4.48

Table 1. Continued

جدول ۱. ادامه

S.O. V	منابع تغییر	درجه آزادی df	اسپرمیدین Spermidine		
			درصد جوانه‌زنی Germination	شاخص طولی بنیه گیاهچه Seedling length vigour index	سرعت جوانه‌زنی Germination rate
Block	بلوک	3	25.7	6345.98	0.006
Drought stress (D.S)	تنش خشکی	6	9652.54**	1950189.75**	8.78**
Pretreatment (P)	پیش تیمار	4	591.7**	34497.95**	3.34**
(D.S) × (P)	(D.S) × (P)	24	14.52**	21172.96**	0.07**
Error	خطا	102	4.5	1908.99	0.006
C.V%	ضریب تغییرات	-	3.53	11.60	3.87

ns, \*, \*\* به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد است.

ns\* and \*\*: non-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

کرد که بذرها برای جبران خسارت‌های وارد شده به غشاء و دیگر قسمت‌های سلول و همچنین آغاز مجدد فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی و جلوگیری از بروز تنش اکسیداتیو نیاز به زمان دارد و جبران این خسارت‌ها ممکن است پس از جذب آب توسط بذر امکان‌پذیر شود. در این خصوص رسام و دادخواه (Rassam and Dadkhah, 2012) گزارش کردند وقوع فرآیند جوانه زنی نیازمند داشتن رطوبت کافی در بستر رشد بذر و جذب آب از محیط کشت بوده و کاهش یا

کاهش صفات مرتبط با جوانه زنی دیلار قبلاً توسط عقیقی شاهرودی و همکاران (Aghighi Shahverdi et al., 2018) گزارش شده است که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. در این پژوهش، با منفی تر شدن پتانسیل اسمزی، آب قابل دسترس گیاه نیز کاهش یافته و به تبع آن درصد و سرعت جوانه زنی کاهش نشان داد. کاهش در سرعت جوانه زنی احتمالاً به دلیل وقفه‌هایی است که در شروع فرآیند جوانه زنی ایجاد می‌شود. علت وقفه ایجاد شده را می‌توان چنین توجیه

جدول ۲. مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنش خشکی در اسپرمیدین و تنش خشکی در ملاتونین بر صفات جوانه زنی دیلار

Table 2. Comparison of means of interaction drought stress in spermidine and melatonin on germination of Buckwheat

تنش خشکی Drought stress	اسپرمیدین Spermidine	درصد جوانه زنی Germination	سرعت جوانه زنی Germination rate	شاخص طولی بنیه گیاهچه Seedling length vigour index
MPa	mmol	%	day	
0	0	82 <sup>kg</sup>	2.40 <sup>lj</sup>	677.7 <sup>e</sup>
	0.5	84.5 <sup>efg</sup>	2.98 <sup>det</sup>	885.3 <sup>c</sup>
	1	88.28 <sup>bcd</sup>	3.10 <sup>cd</sup>	965.8 <sup>b</sup>
	1.5	92.0 <sup>a</sup>	3.46 <sup>a</sup>	1083 <sup>a</sup>
	2	83.52 <sup>fgh</sup>	2.88 <sup>tg</sup>	741.9 <sup>d</sup>
- 0.2	0	81.27 <sup>lh</sup>	2.37 <sup>jk</sup>	575.2 <sup>gh</sup>
	0.5	83.0 <sup>ghi</sup>	2.96 <sup>et</sup>	635 <sup>ef</sup>
	1	87.77 <sup>bcd</sup>	3.07 <sup>cde</sup>	598.9 <sup>fg</sup>
	1.5	90.25 <sup>ab</sup>	3.41 <sup>a</sup>	647.1 <sup>ef</sup>
	2	81.0 <sup>lh</sup>	2.8 <sup>tg</sup>	602.2 <sup>fg</sup>
- 0.4	0	79.5 <sup>kl</sup>	2.17 <sup>m</sup>	461.5 <sup>jk</sup>
	0.5	81.5 <sup>kh</sup>	2.79 <sup>gh</sup>	505.4 <sup>ij</sup>
	1	87.0 <sup>cde</sup>	2.89 <sup>tg</sup>	457.6 <sup>jk</sup>
	1.5	89.75 <sup>abc</sup>	3.13 <sup>bc</sup>	524.5 <sup>hi</sup>
	2	80.5 <sup>li</sup>	2.69 <sup>h</sup>	406.5 <sup>kl</sup>
- 0.6	0	73.5 <sup>m</sup>	2.23 <sup>lm</sup>	235.4 <sup>no</sup>
	0.5	81.0 <sup>lh</sup>	2.81 <sup>gh</sup>	337.1 <sup>m</sup>
	1	86.0 <sup>def</sup>	2.90 <sup>tg</sup>	386.9 <sup>lm</sup>
	1.5	88.5 <sup>bcd</sup>	3.24 <sup>b</sup>	347.2 <sup>m</sup>
	2	78.5 <sup>l</sup>	2.70 <sup>h</sup>	331.8 <sup>m</sup>
- 0.8	0	65.75 <sup>o</sup>	1.63 <sup>o</sup>	206.2 <sup>o</sup>
	0.5	75.25 <sup>m</sup>	2.32 <sup>jkl</sup>	190.8 <sup>o</sup>
	1	80.0 <sup>ijkl</sup>	2.42 <sup>ji</sup>	238.8 <sup>no</sup>
	1.5	82.5 <sup>ej</sup>	2.86 <sup>tg</sup>	262.4 <sup>n</sup>
	2	70.5 <sup>n</sup>	2.16 <sup>m</sup>	211.8 <sup>no</sup>
- 1	0	44.76 <sup>s</sup>	1.37 <sup>p</sup>	98.50 <sup>p</sup>
	0.5	52.0 <sup>q</sup>	2.12 <sup>m</sup>	96.39 <sup>p</sup>
	1	57.0 <sup>p</sup>	2.23 <sup>klm</sup>	102.9 <sup>p</sup>
	1.5	57.75 <sup>p</sup>	2.53 <sup>l</sup>	93.68 <sup>pq</sup>
	2	48.75 <sup>r</sup>	1.91 <sup>n</sup>	108 <sup>p</sup>
-1.2	0	25.75 <sup>u</sup>	1.04 <sup>r</sup>	24.33 <sup>r</sup>
	0.5	28.49 <sup>tu</sup>	1.15 <sup>qr</sup>	40.41 <sup>qr</sup>
	1	28.25 <sup>tu</sup>	1.12 <sup>qr</sup>	23.67 <sup>r</sup>
	1.5	30.73 <sup>t</sup>	1.21 <sup>q</sup>	29.86 <sup>r</sup>
	2	27.0 <sup>u</sup>	1.09 <sup>qr</sup>	14.12 <sup>r</sup>

جدول ۲. ادامه Table 2. Continued

تنش خشکی Drought stress	ملاتونین Melatonin	درصد جوانه‌زنی Germination	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	شاخص طولی بنیه گیاهچه Seedling length vigour index
MPa	mmol	%	day	
0	0	83.0 <sup>gh</sup>	2.40 <sup>ik</sup>	713.5 <sup>d</sup>
	0.125	90.5 <sup>fc</sup>	3.05 <sup>f</sup>	918.2 <sup>b</sup>
	0.250	92.75 <sup>bcd</sup>	3.45 <sup>bc</sup>	899b <sup>c</sup>
	0.375	96.14 <sup>a</sup>	3.68 <sup>a</sup>	1054 <sup>a</sup>
	0.500	93.5 <sup>abc</sup>	3.31 <sup>cd</sup>	930 <sup>b</sup>
-0.2	0	81.25 <sup>gh</sup>	2.37 <sup>kl</sup>	578.2 <sup>e</sup>
	0.125	89.5 <sup>def</sup>	3.06 <sup>f</sup>	529.1 <sup>e</sup>
	0.250	91.2 <sup>eb</sup>	3.45 <sup>bc</sup>	842.6 <sup>c</sup>
	0.375	94.0 <sup>ab</sup>	3.66 <sup>a</sup>	559.8 <sup>e</sup>
	0.500	91.11 <sup>eb</sup>	3.30 <sup>ed</sup>	734.2 <sup>d</sup>
-0.4	0	79.5 <sup>hi</sup>	2.17 <sup>m</sup>	461.5 <sup>f</sup>
	0.125	90.0 <sup>def</sup>	2.85 <sup>g</sup>	347 <sup>g-i</sup>
	0.250	91.05 <sup>eb</sup>	3.26 <sup>de</sup>	436.7 <sup>f</sup>
	0.375	92.06 <sup>eb</sup>	3.46 <sup>bc</sup>	463.8 <sup>f</sup>
	0.500	89.0 <sup>def</sup>	3.10 <sup>ef</sup>	402.9 <sup>f-h</sup>
-0.6	0	73.5 <sup>j</sup>	2.23 <sup>lm</sup>	235.4 <sup>kl</sup>
	0.125	83.0 <sup>g</sup>	2.86 <sup>g</sup>	310.6 <sup>ij</sup>
	0.250	87.68 <sup>f</sup>	3.30 <sup>ed</sup>	343.9 <sup>hi</sup>
	0.375	89.25 <sup>ef</sup>	3.52 <sup>ab</sup>	405.9 <sup>g</sup>
	0.500	90.27 <sup>def</sup>	3.13 <sup>ef</sup>	318.9 <sup>ij</sup>
-0.8	0	65.75 <sup>k</sup>	1.63 <sup>n</sup>	206.7 <sup>l</sup>
	0.125	74.0 <sup>j</sup>	2.34 <sup>kl</sup>	238.4 <sup>kl</sup>
	0.250	78.0 <sup>i</sup>	2.79 <sup>gh</sup>	194.8 <sup>l</sup>
	0.375	83.28 <sup>g</sup>	3.18 <sup>def</sup>	277.5 <sup>k</sup>
	0.500	83.0 <sup>g</sup>	2.66 <sup>hi</sup>	200.7 <sup>l</sup>
-1	0	44.72 <sup>n</sup>	1.37 <sup>o</sup>	98.50 <sup>m</sup>
	0.125	54.0 <sup>m</sup>	2.11 <sup>m</sup>	87.77 <sup>mn</sup>
	0.250	58.7 <sup>l</sup>	2.56 <sup>ij</sup>	92.67 <sup>m</sup>
	0.375	60.0 <sup>l</sup>	2.78 <sup>gh</sup>	102 <sup>m</sup>
	0.500	61.02 <sup>l</sup>	2.35 <sup>kl</sup>	100.1 <sup>m</sup>
-1.2	0	25.75 <sup>p</sup>	1.04 <sup>q</sup>	24.41 <sup>o</sup>
	0.125	28.0 <sup>op</sup>	1.13 <sup>pq</sup>	18.06 <sup>o</sup>
	0.250	28.0 <sup>op</sup>	1.23 <sup>op</sup>	12.41 <sup>o</sup>
	0.375	30.28 <sup>o</sup>	1.33 <sup>o</sup>	31.09 <sup>no</sup>
	0.500	28.2 <sup>op</sup>	1.22 <sup>op</sup>	15.32 <sup>o</sup>

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد نیستند  
Values followed by different letters are significantly different according to Duncan test, P= 0.05.

داد و پس‌از آن در غلظت ۲ میلی‌مولار صفات جوانه‌زنی کاهش نشان داد. با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها مشخص شد که تا غلظت ۰/۳۷۵ میلی‌مولار ملاتونین، درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی روند صعودی داشتند و پس‌از آن در غلظت ۵۰۰ میلی‌مولار، درصد و سرعت جوانه‌زنی کاهش یافت. پرایمینگ بذور زوال یافته طبیعی با ملاتونین بر خصوصیات سبز شدن و رشد گیاهچه گلرنگ تحت تنش خشکی را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند با استفاده از روش مقرون‌به‌صرفه پیش‌ تیمار بذر با ملاتونین تا حد بسیار قابل توجهی، می‌توان آسیب ناشی از زوال را تحت این شرایط، کاهش داد که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. مطالعات

تأخیر جوانه‌زنی در شرایط تنش‌های محیطی با استقرار ضعیف و تراکم پایین گیاهچه همراه است. پیش‌ تیمار بذر با غلظت‌های مختلف اسپرمیدین و ملاتونین باعث کاهش اثر تنش خشکی شدند. با افزایش غلظت اسپرمیدین تا ۱/۵ میلی‌مولار، درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی افزایش نشان و انگ و همکاران (Wang et al., 2013) با مطالعه بر روی اثر پیش‌ تیمار بذر گندم با برخی پلی‌آمین‌ها بر بهبود جوانه‌زنی در شرایط تنش خشکی گزارش کردند که پیش‌ تیمار اسپرمیدین با تأثیر بر هورمون‌ها و متابولیسم نشاسته موجب بهبود جوانه‌زنی بذر گندم تحت شرایط تنش خشکی شد. همچنین حشمتی و همکاران (Heshmati, et al., 2019)



محتوای رطوبت نسبی برگ در اثر تنش کم آبی مربوط به بسته شدن روزنه ها است و علت انسداد روزنه ها را تجمع هورمون آبسزیک اسید می دانسته اند به طوری که در شرایط تنش خشکی در ریشه ساخته شده و در سلول های روزنه ای تجمع یافته است (Khan et al., 2007). همچنین در این راستا گرگینی و همکاران (Gorgini Shabankareh et al., 2015) در گیاه بادرشبو نتایج مشابهی را ارائه نمودند. در پژوهش حاضر پیش تیمار بذر و همچنین محلول پاشی اسپرمیدین و ملاتونین موجب افزایش محتوای نسبی رطوبت برگ تحت تنش خشکی شد به طوری که بیشترین محتوای نسبی رطوبت برگ (۹۰/۵ درصد) با پیش تیمار بذر و محلول پاشی ملاتونین با غلظت ۰/۳۷۵ میلی مولار حاصل شد (جدول ۴). در تحقیقات داوود و همکاران (Dawood et al., 2018) روی نخود و محمدی و همکاران (Mohammadi, et al., 2020) در سویا نتایج مشابهی گزارش شده است. همچنین در این خصوص برخی تحقیقات نشان داده است پلی آمین ها اثرات منفی ناشی از تنش خشکی را در شبدر سفید با کاهش پراکسیداسیون لیپیدها، پایداری غشای سلولی، افزایش محتوای آب نسبی با بسته شدن روزنه ها و تغییر شکل آن ها که به شکل قابل توجهی کوتاه تر و باریک تر می شوند و بیان ژن های مربوط به آنتی اکسیدان کاهش می دهند (Li et al., 2015).

نشان داده است که ترکیبات پلی آمینی مانند ملاتونین ایفاگر عملکردهای ضروری در تنظیم رشد و نمو گیاه شامل فرآیندهای تحریک رشد رویشی، جوانه زنی و ریشه دهی است (Arnao and Hernández-Ruiz, 2015). به طور کلی با توجه به نتایج به دست آمده در آزمایشگاه، پیش تیمار بذر با ۱/۵ میلی مولار اسپرمیدین و ۰/۳۷۵ میلی مولار ملاتونین بالاترین درصد و سرعت جوانه زنی را به خود اختصاص دادند و جهت بررسی در گلخانه انتخاب شدند (جدول ۲).

### نتایج بخش گلخانه

#### رطوبت نسبی برگ

پس از انتخاب بهترین تیمارهای آزمایشگاهی و سپس بررسی آن در گلخانه، مشخص شد که پیش تیمار بذر و همچنین محلول پاشی اسپرمیدین و ملاتونین تأثیر معنی داری بر خصوصیات فیزیوشیمیایی دیلار داشتند. اثر متقابل سه گانه تنش خشکی در پیش تیمار در محلول پاشی بر محتوای نسبی رطوبت برگ در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول ۳). اعمال تنش خشکی در شرایط گلخانه ای، کاهش رطوبت نسبی برگ را به دنبال داشت، به نظر می رسد که بین میزان رطوبت نسبی برگ و میزان رطوبت خاک رابطه مستقیم وجود دارد که با کاهش رطوبت خاک، محتوای نسبی رطوبت برگ کاهش می یابد. برخی محققین معتقدند که کاهش میزان

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر پیش تیمار و محلول پاشی ملاتونین و اسپرمیدین بر صفات فیزیوشیمیایی دیلار تحت تنش خشکی

Table 3. Analysis of variance squares mean of the effect of pretreatment and spraying Melatonin and spermidine on physiochemistry in Buckwheat drought stress

S.O. V	منابع تغییر	درجه آزادی df	رطوبت نسبی برگ RWC	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	هدایت روزنه Stomatal conductance	کاتالاز Catalase	پروتئین محلول برگ Leaf soluble protein	سطح برگ Leaf area
Block	بلوک	2	0.12	0.1	0.09	7.19	17.75	0.14	0.70
Drought stress (D)	تنش خشکی	2	2778.9**	35.57**	6.22**	9461.23**	64026**	148.38**	15389**
Pretreatment (P)	پیش تیمار	2	109.52**	10.10**	1.68**	1855.27**	2923**	45.54**	193.13**
D × P		4	0.72*	0.39**	0.018 <sup>ns</sup>	12.8**	76.52	0.16**	8.91*
Spraying (S)	محلول پاشی	2	134.52**	9.73**	1.65**	1546.03**	2592**	73.56**	198.8**
D × S		4	0.82*	0.096*	0.019*	21.73**	55.65**	0.12 <sup>ns</sup>	3.17 <sup>ns</sup>
D × P		4	7.18**	0.13**	0.05**	94.95**	145.3**	8.65**	11.64*
D × P × S		8	2.77**	0.18**	0.05*	4.92*	23.6**	0.13 <sup>ns</sup>	2.20 <sup>ns</sup>
Error	خطا	52	0.27	0.03	0.007	3.22	4.54	0.14	3.24
C.V. %	ضریب تغییرات	-	2.64	2.00	1.93	1.93	2.26	2.16	3.20

ns\*, \*\*, \* به ترتیب عدم معنی داری و معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد

ns\* and \*\*: non-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول ۴. مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنش خشکی در ملاتونین در اسپرمیدین بر صفات فیزیولوژیکی در بک‌واتر  
 Table 4. Continuation Mean comparison of effect of Drought stress in Pretreatment and Spraying spermidine and Melatonin on phicikochimistry Buckwheat

تنش خشکی Drought stress	پیش تیمار Pretreatment	محلول پاشی Spraying	رطوبت	کلروفیل a	کلروفیل b	هدایت	کاتالاز	
			نسبی برگ Leaf RWC %	Chlorophyll a mg.g <sup>-1</sup> FW	Chlorophyll b mg.g <sup>-1</sup> FW	روزنه‌ای Stomatal conductance mol.m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	mg min <sup>-1</sup>	
آبیاری در ۱۰ درصد تخلیه ظرفیت زراعی Irrigation 10% Field capacity	بدون پیش تیمار No- Pretreatment	بدون محلول پاشی No- Spraying	82.65 <sup>h</sup>	9.11 <sup>f</sup>	4.56 <sup>ef</sup>	199.2 <sup>g</sup>	122 <sup>p</sup>	
		محلول پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	83.8 <sup>fg</sup>	9.41 <sup>de</sup>	4.68 <sup>de</sup>	204.3 <sup>t</sup>	131.5 <sup>o</sup>	
		محلول پاشی با ملاتونین Spraying Melatonin	84.28 <sup>f</sup>	9.71 <sup>c</sup>	4.80 <sup>cd</sup>	207.6 <sup>de</sup>	135.6 <sup>mn</sup>	
	پیش تیمار با اسپرمیدین Pretreatment spermidine	بدون محلول پاشی No- Spraying	83.59 <sup>fg</sup>	9.3 <sup>ef</sup>	4.68 <sup>de</sup>	206.5 <sup>et</sup>	132.3 <sup>no</sup>	
		محلول پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	83.15 <sup>e</sup>	10.29 <sup>b</sup>	5.12 <sup>b</sup>	216.9 <sup>bc</sup>	143.1 <sup>jk</sup>	
		محلول پاشی با ملاتونین Spraying Melatonin	88.31 <sup>b</sup>	10.35 <sup>b</sup>	5.25 <sup>b</sup>	216 <sup>c</sup>	146.5 <sup>ji</sup>	
	پیش تیمار با ملاتونین Pretreatment Melatonin	بدون محلول پاشی No- Spraying	84.28 <sup>f</sup>	9.56 <sup>cde</sup>	4.78 <sup>cd</sup>	208.8 <sup>de</sup>	136.7 <sup>lm</sup>	
		محلول پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	87.09 <sup>c</sup>	10.47 <sup>b</sup>	5.19 <sup>b</sup>	219 <sup>b</sup>	149.4 <sup>i</sup>	
		محلول پاشی با ملاتونین Spraying Melatonin	90.55 <sup>a</sup>	11.2 <sup>a</sup>	5.6 <sup>a</sup>	227.1 <sup>a</sup>	159.9 <sup>gh</sup>	
	آبیاری در ۴۰ درصد تخلیه ظرفیت زراعی Irrigation 40% Field capacity	بدون پیش تیمار No- Pretreatment	بدون محلول پاشی No- Spraying	80.94 <sup>i</sup>	7.84 <sup>i</sup>	4.15 <sup>h</sup>	187.7 <sup>j</sup>	187.7 <sup>o</sup>
			محلول پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	83.04 <sup>gh</sup>	8.27 <sup>h</sup>	4.19 <sup>h</sup>	193 <sup>i</sup>	139.7 <sup>kl</sup>
			محلول پاشی با ملاتونین Spraying Melatonin	83.24 <sup>gh</sup>	8.52 <sup>gh</sup>	4.42 <sup>fg</sup>	196.8 <sup>gh</sup>	142.1 <sup>k</sup>
پیش تیمار با اسپرمیدین Pretreatment spermidine		بدون محلول پاشی No- Spraying	82.43 <sup>h</sup>	8.31 <sup>gh</sup>	4.20 <sup>h</sup>	194.9 <sup>hi</sup>	140.5 <sup>k</sup>	
		محلول پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	84.21 <sup>f</sup>	9.34 <sup>def</sup>	4.75 <sup>cd</sup>	207.1 <sup>def</sup>	158.5 <sup>h</sup>	
		محلول پاشی با ملاتونین Spraying Melatonin	86.65 <sup>cd</sup>	9.53 <sup>cde</sup>	4.82 <sup>cd</sup>	206.9 <sup>ef</sup>	158.4 <sup>k</sup>	
پیش تیمار با ملاتونین Pretreatment Melatonin		بدون محلول پاشی No- Spraying	83.21 <sup>gh</sup>	8.43 <sup>gh</sup>	4.40 <sup>g</sup>	197 <sup>gh</sup>	142.5 <sup>k</sup>	
		محلول پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	86.08 <sup>d</sup>	9.62 <sup>cd</sup>	4.82 <sup>cd</sup>	210 <sup>d</sup>	157.9 <sup>h</sup>	
		محلول پاشی با ملاتونین Spraying Melatonin	89.1 <sup>b</sup>	9.75 <sup>c</sup>	4.90 <sup>c</sup>	217.9 <sup>bc</sup>	162.9 <sup>g</sup>	
آبیاری در ۷۰ درصد تخلیه ظرفیت زراعی Irrigation 40% Field capacity		بدون پیش تیمار No- Pretreatment	بدون محلول پاشی No- Spraying	61.76 <sup>n</sup>	5.79 <sup>l</sup>	3.37 <sup>j</sup>	156.4 <sup>n</sup>	208.2 <sup>f</sup>
			محلول پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	65.51 <sup>m</sup>	7.02 <sup>k</sup>	3.81 <sup>i</sup>	166.7 <sup>m</sup>	215.7 <sup>e</sup>
			محلول پاشی با ملاتونین Spraying Melatonin	67.4 <sup>l</sup>	7.34 <sup>j</sup>	3.92 <sup>i</sup>	171 <sup>l</sup>	220 <sup>d</sup>
	پیش تیمار با اسپرمیدین Pretreatment spermidine	بدون محلول پاشی No- Spraying	65.86 <sup>m</sup>	7.34 <sup>j</sup>	3.92 <sup>i</sup>	168.2 <sup>lm</sup>	216.4 <sup>e</sup>	
		محلول پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	68.73 <sup>k</sup>	8.37 <sup>gh</sup>	4.24 <sup>h</sup>	182.9 <sup>k</sup>	231.2 <sup>c</sup>	
		محلول پاشی با ملاتونین Spraying Melatonin	68.78 <sup>k</sup>	8.57 <sup>g</sup>	4.28 <sup>gh</sup>	183 <sup>k</sup>	238.6 <sup>b</sup>	
	پیش تیمار با ملاتونین Pretreatment Melatonin	بدون محلول پاشی No- Spraying	66.7 <sup>l</sup>	7.44 <sup>j</sup>	3.90 <sup>i</sup>	170.5 <sup>l</sup>	221.1 <sup>d</sup>	
		محلول پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	68.4 <sup>k</sup>	8.56 <sup>g</sup>	4.30 <sup>gh</sup>	184.7 <sup>k</sup>	240.6 <sup>b</sup>	
		محلول پاشی با ملاتونین Spraying Melatonin	73.29 <sup>j</sup>	8.35 <sup>gh</sup>	4.27 <sup>gh</sup>	194.9 <sup>hi</sup>	259.8 <sup>a</sup>	

میانگین‌های دارای حروف مشترک، از نظر آماری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر تفاوت معنی‌دار ندارند  
 Values followed by different letters are significantly different according to Duncan test, P= 0.05

### کلروفیل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل پیش‌ تیمار بذر و محلول‌ پاشی اسپرمیدین و ملاتونین در تنش خشکی بر میزان کلروفیل a و b معنی‌ دار بودند (جدول ۳).

تنش خشکی اثر منفی و تیمارهای آزمایشی اثرات مثبت بر میزان کلروفیل داشتند. بیشترین میزان کلروفیل a و b به ترتیب با مقدار عددی FW  $11/2$  و  $5/6$  mg/g، در پیش- تیمار ملاتونین و محلول‌ پاشی آن و در شرایط مطلوب آبیاری مشاهده شد (جدول ۴). توکلی و همکاران (Tavakoli et al., 2009) در تحقیقات خود به کاهش محتوای کلروفیل طی تنش خشکی در ارقام گندم اشاره داشتند. از جمله دلایلی که برای کاهش محتوای کلروفیل در شرایط تنش خشکی عنوان شده می‌ توان به تخریب غشاهای تیلاکوئیدی کلروپلاست و اکسیداسیون نوری کلروفیل در اثر افزایش فعالیت گونه‌ های فعال اکسیژن اشاره داشت (Aghighi et al., 2018). مطالعات نشان داده است که کلروفیل در واکنش به تنش‌ های محیطی یا پیری برگ کاهش پیدا می‌ کند. این در حالی است که پلی‌ آمین‌ ها باعث کاهش تخریب کلروفیل شده و منجر به دریافت بیشتر نور برای بهبود سرعت فتوسنتز می‌ شوند؛ اما در خصوص مکانیسم مولکولی آن‌ ها هنوز اطلاعاتی گزارش نشده است (Chattopadhyay et al., 2002). برخی محققین تأثیر مثبت ملاتونین را در جلوگیری از تخریب کلروفیل در برگ‌ های در حال رشد گونه *Haphehensis Malus* که باعث کنترل پیری می‌ شود را تأیید می‌ نمایند (Shi et al., 2016). همچنین قنبری و همکاران (Ganbari et al., 2018) در برگ‌ های کدو شاهد افزایش میزان کلروفیل با کاربرد اسپرمیدین بودند. مطالعات نشان داده است که یکی از مهم‌ ترین نقش‌ های ترکیبات پلی‌ آمین‌ ها از جمله ملاتونین در گیاهان این است که به- عنوان اولین خط دفاعی گیاه در برابر شرایط نامساعد محیطی و به‌ عنوان یک آنتی‌ اکسیدان و محافظت‌ کننده قوی ایفای نقش می‌ کنند و از این طریق موجب حفظ کارتنوئیدها در برابر انواع تنش‌ ها، به‌ ویژه تنش‌ های اکسیداتیو می‌ گردد (Abbasi et al., 2018).

### هدایت روزنه‌ ای

مطابق با نتایج به‌ دست‌ آمده، تنش خشکی، پیش‌ تیمار بذر و محلول‌ پاشی ملاتونین و اسپرمیدین تأثیر معنی‌ داری بر هدایت روزنه برگ دیپلار داشتند (جدول ۳). تیمارهای

آزمایشی اثر مثبت و سطوح تنش خشکی اثر منفی بر هدایت روزنه نشان دادند. بیشترین میزان هدایت روزنه در شرایط مطلوب آبیاری و در پیش‌ تیمار بذر و محلول‌ پاشی با ملاتونین مشاهده شد ( $227/1$  mol.m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>) و تیمار آبیاری در مرحله ۷۰ درصد تخلیه ظرفیت زراعی، بدون پیش‌ تیمار بذر و بدون محلول‌ پاشی، کمترین هدایت روزنه را به خود اختصاص داد ( $156/4$  mol.m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>). مطالعات نشان داده است که پلی‌ آمین‌ ها در شرایط تنش خشکی باعث بسته شدن روزنه‌ ها می‌ شوند و از دست رفتن آب گیاه جلوگیری می‌ کنند (Shi et al., 2016). قنبری و همکاران (Ganbari et al., 2018) در گیاه کدو (*Cucurbita pepo*. L) و عباسی و همکاران (Abbasi et al., 2018) در ژربرا (*Gerbera jamesonii*) به ترتیب اثر مثبت اسپرمیدین و ملاتونین بر افزایش هدایت روزنه را گزارش نمودند که با نتایج حاضر همخوانی دارد. تحقیقات انجام شده نشان داده است که پلی‌ آمین‌ ها ساختار و اعمال غشاهای سلولی را تحت تأثیر قرار دادند و این امر از طریق برهمکنش پلی‌ آمین‌ ها با بارهای منفی فسفولیپیدهای موجود در بین دولایه لیپیدی یا پروتئین‌ های متصل به غشاء صورت می‌ پذیرد. مولکول پلی‌ آمین با اتصال به سطح غشاء باعث استحکام آن می‌ شود که در نهایت منجر به تغییر در نفوذپذیری غشاء و انتقال فعال مواد از طریق آن می‌ گردد (Ganbari et al., 2018).

### فعالیت کاتالاز

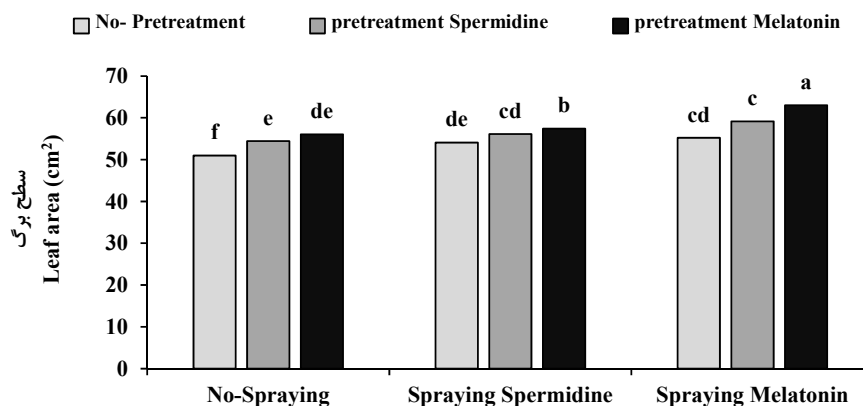
نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر متقابل سه- جانبه تنش خشکی، پیش‌ تیمار بذر و محلول‌ پاشی اسپرمیدین و ملاتونین بر فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌ دار بود (جدول ۳). بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ ها اثبات شد که با وقوع تنش خشکی فعالیت کاتالاز در دیپلار افزایش یافت که این نتایج قبلاً در مطالعات عقیقی و همکاران (Aghighi et al., 2018) گزارش شده است. حیدری و همکاران (Heidari et al., 2014) افزایش فعالیت کاتالاز در شرایط تنش خشکی را به تولید و تجمع گونه‌ های فعال اکسیژن نسبت دادند. مطابق با نتایج حاضر، کاربرد اسپرمیدین و ملاتونین نیز هم به‌ صورت پیش‌ اندازی بذر و هم به‌ صورت محلول‌ پاشی اثر مثبت و معنی‌ داری بر میزان فعالیت کاتالاز داشتند می‌ توان بیان داشت که استفاده از روش مقرون‌ به‌ صرفه و بسیار کارای پرایمینگ بذر و محلول‌ پاشی با پلی‌ آمین‌ ها، به دلیل توانایی از بین بردن رادیکال‌ های آزاد تولید شده در شرایط تنش،

رطوبتی، کاهش تقسیم و توسعه سلولی با کاهش پتانسیل آبی خاک را دلیل کاهش سطح برگ دانسته‌اند (Nehbandani et al., 2016). بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها در این پژوهش، پیش‌اندازی بذر و همچنین محلول پاشی گیاهچه با تیمارهای اسپرمیدین و ملاتونین اثر مثبت و معنی‌داری بر سطح برگ داشتند (شکل ۱) به طوری که بالاترین میزان سطح برگ (۲/۹) در شرایط آبیاری مطلوب (آبیاری در تخلیه ۱۰ درصد ظرفیت زراعی) مشاهده شد و پیش‌اندازی بذر و محلول پاشی گیاهچه با تیمار ملاتونین بیشترین سطح برگ (۴/۰۳) را به خود اختصاص داد (شکل ۲). در گیاه اسفناج تأثیر مثبت پیش‌تیمار و همچنین محلول-پاشی ملاتونین بر سطح برگ گزارش شده است که با نتایج در این پژوهش همخوانی دارد (Amozadeh et al., 2019). در تحقیقی که کبیری و همکاران (Kabiri et al., 2018) با تیمار ملاتونین بر گیاه دارویی بادرنجبویه انجام دادند، باعث افزایش رشد گیاه از طریق مهار آسیب غشا و کاهش غلظت مالون‌دی‌آلدئید و آلدئیدهای دیگر و  $H_2O_2$  در سطوح تنش خشکی شدید و متوسط شد و همچنین کاهش آسیب اکسیداتیو و بهبود کارایی مصرف آب در گیاهان منجر به حفظ محتوای کلروفیل بالاتر شده و در نتیجه گسترش برگ‌ها را در پی خواهد داشت.

شرایط بهتری برای رشد گیاه ایجاد می‌کند. در خصوص افزایش فعالیت کاتالاز با کاربرد اسپرمیدین و ملاتونین نتایج مشابهی در گیاه کدو و درخت هلو مشاهده شده است که صحت نتایج حاضر را تأیید می‌کند (Ganbari et al., 2018). (Gao, 2016). در این پژوهش بالاترین میزان کاتالاز با پیش-تیمار بذر و همچنین محلول پاشی گیاهچه با ملاتونین و در شرایط آبیاری در زمان تخلیه ۷۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد (۲۵۹/۸ mg/min). برخی پژوهش‌گران اظهار داشتند که با کاربرد ترکیبات پلی‌آمینی، تحمل به تنش‌های محیطی، از طریق بالا رفتن توانایی آنتی‌اکسیدانی گیاه بوده است (Kandil et al., 2011).

### سطح برگ

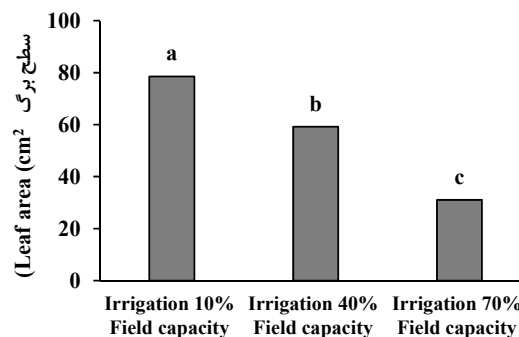
با بررسی اثر پیش‌تیمار بذر و محلول پاشی اسپرمیدین و ملاتونین تحت تنش خشکی مشخص شد که اثرات اصلی تیمارها و همچنین اثرات متقابل آن‌ها بر سطح برگ در بوته با خطای آماری یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). با اعمال تنش خشکی، شاخص سطح برگ کاهش معنی‌داری نشان داد. در این راستا اردکانی و همکاران (Ardakani et al., 2010) در گیاه بادرنجبویه شاهد کاهش سطح برگ در اثر وقوع تنش خشکی بودند. برخی محققین در شرایط تنش



شکل ۱. اثر متقابل پیش‌تیمار بذر و محلول پاشی اسپرمیدین و ملاتونین بر سطح برگ دیلار

Fig. 1. Mean comparison of interaction effect of Pretreatment Seed and Spraying spermidine and Melatonin on Leaf area in Buckwheat

در ارقام گندم گزارش شده است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. برخی پژوهشگران کاهش غلظت پروتئین‌های محلول برگ‌ها در اثر تنش خشکی را در افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین و کاهش سنتز پروتئین دانستند (Bajji et al., 2001). بر اساس نتایج این پژوهش، تأثیر تیمارهای اسپرمیدین و ملاتونین بر محتوای پروتئین عکس تنش خشکی بود و بیشترین مقدار پروتئین محلول در برگ در تیمار محلول پاشی و پیش تیمار بذر با ملاتونین مشاهده شد. در خصوص اثر ملاتونین بر تغییرات محتوای پروتئین محلول در برگ تحت شرایط تنش خشکی تاکنون مطالعه‌ای یافت نشده است اما اثر محلول پاشی اسپرمیدین بر محتوای پروتئین و عصاره گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L. در شرایط تنش خشکی مورد بررسی قرار گرفته و نتایج آن نشان داده است که مصرف اسپرمیدین محتوای پروتئین را در این گیاه به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد (Pazki et al., 2017) برخی معتقدند که محلول پاشی اسپرمیدین با کاهش آسیب اکسیداتیو موجب کاهش خسارت اثرات تنش خشکی و افزایش پروتئین شده است (Li et al., 2015).

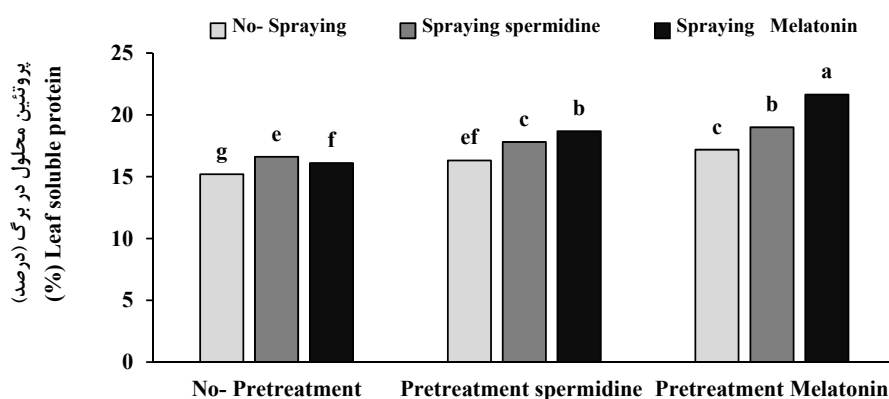


شکل ۲. اثر سطوح آبیاری بر سطح برگ در دیلار

Fig. 2. Effect of irrigation levels on Leaf area in Buckwheat

### پروتئین محلول در برگ

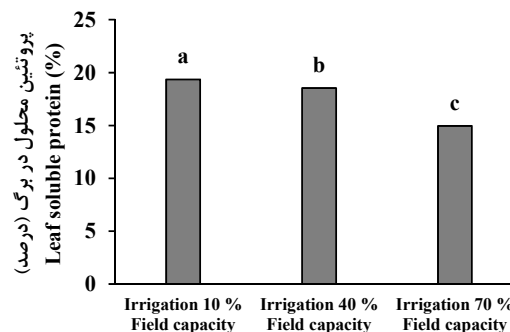
بر اساس نتایج تجزیه واریانس مشخص شد که اثر متقابل دوجانبه تیمارها و اثرات اصلی تیمارهای تنش خشکی و پیش‌اندازی بذر و محلول پاشی اسپرمیدین و ملاتونین بر پروتئین محلول در برگ دیلار معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین‌ها گویای تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی (شکل ۳) و سطوح مختلف آبیاری (شکل ۴) بودند. تنش خشکی موجب کاهش پروتئین محلول در برگ شدند در مطالعات احمد و حداد (Ahmad and Haddad, 2012)، کاهش محتوای پروتئین‌های محلول برگ در اثر تنش خشکی



شکل ۳. اثر متقابل پیش تیمار بذر و محلول پاشی اسپرمیدین و ملاتونین بر پروتئین محلول در برگ دیلار

Fig. 3. Mean comparison of interaction effect of seed pretreatment and spermidine and Melatonin spraying on leaf soluble protein in Buckwheat.

و ملاتونین و همچنین اثرات متقابل این تیمارها تأثیر معنی داری بر صفات فیزیولوژیکی داشتند، صفاتی از جمله درصد جوانه‌زنی، محتوای نسبی رطوبت برگ، میزان کلروفیل، هدایت روزنه، شاخص سطح برگ و پروتئین‌های محلول در برگ کاهش یافتند اما فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش در مقایسه با شرایط مطلوب آبیاری به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد. پیش‌تیمار بذر، محلول‌پاشی اسپرمیدین و ملاتونین و همچنین اثر متقابل آن‌ها، تأثیر مثبت و معنی‌داری بر افزایش صفات داشتند. در مرحله اول آزمایش (بخش آزمایشگاه) غلظت‌های ۱/۵ میلی‌مولار اسپرمیدین و ۰/۳۷۵ ملاتونین به‌عنوان بهترین تیمارهای آزمایشی انتخاب شدند و در مرحله دوم (گلخانه) مشخص شد که پیش‌تیمار بذر و همچنین محلول‌پاشی گیاهچه با ملاتونین، بیشترین تأثیر را در تعدیل تنش خشکی داشت.



شکل ۴. اثر سطوح آبیاری بر درصد پروتئین محلول در برگ دیلار  
 Fig. 4. Effect of irrigation levels on Leaf soluble protein (%) in Buckwheat

### نتیجه‌گیری نهایی

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، در گیاه دیلار، تنش خشکی، تیمارهای پیش‌اندازی بذر، محلول‌پاشی اسپرمیدین

### منابع

- Aebi, H., 1984. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*. 105, 121-126.
- Abbasi, J., Hassanpour Asil, M., Olfati, J.A., 2018. Effects of Melatonin and sodium nitroprusside (SNP) spray on salinity adjustment and improving the morpho-physiological traits of cut flower (*Gerbera Jamesonii*), *Science and Technology of Greenhouse Culture*. 11, 29-44. [In Persian with English Summary].
- Abdul\_Baki, A., Anderson, J.D., 1973. Vigour determination in soybean by multiple criteria. *Crop Science*. 13, 630-633.
- Aghighi Shahverdi, M., Paravar, A., Ghasemzadeh, M., Navabi, A., 2018. The study of germination, biochemical and enzymatic characteristics of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) affected by drought and salinity stresses. *Iranian Journal of Seed Science and Research*. 5, 33-46. [In Persian with English Summary].
- Ahmad, S.T., Haddad, R., 2012. Effect of silicon on antioxidant enzymes activities and osmotic adjustment contents in two bread wheat genotypes under drought stress conditions. *Seed and Plant Production Journal*. 2, 207-225.
- Ahmed, A., Khalid, N., Ahmad, A., Abbasi, N.A., Latif, M.S.Z., Randhawa, M.A., 2014. Phytochemicals and biofunctional properties of buckwheat: a review. *The Journal of Agricultural Science*. 152, 349-369.
- Amozadeh, S., Dashti, F., Sarikhani, H., 2019. Effect of seed priming and foliar application of melatonin on growth and flowering characteristics of spinach (*Spinacia oleracea* cv. varamin 88), *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*. 20, 43-50. [In Persian with English Summary].
- Ansari, O., Sharifzadeh, F., 2012. Osmo and hydro priming mediated germination improvement under cold stress conditions in mountain rye (*Secale montanum*). *Cercetări Agronomice în Moldova*. 3(151), 53-62.
- Ardakani, M. R., Abas Zadeh, B., AshorAbadi, A., lebaschi, M. H., Moaveni, P., Mohabati, F., 2010. The effect of drought stress on growth of dracocephalum. *Plant and Ecosystem*, 5, 47-58. [In Persian with English Summary].
- Arnao, M.B., Hernández-Ruiz, J., 2015. Functions of melatonin in plants: a review. *Journal of Pineal Research*. 59, 133-150.
- Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*. 24, 1-15.
- Ashrafi, M., Azimi-Moqadam, M.R., Moradi, P., MohseniFard, E., Shekari, F., Kompany-Zareh, M., 2018. Effect of drought stress on metabolite adjustments in drought tolerant and sensitive

- thyme. *Plant Physiology and Biochemistry*. 132, 391-399.
- Azadvari, H., Naeemi, M., Gholizadeh, A., Moghaddam, A.N., 2021. Evaluation of salicylic acid application on the physiological responses of black cumin (*Nigella sativa* L.) under different irrigation conditions, *Environmental Stresses in Crop Sciences*. 13, 1169-1181. [In Persian with English Summary].
- Azizi, F., Amiri, H., Ismaili, A., 2019. Effect of melatonin on some morphophysiological characteristics of phaseolus vulgaris cv. sadri under salinity stress. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*. 32, 698-711. [In Persian with English Summary].
- Bajji, M., Lutts, S., Kinet, J.M., 2001. Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Science*. 160, 669-681.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*. 72, 248-254.
- Chattopadhyay, M.K., Tiwari, B.S., Chattopadhyay, G., Bose, A., Sengupta, D.A., Ghosh, B., 2002. Protective role of exogenous polyamines on salinity-stressed rice (*Oryza sativa*) plants. *Physiologia Plantarum*, 116, 192-199.
- Darvizheh, H., Zahedi, M., Abbaszadeh, B., Razmjoo, J., 2018. Effects of foliar application of salicylic acid and spermine on maternal plant under drought stress on germination indices of purple coneflower (*Echinacea purpurea*). *Iranian Journal of Seed Research*, 5, 1-19. [In Persian with English Summary].
- Dashab, S., Omid, H., 2021. Investigation the effect of drought tension and seed pretreatment on physiological and biochemical traits of quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Crop Physiology Journal*. 12, 5-23. [In Persian with English Summary].
- Dawood, M.G., 2018. Physiological effect of melatonin, IAA and their precursor on quality and quantity of chickpea plants grown under sandy soil conditions. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*, 19, 35-44.
- Ellis, R.A., Roberts, E.H., 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Science and Technology (Netherlands)*. 9, 373-409.
- França, M.G.C., Thi, A.T.P., Pimentel, C., Rossiello, R.O.P., Zuily-Fodil, Y., Laffray, D., 2000. Differences in growth and water relations among phaseolus vulgaris cultivars in response to induced drought stress. *Environmental and Experimental Botany*. 43, 227-237.
- Ganbari M., Farzaneh M., Eftekharian Jahromi, A., 2018. Effect of spermidine and irrigation period on some physiological characteristics of cucurbit (*Cucurbita pepo* L.). *Agronomy and Plant Breeding*. 14, 75-87. [In Persian with English Summary].
- Gao, H., Zhang, Z.K., Chai, H.K., Cheng, N., Yang, Y., Wang, D.N., Cao, W., 2016. Melatonin treatment delays postharvest senescence and regulates reactive oxygen species metabolism in peach fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 118, 103-110.
- Gorgini Shabankareh, H., Asghari Pour, M.R., Fakheri B. A., 2015. The effect of bio fertilizers on some growth parameters and essential oil of moldavian dragonhead under drought conditions. *Journal of Plant Ecophysiology*. 7, 185-194. [In Persian with English Summary].
- Hamzei, F., and IranNezhad, F., 2013. Effects of spermidine interaction and salinity stress in fenugreek. *The First National Conference on Salinity Stress in Plants and Developing Strategies for Saline Agriculture*. Tabriz. P.2-8. [In Persian with English Summary].
- Heidari, M., Miri. H.R., Minaei, A., 2014. Antioxidant enzymes activity and biochemical components of borage (*Borago officinalis* L.) in response to water stress and humic acid treatment. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 6, 159-170. [In Persian with English Summary].
- Heshmati, S., Akbari, G. A., Soltani, E., Amini Dehaghi, M., 2019. The effect of seed priming at different seed quality by melatonin on seedling emergence and growth characteristic of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under stress combination of salinity and drought. *Environmental Stresses in Crop Sciences*. 12, 1275-1289. [In Persian with English Summary].
- Kabiri, R., Hatami, A., Oloumi, H., Naghizadeh, M., Nasibi, F., Tahmasebi, Z., 2018. Foliar application of melatonin induces tolerance to

- drought stress in moldavian balm plants (*Dracocephalum moldavica*) through regulating the antioxidant system, *Folia Horticulturae*. 30, 155-167.
- Kalsa, K.K., Abebie, B., 2012. Influence of seed priming on seed germination and vigor traits of vicia villosa ssp. dasycarpa (Ten.). *African Journal of Agricultural Research*. 7, 3202-3208.
- Kandil, M.M., El-Saady, M.B., Mona, H.M., Afaf, M.H., Iman, M.E. 2011. Effect of putrescine and uniconazole treatments on flower characters and photosynthetic pigments of *Chrysanthemum indicum* L. plant. *The Journal of American Science*. 7, 399-408.
- Kaur-Sawhney, R., Tiburcio, A.F., Altabella, T., Galston, A.W., 2003. Polyamines in plants: an overview. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 2, 1-12.
- Khan, H.R., Link, W., Hocking, T.J., Stoddard, F.L., 2007. Evaluation of physiological traits for improving drought tolerance in faba bean (*Vicia faba* L.). *Plant and Soil*. 292, 205-217.
- Li, C., Tan, D.X., Liang, D., Chang, C., Jia, D., Ma, F., 2015. Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging and stomatal behavior in two malus species under drought stress. *Journal of Experimental Botany*. 66, 669-680.
- Mohammadi, Y., Baradaran Firouzabadi, M., Gholami, A., Makarian, H., 2020. The effect of vitamins B group and melatonin foliar application on yield and some of physiological traits of soybean (*Glycine max*). *Journal of Plant Process and Function*. 9, 359-376. [In Persian with English Summary].
- Montgomery, J., 2009. The potential of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) as a forage for dairy herds in central Alberta. University of Alberta. 178p.
- Michel, B.E., Kaufmann, M.R., 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology*. 51, 914-916.
- Niu, J., Zhang, S., Liu, S., Ma, H., Chen, J., Shen, Q., and Zhao, X., 2018. The compensation effects of physiology and yield in cotton after drought stress. *Journal of Plant Physiology*. 224, 30-48.
- Nehbandani, A., Soltani, A., Darvishirad, P., 2016. Effect of terminal drought stress on water use, growth and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Journal of Plant Ecophysiology*. 7, 17-27. [In Persian with English Summary].
- Paredes, S.D., Korkmaz, A., Manchester, L.C., Tan D.X., Reiter, R.J., 2009. Phytomelatonin: a review. *Journal of Experimental Botany*. 60, 57-69.
- Omidbaigi, R., 2010. Production and Processing of Medicinal Plants. Astan Quds Razavi Publications. 4, 419 p. [In Persian]
- Rahimi, A.A., Modhej, A., Mojadam, M., 2019. Study of seed germination and seedling growth of alfalfa genotypes (*Medicago sativa* L.) under drought tension conditions. *Crop Physiology Journal*. 10, 129-144. [In Persian with English Summary].
- Ranai, M.A., De Santana, D.G., 2006. How and why, it measure the germination process. *Revista Brasileira de Botanica*. 29, 1-11.
- Rassam, G.A., Dadkhah, A., 2012. The Effect of drought stress on germination and heterotrophic seedling growth characteristics of lentil (*Lens culinaris* Medik). *Journal of Agriculture*. 6, 13-2. [In Persian with English Summary].
- Saeidnejad, A.H., Pouramir, F., Naghizadeh, M., 2012. Improving chilling tolerance of maize seedlings under cold conditions by spermine application. *Notulae Scientia Biologicae*. 4, 110-117.
- Salehi Shanjani, P., Rasoulzadeh, L., Falah Hoseini, L., Ramezani Yeganeh, M., Amirkhani, M., Pahlavani, M.R., Seyedian, S.E., 2020. Morpho-physiological responses of four chamomile species to rainfed conditions and drought stress under greenhouse conditions. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*. 28, 51-66. [In Persian with English Summary].
- Shi, H., Reiter, R.J., Tan, D.X. Chan, Z., 2015. Indole-3-acetic acid inducible 17 positively modulates natural leaf senescence through melatonin-mediated pathway in arabidopsis. *Journal of Pineal Research*, 58, 26-33.
- Shi, H., Chen, K., Wei, Y., He, C., 2016. Fundamental issues of melatonin mediated stress signaling in plants. *Frontiers in plant Science*, 7, 11-24.
- Tavakoli, A., Ahmadi, A., Alizadeh, H., 2009. A Study of some physiological aspects of yield in drought tolerant vs susceptible wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under post anthesis drought stress conditions. *Iranian Journal of*



- Field Crop Science. 40, 197-211. [In Persian with English Summary].
- Wang, P., Sun, X., Chang, C., Feng, F., Liang, D., Cheng, L., Ma, F., 2013. Delay in leaf senescence of *Malus hupehensis* by long-term melatonin application is associated with its regulation of metabolic status and protein degradation. *Journal of Pineal Research*. 55, 424-434.
- Wu, Q., Zhao, G., Bai, X., Zhao, W., Xiang, D., Wan, Y., Zhao, J., 2019. Characterization of the transcriptional profiles in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) under PEG-mediated drought stress. *Electronic Journal of Biotechnology*, 39, 42-51.
- Zokaee Khosroshahi, M.R., Esna Ashari, M., 2008. Effect of putrescine application on post-harvest life and physiology of strawberry, apricot, peach and sweet cherry fruits. *Journal of Water and Soil Science*, 12, 219-230. [In Persian with English Summary].