

تأثیر پرایمینگ بذور با کیفیت‌های مختلف توسط ملاتونین بر ویژگی‌های سبز شدن و رشد گیاهچه‌ی گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) تحت تنش مرکب شوری و خشکی

سیاوش حشمتی^۱، غلام عباس اکبری^{۲*}، الیاس سلطانی^۳، مجید امینی دهقی^۴

۱. دانشجوی دکتری زراعت، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

۲. دانشیار، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

۳. استادیار، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

۴. دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۴/۰۵؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۵/۱۶

چکیده

به منظور بررسی تأثیر پرایمینگ بذور زوال یافته طبیعی با ماده ملاتونین بر سبز شدن و خصوصیات رشدی گیاهچه‌ی گلرنگ، آزمایشی در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ در آزمایشگاه تکنولوژی بذر، گلخانه و مزرعه پژوهشی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران انجام گرفت. هر سه آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی (آزمایشگاه) و طرح بلوک‌های کامل تصادفی (مزرعه و گلخانه) در ۴ تکرار، انجام گرفتند. تیمارهای اصلی که در هر سه آزمایش مشترک هستند عبارت بودند از کیفیت بذر (۱-بذور زوال یافته طبیعی و ۲-بذور جدید) و پرایمینگ بذر (۱-عدم کاربرد پرایمینگ بذر، ۲-هیدروپرایمینگ، ۳-پرایمینگ با ملاتونین ۰/۱ میلی‌مولار و ۴-پرایمینگ با ملاتونین ۰/۵ میلی‌مولار). نتایج این آزمایش نشان داد که تحت شرایط مزرعه، در بذور زوال یافته طبیعی، بیشترین درصد سبز شدن با استفاده از هیدروپرایمینگ و ملاتونین در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار به ترتیب با ۵۴/۵۰ و ۵۷/۵۰ درصد حاصل شد که در مقایسه با شاهد، به ترتیب ۳۹/۷۴ و ۴۷ درصد افزایش نشان دادند. همچنین نتایج نشان داد در شرایط گلخانه تحت تنش خشکی، بیشترین درصد سبز شدن متعلق به پرایمینگ با ملاتونین در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار بود که در مقایسه با شاهد، درصد ظهور گیاهچه را تا ۱۵۴ درصد افزایش داد. نتایج این آزمایش نشان داد که در شرایط شوری و ترکیب تنش شوری و خشکی نیز بیشترین سرعت و مقدار سبز شدن با پرایمینگ با ملاتونین در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار حاصل شد اما غلظت بیشتر ملاتونین باعث کاهش سرعت سبز شدن شد. به طور کلی، استفاده از روش مقرون به صرفه پرایمینگ بذر و همچنین هیدروپرایمینگ و پرایمینگ با ماده ملاتونین، می‌تواند کیفیت بذور را جهت رشد در شرایط خشکی و شوری، افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: استقرار گیاهچه، دانه روغنی، سرعت سبز شدن، سطح برگ، وزن خشک

مقدمه

و نیمه خشک، افزایش یابد (Chaves et al., 2003)؛ بنابراین تحمل و سازگاری به میزان آب قابل دسترس کم، عوامل ضروری هستند که رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Sun et al., 2016). شوری نیز یکی دیگر از تهدیدهای محیطی جدی است که رشد و عملکرد محصول را تحت تأثیر قرار داده و مشکلات فزاینده‌ای را در تمامی جهان (Jiang et al., 201)

خشکی و شوری مهم‌ترین عوامل محیطی هستند که عملکرد گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار داده و موجب کاهش تولیدات کشاورزی در سرتاسر جهان شده و مثال‌های بسیار خوبی از تنش‌هایی هستند که ممکن است در مزرعه به طور هم‌زمان رخ دهند (Nxale et al., 2017). تحت تغییر اقلیم جهانی، انتظار می‌رود تکرار، شدت و مدت خشکی در مناطق خشک

(Paparella et al., 2015). پرایمینگ بذر می‌تواند فرآیندهای متابولیکی که به‌طور طبیعی در طی فاز اولیه جوانه‌زنی فعال می‌شوند را موجب شود و در ادامه موجب افزایش میزان جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه شود (Paparella et al., 2015). همچنین، برخی از پژوهش‌ها نشان داده است که پرایمینگ بذر، موجب بهبود آسیب بذور زوال‌یافته می‌شود (Butler et al., 2009). زوال بذر به‌طور معنی‌داری جوانه‌زنی، ظهور گیاهچه و رشد گیاهچه را کاهش می‌دهد (Basra et al., 2003). به‌تازگی، استفاده از ترکیبات شیمیایی به‌عنوان عوامل پرایمینگ، در گیاهان زراعی و غیر زراعی، مشخص شده که به‌طور چشمگیری تحمل گیاه را در برابر دامنه وسیعی از تنش‌های غیرزنده اعمال‌شده، بهبود می‌دهد (Savvides et al., 2016).

ملاتونین (N-استیل ۵-متوکسی تریپتامین) مولکول ایندول آمین طبیعی است و به‌طور گسترده‌ای در غلظت‌های مختلف در گیاهان وجود دارد و به‌عنوان محرک زیستی یا مولکول تحریک‌کننده رشد مورد ارزیابی قرار گرفته است. همچنین گزارش شده که ملاتونین ایفاگر عملکردهای ضروری در تنظیم رشد و نمو گیاه شامل فرآیندهای تحریک رشد رویشی، جوانه‌زنی، ریشه دهی و گلدهی است (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2014).

گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) به‌عنوان یک گیاه چندمنظوره، در بسیاری از نقاط به‌ویژه مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان رشد می‌کند و توانایی زیادی برای تطابق با شرایط محیطی مختلف نشان داده است (Zaoui et al., 2016). همچنین گلرنگ به‌عنوان گیاه با تحمل متوسط به شوری در نظر گرفته می‌شود (Maas, 1986)، به‌طوری‌که طی سال‌ها، کشت گلرنگ در بسیاری از مناطق مرکزی ایران که شرایط شوری کشت بسیاری از گیاهان زراعی دیگر را محدود کرده، متداول بوده است (Yeilaghi et al., 2012)؛ بنابراین هدف از این آزمایش، بررسی پرایمینگ بذور زوال یافته طبیعی گلرنگ با ماده ملاتونین بر سبز شدن و خصوصیات گیاهچه در شرایط مزرعه و نیز بررسی این صفات در شرایط گلخانه تحت تنش‌های شوری و خشکی و ترکیب این تنش‌ها بوده تا یک شبیه‌سازی از آنچه در شرایط طبیعی بر گیاه وارد می‌آید، انجام گیرد.

و به‌طور ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان (Kiani-Pouya, 2015)، ایجاد کرده است. شور شدن خاک موجب کاهش زمین‌های با ارزش کشاورزی و کاهش در عملکرد محصول در سراسر دنیا می‌شود (Yousuf et al., 2017). چون احتمالاً تنش‌های مختلف به‌طور هم‌زمان در مزرعه رخ می‌دهند، برای شبیه‌سازی این شرایط در آزمایشگاه تلاش بیشتری می‌بایست انجام گیرد (Suzuki et al., 2014).

به‌تازگی افزایش تحمل به تنش غیرزنده توسط راهبردهای مختلفی به‌دست آمده است (Shanker et al., 2014). استفاده از مواد مناسب در مراحل مختلف نمو گیاه، مؤثرترین و اقتصادی‌ترین راه‌حل‌ها به نظر می‌رسد (Wojtyla et al., 2016). روش‌هایی در جهت افزایش تحمل به خشکی و شوری روی گیاهان صورت می‌گیرند، شامل استعمال خارجی تنظیم‌کننده‌های رشد یا محافظت‌کننده‌های اسمزی و پرایمینگ بذر است (Farooq et al., 2009). پرایمینگ بذر، یک تیمار قبل از کاشت است که در آن آبیگری کنترل‌شده بذرها صورت می‌گیرد تا وقایع متابولیکی قبل از جوانه‌زنی رخ دهد، ولی قبل از خروج ریشه‌چه آبیگری متوقف می‌شود (Wojtyla et al., 2016). هدف از انجام پرایمینگ، متفاوت است، ولی در تمامی این مطالعات، هدف آغاز فرآیندهای فیزیولوژیکی است که قبل از جوانه‌زنی بذر رخ می‌دهد (Merewitz, 2016). این فرآیندها، شامل مکانیسم‌های دفاعی بذر از قبیل ترمیم DNA و کاهش تنش اکسیداتیو است که سلامت بذر را برای جوانه‌زنی حفظ می‌کنند (Paparella et al., 2015). به‌منظور تحمل به تنش‌های غیرزنده، پرایمینگ با استفاده از مواد شیمیایی پیشنهاد شده است که با ایجاد تنش ملایم تا متوسط، باعث آماده‌سازی بذر در تنش‌های آتی خواهد شد (Gallardo et al., 2002).

سبز شدن و استقرار مناسب گیاهچه مراحل بحرانی رشد هستند که تولید گیاهان زراعی را در شرایط سخت تحت تأثیر قرار می‌دهند (Ibrahim, 2016). قدرت بذر، اولین جزء کیفیت بذر است که طی زوال از دست می‌رود و در ادامه، ظرفیت جوانه‌زنی و قوه‌نامیه بذر نیز از بین می‌رود (Basra et al., 2003). استفاده از بذور زوال یافته، نه‌تنها یکنواختی جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه را کاهش می‌دهد، بلکه عملکرد گیاه زراعی را نیز کاهش می‌دهد (Liu et al., 2012)؛ بنابراین، جهت بهبود جوانه‌زنی و قدرت بذور، روش پرایمینگ بذر، به‌منظور کاربردهای کشاورزی، معرفی شده است

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر پرایمینگ بذور زوال یافته طبیعی با ماده ملاتونین بر سبز شدن و ویژگی‌های سبز شدن و رشد گیاهچه‌ی گلرنگ، آزمایشی در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ در آزمایشگاه تکنولوژی بذر، گلخانه و مزرعه پژوهشی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، انجام گرفت. مزرعه آموزشی پژوهشی شماره ۲ پردیس ابوریحان دانشگاه تهران واقع در منطقه قزلاق از توابع شهرستان پاکدشت در عرض جغرافیایی

۳۵ درجه و ۲۸ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۳۶ دقیقه شرقی قرار دارد. این منطقه طبق طبقه‌بندی اقلیمی دومارتن جزء مناطق خشک محسوب می‌شود که در آن میانگین بارندگی سالیانه ۱۴۱ میلی‌متر، دمای متوسط سالانه ۱۵/۶ درجه سانتی‌گراد و متوسط ارتفاع از سطح دریا در آن حدود ۱۰۲۰ متر است. مشخصات فیزیکی شیمیایی خاک مکان آزمایش (جدول ۱) و آب مورد استفاده در آبیاری (جدول ۲) در زیر آورده شده است.

جدول ۱. مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

Table 1. Physico-chemical properties of the soil

بافت خاک	نیترژن کل	فسفر قابل جذب	پتاسیم قابل جذب	آهن	روی	مس	منگنز	کربن آلی
Soil texture	N	P	K	Fe	Zn	Cu	Mn	C
	%		ppm					%
Clay-loam	0.14	79	732	4.23	2.3	0.83	8.9	1.4
	ds/m							
	8.21							

جدول ۲. مشخصات فیزیکی و شیمیایی آب محل اجرای آزمایش

Table 2. Physico-chemical properties of the water

هدایت	کلر	کلسیم	سولفات	منیزیم	نمک‌های محلول کل	سدیم	کربنات	بیکربنات	رده	جذب سدیم	نسبت	سدیم
EC	Cl	Ca	SO ₄	Mg	TDS	Na	CO ₃	HCO ₃	class	SAR	SSP	محلول
μS/cm			meq/l		ppm		meq/l				%	
5390	22.5	17	37.28	19	2440	29.4	0	5.62	C5-S3	6.92	44.9	

مرحله اول آزمایشگاه

در این مرحله برای تعیین مدت‌زمان پرایمینگ بذور زوال یافته، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایش عبارت بودند از کیفیت بذر (۱). بذور زوال یافته طبیعی و ۲. بذور جدید یا شاهد) و پرایمینگ بذر (۱). هیدروپرایمینگ، ۲. پرایمینگ با ملاتونین ۰/۱ میلی‌مولار، ۳. پرایمینگ با ملاتونین ۰/۵ میلی‌مولار). ماده ملاتونین (N-استیل-۵-متوکسی تریپتامین) ساخت شرکت سیگما مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا رطوبت اولیه بذرها محاسبه شد (Larsen et al., 2004). بر این اساس، درصد رطوبت بذور زوال یافته طبیعی ۷/۰۳ و بذور جدید، ۶/۷۱ درصد بر اساس وزن خشک، به دست آمد. ابتدا وزن اولیه بذور قرار داده‌شده در پتری‌ها یادداشت شد و سپس با اضافه کردن آب، ملاتونین ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌مولار طبق تیمارهای پرایمینگ، هر یک ساعت یک‌بار از ظروف پتری بیرون آورده شدند و سطح‌رویی بذور خشک

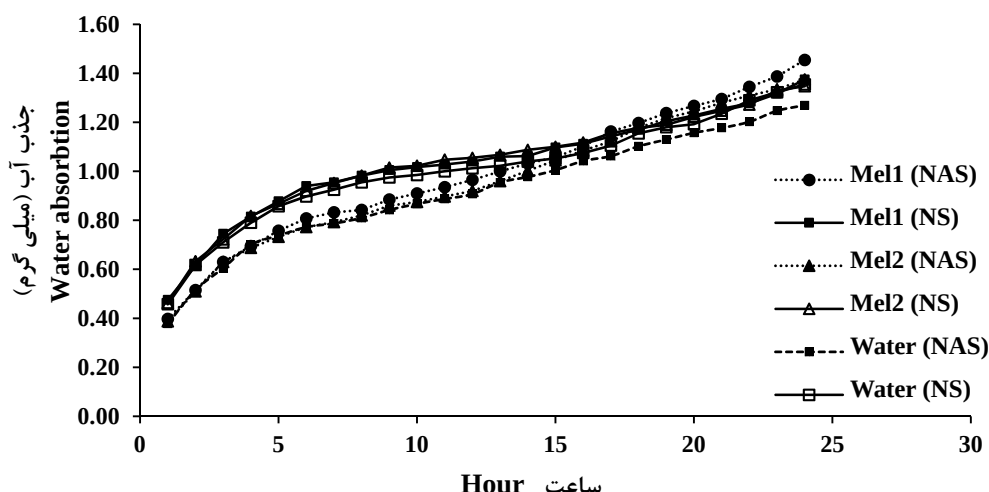
گردیده و وزن بذور یادداشت شد و مجدداً داخل ظرف مربوطه قرار داده شد. این کار به مدت ۲۴ ساعت به‌طور پیوسته انجام گرفت و میزان افزایش وزن بذور و مقدار جذب آب محاسبه گردید (Larsen et al., 2004). زمان شروع افزایش وزن بذور که نشانگر آغاز مرحله خروج ریشه‌چه است به‌عنوان زمان مناسب پرایمینگ در نظر گرفته شد. لذا در تیمارهای ملاتونین ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌مولار، هیدروپرایمینگ، در هر دو سطح کیفیت بذر، مدت‌زمان در تیمارهای پرایمینگ، ۶ ساعت در نظر گرفته شد.

مرحله دوم مزرعه

در این مرحله، تأثیر پرایمینگ بذر بر سبز شدن و ویژگی‌های گیاهچه گلرنگ در مزرعه مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در مزرعه انجام گرفت. تیمارهای آزمایش عبارت بودند از کیفیت بذر (۱-بذور زوال یافته

۱۳۸۷ و به مدت هشت سال در انبار (دمای ۳۲-۲۵ و رطوبت ۲۵ درصد) نگهداری شده بودند و بذور جدید، رقم گلدشت تولید سال ۱۳۹۵ بودند که از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد.

طبیعی و ۲-بذور جدید) و پرایمینگ بذر (۱- عدم کاربرد پرایمینگ بذر ۲-هیدروپرایمینگ ۳- پرایمینگ با ملاتونین ۰/۱ میلی‌مولار ۴- پرایمینگ با ملاتونین ۰/۵ میلی‌مولار). بذور گلرنگ زوال یافته طبیعی، رقم گلدشت بودند که از سال



شکل ۱. تعیین دوره جذب آب بذور زوال یافته طبیعی (NAS) و بذور جدید (NS) توسط آب (Water) و ملاتونین در غلظت‌های ۰/۱ (Mel1) و ۰/۵ (Mel2) میلی‌مولار.

Fig. 1. Determination of seed priming duration of naturally aged seeds (NAS) and new seeds (NS) by Water, Melatonin at 0.1 mM (Mel1) and 0.5 mM (Mel2) concentration

هر روز مزرعه بررسی‌شده و تعداد بذور سبز شده، یادداشت شد. برای محاسبه درصد و سرعت جوانه‌زنی از برنامه Germin V2.0 (Soltani et al., 2014) استفاده شد. همچنین برای اندازه‌گیری ویژگی‌های رشد گیاهچه در مزرعه، در زمان رشد گیاهچه‌ها و قبل از شروع مرحله ساقه دهی (۵۰ روز پس از کشت)، از هر کرت، ۳ بوته انتخاب و تعداد برگ‌ها، سطح برگ و وزن خشک گیاهچه مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. سطح برگ با استفاده از دستگاه (WinDIAS Leaf Area Meter System, Delta T) ساخت انگلستان، اندازه‌گیری شد.

مرحله سوم گلخانه

در این مرحله، هدف بررسی ویژگی‌های سبز شدن و رشد گیاهچه‌ی گلرنگ در گلخانه و در شرایط ترکیب شوری و خشکی بود. بدین منظور، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در گلخانه‌های آموزشی پژوهشی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، در سال ۱۳۹۶ انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی عبارت

قبل از کاشت، قوه‌نامیه بذور مورد بررسی قرار گرفت که طی آن قوه‌نامیه بذور زوال یافته طبیعی به‌طور متوسط ۵۴ درصد و بذور جدید، ۹۵/۵ درصد تعیین شد. در این آزمایش از ماده ملاتونین ساخت شرکت سیگما استفاده گردید. هر کرت شامل ۴ ردیف کشت به فاصله ۵۰ سانتیمتر بود. طول هر ردیف ۴ متر و بین هر کرت نیز دو ردیف نکاشت در نظر گرفته شد. فاصله بوته‌ها روی ردیف‌های کشت ۵ سانتیمتر و تراکم نهایی برابر ۴۰ بوته در مترمربع بود (Khajehpour, 2005). طبق توصیه کودی آزمایشگاه خاک برای گیاه گلرنگ، قبل از کشت از کودهای گوگرد، اوره، سولفات آهن، سولفات روی، سولفات مس، سولفات منگنز، اسید بوریک. سولفات منیزیم به ترتیب به میزان ۳۰۰، ۳۰۰، ۳۰، ۲۰، ۳۰ و ۵۰ کیلوگرم در هکتار استفاده گردید. تاریخ کشت ۲۲ اسفندماه بود. پس از باز کردن شیارهایی به عمق ۵ سانتیمتر روی هر ردیف، بذور به‌صورت خطی، داخل هر شیار ریخته شد و روی آن‌ها با خاک نرم، پوشانده شد. برای شمارش درصد سبز شدن در مزرعه، در یک ردیف کاشت، تعداد ۵۰ عدد بذور کاشته شد و پس از کاشت و آبیاری اول،

Germin V2.0 (Soltani et al., 2014) استفاده شد. یک ماه پس از کشت، گیاهچه‌ها برداشت شدند و طول گیاهچه و وزن خشک آن‌ها مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. دمای گلخانه در طول یک ماه بر روی ۳۲ درجه سانتی‌گراد در روز و ۲۰ درجه سانتی‌گراد در شب، رطوبت در محدوده ۴۵-۵۰ درصد، دوره فتوسنتز ۱۴ ساعته و نور ۲۵ میکرومول مترمربع بر ثانیه (PPFD) تنظیم شد. برای محاسبات آماری، از نرم‌افزار RStudio نسخه ۱.۱.۳۸۳ بر روی پلتفرم R نسخه ۳.۴.۲ و بسته agricolae موجود در این نرم‌افزار استفاده گردید. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش LSD انجام گرفت. پس از معنی‌دار شدن اثرات متقابل، برای مقایسه میانگین اثرات متقابل، برش‌دهی اثرات متقابل^۱ انجام گرفت. برای انجام برش دهی اثرات متقابل در نرم‌افزار RStudio از تابع subset استفاده شد.

نتایج و بحث

سبز شدن و خصوصیات گیاهچه در مزرعه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد در مورد حداکثر سبز شدن، برهمکنش کیفیت بذر و پرایمینگ در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). برش‌دهی اثر متقابل سطوح کیفیت بذر در سطوح پرایمینگ نشان داد در بذور جدید، بیشترین درصد در تیمار غلظت ۰/۵ میلی‌مولار ملاتونین حاصل شد. اما در بذور زوال یافته طبیعی، بیشترین درصد سبز شدن به ترتیب با ۵۷/۵۰ و ۵۴/۵۰ متعلق به پرایمینگ با ملاتونین در غلظت ۰/۱ و هیدروپرایمینگ بود. کمترین درصد سبز شدن با ۳۹ درصد، متعلق به عدم پرایمینگ بذور زوال یافته طبیعی بود (جدول ۴). بر طبق نتایج تجزیه واریانس در مورد سرعت سبز شدن، اثر متقابل کیفیت بذر و پرایمینگ در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج برش‌دهی مشخص کرد که در بذور جدید، بیشترین سرعت سبز شدن، متعلق به پرایمینگ در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار ملاتونین و هیدروپرایمینگ بود؛ اما در بذور زوال یافته طبیعی، بیشترین سرعت سبز شدن یا ظهور گیاهچه در تیمار هیدروپرایمینگ و غلظت ۰/۱ میلی‌مولار ملاتونین حاصل شد (جدول ۴). تعداد برگ گیاهچه تحت تأثیر سطوح پرایمینگ و نیز برهمکنش کیفیت بذر در پرایمینگ قرار گرفت (جدول ۳).

بودند از کیفیت بذر (۱). بذور زوال یافته طبیعی و ۲. بذور جدید، پرایمینگ بذر (۱). عدم کاربرد پرایمینگ بذر، ۲. هیدروپرایمینگ، ۳. پرایمینگ با ملاتونین ۰/۱ میلی‌مولار و ۴. پرایمینگ با ملاتونین ۰/۵ میلی‌مولار) و تنش (۱). شاهد (آبیاری در حد ظرفیت زراعی و بدون شوری)، ۲. تنش خشکی (آبیاری تا ۶۵٪ ظرفیت زراعی)، ۳. تنش شوری (۱۲ دسی زیمنس بر متر) و ۴. ترکیب تنش شوری و خشکی). گلدان‌هایی با قطر و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر برای این منظور استفاده شد. خاک مورد استفاده در گلدان‌ها، خاک مزرعه بود که دارای بافت لومی، هدایت الکتریکی ۶/۷۴، درصد اشباع ۲۳ و اسیدیته ۷/۷۵ بود (جدول نشان داده نشده است). تنش‌های خشکی و شوری از ابتدای کاشت اعمال شدند. محتوای آب خاک بر اساس منحنی آزادسازی رطوبت خاک تعیین شد (Saxton et al., 1986). این روش مقدار محتوای رطوبت خاک را بر اساس بافت خاک، تعیین می‌کند. بر این اساس، محتوای رطوبت وزن خاک در ظرفیت زراعی ۰/۱۷، نقطه پژمردگی دائم ۰/۰۷ و حد آب قابل‌دسترس ۰/۱ گرم بر گرم خاک تعیین شد. تعداد ۲۵ عدد بذر در گلدان‌ها کشت شد. برای اعمال تنش شوری، از روش ذکرشده توسط سلطانی و همکاران (Soltani et al., 2009) استفاده شد. همچنین مقدار نمک مورد نیاز جهت ایجاد سطح ۱۲ دسی زیمنس بر متر بر طبق روش آزمایشگاه شوری ایالات متحده آمریکا (US Salinity Laboratory, 1954) تعیین شد. نمک‌های مورد استفاده برای ایجاد این سطح شوری، کلرید سدیم و کلرید کلسیم بود که به میزان یک‌به‌یک مورد استفاده قرار گرفت (Soltani et al., 2017). قبل از آزمایش گلدانی، سه نمونه از خاک تر (خاک تر+ خاک خشک+ محتوای رطوبت خاک) خشک شد و محتوای رطوبت خاک در شروع آزمایش تعیین شد. سپس گلدان‌ها به‌طور برابر با خاک پر شدند. چهار گلدان به‌عنوان مرجع در نظر گرفته شد و هر روز وزن شدند (Soltani et al., 2017). محتوای رطوبت خاک پس از وزن کردن هر گلدان به دست آمد به‌طوری‌که مقدار رطوبت گلدان‌های شاهد (بدون تنش خشکی) در حدود ظرفیت زراعی و گلدان‌های تنش خشکی در ۶۵ درصد ظرفیت زراعی (رطوبت وزنی برابر ۰/۱۱۰ گرم بر گرم خاک) نگه داشته شد. گلدان‌ها جهت شمارش بذور سبز شده مورد شمارش قرار گرفتند و برای محاسبه درصد و سرعت سبز شدن از برنامه

¹ slicing interaction

ظهور گیاهچه در مزرعه می‌شود (Nawaz et al., 2016). همچنین پرایمینگ بذری می‌تواند تعدادی از وقایع مخرب (زوال) بذری را بهبود دهد (Chiu et al., 2002). گزارش شده است که هیدروپرایمینگ و پرایمینگ با ملاتونین باعث افزایش جوانه‌زنی بذری در خیار شده است (Posmyk et al., 2009). همچنین در آزمایشی مشخص شد که پرایمینگ بذری با ملاتونین در مقایسه با عدم پرایمینگ، جوانه‌زنی بذری را به میزان قابل توجهی افزایش داد (Zhang et al., 2017). افزایش تعداد برگ با استفاده از ملاتونین را می‌توان به نقش ثابت‌شده ملاتونین در افزایش تقسیم سلولی (Murch and Saxena, 2002) نسبت داد که موجب افزایش تعداد برگ‌ها شده است. مشخص شده که در گیاه سویای تحت تنش خشکی و شوری، ملاتونین با کاهش آسیب ناشی از این تنش‌ها، موجب افزایش سطح برگ و ارتفاع گیاهچه و نیز وزن خشک گیاهچه شده است (Wei et al., 2015b). همچنین گزارش شده است که ملاتونین به دلیل اثرات شبه اکسینی خود، ایفاگر عملکردهای ضروری در تنظیم رشد و نمو گیاه شامل فرآیندهای تحریک رشد رویشی، جوانه‌زنی، ریشه‌دهی است (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2014; Nawaz et al., 2016).

به‌طوری‌که در بذری جدید، بیشترین برگ در تیمار پرایمینگ با ماده ملاتونین در هر دو غلظت، به دست آمد. در بذری زوال یافته طبیعی نیز بیشترین تعداد برگ با استفاده از هیدروپرایمینگ و نیز ملاتونین در بیشترین سطح آن به دست آمد. کمترین تعداد برگ متعلق به بذری زوال یافته طبیعی و بدون پرایمینگ بود (جدول ۴). نتایج نشان داد که اثر ساده کیفیت بذری و نیز اثر ساده پرایمینگ بر روی سطح برگ و وزن خشک گیاهچه، هر دو در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بودند (جدول ۳). بیشترین سطح برگ در بذری جدید به دست آمد. همچنین بیشترین سطح برگ نیز با استفاده از ماده ملاتونین به‌عنوان عامل پرایمینگ در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار حاصل شد. هرچند بین سطوح پرایمینگ تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. همچنین در مورد وزن خشک گیاهچه نیز روندی که در سطح برگ مشاهده شد، تکرار گردید، به‌طوری‌که وزن خشک گیاهچه در بذری جدید، بیشترین مقدار را داشت و نیز در سطوح پرایمینگ، بیشترین مقدار وزن خشک گیاهچه با پرایمینگ با ملاتونین با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار به دست آمد، هرچند بین سطوح پرایمینگ تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۴). زوال بذری به‌طور معنی‌داری، رشد گیاهچه را کاهش می‌دهد (Basra et al., 2003). مشخص شده که پرایمینگ بذری باعث افزایش سرعت

جدول ۳. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر پرایمینگ بذری زوال یافته با ملاتونین بر سبزی شدن و ویژگی‌های گیاهچه گلرنگ در مزرعه
Table 3. Analysis of variance (Mean of Square) for effect of seed priming of naturally aged seed by melatonin on seedling emergence under field condition.

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی d.f	درصد سبزی شدن Emergence Percentage	سرعت سبزی شدن Emergence Rate	تعداد برگ Number of Leaf	سطح برگ Leaf Area	وزن خشک Dry Matter
Replication	بلوک	3	18.832 ^{ns}	0.000012 ^{ns}	0.660 ^{ns}	2966.15 ^{ns}	31028.5 ^{ns}
Seed Quality (A)	کیفیت بذری	1	32.00 ^{ns}	0.000092 ^{ns}	4.753 ^{ns}	4344.01*	683474.8**
Seed Priming (B)	پرایمینگ بذری	3	208.833**	0.000075 ^{ns}	8.606**	4154.07*	323510.7**
A*B	کیفیت بذری × پرایمینگ بذری	3	145.000*	0.000152*	5.986*	379.87 ^{ns}	15918.9 ^{ns}
Error	خطا	21	35.09	0.000044	1.708	990.95	50654.8
C.V (%)	ضریب تغییرات		11.97	11.70	9.61	16.71	20.06

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and **: Non-Significant, significant at 5% and 1% probability levels, respectively

جدول ۴. مقایسه میانگین اثرات متقابل اثر پرایمینگ بذور زوال یافته با ملاتونین بر سبز شدن و خصوصیات گیاهچه گلرنگ در مزرعه

Table 4. Mean comparison of effect of seed priming of naturally aged seed by melatonin on seedling emergence under field condition

وزن خشک	سطح برگ	تعداد برگ	سرعت سبز شدن	درصد سبز شدن	کیفیت بذر
Dry Matter Mg	Leaf Area mm ²	Number of Leaf	Emergence Rate per hour	Emergence Percentage %	Seed Quality
1267.92 ^a	200.08 ^a	13.979 ^a	0.05874 ^a	50.625 ^a	شاهد
975.63 ^b	176.78 ^b	13.208 ^a	0.05534 ^a	48.62 ^a	Control
847.9 ^b	158.54 ^b	12.041 ^b	0.05258 ^a	42.750 ^b	بدون پرایمینگ
1167.5 ^a	191.87 ^a	14.0416 ^a	0.05935 ^a	52.250 ^a	No Priming
1331.3 ^a	213.95 ^a	14.0833 ^a	0.05868 ^a	54.500 ^a	هیدروپرایمینگ
1140.4 ^a	189.35 ^a	14.2084 ^a	0.05753 ^a	49.00 ^a	Hydropriming
					ملاتونین ۰/۱ میلی مولار
					Melatonin 0.1 mM
					ملاتونین ۰/۵ میلی مولار
					Melatonin 0.5 mM
945.833 ^b	163.536 ^b	12.083 ^c	0.0547 ^b	46.50 ^c	بدون پرایمینگ
1289.999 ^a	201.297 ^{ab}	13.499 ^b	0.0578 ^{ab}	50.00 ^{bc}	No Priming
1529.166 ^a	235.234 ^a	15.583 ^a	0.0570 ^b	51.50 ^{ab}	هیدروپرایمینگ
1306.666 ^a	200.243 ^{ab}	14.750 ^a	0.0652 ^a	54.50 ^a	Hydropriming
					ملاتونین ۰/۱ میلی مولار
					Melatonin 0.1 mM
					ملاتونین ۰/۵ میلی مولار
					Melatonin 0.5 mM
750.000 ^b	153.537 ^b	11.999 ^b	0.0504 ^b	39.00 ^b	بدون پرایمینگ
1133.333 ^a	182.435 ^a	14.583 ^a	0.0608 ^a	54.50 ^a	No Priming
974.166 ^{ab}	192.675 ^a	12.583 ^b	0.0602 ^a	57.50 ^a	هیدروپرایمینگ
1045.000 ^{ab}	178.454 ^a	13.666 ^{ab}	0.0498 ^b	43.50 ^b	Hydropriming
					ملاتونین ۰/۱ میلی مولار
					Melatonin 0.1 mM
					ملاتونین ۰/۵ میلی مولار
					Melatonin 0.5 mM

در هر ستون و هر سطح تیمار کیفیت بذر در سطوح پرایمینگ، میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون برش‌دهی اثر متقابل در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند

Means in each column of seed quality on seed priming treatment, followed by similar letter are not significantly different at 5% probability levels, using slicing interaction test

سبز شدن و خصوصیات گیاهچه گلرنگ تحت شرایط شوری و خشکی در گلخانه

نتایج نشان داد که کلیه صفات مورد ارزیابی تحت تأثیر تنش، کیفیت بذر، پرایمینگ بذر و برهمکنش متقابل این عوامل قرار گرفتند (جدول ۵). به دلیل اینکه اثرات متقابل سه‌گانه معنی‌دار شده‌اند، در اینجا تنها به ذکر اثرات متقابل سه‌گانه اکتفا شده است. اثر سه‌گانه تنش × کیفیت بذر × پرایمینگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۵).

نتایج برش‌دهی برهمکنش سه‌گانه نشان داد که در مورد درصد ظهور گیاهچه در شرایط بدون تنش، بین سطوح پرایمینگ بذر در بذور شاهد و زوال یافته، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت هرچند در هر دو نوع کیفیت بذر، بیشترین درصد ظهور گیاهچه با استفاده از پرایمینگ با ملاتونین در غلظت ۰/۵ میلی مولار حاصل شد. در شرایط خشکی در بذور شاهد، بیشترین درصد سبز شدن با پرایمینگ با ملاتونین در هر دو غلظت آن به دست آمد و بین این دو تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد هرچند بیشترین مقدار متعلق به پرایمینگ در

مقدار متعلق به پرایمینگ با ملاتونین در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار بود که تفاوت معنی‌داری با دیگر غلظت آن نداشت. هیدروپرایمینگ و عدم پرایمینگ در جایگاه‌های پایین‌تری قرار داشتند و در یک گروه آماری قرار گرفتند. در بذور زوال یافته، پرایمینگ با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار نتوانست باعث افزایش درصد سبز شدن در شرایط شوری شود و بیشترین درصد ظهور گیاهچه متعلق به پرایمینگ با ملاتونین در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار با ۵۰ درصد جوانه‌زنی بود که با عدم پرایمینگ تفاوت چشمگیر داشت. با وقوع هم‌زمان خشکی و شوری، میانگین حداکثر سبز شدن در هر دو سطح کیفیت بذر به‌شدت کاهش پیدا کرد.

غلظت ۰/۱ میلی‌مولار بود که در مقایسه با عدم پرایمینگ، درصد سبز شدن را ۷۳ درصد افزایش داد. در بذور زوال یافته، میانگین سبز شدن از بذور شاهد کمتر بود. سطوح پرایمینگ در مقایسه با عدم پرایمینگ، در جایگاه بهتری بودند که با عدم پرایمینگ، تفاوت معنی‌داری داشتند. هرچند بین هیدرو پرایمینگ و پرایمینگ با ملاتونین تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، اما بیشترین مقدار سبز شدن در این شرایط متعلق به پرایمینگ در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار بود که در مقایسه با شاهد، درصد سبز شدن را ۱۵۴ درصد افزایش داد (جدول ۶). تنش شوری موجب کاهش چشمگیر درصد سبز شدن در هر دو نوع کیفیت بذر شد. به‌طوری‌که در بذور شاهد، بیشترین

جدول ۵. حداکثر سبز شدن، سرعت سبز شدن، وزن خشک گیاهچه و ارتفاع گیاهچه تحت تنش‌های شوری و خشکی در گلخانه

Table 5. Analysis of variance for effect of seed priming of naturally aged seed by melatonin on seedling emergence under field condition

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی d.f	میانگین مربعات Mean squares			
			درصد سبز شدن Emergence Percentage	سرعت سبز شدن Emergence Rate	ارتفاع گیاهچه Seedling Height	وزن خشک Dry Matter
Replication (R)	بلوک	3	80.833 ^{ns}	0.00067 ^{ns}	3.728 ^{ns}	49.563 ^{ns}
Stress (S)	تنش	3	19965.83 ^{**}	2.132 ^{**}	183.371 ^{**}	2386.130 ^{**}
Seed Quality (A)	کیفیت بذر	1	16562.00 ^{**}	0.637 ^{**}	60.16 ^{**}	1343.971 ^{**}
Seed Priming (B)	پرایمینگ بذر	3	6454.166 ^{**}	0.4611 ^{**}	74.286 ^{**}	2327.24 ^{**}
S*A	تنش × کیفیت بذر	3	1257.333 ^{**}	0.198 ^{**}	24.294 ^{**}	197.347 [*]
S*B	تنش × پرایمینگ	9	805.277 ^{**}	0.0410 ^{**}	3.658 [*]	231.538 ^{**}
A*B	کیفیت بذر × پرایمینگ	3	743.000 ^{**}	0.0082 ^{ns}	10.964 ^{**}	26.870 ^{ns}
S*A*B	تنش × کیفیت بذر × پرایمینگ	9	339.666 ^{**}	0.0721 ^{**}	7.231 ^{**}	134.356 [*]
Error	خطا	93	86.252	0.0067	1.466	52.145
C.V (%)	ضریب تغییرات		18.011	24.031	11.926	17.141

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and **: Non-Significant, significant at 5% and 1% probability levels, respectively

داشتند. پرایمینگ با ملاتونین در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار در شرایط وقوع هم‌زمان خشکی و شوری موجب شده تا درصد سبز شدن در مقایسه با عدم پرایمینگ، افزایش چشمگیری داشته باشد به‌طوری‌که درصد سبز شدن در تیمارهای

در بذور شاهد، بیشترین مقدار ظهور گیاهچه متعلق به ملاتونین با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار بود که تفاوت معنی‌داری با سطوح دیگر پرایمینگ داشت، به‌طوری‌که دیگر سطوح پرایمینگ، در جایگاه‌های پایین‌تر و در یک گروه آماری قرار

و عدم پرایمینگ مشاهده شد که در یک گروه آماری نیز قرار گرفتند (جدول ۴).

نتایج این آزمایش نشان داد که در شرایط بدون تنش در بذور شاهد، بیشترین سرعت سبز شدن یا ظهور گیاهچه متعلق به پرایمینگ بذور با ملاتونین در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار بود و کمترین میزان به دیگر سطوح پرایمینگ بود؛ اما در بذور زوال یافته در شرایط بدون تنش، بیشترین

پرایمینگ با ملاتونین در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار و عدم پرایمینگ به ترتیب ۶۸ و ۱۰ درصد بودند. در بذور زوال یافته، اما ملاتونین با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار تأثیری در افزایش درصد سبز شدن در این شرایط نداشت و بیشترین مقدار با کمترین غلظت ملاتونین یعنی ۰/۱ میلی‌مولار حاصل شد و کمترین مقدار در تیمارهای هیدرو پرایمینگ

جدول ۶. مقایسه میانگین اثرات ساده و متقابل اثر پرایمینگ بذور زوال یافته با ملاتونین بر سبز شدن و خصوصیات گیاهچه گلرنگ تحت تنش‌های شوری و خشکی در گلخانه

Table 6. Mean comparison of effect of seed priming of naturally aged seed by melatonin on seedling emergence under fields condition

تنش Stress	کیفیت بذر Seed Quality	پرایمینگ بذر Seed Priming	درصد سبز شدن Emergence Percentage	سرعت سبز شدن Emergence Rate	ارتفاع گیاهچه Seedling Height	وزن خشک Dry Matter
			%	per hour	cm	mg
بدون تنش no-stress	شاهد Control	بدون پرایمینگ No Priming	89 ^a	0.7055 ^c	10.132 ^b	42.750 ^a
		هیدرو پرایمینگ Hydropriming	93 ^a	0.8117 ^{bc}	13.487 ^a	52.258 ^a
		ملاتونین ۰/۱ میلی‌مولار Melatonin 0.1 mM	97 ^a	1.212 ^a	12.233 ^a	51.333 ^a
		ملاتونین ۰/۵ میلی‌مولار Melatonin 0.5 mM	92 ^a	0.8477 ^b	13.295 ^a	46.500 ^a
	زوال یافته طبیعی Naturally aged	بدون پرایمینگ No Priming	67 ^a	0.4672 ^b	9.454 ^b	40.458 ^b
		هیدرو پرایمینگ Hydropriming	69 ^a	0.6670 ^a	13.462 ^a	50.875 ^a
		ملاتونین ۰/۱ میلی‌مولار Melatonin 0.1 mM	71 ^a	0.5082 ^b	12.000 ^a	45.541 ^b
		ملاتونین ۰/۵ میلی‌مولار Melatonin 0.5 mM	63 ^a	0.4917	12.825 ^a	49.033 ^{ab}
تنش خشکی Drought stress	شاهد Control	بدون پرایمینگ No Priming	57 ^c	0.2952	4.479 ^c	24.367 ^b
		هیدرو پرایمینگ Hydropriming	90 ^b	0.3830 ^b	10.891 ^a	48.135 ^a
		ملاتونین ۰/۱ میلی‌مولار Melatonin 0.1 mM	99 ^a	0.3942 ^{ab}	7.292 ^b	26.194 ^b
		ملاتونین ۰/۵ میلی‌مولار Melatonin 0.5 mM	92 ^a	0.4810 ^a	10.450 ^a	48.280 ^a
	زوال یافته طبیعی Naturally aged	بدون پرایمینگ No Priming	22 ^b	0.0100 ^c	3.860 ^c	19.564 ^b
		هیدرو پرایمینگ Hydropriming	52 ^a	0.2335 ^b	4.358 ^a	22.363 ^b
		ملاتونین ۰/۱ میلی‌مولار Melatonin 0.1 mM	56 ^a	0.2830 ^b	7.133 ^a	22.208 ^b
		ملاتونین ۰/۵ میلی‌مولار Melatonin 0.5 mM	51 ^a	0.4465 ^a	6.150 ^a	29.945 ^a

Table 6. Continued

جدول ۶. ادامه

تنش Stress	کیفیت بذر Seed Quality	پرایمینگ‌بذر Seed Priming	درصد سبز شدن Emergence Percentage %	سرعت سبز شدن Emergence Rate per hour	ارتفاع گیاهچه Seedling Height cm	وزن خشک Dry Matter Mg
تنش شوری Salinity stress	شاهد Control	بدون پرایمینگ No Priming	9 ^b	0.0100 ^b	10.250 ^c	32.500 ^c
		هیدروپرایمینگ Hydropriming	18 ^b	0.0100 ^b	12.250 ^b	55.200 ^b
		ملاتونین ۰/۱ میلی‌مولار Melatonin 0.1 mM	54 ^a	0.313 ^a	14.462 ^a	52.200 ^b
		ملاتونین ۰/۵ میلی‌مولار Melatonin 0.5 mM	59 ^a	0.342 ^a	15.250 ^a	65.700 ^a
		بدون پرایمینگ No Priming	1 ^c	0.0100 ^c	9.037 ^b	29.658 ^c
	زوال یافته طبیعی Naturally aged	هیدروپرایمینگ Hydropriming	21 ^b	0.098 ^{bc}	9.833 ^{ab}	46.116 ^b
		ملاتونین ۰/۱ میلی‌مولار Melatonin 0.1 mM	51 ^a	0.393 ^a	11.206 ^a	52.116 ^b
		ملاتونین ۰/۵ میلی‌مولار Melatonin 0.5 mM	24 ^b	0.145 ^b	11.000 ^a	61.435 ^a
		بدون پرایمینگ No Priming	10 ^c	0.0100 ^c	6.787 ^c	32.345 ^c
		هیدروپرایمینگ Hydropriming	42 ^b	0.2207 ^b	9.925 ^b	43.000 ^c
ترکب تنش شوری و خشکی Salinity and Drought Combination	شاهد Control	ملاتونین ۰/۱ میلی‌مولار Melatonin 0.1 mM	38 ^b	0.216 ^b	10.100 ^b	46.291 ^b
		ملاتونین ۰/۵ میلی‌مولار Melatonin 0.5 mM	68 ^a	0.3360 ^a	12.137 ^a	58.825 ^a
		بدون پرایمینگ No Priming	4 ^c	0.100 ^c	9.570 ^b	26.833 ^c
		هیدروپرایمینگ Hydropriming	13 ^c	0.0100 ^c	12.150 ^a	47.116 ^a
		ملاتونین ۰/۱ میلی‌مولار Melatonin 0.1 mM	51 ^a	0.3555 ^a	9.275 ^b	29.500 ^b
	زوال یافته طبیعی Naturally aged	ملاتونین ۰/۵ میلی‌مولار Melatonin 0.5 mM	27 ^b	0.2005 ^b	10.195 ^b	49.425 ^a

در هر ستون و هر سطح تیمار کیفیت بذر در سطوح پرایمینگ، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون برش‌دهی اثر متقابل در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند

Means in each column of seed quality on seed priming treatment, followed by similar letter are not significantly different at 5% probability levels using slicing interaction test

شدن با استفاده از پرایمینگ با ملاتونین در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار حاصل شد و دیگر سطوح پرایمینگ با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند. در بذور زوال یافته، بیشترین سرعت ظهور گیاهچه با استفاده از پرایمینگ با ملاتونین در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار به دست آمد به‌طوری‌که در مقایسه با

سرعت سبز شدن با هیدروپرایمینگ به دست آمد و پرایمینگ با ملاتونین، تفاوت معنی‌داری با عدم پرایمینگ نداشت. در شرایط تنش خشکی در بذور شاهد، به‌طور میانگین، سرعت سبز شدن در مقایسه با شرایط بدون تنش، ۵۷ درصد کاهش نشان داد. در این شرایط، در بذور شاهد، بیشترین سرعت سبز

خشکی قرار داده شدند، میزان جوانه‌زنی و رشد ریشه زیادتری داشتند (Zhang et al., 2013).

نتایج این آزمایش نشان داد که در شرایط بدون تنش در بذور شاهد و نیز زوال یافته، تیمارهای پرایمینگ در مقایسه با عدم پرایمینگ، موجب افزایش ارتفاع گیاهچه شدند، هرچند بین تیمارهای پرایمینگ تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، اما در هر دو نوع کیفیت بذر، هیدرو پرایمینگ موجب افزایش بیشتر ارتفاع شد. در شرایط خشکی، ارتفاع گیاهچه در بذور شاهد و زوال یافته در تیمارهای عدم پرایمینگ در مقایسه با شرایط بدون تنش، به شدت کاهش یافت. به‌طوری‌که ارتفاع گیاهچه در بذور شاهد و زوال یافته، به ترتیب ۵۶ و ۵۱ درصد در مقایسه با شرایط بدون تنش، کاهش داشتند. بیشترین ارتفاع گیاهچه در بذور شاهد با هیدرو پرایمینگ و پرایمینگ با ملاتونین در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار به دست آمد که تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند اما در بذور زوال یافته، بیشترین ارتفاع گیاهچه تنها توسط پرایمینگ با ملاتونین در هر دو غلظت ایجاد شد به‌طوری‌که بیشترین ارتفاع با ۷/۱۳۳ سانتی‌متر متعلق بود به پرایمینگ با ملاتونین در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار بود.

در شرایط شوری در بذور شاهد، بیشترین ارتفاع گیاه با استفاده از پرایمینگ با ملاتونین در هر دو غلظت ایجاد شد؛ اما در بذور زوال یافته، علاوه بر دو غلظت ملاتونین، هیدروپرایمینگ نیز موجب افزایش ارتفاع گیاهچه شد. به‌طور میانگین نیز ارتفاع گیاهچه در بذور زوال یافته در مقایسه با بذور شاهد کاهش نشان داد. با وقوع هم‌زمان خشکی و شوری، در بذور شاهد، تنها پرایمینگ با ملاتونین در بیشترین غلظت آن موجب افزایش ارتفاع گیاهچه شد به‌طوری‌که در مقایسه با عدم پرایمینگ، ارتفاع گیاهچه را به میزان ۷۹ درصد افزایش داد اما در بذور زوال یافته، به‌طور جالبی، تنها هیدروپرایمینگ و یا به عبارتی پرایمینگ با آب، بیشترین میزان ارتفاع را ایجاد کرد و پرایمینگ با ملاتونین در هر دو غلظت با عدم پرایمینگ، تفاوت معنی‌داری نداشتند. بررسی وزن خشک گیاهچه نشان داد که در شرایط بدون تنش در بذور شاهد، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای پرایمینگ و عدم پرایمینگ وجود نداشت، هرچند هیدرو پرایمینگ و پرایمینگ با ملاتونین در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار، بیشترین مقدار را داشتند؛ اما در بذور زوال یافته، بیشترین مقدار مربوط به هیدرو پرایمینگ بود و پرایمینگ با ملاتونین در هر دو غلظت در جایگاه‌های پایین‌تری قرار داشتند، هرچند پرایمینگ با

عدم پرایمینگ، تفاوت چشمگیر داشت. در شرایط شوری، کمترین سرعت سبز شدن متعلق به عدم پرایمینگ و هیدرو پرایمینگ بود و بیشترین مقدار سرعت جوانه‌زنی با ماده ملاتونین در هر دو غلظت آن به دست آمد که هر دو در یک گروه آماری و در جایگاه برتری در مقایسه با دو سطوح دیگر قرار گرفتند.

در بذور زوال یافته، بیشترین سرعت سبز شدن با ملاتونین ۰/۱ میلی‌مولار حاصل شد، به‌طوری‌که در مقایسه با عدم پرایمینگ، سرعت سبز شدن را به میزان بسیار زیادی افزایش داد. در شرایط وقوع هم‌زمان خشکی و شوری و در بذور شاهد، بیشترین مقدار سبز شدن با پرایمینگ ملاتونین در بیشترین غلظت آن حاصل شد و هیدرو پرایمینگ و ملاتونین ۰/۱ میلی‌مولار در جایگاه بعدی قرار داشتند و تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند؛ اما در بذور زوال یافته، ملاتونین با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار باعث افزایش سرعت سبز شدن شد و غلظت بیشتر ملاتونین باعث کاهش سرعت سبز شدن گردید. سلطانی و سلطانی (Soltani and Soltani, 2015) در یک مطالعه فراتحلیل (متاآنالیز) بر روی پرایمینگ بذر نشان دادند که پرایمینگ بذر بر روی قدرت بذر، در مقایسه با قابلیت حیات بذر، تأثیر بیشتری دارد. به‌طوری‌که درصد و سرعت سبز شدن در مزرعه از درصد و سرعت جوانه‌زنی در آزمایشگاه بیشتر بود. همچنین مشخص کردند که گیاهان دولپه در مقایسه با تک‌لپه‌ها پاسخ قوی‌تری به پرایمینگ بذر می‌دهند (Soltani and Soltani, 2015) مرحله جوانه‌زنی از مراحل بسیار حساس به تنش‌های محیطی از جمله خشکی و شوری است (Hussain et al., 2016). تحت این تنش‌ها، پتانسیل اسمزی محلول خاک کاهش یافته و از جوانه‌زنی بذور به دلیل کاهش توان جذب آب توسط بذرها و نیز سمیت سدیم برای جنین تحت این شرایط، ممانعت به عمل می‌آید (Hussain et al., 2016). ژانگ و همکاران (Zhang et al., 2017) گزارش داده‌اند که شوری به‌طور معنی‌داری سرعت جوانه‌زنی در بذور خیار را کاهش داده است اما اثر بازدارندگی شوری زیاد با استفاده از ملاتونین، کاهش یافت. همچنین مشخص شده که بعد از پرایمینگ هورمونی، هیدروپرایمینگ نیز تأثیر خوبی بر افزایش درصد و سرعت سبز شدن دارد به‌طوری‌که هیدروپرایمینگ به دلیل هزینه پایین‌تر در مقایسه با دیگر روش‌ها نیز پیشنهاد شده است (Soltani and Soltani, 2015). بعلاوه در آزمایشی مشاهده شد که خیارهای تیمار شده با ملاتونین هنگامی که در معرض تنش

آنتی‌اکسیدانت مستقیم، می‌تواند گونه‌های اکسیژن فعال را با کارایی بالایی از بین ببرد (Zhang et al., 2015).

پتانسیل پرایمینگ توسط ملاتونین به‌عنوان عامل استعمال خارجی، نتیجه نقش دوگانه آن به‌عنوان هم‌مولکول آنتی‌اکسیدانت مستقیم و همچنین به‌عنوان تحریک‌کننده پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانتی در گیاهان است (Zhang et al., 2015). مدارک نشان می‌دهد که تنش‌های محیطی می‌توانند سطوح داخلی ملاتونین را در گیاهان به‌عنوان یک پاسخ حفاظتی، افزایش دهند (Paredes et al., 2009). یک توصیف مطرح‌شده برای اثر مفید ملاتونین بر تحمل به تنش گیاه، بالا بردن توانایی آنتی‌اکسیدانتی گیاه است (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2015; Zhang et al., 2015). به‌علاوه استعمال خارجی ملاتونین، مشخص‌شده که تحمل به خشکی گیاه را بهبود می‌دهد (Ye et al., 2016). همچنین گزارش شده که استفاده از ملاتونین در شرایط شوری، موجب افزایش تحمل به شوری در گیاهچه‌های ذرت شده است (Jiang et al., 2016).

بنابراین به نظر می‌رسد پرایمینگ بذور زوال یافته طبیعی با ملاتونین به دلیل کاهش آسیب ناشی از تنش‌ها بر روی رشد گیاهچه، شرایط کلی گیاهچه را بهبود داده و گیاهچه گلرنگ تحت شرایط تنش‌ها، رشد قابل قبولی را داشته است.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی، نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که کاربرد پرایمینگ بذر با استفاده از ماده ملاتونین و نیز هیدروپرایمینگ، به‌عنوان روشی مقرون‌به‌صرفه و با کارایی بالا، می‌تواند در بهبود سبز شدن و خصوصیات رشدی گیاهچه گلرنگ در شرایط مزرعه کمک قابل‌توجهی کند. از آنجایی که این برای اولین بار است که در ایران بر روی ویژگی‌های ملاتونین بر روی رشد و خصوصیات گیاه تحت شرایط مزرعه و گلخانه پژوهشی به‌عمل‌آمده و از آنجایی که ملاتونین دارای اثرهایی مشابه اکسین است و در غلظت‌های مختلف، واکنش‌های مختلفی نشان می‌دهد، پیشنهاد می‌شود دیگر غلظت‌های ملاتونین نیز مورد استفاده قرار گیرد.

ملاتونین با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار تفاوت معنی‌داری با هیدرو پرایمینگ نداشت. در شرایط خشکی، در بذور شاهد، بیشترین وزن خشک گیاهچه با ۴۰/۲۸۰ و ۴۸/۱۳۵ میلی‌گرم به ترتیب با پرایمینگ با ملاتونین در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار و هیدرو پرایمینگ حاصل شد. به‌طوری‌که در مقایسه با عدم پرایمینگ، به ترتیب ۹۸ و ۹۷ درصد افزایش نشان دادند؛ اما در بذور زوال یافته، تنها ملاتونین در بیشترین غلظت آن توانست بیشترین وزن خشک گیاهچه را ایجاد کند که در مقایسه با عدم پرایمینگ، ۵۳ درصد افزایش نشان داد. در شرایط شوری اما بیشترین مقدار وزن خشک گیاهچه در بذور شاهد و زوال یافته، با بیشترین غلظت ملاتونین به دست آمد. به‌طوری‌که در بذور شاهد و زوال یافته، پرایمینگ با ملاتونین ۰/۵ میلی‌مولار در مقایسه با عدم پرایمینگ، وزن خشک گیاهچه را به ترتیب ۱۰۲ و ۱۰۷ درصد افزایش دادند. در هنگامی که خشکی و شوری با هم ایجاد شدند، در بذور شاهد، پرایمینگ با ملاتونین در بیشترین غلظت آن، با ۵۸/۸۲ میلی‌گرم، بیشترین وزن خشک گیاهچه را ایجاد کرد که در مقایسه با عدم پرایمینگ، ۸۲ درصد افزایش داشت. همچنین در بذور زوال یافته، بیشترین وزن خشک گیاهچه متعلق بود به پرایمینگ با ملاتونین در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار و نیز هیدرو پرایمینگ که تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند و در مقایسه با عدم پرایمینگ، به ترتیب به میزان ۷۵ و ۸۴ درصد، موجب افزایش وزن خشک گیاهچه شدند. تحت تنش‌های شوری و خشکی، رشد گیاهان به دلیل کاهش فتوسنتز و محتوای کلروفیل، کاهش می‌یابد اما پرایمینگ با ملاتونین، به‌طور معنی‌داری موجب کاهش بازدارندگی رشد می‌شود و به گیاه در حفظ سیستم ریشه قوی و بهبود ظرفیت فتوسنتزی، کمک می‌کند (Zhang et al., 2015).

گزارش‌های متعددی حاکی از کاهش ارتفاع گیاهچه تحت تنش‌های شوری و خشکی موجود است (Wei et al., 2015a). تمامی تنش‌های غیرزنده منجر به افزایش ساخت گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌شوند (Mittler, 2002). غلظت زیاد گونه‌های اکسیژن فعال منجر به اثرات مخرب بر غشاهای سلولی، آسیب به DNA، تخریب پروتئین‌ها، تجزیه رنگ‌دانه‌ها و کاهش فعالیت آنزیم‌ها می‌شوند (Bose et al., 2014). مشخص‌شده است که ملاتونین به‌عنوان یک

منابع

- Arnao, M.B., Hernandez-Ruiz, J., 2014. Melatonin: plant growth regulator and/or biostimulator during stress? Trends in Plant Science. 19, 789-797.
- Arnao, M.B., Hernandez-Ruiz, J., 2015. Functions of Melatonin in Plants: a review. Journal of Pineal Research. 59, 133-150.
- Basra, S.M.A., Ahmad, N., Khan, M.M., Iqbal, N., Cheema, M.A., 2003. Assessment of cottonseed deterioration during accelerated ageing. Seed Science and Technology. 31, 531-540.
- Bose, J., Rodrigo-Moreno, A., Shabala, S., 2014. ROS homeostasis in halophytes in the context of salinity stress tolerance. Journal of Experimental Botany. 65, 1241-1257.
- Butler, L.H., Hay, F.R., Ellis, R.H., Smith, R.D., Murray, T.B., 2009. Priming and re-drying improve the survival of mature seeds of *Digitalis purpurea* during storage. Annals of Botany. 103, 1261-1270.
- Chaves, M.M., Maroco, J.P., Pereira, J.S., 2003. Understanding plant responses to drought-from genes to the whole plant. Functional Plant Biology. 89, 51-59.
- Chiu, K.Y., Chen, C.L., Sung, J.M., 2002. Effect of priming temperature on storability of primed sh-2-sweet corn seed. Crop Science. 42, 1993-2003.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S.M.A., 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development. 29, 185-212.
- Gallardo, K., Job, C., Groot, S.P.C., Puype, M., Demol, H., Vandekerckhove, J., Job, D., 2002. Proteomics of Arabidopsis seed germination and priming. In: Nicholas, G., Bradford, K.J., Côme, D., Pritchard, H.W. (eds.). The biology of seeds: recent advances. Cambridge, CABI, pp. 199-209.
- Hussain, M.I., Lyra, D.A., Farooq, M., Nikoloudakis, N., Khalid, N., 2016. Salt and drought stresses in safflower: a review. Agronomy for Sustainable Development. 36, 4.
- Ibrahim, E.A., 2016. Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. Journal of Plant Physiology. 192, 38-46.
- Jiang, C., Cui, Q., Feng, K., Xu, D., Li, C., Zheng, Q., 2016. Melatonin improves antioxidant capacity and ion homeostasis and enhances salt tolerance in maize seedlings. Acta Physiologiae Plantarum. 38, 82.
- Khajehpour, M., 2005. Industrial crop production. Isfahan Technology University, Jihad daneshgahi press. 580p. [In Persian].
- Kiani-Pouya, A., 2015. Changes in activities of antioxidant enzymes and photosynthetic attributes in triticale (*Triticosecale Wittmack*) genotypes in response to long-term salt stress at two distinct growth stages. Acta Physiologiae Plantarum. 37, 72.
- Larsen, S.U., Bailly, C., Côme, D., Corbineau, F., 2004. Use of the hydrothermal time model to analyse interacting effects of water and temperature on germination of three grass species. Seed Science Research. 14, 35-50.
- Liu, G., Marshall, P.D., Li, Y., Klassen, W., 2012. Increased oxygen bioavailability improved vigor and germination of aged vegetable seeds. Hortscience. 47, 1714-1721.
- Maas, E.V., 1986. Salt tolerance of plants. Applied Agricultural Research. 1, 12-26.
- Merewitz, E., 2016. Chemical Priming-Induced Drought Stress Tolerance in Plants. In: Hossain, M.A., Wani, S.H., Bhattacharjee, S., Burritt, D.J., Tran, L.S.P. (eds.), Drought Stress Tolerance in Plants, Vol 1, pp 77-103.
- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science. 7, 405-410.
- Murch, S.J., Saxena, P.K., 2002. Melatonin: a potential regulator of plant growth and development? In Vitro Cellular and Developmental Biology. 38, 531-536.
- Nawaz, A., Farooq, M., Ahmad, R., Basra, S. M. A., Lal, R., 2016. Seed priming improves stand establishment and productivity of no till wheat grown after direct seeded aerobic and transplanted flooded rice. European Journal of Agronomy. 76, 130-137.
- Nxele, X., Klein, A., Ndimba, B.K. 2017. Drought and salinity stress alters ROS accumulation, water retention, and osmolyte content in sorghum plants. South African Journal of Botany. 108, 261-266.
- Paparella, S., Araujo, S.S., Rossi, G., Wijayasinghe, M., Carbonera, D., Balestrazzi, A., 2015. Seed priming: state of the art and new perspectives. Plant Cell Reports. 34, 1281-1293.

- 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.
- Posmyk, M. M., Janas, K. M., 2009. Melatonin in plants. *Acta Physiologiae Plantarum*. 31, 1-11.
- Savvides A., Ali S., Tester M., Fotopoulos V., 2016. Chemical priming of plants against multiple abiotic stresses: mission possible? *Trends in Plant Science*. 21, 329-340.
- Saxton, K.E., Rawls, W.J., Romberger, J.S., Papendick, R.I., 1986. Estimation generalized soil water characteristics from texture. *Soil Science Society of America Journal*. 50, 1031-1036.
- Shanker, A.K., Maheswari, M., Yadav, S.K., Desai, S., Bhanu, D., Attal, N.B., Venkateswarlu, B., 2014. Drought stress responses in crops. *Functional and Integrative Genomics*. 14, 11-22.
- Soltani, E., Galeshi, S., Kamkar, B., Akramghaderi, F., 2009. The effect of seed aging on seedling growth as affected by environmental factors in wheat. *Research Journal of Environmental Sciences*. 3, 184-192.
- Soltani, E., Ghaderi-Far, F., Baskin, C.C., Baskin, J.M., 2015. Problems with using mean germination time to calculate rate of seed germination. *Australian Journal of Botany*. 63, 631-635.
- Soltani, E., Soltani, A., 2015. Meta-analysis of seed priming effects on seed germination, seedling emergence and crop yield: Iranian studies. *International Journal of Plant Production*. 9, 413-432.
- Soltani, E., Soltani, A., Oveisi, M., 2014. Modeling seed aging effect on wheat seedling emergence in drought stress: optimizing Germin program to predict emergence pattern. *Journal of Crops Improvement*. 15, 147-160. [In Persian with English summary].
- Soltani, E., Adeli, R., Akbari, G.H. A., Ramshini, H., 2017. Application of hydrotimic model to predict early vigour of rapeseed (*Brassica napus* L.) under abiotic stresses. *Acta Physiologiae Plantarum*. 39, 252.
- Sun, Y., Wang, H., Liu, S., Peng, X., 2016. Exogenous application of hydrogen peroxide alleviates drought stress in cucumber seedlings. *South African Journal of Botany*. 106, 23-28.
- Suzuki, N., Rivero, R. M., Shulaev, V., Blumwald, E., Mittler, R., 2014. Abiotic and biotic stress combinations. *New Phytologist*. 203, 32-43.
- U. S. Salinity Laboratory Staff., 1954. *Diagnosis and improvement of saline and alkali soils*. USDA Handbook 60, US Gov. Print. Office, Washington, D.C.
- Wei, P., Chen, D., Jing, R., Zhao, C., Yu, B., 2015a. Ameliorative effects of foliar methanol spraying on salt injury to soybean seedlings differing in salt tolerance. *Plant Growth Regulation*. 75, 133-141.
- Wei, W., Li, Q.T., Chu, Y. N., Reiter, R. J., Yu, X. M., Zhu, D. H., Zhang, W. K., Ma, B., Lin, Q., Zhang, J. S., Chen, S.Y., 2015b. Melatonin enhances plant growth and abiotic stress tolerance in soybean plants. *Journal of Experimental Botany*. 66(3), 695-707.
- Wojtyla L., Lechowska K., Kubala S., Garnczarska M., 2016. Molecular processes induced in primed seeds-increasing the potential to stabilize crop yields under drought conditions. *Journal of Plant Physiology*. 203, 116-126.
- Ye, J., Wang, S., Deng, X., Yin, L., Xiong, B., Wang, X., 2016. Melatonin increased maize (*Zea mays* L.) seedling drought tolerance by alleviating drought-induced photosynthetic inhibition and oxidative damage. *Acta Physiologiae Plantarum*. 38, 48.
- Yeilaghi, H., Arzani, A., Ghaderian, M., Fotovat, R., Feizi, M., Pourdad, S. S., 2012. Effect of salinity on seed oil content and fatty acid composition of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes. *Food Chemistry*. 130, 618-625.
- Yousuf, P. Y., Ahmad, A., Ganie, A. H., Sareer, O., Krishnapriya, V., Aref, I. M., Iqbal, M., 2017. Antioxidant response and proteomic modulations in Indian mustard grown under salt stress. *Plant Growth Regulation*. 8, 356.
- Zaoui, S., Gautier, H., Bancel, D., Chaabani, G., Wasli, H., Lachaâl, M., Karray-Bouraoui, N., 2016. Antioxidant pool optimization in *Carthamus tinctorius* L. leaves under different NaCl levels and treatment durations. *Acta Physiologiae Plantarum*. 38, 187.
- Zhang, L., Zhang, L., Sun, J., Zhang, Z., Ren, H., Sui, X., 2013. Rubisco gene expression and photosynthetic characteristics of cucumber seedlings in response to water deficit. *Scientia Horticulturae*. 161, 81-87.

Zhang, N., Sun, Q., Zhang, H., Cao, Y., Weeda, S., Ren, S., Guo, Y. D., 2015. Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants. *Journal of Experimental Botany*. 66, 647-656.

Zhang, N., Zhang, H. J., Sun, Q. Q., Cao, Y. Y., Li, X., Zhao, B., Wu, P., Guo, Y. D., 2017. Proteomic analysis reveals a role of melatonin in promoting cucumber seed germination under high salinity by regulating energy production. *Scientific Reports*.v7, 503.