

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده کشاورزی

مهندسی زراعت

رساله دکتری

اثر کاربرد ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر خصوصیات زراعی، فیزیولوژیک و کیفی سویا

نگارنده

یوسف محمدی

استاد راهنما

دکتر مهدی برادران فیروزآبادی

اساتید مشاور

دکتر احمد غلامی

دکتر حسن مکاریان

شهریور ۱۳۹۸

شماره: ۲۴

تاریخ: ۳۹۸/۷/۱۳

ویرایش:

باسمه تعالی



مدیریت تحصیلات تکمیلی

فرم شماره ۱۲: صورت جلسه نهایی دفاع از رساله دکتری (Ph.D)
(ویژه دانشجویان ورودی های ۹۴ و ما قبل)

بدینوسیله گواهی می شود آقای یوسف محمدی دانشجوی دکتری رشته زراعت-فیزیولوژی گیاهان زراعی به شماره دانشجویی ۹۴۰۱۱۲۵ ورودی مهر ماه سال ۱۳۹۴ در تاریخ ۱۳۹۸/۶/۲۴ از رساله نظری / عملی خود با عنوان: اثر کاربرد ملاتونین و ویتامین های گروه ب بر خصوصیات زراعی، فیزیولوژیک و کیفی سویا دفاع و با اخذ نمره به درجه: نائل گردید.

الف) درجه عالی: نمره ۱۹-۲۰ (ب) درجه بسیار خوب: نمره ۱۸/۹۹-۱۷
ج) درجه خوب: نمره ۱۶/۹۹-۱۵ (د) غیر قابل قبول و نیاز به دفاع مجدد دارد
ه) رساله نیاز به اصلاحات دارد

ردیف	هیئت داوران	نام و نام خانوادگی	مرتبیه علمی	امضاء
۱	دکتر مهدی برادران فیروزآبادی	استاد راهنما	دانشیار	
۲	دکتر احمد غلامی	مشاور	دانشیار	
۳	دکتر حسن مکاریان	مشاور	دانشیار	
۴	دکتر محمدرضا عامریان	استاد مدعو داخلی	دانشیار	
۵	دکتر مصطفی حیدری	استاد مدعو داخلی	دانشیار	
۶	دکتر سراله گالشی	استاد مدعو خارجی	استاد	
۷	دکتر خلیلی اژدری	سرپرست (نماینده) تحصیلات تکمیلی دانشکده	دانشیار	

مدیر محترم تحصیلات تکمیلی دانشگاه:

ضمن تأیید مراتب فوق مقرر فرمائید اقدامات لازم در خصوص انجام مراحل دانش آموختگی آقای یوسف محمدی بعمل آید.

نام و نام خانوادگی رئیس دانشکده:

تاریخ و امضاء و مهر دانشکده:

تقدیم به

پدر و مادرم

شکر و قدردانی

باحمد و سپاس بدرگاہ ایزدمنان و خاندان ائمه معصومین (ع)

اکنون کہ مرحلہ دیگر سے از دوران تحصیل خود را بہ پایان رسانده ام وظیفہ خود می دانم از کلیہ اساتید و کارکنان بزرگوار دانشگاہ کشاورزی دانشگاہ صنعتی شاهرود بویژہ استاد عزیزم جناب آقای دکتر ممدی برادران فیروز آبادی کہ طی دوران تحصیل، بندہ حقیر را تکل فرمودہ و بارہنمایی های عالمانہ و ہمکاری های بی دریغ خود موجب موفقیتم را فراهم نمودہ شکر و قدردانی نمایم. همچنین از زحمات اساتید معزز مشاور جناب آقای دکتر احمد غلامی و جناب آقای دکتر حسن مکاریان کہ از مشاورہ و رہنمایی های ارزشمندشان استفادہ نمودم، داوران محترم جناب آقای دکتر محمد رضا عامریان، جناب آقای دکتر مصطفی حیدری و جناب آقای دکتر سمرالہ گالشی کہ زحمت دآوری این رسالہ را بر عہدہ داشتند و نماندہ محترم تحصیلات تکمیلی جناب آقای دکتر خلیل اژدری سپاسگزاری می نمایم.

خدا یا چنان کن سرانجام کار تو خوشنود باشی و ما رستگار

یوسف محمدی

شہر یور ۱۳۹۸

تعهد نامه

اینجانب یوسف محمدی دانشجوی دوره دکتری رشته زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده رساله اثر کاربرد ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر خصوصیات زراعی، فیزیولوژیک و کیفی سویا تحت راهنمایی جناب آقای دکتر مهدی برادران فیروزآبادی متعهد می‌شوم .

- تحقیقات در این رساله توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است .
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است .
- مطالب مندرج در رساله تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است .
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می‌باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « Shahrood University of Technology » به چاپ خواهد رسید .
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی رساله تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت می‌گردد.
- در کلیه مراحل انجام این رساله ، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است .
- در کلیه مراحل انجام این رساله، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است .

تاریخ

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج ، کتاب ، برنامه های رایانه ای ، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می‌باشد . این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود .
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی‌باشد.

چکیده

امروزه کاربرد خارجی ترکیباتی از قبیل ویتامین‌ها و ملاتونین به منظور کاهش اثرات تنش‌های محیطی مورد توجه محققان قرار گرفته و نتایج مطلوبی نیز حاصل شده است. ملاتونین و ویتامین‌های گروه B نقش مهمی در مهار گونه‌های فعال اکسیژن و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان دارند. به‌منظور بررسی اثرات استفاده از ملاتونین و ویتامین‌های گروه B بر صفات زراعی، فیزیولوژیک و کیفی سویا رقم DPX در سه بخش آزمایشگاهی، گلدانی و مزرعه‌ای در سال ۱۳۹۶ در دانشگاه صنعتی شاهرود اجرا گردید. در بخش آزمایشگاهی بذره‌های سویا با تیمارهای آزمایش شامل ۳ سطح ملاتونین (صفر، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار) و ۶ سطح ویتامین‌های گروه B (شاهد، تیامین، ریبوفلاوین، نیاسین، اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین هر کدام با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) به مدت ۱۰ ساعت پیش‌تیمار شدند. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار در ژرمیناتور انجام شد. در بخش گلدانی و مزرعه‌ای تیمارهای آزمایش شامل ۳ سطح محلول‌پاشی ملاتونین (صفر، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار) و ۶ سطح محلول‌پاشی با ویتامین‌های گروه B (شاهد، تیامین، ریبوفلاوین، نیاسین، اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین هر کدام با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در قالب یک آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار سازماندهی شدند. محلول‌پاشی‌ها ۶۰ روز پس از کاشت با فاصله ۲ روز از یکدیگر و قبل از گلدهی اعمال گردید. از ۲ هفته پس از محلول‌پاشی بسته به ماهیت صفات نمونه‌گیری و اندازه‌گیری صفات صورت گرفت. در بخش آزمایشگاهی پیش‌تیمار ملاتونین و ویتامین B موجب افزایش معنی‌دار طول ساقه‌چه، وزن خشک گیاهچه و ریشه‌چه و شاخص وزنی قدرت گیاهچه گردید. در اکثر صفات مورد بررسی ترکیب تیماری ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین و اسیدپانتوتنیک بیشترین اثر مثبت را از خود نشان داد. در آزمایش مزرعه‌ای و گلدانی اثر متقابل محلول‌پاشی ملاتونین و ویتامین B موجب افزایش کلروفیل b، کاروتنوئید، مقدار آب نسبی برگ، پایداری غشای پلاسمایی، فلاونوئید و قند محلول برگ گردید. بالاترین عملکرد دانه در ترکیب تیماری غلظت بالای ملاتونین و اسیدپانتوتنیک به‌دست آمد که افزایش تقریباً ۳/۵ برابری را نسبت به گیاهان شاهد نشان داد. بررسی اثر ملاتونین در شرایط عدم حضور ویتامین B نشان داد که با افزایش غلظت آن درصد پروتئین و درصد روغن دانه افزایش یافت. همچنین ویتامین‌های B نیز نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی موجب افزایش درصد روغن دانه گردیدند. بیشترین مقدار درصد روغن دانه متعلق به تیمار اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین بود که اختلاف معنی‌داری نسبت به هم نداشتند. در آزمایش گلدانی محلول‌پاشی ملاتونین و ویتامین B موجب تقویت سیستم دفاعی گیاه و افزایش سمیت‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن از طریق کاهش تجمع پراکسید هیدروژن، مالون دی‌آلدئید و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گردید. بیشترین فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز و کمترین میزان تجمع پراکسید هیدروژن در گیاهانی ثبت شد که ترکیب تیماری بالاترین غلظت ملاتونین و اسیدپانتوتنیک را دریافت کرده بودند. به‌طور کلی در محدوده پژوهش انجام شده، اسیدپانتوتنیک به‌همراه غلظت ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین تأثیر بیشتری بر صفات مورد بررسی داشت و می‌توان آن را به‌عنوان بهترین ترکیب تیماری معرفی نمود.

کلمات کلیدی: تنش اکسیداتیو، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ویتامین‌ها، روغن، پروتئین، پیری برگ

لیست مقالات مستخرج از رساله

۱- محمدی، ی.، برادران فیرزوآبادی، م.، غلامی، ا. و مکاریان، ح. ۱۳۹۸. اثر محلول پاشی ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر شاخص‌های رشدی، پیری برگ و اجزای عملکرد سویا. نشریه تولید گیاهان زراعی.

۲- محمدی، ی.، برادران فیرزوآبادی، م.، غلامی، ا. و مکاریان، ح. ۱۳۹۸. تأثیر محلول پاشی ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر عملکرد و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی سویا (*Glycine max*).

۳- محمدی، ی.، برادران فیرزوآبادی، م.، غلامی، ا. و مکاریان، ح. ۱۳۹۷. تأثیر کاربرد ویتامین‌های گروه B بر عملکرد و برخی خصوصیات فیزیولوژیک سویا. پانزدهمین کنگره ملی علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران. موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر.

۴- محمدی، ی.، برادران فیرزوآبادی، م.، غلامی، ا. و مکاریان، ح. ۱۳۹۷. ارزیابی اثر محلول پاشی ویتامین‌های گروه B بر تجمع ماده خشک، ارتفاع و قطر ساقه سویا. پانزدهمین کنگره ملی علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران. موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر.

فهرست مطالب ها

صفحه	عنوان
۱	فصل اول: مقدمه و کلیات
۵	۱-۱- سویا
۵	۱-۱-۱- گیاه شناسی
۶	۲-۱-۱- سازگاری
۷	۳-۱-۱- اهمیت و ارزش غذایی
۱۱	فصل دوم: بررسی منابع
۱۲	۱-۲- تنش اکسیداتیو
۱۴	۲-۲- ویتامین ب
۱۵	۱-۲-۲- تیامین
۱۶	۲-۲-۲- ریوفلاوین
۱۷	۳-۲-۲- نیاسین
۱۷	۴-۲-۲- اسیدپانتوتنیک
۱۸	۵-۲-۲- پیریدوکسین
۱۹	۳-۲- ملاتونین
۲۱	۱-۳-۲- نقش ملاتونین در گیاهان
۲۷	فصل سوم: مواد و روش ها
۲۸	۱-۳- بخش آزمایشگاهی
۲۸	۱-۱-۳- صفات مربوط به جوانه زنی
۲۹	۲-۳- بخش مزرعه ای
۲۹	۱-۲-۳- زمان و مشخصات محل اجرای آزمایش
۳۱	۲-۲-۳- خصوصیات خاک محل اجرای آزمایش
۳۱	۳-۲-۳- مشخصات طرح آزمایشی بخش مزرعه
۳۳	۴-۲-۳- عملیات اجرایی
۳۳	۱-۴-۲-۳- آماده سازی زمین و کاشت
۳۳	۲-۴-۲-۳- داشت
۳۳	۳-۴-۲-۳- اعمال تیمارها
۳۴	۴-۴-۲-۳- برداشت
۳۴	۵-۲-۳- نمونه برداری جهت صفات زراعی و مورفولوژیک
۳۴	۱-۵-۲-۳- وزن خشک برگ و ساقه
۳۴	۲-۵-۲-۳- ارتفاع و قطر ساقه
۳۵	۳-۵-۲-۳- سطح برگ
۳۵	۶-۲-۳- عملکرد و اجزای عملکرد
۳۵	۷-۲-۳- نمونه برداری جهت صفات فیزیولوژیک

۳۵	۱-۷-۲-۳- کلروفیل (شاخص اسپد)
۳۶	۲-۷-۲-۳- کلروفیل و کاروتنوئید برگ
۳۶	۳-۷-۲-۳- پایداری غشای پلاسمایی برگ
۳۷	۴-۷-۲-۳- مقدار نسبی آب برگ
۳۷	۵-۷-۲-۳- محتوای قندهای محلول
۳۸	۶-۷-۲-۳- میزان آنتوسیانین برگ
۳۹	۷-۷-۲-۳- میزان فلاونوئید
۳۹	۸-۷-۲-۳- سنجش درصد و عملکرد روغن
۴۰	۹-۷-۲-۳- سنجش درصد و عملکرد پروتئین
۴۰	۱۰-۷-۲-۳- اندازه‌گیری هدایت روزنه‌ای
۴۰	۱۱-۷-۲-۳- اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدها
۴۱	۳-۳- بخش گلدانی
۴۱	۱-۳-۳- مشخصات آزمایش و عملیات اجرایی
۴۲	۲-۳-۳- اعمال تیمارها
۴۲	۳-۳-۳- صفات زراعی و مورفولوژیک
۴۲	۱-۳-۳-۳- طول و حجم ریشه
۴۲	۲-۳-۳-۳- وزن خشک ریشه
۴۳	۴-۳-۳- صفات فیزیولوژیک
۴۳	۱-۴-۳-۳- اندازه‌گیری پرولین
۴۳	۲-۴-۳-۳- تهیه عصاره آنزیمی
۴۵	۳-۴-۳-۳- سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)
۴۶	۴-۴-۳-۳- سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)
۴۷	۵-۴-۳-۳- سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)
۴۷	۶-۴-۳-۳- اندازه‌گیری میزان پراکسید هیدروژن (H_2O_2)
۴۷	۴-۳- تجزیه و تحلیل داده ها
۴۹	فصل چهارم : نتایج و بحث
۵۰	۱-۴- بخش آزمایشگاهی
۵۰	۱-۱-۴- درصد جوانه‌زنی
۵۱	۲-۱-۴- سرعت جوانه‌زنی
۵۲	۳-۱-۴- طول ریشه‌چه، ساقه‌چه
۵۵	۴-۱-۴- وزن خشک گیاه‌چه و ریشه‌چه
۵۶	۵-۱-۴- شاخص طولی قدرت گیاه‌چه
۵۸	۶-۱-۴- شاخص وزنی قدرت گیاه‌چه
۵۹	۲-۴- صفات مورفولوژیک و زراعی بخش مزرعه‌ای
۵۹	۱-۲-۴- ارتفاع بوته
۶۱	۲-۲-۴- قطر ساقه
۶۱	۳-۲-۴- شاخص سطح برگ

۶۳	۴-۲-۴- وزن خشک برگ
۶۴	۴-۲-۵- وزن خشک ساقه
۶۵	۴-۲-۶- ماده خشک کل
۶۷	۴-۳- عملکرد و اجزای عملکرد
۶۷	۴-۳-۱- تعداد غلاف در بوته
۶۹	۴-۳-۲- تعداد دانه در غلاف
۷۰	۴-۳-۳- وزن هزار دانه
۷۱	۴-۳-۴- عملکرد دانه
۷۲	۴-۴- صفات فیزیولوژیک بخش مزرعه‌ای
۷۲	۴-۴-۱- روند پیری برگ (شاخص اسپد)
۷۵	۴-۴-۲- کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید برگ
۷۸	۴-۴-۳- مقدار آب نسبی برگ (RWC)
۷۹	۴-۴-۴- پایداری غشای پلاسمایی
۸۱	۴-۴-۵- میزان آنتوسیانین
۸۲	۴-۴-۶- میزان فلاونوئید
۸۴	۴-۴-۷- محتوای قندهای محلول
۸۵	۴-۴-۸- میزان هدایت روزنه‌ای (پرومتر)
۸۷	۴-۴-۹- محتوای مالون دی‌آلدئید
۸۸	۴-۵- درصد و عملکرد روغن دانه در بخش مزرعه‌ای
۹۱	۴-۶- درصد و عملکرد پروتئین دانه در بخش مزرعه‌ای
۹۴	۴-۷- صفات ریشه در بخش گلدانی
۹۴	۴-۷-۱- طول ریشه
۹۵	۴-۷-۲- حجم ریشه
۹۷	۴-۷-۳- وزن خشک ریشه
۹۸	۴-۸- صفات فیزیولوژیک بخش گلدانی
۹۸	۴-۸-۱- کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید برگ
۱۰۱	۴-۸-۲- مقدار آب نسبی برگ (RWC)
۱۰۲	۴-۸-۳- پایداری غشای پلاسمایی
۱۰۳	۴-۸-۴- میزان آنتوسیانین
۱۰۴	۴-۸-۵- میزان فلاونوئید
۱۰۶	۴-۸-۶- محتوای قندهای محلول
۱۰۷	۴-۸-۷- محتوای مالون دی‌آلدئید
۱۰۸	۴-۸-۸- پرولین
۱۱۰	۴-۸-۹- میزان پراکسید هیدروژن (H_2O_2)
۱۱۲	۴-۹- فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان
۱۱۲	۴-۹-۱- فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)
۱۱۳	۴-۹-۲- فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

۱۱۵	۳-۹-۴- فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)
۱۱۸	۴-۱۰- نتیجه گیری
۱۱۹	۴-۱۱- پیشنهادها
۱۲۱	پیوست
۱۲۹	منابع

فهرست شکل ها

شکل	صفحه
شکل ۱-۲- بیوسنتز ملاتونین (آرناثو و هرناوندز رویز، ۲۰۱۴)	۱۹
شکل ۲-۲- ساختار شیمایی ملاتونین (گومز و همکاران، ۲۰۱۵)	۱۹
شکل ۳-۲- خلاصه عملکرد ملاتونین در گیاهان (نواز و همکاران، ۲۰۱۶)	۲۱
شکل ۴-۲- مدل فرضی پاسخ تخفیفی ملاتونین به تنش در آرابیدوپسیس (A) و برمودا گراس (B)	۲۳
شکل ۱-۳- میانگین حداقل رطوبت نسبی در منطقه بسطام فروردین تا آذرماه سال ۱۳۹۶	۲۷
شکل ۲-۳- میانگین حداکثر رطوبت نسبی در منطقه بسطام فروردین تا آذرماه سال ۱۳۹۶	۲۸
شکل ۳-۳- میانگین ساعات آفتابی در منطقه بسطام فروردین تا آذرماه سال ۱۳۹۶	۲۸
شکل ۴-۳- میانگین حداقل دما در منطقه بسطام فروردین تا آذرماه سال ۱۳۹۶	۲۸
شکل ۵-۳- میانگین حداکثر دما در منطقه بسطام فروردین تا آذرماه سال ۱۳۹۶	۲۸
شکل ۶-۳- میزان بارندگی در منطقه بسطام فروردین تا آذرماه سال ۱۳۹۶	۲۸
شکل ۷-۳- نقشه کاشت طرح آزمایشی مورد استفاده	۲۹
شکل ۸-۳- منحنی استاندارد گلوز در طول موج ۶۲۵ نانومتر	۳۶
شکل ۹-۳- منحنی استاندارد غلظت پروتئین محلول	۴۲
شکل ۱۰-۳- منحنی استاندارد آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در طول موج ۵۶۰ نانومتر	۴۴
شکل ۱-۴- مقایسه میانگین درصد جوانه زنی بذر تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین	۴۷
شکل ۲-۴- مقایسه میانگین درصد جوانه زنی بذر تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب	۴۸
شکل ۳-۴- مقایسه میانگین سرعت جوانه زنی بذر تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب	۴۹
شکل ۴-۴- مقایسه میانگین سرعت جوانه زنی بذر تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین	۴۹
شکل ۵-۴- مقایسه میانگین طول ساقه چه بذر سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت های مختلف ملاتونین و ویتامین ب	۵۰
شکل ۶-۴- مقایسه میانگین طول ریشه چه تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب	۵۱
شکل ۷-۴- مقایسه میانگین طول ریشه چه تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین	۵۱
شکل ۸-۴- مقایسه میانگین وزن خشک ریشه چه سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت های مختلف ملاتونین و ویتامین ب	۵۳
شکل ۹-۴- مقایسه میانگین وزن خشک گیاه چه سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت های مختلف ملاتونین و ویتامین ب	۵۳
شکل ۱۰-۴- مقایسه میانگین شاخص طولی قدرت گیاه چه سویا تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین	۵۴
شکل ۱۱-۴- مقایسه میانگین شاخص طولی قدرت گیاه چه سویا تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب	۵۴
شکل ۱۲-۴- مقایسه میانگین شاخص وزنی قدرت گیاه چه سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت های مختلف ملاتونین و ویتامین ب	۵۶
شکل ۱۳-۴- مقایسه میانگین ارتفاع بوته سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت های مختلف ملاتونین و ویتامین ب	۵۷
شکل ۱۴-۴- مقایسه میانگین قطر ساقه سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت های مختلف ملاتونین و ویتامین ب	۵۸

- شکل ۴-۱۵- مقایسه میانگین شاخص سطح برگ سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۱۶- مقایسه میانگین وزن خشک برگ سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۱۷- مقایسه میانگین وزن خشک ساقه سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۱۸- مقایسه میانگین ماده خشک کل سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۱۹- مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین
- شکل ۴-۲۰- مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب
- شکل ۴-۲۱- مقایسه میانگین تعداد دانه در غلاف تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۲۲- مقایسه میانگین وزن هزار دانه سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۲۳- مقایسه میانگین عملکرد دانه سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۲۴- روند پیر شدن برگ‌های مختلف
- شکل ۴-۲۵- مقایسه میانگین کلروفیل a تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۲۶- مقایسه میانگین کلروفیل b تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۲۷- مقایسه میانگین کلروفیل کل تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۲۸- مقایسه میانگین کاروتنوئید تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۲۹- مقایسه میانگین مقدار آب نسبی برگ سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۳۰- مقایسه میانگین درصد پایداری غشای برگ سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۳۱- مقایسه میانگین میزان آنتوسیانین تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۳۲- مقایسه میانگین میزان فلاونوئید تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۳۳- مقایسه میانگین میزان قند محلول تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۳۴- مقایسه میانگین هدایت روزنه‌ای تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

- شکل ۴-۳۵- مقایسه میانگین محتوای مالون دی‌آلدئید تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۳۶- مقایسه میانگین درصد روغن دانه تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین
- شکل ۴-۳۷- مقایسه میانگین درصد روغن دانه تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب
- شکل ۴-۳۸- مقایسه میانگین عملکرد روغن تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۳۹- مقایسه میانگین درصد پروتئین دانه تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین
- شکل ۴-۴۰- مقایسه میانگین عملکرد پروتئین تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۴۱- مقایسه میانگین طول ریشه تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین
- شکل ۴-۴۲- مقایسه میانگین طول ریشه تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب
- شکل ۴-۴۳- مقایسه میانگین حجم ریشه تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب
- شکل ۴-۴۴- مقایسه میانگین حجم ریشه تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین
- شکل ۴-۴۵- مقایسه میانگین وزن خشک ریشه تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۴۶- مقایسه میانگین کلروفیل a تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین
- شکل ۴-۴۷- مقایسه میانگین کلروفیل a تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب
- شکل ۴-۴۸- مقایسه میانگین کلروفیل b تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۴۹- مقایسه میانگین کلروفیل کل تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۵۰- مقایسه میانگین کاروتنوئید تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۵۱- مقایسه میانگین مقدار آب نسبی برگ تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۵۲- مقایسه میانگین درصد پایداری غشاء تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۵۳- مقایسه میانگین غلظت آنتوسیانین تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب
- شکل ۴-۵۴- مقایسه میانگین غلظت آنتوسیانین تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین
- شکل ۴-۵۵- مقایسه میانگین فلاونوئید برگ تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۵۶- مقایسه میانگین قند محلول برگ تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۵۷- مقایسه میانگین محتوای مالون دی‌آلدئید تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۵۸- مقایسه میانگین غلظت پرولین تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین
- شکل ۴-۵۹- مقایسه میانگین غلظت پرولین تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب

- شکل ۴-۶۰- مقایسه میانگین میزان پراکسید هیدروژن تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۶۱- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۶۲- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب
- شکل ۴-۶۳- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم آسکورات پراکسیداز تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب
- شکل ۴-۶۴- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم آسکورات پراکسیداز تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین

فهرست جدول‌ها

صفحه	جدول
۱۰	جدول ۱-۲- ترکیب اسید آمینه های دانه‌ی سویا
۲۹	جدول ۱-۳- نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش
۳۰	جدول ۲-۳- ترکیبات تیماری مورد استفاده در آزمایش
۱۱۸	جدول پیوست ۱- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه، گیاه‌چه و ریشه‌چه در بخش آزمایشگاهی
۱۱۸	جدول پیوست ۲- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر وزن خشک ریشه‌چه و گیاه‌چه، شاخص طولی و وزنی قدرت گیاه‌چه در بخش آزمایشگاهی
۱۱۹	جدول پیوست ۳- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر ارتفاع بوته، قطر ساقه و شاخص سطح برگ در آزمایش مزرعه‌ای
۱۱۹	جدول پیوست ۴- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه و ماده خشک کل در آزمایش مزرعه‌ای
۱۲۰	جدول پیوست ۵- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر عملکرد و اجزای عملکرد در آزمایش مزرعه‌ای
۱۲۰	جدول پیوست ۶- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید برگ در آزمایش مزرعه‌ای
۱۲۱	جدول پیوست ۷- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر مقدار آب نسبی برگ، پایداری غشای پلاسمایی، آنتوسیانین، فلاونوئید و قندهای محلول برگ در آزمایش مزرعه‌ای
۱۲۱	جدول پیوست ۸- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر میزان هدایت روزنه و محتوای مالون دی آلدئید در آزمایش مزرعه‌ای
۱۲۲	جدول پیوست ۹- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر درصد و عملکرد روغن و پروتئین دانه در آزمایش مزرعه‌ای
۱۲۲	جدول پیوست ۱۰- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر طول ریشه، حجم ریشه و وزن خشک ریشه در آزمایش گلدانی
۱۲۳	جدول پیوست ۱۱- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید در آزمایش گلدانی
۱۲۳	جدول پیوست ۱۲- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر مقدار نسبی آب برگ، پایداری غشای پلاسمایی، میزان آنتوسیانین، میزان فلاونوئید و محتوای قندهای محلول در آزمایش گلدانی
۱۲۴	جدول پیوست ۱۳- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر محتوای مالون دی آلدئید، پرولین و میزان پراکسید هیدروژن در آزمایش گلدانی
۱۲۴	جدول پیوست ۱۴- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در آزمایش گلدانی

فصل اول

مقدمه و کلیات

بسیاری از تنش‌های زنده و غیرزنده علاوه بر مکانیسم‌های ویژه‌ای که سبب آسیب می‌شوند، تولید انواع اکسیژن فعال (ROS)^۱ را تحریک می‌کنند و از این راه گیاهان را به شدت تحت تأثیر خود قرار می‌دهند. اکسیژن در موقعیت‌های خاص ممکن است به‌صورت تک الکترونی درآید که گونه فعال اکسیژن (ROS) نام می‌گیرد. تولید این گونه‌ها رویدادی طبیعی است که در جریان واکنش‌های طبیعی سلول‌ها از جمله تنفس و اکسید شدن مواد به‌وجود می‌آید، ولی میزان تولید آن تحت تنش بیشتر است که منجر به تنش اکسیداتیو و در نهایت القای تغییرات در ساختار و عملکرد گیاهان می‌شوند (رمضانی ویشکی، ۱۳۹۲). مراکز واکنش فتوسیستم I و II در کلروپلاست مکان‌های اصلی تولید ROS می‌باشند. هرچند که گونه‌های فعال اکسیژن در اندام‌های دیگر نیز کم و بیش تولید می‌شوند (سولیمان و همکاران، ۲۰۱۱). یک ارتباط خطی بین حداکثر کارایی فتوسیستم II و تجمع ROS وجود دارد. در چنین شرایطی اگر شدت جذب فوتون توسط فتوسیستم I و II بیشتر از نیاز تثبیت CO₂ باشد، تجمع زیاد الکترون‌ها اتفاق می‌افتد و سبب تولید ROS خواهد شد (هالی ول، ۲۰۰۶). گونه‌های فعال اکسیژن تشکیل شده در کلروپلاست موجب آسیب به غشاء در اثر پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود (ماسچر و همکاران، ۲۰۰۵).

سوپراکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، هیدروکسیل (OH) و اکسیژن مولکولی از جمله گونه‌های فعال اکسیژن هستند که مقدار آن‌ها تحت شرایط تنش در گیاهان افزایش می‌یابد (میتلر، ۲۰۰۲). انواع مختلف اکسیژن فعال می‌توانند به ترکیبات حیاتی سلول مانند اسیدهای چرب غیر اشباع، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک حمله نمایند. این واکنش‌ها به‌طور طبیعی ویژگی‌هایی چون سیالیت غشاء، انتقال یونی، فعالیت آنزیمی و سنتز پروتئین‌ها را کاهش می‌دهند و موجب تخریب DNA هسته‌ای و میتوکندریایی و در نهایت مرگ سلول می‌شوند. یکی از واکنش‌هایی که در حضور انواع اکسیژن فعال سرعت بیشتری پیدا می‌کند، پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی است که سبب

۱- Reactive Oxygen Species

تولید آلدئیدهایی مانند مالون دی آلدئید و ترکیباتی مثل اتیلن می‌شوند (کوئچی و همکاران، ۱۹۹۶). رادیکال‌های آزاد اکسیژن باعث تخریب اکسیداتیو در جایگاه خاصی از آمینو اسیدها در پروتئین‌ها نیز می‌شوند (چیرکوا و همکاران، ۱۹۹۸، باندیوپادهیای و همکاران، ۱۹۹۹).

سلول‌های گیاهی از مکانیسم‌های مختلفی برای جلوگیری یا تخفیف خسارت اکسیداتیو ایجاد شده به واسطه گونه‌های فعال اکسیژن استفاده می‌کنند. این عمل ممکن است از طریق یک سیستم غیر-آنزیمی آنتی‌اکسیدانی ایجاد شده شامل متابولیت‌های آسکوربات و گلوتاتیون و موارد دیگر مانند توکوفرول‌ها (ویتامین E)، کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها و یا سیستم آنزیمی آنتی‌اکسیدانی شامل سوپر-اکسیددیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز انجام شود (آگارال و پاندى، ۲۰۰۴). امروزه کاربرد خارجی مواد مختلفی از جمله گلايسين‌بتائين، اسید سالیسیلیک، کاربرد انواع ویتامین‌ها (شامل اسید آسکوربیک، انواع ویتامین B، متانول و ...) در راستای کاهش تأثیر تنش‌های مختلف بر رشد و عملکرد گیاه مطرح و مورد آزمون قرار گرفته است و نتایج مطلوبی نیز حاصل شده است. به-عنوان مثال حسین و همکاران (۲۰۰۸) نتیجه گرفتند که کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک و گلايسين‌بتائين اثر معنی‌داری بر پارامترهای روابط آبی گیاه آفتابگردان داشت و در رفع آسیب‌های ناشی از تنش اکسیداتیو طی جوانه‌زنی بذر تأثیر مثبتی داشته است. همچنین کاربرد برگی متانول روی سویا در شرایط کمبود آب اثرات مضر تنش را کاهش داد (پاک نژاد و همکاران، ۲۰۰۹). موحدی و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که محلول‌پاشی برگی روی و منگنز عملکرد دانه و کیفیت دانه گلرنگ در شرایط تنش خشکی را بهبود بخشید. در بین ترکیبات متعددی که برای کاهش اثرات تنش‌های محیطی مورد آزمون قرار گرفته است. اثر ویتامین‌ها قابل توجه بوده است. به‌عنوان مثال گزارش شده است که کاربرد خارجی آسکوربات می‌تواند مقاومت در برابر تنش شوری و تنش‌های اکسیداتیو را افزایش دهد و سبب بقای بهتر گیاه‌چه‌های گوجه‌فرنگی شود (شالاتا و نیومن، ۲۰۰۱). ویتامین‌های گروه B نیز می‌توانند نقش مهمی در مهار ROS و تنش زدایی ایفا کنند و موجب افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌ها شوند (بارگیز و همکاران، ۲۰۰۷ و چن و ژیانگ، ۲۰۰۵). در مطالعه آزارها

(۲۰۱۶) کاربرد ویتامین B₁ (تیامین) سبب افزایش عملکرد و رشد بهتر خردل گردید. گزارش شده است که کاربرد خارجی ریوفلاوین (B₂) مقاومت گیاه برنج را در برابر بیماری زنگ غلاف در برنج افزایش می‌دهد (طاهری و هافت، ۲۰۰۷). کاربرد پیریدوکسین (B₆) افزایش جذب ریشه و سرعت ظهور برگ و در نهایت افزایش توان فتوسنتزی گیاه را نشان داد (خان و همکاران، ۱۹۹۵).

از موادی که اخیراً به صورت کاربرد خارجی جهت افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌ها و یا افزایش عملکرد و کیفیت آن‌ها در شرایط مزرعه استفاده می‌شود، ملاتونین است. ملاتونین اعمال مختلف فیزیولوژیکی را در گیاهان موجب می‌شود. این ترکیب علاوه بر نقش پیام‌رسانی تاریکی و تحریک تنظیم‌کننده‌های رشد، نقش قابل توجهی به‌عنوان فعالیت آنتی‌اکسیدانی مرتبط با محافظت گیاهان در برابر تنش‌های اکسیداتیو داخلی و محیطی بازی می‌کند (ریتر و همکاران، ۲۰۱۵، تان، ۲۰۱۵ و ژانگ و همکاران، ۲۰۱۵). ملاتونین به‌عنوان خط اول دفاع و حسگر داخلی تنش اکسیداتیو در گیاهان گزارش شده است (تان و همکاران، ۲۰۱۱).

سویا یا لوبیای روغنی گیاهی یکساله از خانواده بقولات (لگومینوز) مهم‌ترین گیاه زراعی دانه روغنی در سراسر جهان به‌ویژه در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری است. سویا گیاهی است که از آسیای جنوب شرقی به آمریکا رفته و بالاترین سطح زیر کشت و تولید دانه‌های روغنی و پروتئین را در جهان به خود اختصاص داده است. در دهه‌های اخیر کشت سویا در برخی از مناطق کشور از جمله استان‌های شمالی گلستان، مازندران و اردبیل و همچنین استان‌های جنوبی لرستان و خوزستان گسترش یافته است (تلاوت و سیادت، ۱۳۹۱). میزان تولید سویا در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ در حدود ۹۱ هزار تن گزارش شده است (آمار نامه وزارت جهاد کشاورزی). روغن سویا با ترکیب معمولی برای مصرف به‌عنوان روغن سالاد و سرخ‌کردنی مناسب است و دارای مزیت‌هایی شامل وجود مقادیر زیادی اسیدهای چرب غیراشباع، مایع بودن در محدوده وسیع حرارتی و حضور مواد ضد اکسیداسیون طبیعی (توکوفرول‌ها) می‌باشد که سبب پایداری روغن می‌شود (مالک، ۱۳۸۹).

بخش مهمی از دوره‌ی رشد گیاهانی نظیر سویا در تابستان قرار دارد که به‌طور معمول با مجموعه-ای از تنش‌ها مانند خشکی، گرما و حتی شوری روبرو خواهد بود که قطعاً آثار منفی بر رشد و عملکرد این گیاهان خواهد داشت. به‌طور طبیعی گیاهان از طریق بالا بردن سطح یکسری ترکیبات و متابولیت‌ها در درون خود با این شرایط مقابله می‌کنند که البته بدون هزینه نخواهد بود، لذا احتمالاً می‌توان با کاربرد خارجی این‌گونه ترکیبات علاوه بر کاهش هزینه‌های گیاه، موجب کاهش اثرات منفی تنش‌های وارده به گیاه شد و افزایش عملکرد و کیفیت محصول را نتیجه گرفت. با توجه به خواص مثبت ضد تنشی که برای ویتامین‌های گروه B و ملاتونین ذکر شده است این‌گونه استنباط می‌شود که شاید بتوان با اعمال این مواد روی گیاه زراعی سویا به‌صورت محلول‌پاشی آثار مثبتی از افزایش رشد و عملکرد ناشی از بهبود فرآیندهای فیزیولوژیک به‌ویژه در شرایط تابستان به‌دست آورد. لذا در این تحقیق به بررسی این موضوع و نحوه اثر این مواد بر گیاه سویا از منظر زراعی، فیزیولوژیک و کیفی پرداخته شده است.

۱-۱- سویا

۱-۱-۱- گیاه‌شناسی

لوبیا روغنی یا سویا با نام علمی *Glycine max* گیاهی دیپلوئید ($2n=40$) و یکساله از تیره باقلا (*Fabaceae*) است که به‌صورت بوته‌ای استوار و پربار با میانگین ارتفاع بوته ۶۰ تا ۱۳۵ سانتی‌متر است. دارای ریشه‌ای نسبتاً مستقیم با توسعه جانبی زیاد است که در خاک‌های نفوذپذیر، مرطوب و گرم تا عمق ۱/۵ متری نفوذ می‌کند. روی ریشه‌های گیاه گره‌های تثبیت‌کننده نیتروژن حاوی باکتری‌های ریزوبیوم ژاپونیکوم^۱ مشاهده می‌شوند. سویا تولید یک ساقه اصلی می‌کند که از گره‌های پایین آن تعدادی ساقه‌های جانبی مستقیم انشعاب می‌یابد. ورس کمتر اتفاق می‌افتد، مگر در تراکم بالا، آبیاری زیاد و فراوانی نیتروژن خاک که ساقه نازک تولید می‌شود (خواجه پور، ۱۳۸۶).

^۱-*Rhizobium japonicum*

اولین جفت برگی که در گیاهچه و در گره بالای لپه‌ها به ظهور می‌رسد تک برگچه‌ای است و با آرایش متقابل قرار گرفته‌اند. برگ‌های بعدی سه برگچه‌ای هستند که دمبرگ بلندی دارند و به‌طور متناوب روی ساقه قرار می‌گیرند. گیاه دارای کرک‌های ریزی است. برگ‌ها با رسیدن محصول ریزش پیدا می‌کنند یعنی بوته رسیده برگ ندارد. گل‌ها به رنگ سفید و بنفش با گل آذین خوشه‌ای است که در زاویه داخلی برگ ظاهر می‌شوند. سویا گیاهی خود گشن است که میزان دگرگشنی به فعالیت حشرات بستگی دارد. تعداد نیام در بوته به رقابت قسمت‌های رویشی با زایشی، تراکم بوته و ظرفیت تولیدی محیط بستگی دارد. نیام‌های رسیده به رنگ‌های زرد، خاکستری، قهوه‌ای و یا سیاه است و در هر نیام ۲ تا ۵ دانه مشاهده می‌شود به‌طوری که میانگین تعداد دانه در نیام به ندرت از ۲/۷ بیشتر می‌شود (خواجه پور، ۱۳۸۶).

دانه‌ها گرد تا لوبیایی شکل و به رنگ‌های سبز کم رنگ، زرد تا قهوه‌ای تیره و یا زرد با لکه‌های قهوه‌ای تا سیاه می‌باشند. ارقام سویا از لحاظ مصرف در سه گروه علوفه‌ای، روغنی و حبوبات (مصرف به‌صورت دانه) قرار می‌گیرند. ارقام روغنی به رنگ زرد، ارقام علوفه‌ای به رنگ قهوه‌ای و ارقام خوراکی به رنگ زرد کاهی یا سبز زیتونی می‌باشند. وزن هزار دانه ۶۰ تا ۲۰۰ گرم با میانگین حدود ۱۵۰ گرم است. روغن و پروتئین در لپه‌ها ذخیره شده‌اند (خواجه پور، ۱۳۸۶).

۱-۱-۲- سازگاری

سویا گیاهی یکساله و مخصوص مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری است. روزهای کوتاه موجب القای رشد زایشی در این گیاه می‌شود (تلاوت و سیادت، ۱۳۹۱). سویا سرمای خفیف را در مرحله گیاهچه بهتر از ذرت تحمل می‌کند. حداقل دما برای رشد سویا ۱۰ درجه سانتی‌گراد است و دمای کشنده ۲- درجه سانتی‌گراد می‌باشد. دماهای حداکثر بالاتر از ۳۵ درجه سانتی‌گراد برای رشد سویا نامطلوب به شمار می‌روند. به‌طور کلی، دماهای بالا سبب تسریع نمو، کاهش رشد رویشی، نقصان عملکردهای دانه و روغن و افت کیفیت روغن می‌گردند. رشد مطلوب سویا هنگامی به‌دست می‌آید که

میانگین شبانه روزی دما بین ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد باشد (خواجه پور، ۱۳۸۶). در ایران به وضوح مشاهده شده که گرمای خاک در تابستان به‌ویژه در مناطق گرمسیری از طریق کاهش فعالیت باکتری-های همزیست با ریشه‌ی سویا عملکرد این محصول را کاهش می‌دهد. در نتیجه باید تمهیدات لازم را جهت بهبود محیط رشد و نمو گیاه در نظر گرفت (سیادت و مرادی تلاوت، ۱۳۹۱). مقاومت سویا به خشکی کمی از آفتابگردان کمتر است و همانند ذرت در گروه گیاهان حساس به خشکی قرار می‌گیرد. ظاهراً ارقام پر کرک به خشکی مقاوم‌ترند. حداکثر عملکرد سویا زمانی به دست می‌آید که رطوبت خاک طی تمامی فصل رشد از ۵۰ درصد حد ظرفیت مزرعه پائین تر نرود (خواجه پور، ۱۳۸۶). رشد و عملکرد سویا در مراحل مختلف رشد به‌طور متفاوتی تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد. مشاهده شده که کمبود آب در مراحل گلدهی و تشکیل نیام‌ها موجب افت شدید عملکرد در مقایسه با دیگر مراحل رشد سویا می‌گردد. این موضوع تا اندازه‌ی زیادی با کاهش تعداد نیام‌های سویا به‌عنوان مهمترین جزء عملکرد دانه همراه است (فردریک و همکاران، ۲۰۰۱). همچنین کاهش تثبیت نیتروژن در پاسخ به خشکی موجب کاهش عملکرد دانه و پروتئین سویا می‌شود. البته در بین ارقام موجود حساسیت تثبیت نیتروژن به تنش متفاوت می‌باشد (کینگ و پورسل، ۲۰۰۱). سویا به سله و تراکم خاک بسیار حساس است. به‌همین جهت گیاه مناسبی برای خاک‌های سنگین نیست. بهترین رشد آن در بافت‌های متوسط مانند لوم، لوم شنی ریز، لوم سیلتی و سیلتی با زه‌کش خوب به دست می‌آید. اسیدیته حدود خنثی تا کمی اسیدی برای سویا مناسب می‌باشد. در خاک‌های با اسیدیته کمتر از ۵/۵ لازم است با مصرف ترکیبات کلسیم و منیزیم به ۶ رسانده شود. سویا در گروه گیاهان حساس به شوری قرار دارد (خواجه پور، ۱۳۸۶).

۱-۳- اهمیت و ارزش غذایی

مسئله اقتصاد صنعت سویا بسیار پیچیده است. ولی اصولاً سه بازار عمده برای دانه، روغن و کنجاله موجود است. روغن سویا یکی از اجزای اصلی بازار روغن خوراکی است و برای خوراک انسان به

شکل‌های مختلفی به‌خصوص مارگارین و روغن جامد تبدیل می‌گردد که از این نظر قابل رقابت با سایر روغن‌های نباتی است. کنجاله سویا به عنوان یک منبع پروتئین جهت اختلاط با سایر خوراک‌های دام و طیور به شدت مورد تقاضا است. روغن سویا پس از تصفیه در تولید فرآورده‌های گوناگون برای تغذیه انسان مصرف می‌شود. مصارف اصلی در فرم روغن مایع برای آشپزی، سالاد، مارگارین و روغن جامد می‌باشد (لطیفی، ۱۳۷۲). دانه‌ی سویا ۱۵ تا ۲۵ درصد روغن با کیفیت دارد که به دلیل درصد بالای اسیدهای چرب غیراشباع، در محدوده‌ی وسیعی از دمای محیط به حالت مایع وجود دارد. روغن سویا فاقد کلسترول و حاوی مقادیر زیادی اسیدهای چرب ضروری است و می‌تواند سبب جلوگیری از بیماری‌های قلبی شود. روغن سویا منبع گیاهی مناسبی برای تأمین اسیدهای چرب امگا ۳ است. وجود مقدار نسبتاً زیاد (۷ تا ۸ درصد) اسید لینولئیک، پایداری روغن را در مقابل اکسیداسیون کاهش می‌دهد (تلاوت و سیادت، ۱۳۹۱).

سویا همچنین منبع بسیار غنی از پروتئین است که بیشترین میزان جذب را دارد و به لحاظ کیفیت با پروتئین‌های حیوانی برابری می‌کند. پروتئین سویا برای کودکان و بزرگسالان مناسب است و برای افرادی که به شیر گاو و تخم مرغ حساسیت دارند جایگزین مناسبی خواهد بود. میزان پروتئین دانه‌ی سویا بسته به ارقام مختلف و همچنین شرایط محیطی تولید، بین ۳۰ تا ۵۰ درصد متغیر است که البته در بیشتر ارقام معمول سویا درصد پروتئین دانه ۳۰ تا ۳۵ درصد است (تلاوت و سیادت، ۱۳۹۱). کنجاله‌ی سویا عمده‌ترین کنجاله‌ای است که از دانه‌های روغنی به دست می‌آید. کنجاله‌ی سویا یک مکمل پروتئین عالی برای گاوهای شیری و گوساله است (احمدی، ۱۳۷۸). میزان پروتئین کنجاله‌ی سویا ۴۰ تا ۴۵ درصد است. کیفیت پروتئین سویا از نظر اسیدهای آمینه‌ی ضروری مناسب است. با این حال، از نظر سه اسیدآمینه‌ی متیونین، سیستئین و تریپتوفان تا اندازه‌ای دچار کمبود است. به دلیل میزان لایسین فراوان در بین اسیدهای آمینه، ترکیب پروتئین سویا با غلات در خوراک انسانی سبب تکمیل اسیدهای آمینه در جیره می‌گردد. ترکیب اسیدآمینه‌های دانه‌ی سویا در جدول

۱-۲ ذکر گردیده است. میزان سایر ترکیبات دانه‌ی سویا از جمله سلولز ۱۷ درصد، مواد قندی ۷ درصد و فیبر خام ۵ درصد است. دانه‌ی سویا منبع خوبی از فسفات، منیزیم، مس و ویتامین‌های گروه B و همچنین غنی از نظر میزان آهن، کلسیم و روی است (تلاوت و سیادت، ۱۳۹۱).

جدول ۱-۲- ترکیب اسید آمینه‌های دانه‌ی سویا

اسید آمینه‌های ضروری	درصد	اسید آمینه‌های غیر ضروری	درصد
لایسین	۶/۹	آرژینین	۸/۴
متیونین	۱/۶	هیستادین	۲/۶
سیستئین	۱/۶	تیروسین	۳/۹
تریپتوفان	۱/۳	سرین	۵/۶
ترونین	۴/۳	اسید گلوتامیک	۲۱
ایزولوسین	۵/۱	اسید آسپارتیک	۱۲
لوسین	۷/۷	گلايسين	۴/۵
فنیل آلانین	۵	آلانین	۴/۵
والین	۵/۴	پرولین	۶/۳

سویا قرن‌هاست که در کشور چین به‌عنوان یک ماده غذایی با ارزش برای انسان و دام و برای استخراج روغن کشت می‌شود. فرآورده‌های دیگری که از سویا به‌دست می‌آیند شامل آشامیدنی‌هایی نظیر شیر کامل یا مخلوط آن با شیر و یا مواد افزودنی به شیر جهت تغلیظ آن، جوانه‌های پخته شده سویا، فرآورده‌های تخمیر شده نظیر سس سویا، فرآورده‌های منعقد شده نظیر پنیر توفو، دانه‌های برشته و یا سرخ شده سویا، غذاهایی نظیر بیسکویت و کیک و شکلات سویا می‌شوند (احمدی، ۱۳۷۸).

اهداف مورد بررسی در این پژوهش به شرح زیر در نظر گرفته شد:

۱- بررسی تأثیر انواع ویتامین‌های گروه B بر رشد، پارامترهای فیزیولوژیک و عملکرد گیاه سویا

۲- بررسی تأثیر ملاتونین بر خصوصیات زراعی و فیزیولوژیک گیاه سویا

۳- تعیین مناسب‌ترین غلظت ملاتونین از لحاظ تأثیر بر صفات کیفی و کمی گیاه سویا

۴- بررسی پاسخ آن‌تی‌اکسیدانی گیاه سویا به محلول پاشی ویتامین‌های گروه B و ملاتونین

فصل دوم

بررسی منابع

۲-۱- تنش اکسیداتیو

رشد و عملکرد گیاهان زراعی وابسته به عوامل محیطی متعدد و اثرات متقابل آنها می‌باشد. رطوبت، دما، نور، مواد غذایی و گازها بسته به مقدار آنها در محیط می‌توانند رشد و نمو گیاهان را افزایش یا کاهش دهند. تنش‌های محیطی در حقیقت عوامل محدود کننده رشد می‌باشند که موجب کاهش عملکرد گیاهان می‌شوند (پسرکلی، ۲۰۱۶).

در شرایط تنش روزنه‌ها در گیاه بسته می‌شوند و غلظت CO_2 در بافت مزوفیل کاهش می‌یابد و متعاقب آن واکنش‌های تاریکی فتوسنتز مختل می‌شوند و محصولات حاصل از واکنش‌های تاریکی (ATP و NADPH) مصرف نمی‌شود. در چنین شرایطی و به دلیل عدم مصرف شدن مولکول NADPH، مقدار $NADP^+$ جهت دریافت الکترون کاهش می‌یابد. بنابراین اکسیژن در مسیر زنجیره انتقال الکترون به‌عنوان پذیرنده جانشین الکترون عمل می‌کند و سبب تولید سوپراکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، هیدروکسیل (OH^-) می‌گردد (وگا و همکاران، ۲۰۰۳). این گونه‌های اکسیژن برای سلول سمی می‌باشند و به‌طور جدی با مولکول‌های حیاتی از جمله لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک واکنش می‌دهند و موجب پراکسیداسیون لیپیدها و تولید آلدئیدهایی مانند مالون دی آلدئید (MDA)، دناتوره شدن پروتئین‌ها و تغییر و جهش در DNA می‌شوند (میتلر، ۲۰۰۲).

دما یکی از عوامل موثر بر تولید گیاهان بوده و افزایش آن می‌تواند بر قابلیت رشد و تکثیر گیاهان تأثیرگذار باشد (کایپ، ۲۰۰۸). به‌عنوان مثال گرما می‌تواند اثر منفی بر گرده‌افشانی و توسعه بساک و در نهایت کاهش تولید میوه در گوجه‌فرنگی داشته باشد (ساتو و همکاران، ۲۰۰۰). گرما قبل از گلدهی در لوبیا می‌تواند منجر به گرده و بساک غیرعادی گردد (پورچ و جان، ۲۰۰۱). همچنین محققین دریافته‌اند که گرما بعد از آغاز گلدهی تأثیر زیادی بر ظرفیت تولید کتان دارد (کراس و همکاران، ۲۰۰۳). گونه‌های فعال اکسیژن در ارگانسیم‌های هوازی در سلول‌های سالم در حد کنترل

شده تولید می‌گردد، اما با افزایش دما تنش اکسیداتیو می‌تواند یک عدم تعادل را بین تولید آن‌ها و قابلیت دفع مسمومیت و حذف واکنش‌های واسطه ایجاد نماید (کاوون و همکاران، ۲۰۰۱). گونه‌های فعال اکسیژن می‌توانند ترکیبات ضروری و اجزای حیاتی سلول را تخریب نموده (گور و همکاران، ۲۰۱۰) و غلظت‌های بالای آن‌ها می‌تواند با پراکسیداسیون لیپید، غشای سلولی را در معرض خسارت اکسیداتیو قرار دهد (لیو و هانگ، ۲۰۰۱). از آنجا که غشای تیلاکوئید محل واکنش‌های وابسته به نور فتوسنتز است، خسارت به این غشا ممکن است منجر به کاهش فعالیت فتوسنتزی شود (کیپ و بایل، ۲۰۱۳). غشای تیلاکوئید خسارت به غشای سلول سبب نشت الکتروولیت شده که می‌تواند به عنوان یک پاسخ اولیه گیاهان به تنش گرما مطرح شود که این تراوش می‌تواند ناشی از پرت شدن کلروفیل و تخریب در استروما باشد (جرجیوا، ۱۹۹۹). گرمای بیشتر از ۴۰ درجه سانتی‌گراد مجتمع‌های آنتن را تحت تأثیر قرار داده و گرمای بیش از ۳۰ درجه سانتی‌گراد نیز موجب کاهش کلی فعالیت فتوشیمیایی فتوسیستم II می‌گردد (بریان‌تایس و همکاران، ۱۹۹۶).

تنش کمبود آب یا خشکی شرایط عدم دسترسی به آب کافی است که ناشی از دوره‌های متناوب بدون آبیاری می‌باشد (تایز و همکاران، ۲۰۱۷). طبق این تعریف این اتفاق در خیلی از محیط‌های طبیعی و کشاورزی رخ می‌دهد و سبب کمبود آب در گیاهان می‌شود (اشنایدر و همکاران، ۲۰۱۸). وضعیت کمبود آب می‌تواند منجر به کاهش جذب کربن و بسته شدن روزنه‌ها و افزایش تنفس (فاروق و همکاران، ۲۰۰۹) و همچنین خسارت نور ناشی از بازدارندگی نوری، بازدارندگی فتوسیستم II و کاهش ظرفیت فتوسنتز و در نتیجه آزاد شدن انرژی اضافی القایی و در نهایت تولید گونه‌های فعال اکسیژن گردد (هوانگ و همکاران، ۲۰۱۳). تقریباً ۹۷ درصد آب جذب شده توسط گیاهان با استفاده از فرآیند تعرق و تنظیم دما صورت می‌گیرد. بنابراین کمبود آب در خاک می‌تواند ۴ تا ۵ درجه دمای گیاهان را افزایش دهد (تایز و همکاران، ۲۰۱۷). درجه حرارت بالا موجب اختلال در کارکرد صحیح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گردیده و در شرایط خشکی این مکانیسم‌ها نمی‌توانند عمل خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن را انجام دهند، بنابراین اثرات مضر آن‌ها افزایش می‌یابد (تایز و همکاران،

۲۰۱۷). علاوه بر این با افزایش کمبود آب، تولید گونه‌های فعال اکسیژن در گیاهان به‌طور خطی افزایش پیدا نموده و منجر به پراکسیداسیون لیپید و تخریب غشاء و پروتئین‌های ساختاری گردد (فاروق و همکاران، ۲۰۰۹).

۲-۲- ویتامین ب

از جمله ویتامین‌هایی که اخیراً مورد توجه محققین قرار گرفته است، ویتامین‌های گروه B می‌باشد که علاوه بر نقش تنش‌زدایی و افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌ها، می‌توانند با ورود به گیاه و مصرف آن در پیشگیری از کمبود ویتامین‌ها و افزایش کیفیت مواد غذایی مورد استفاده انسان مؤثر باشند. ویتامین‌های گروه «ب» در منابع غذایی به صورتی مرتبط با هم وجود دارند و از نظر تأثیرات فیزیولوژیک در بدن به خصوص در رابطه با سوخت‌وساز و متابولیسم بدن انسان نیز این وابستگی و ارتباط چشمگیر است. کمبود B₁ سبب بی‌اشتهایی، حالت کم‌حسی و سوزن سوزن شدن بدن، کرامپها و انقباضات عضلانی، درد و ناراحتی در عضلات ساق پا اتفاق می‌افتد. علائم و تظاهرات اولیه در اثر کمبود ویتامین B₂ شامل رنگ پریدگی دهان، ترکهای سطحی در گوشه لب‌ها، ورم ملتحمه و ترس از نور «فتوفوبیا»، کاهش نیروی جسمی، ناراحتی عمومی، ضعف بدن و لاغری می‌باشد. ویتامین B₃ برای سوخت‌وساز انرژی، بهداشت و لامت پوست، جهاز هاضمه و سیستم عصبی لازم است (میرعرب شاهی، ۱۳۸۷). ویتامین B₆ تقریباً در تمام غذاها موجود است ولی ممکن است در جریان آماده‌سازی غذا، این ویتامین تخریب شود و فرد دچار کمبود پیریدوکسین شود. مثلاً در سالهای گذشته شیرخوارانی که با ترکیبات شیر خشک ناقص تغذیه می‌شدند دچار کمبود ویتامین B₆ می‌شدند (برهانی، ۱۳۸۱). کمبود ویتامین B₆ موجب بروز علائم عصبی همراه با تشنج و درماتیت می‌شود (میرعرب شاهی، ۱۳۸۷). ویتامین‌های گروه B محلول در آب هستند که شامل تیامین (B₁)، ریبوفلاوین (B₂)، نیاسین (B₃)، اسیدپانتوتنیک (B₅)، پیریدوکسین (B₆)، بیوتین (B₇)، اسید فولیک (B₉) و کوبالامین (B₁₂) می‌باشد که می‌توانند نقش مهمی در مهار گونه‌های فعال اکسیژن و همچنین

تحریک غیرمستقیم ساخت پرولین داشته باشند که در مواجهه گیاه با تنش در مسیر پنتوز فسفات دخیل است (فاردت و همکاران، ۲۰۰۸، بارگیز و همکاران، ۲۰۰۷ و چن و ژیانگ، ۲۰۰۵). ویتامین-های گروه ب دارای نقش آنتی اکسیدانی در برابر تنش‌های اکسیداتیو می‌باشند و همچنین مسئول ترشح و بیوسنتز هورمون‌های طبیعی و افزایش تحمل به تنش‌ها می‌باشند (سمیع الله و همکاران، ۱۹۸۸). هفت ویتامین ب همراه با کوفاکتورهایی که به آن‌ها تبدیل می‌شوند، در گیاه یافت می‌شود، تیامین به تیامین دی فسفات، ریپوفلاوین به FAD و FMN، نیاسین به $NADP^+$ ، پانتوتنات (B_5) به کوآنزیم A و گروه پروتز پروتئین حامل آسیل، پیریدوکسین به پیریدوکسال ۵۹-فسفات، بیوتین به زنجیره جانبی بیوتینیل آنزیم و اسیدفولیک به فولات‌های یک کربن و جایگزین مشتقات آن‌ها تبدیل می‌شوند (آنتونوپولو و همکاران، ۲۰۰۵).

۲-۲-۱- تیامین

تیامین (B_1) به‌عنوان کوآنزیم آنزیم دکربوکسیلاز در تنفس سلولی نقش دارد و سبب ورود مواد اکسیدکننده به چرخه کربس برای تولید انرژی و ایجاد مقاومت به تنش‌های زنده و غیرزنده در گیاهان می‌گردد (گویار، ۲۰۱۰). آن و همکاران (۲۰۰۵) نقش تیامین را در القای مقاومت در گیاهان در طیف وسیعی از پاتوژن‌ها گزارش نمودند. وینچزی و همکاران (۲۰۱۶) نیز بیان نمودند که کاربرد ویتامین B_1 (تیامین) موجب کاهش شدید سطوح بیماری ویروس Y در سیب‌زمینی می‌شود. همچنین محلول‌پاشی تیامین روی گل ژبراً سبب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی این گیاه شد (منصوری و همکاران، ۱۳۹۳). با توجه به اینکه تیامین خاصیت آنتی-اکسیدانی دارد و به‌عنوان کوآنزیم یک سری از آنزیم‌ها، همچنین به‌عنوان پیش‌ماده نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید می‌باشد که در زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی ایفای نقش می‌نماید، لذا پیش-تیمار بذور با این ویتامین می‌تواند نقش مؤثری در کاهش خسارت ناشی از تنش‌ها داشته باشد (جوادی و همکاران، ۱۳۹۴). گزارش شده است که تیامین سبب افزایش تعداد گل در گل داوودی

می‌شود (الفخری و الطیب، ۲۰۰۳). یافته‌های حاصل از پژوهش‌های دیگر روی گل کوکب نیز نشان - می‌دهد که تیامین موجب افزایش وزن تر گیاه، تعداد گل و رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شود (مهقوب و همکاران، ۲۰۱۱).

۲-۲-۲- ریوفلاوین

ریوفلاوین عموماً در بافت‌های گیاهی یافت می‌شود ولی فقط مقدار کمی از آن به‌صورت آزاد وجود دارد و اغلب به‌صورت کوآنزیم‌های فلاوین مونوکلوئوتید و فلاوین آدنین دی نوکلئوتید دیده می‌شود که نقش مهمی در فتوسنتز دارا می‌باشد (مر، ۱۹۵۷). ریوفلاوین همچنین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در مهار پراکسیداسیون لیپیدها نقش دارد (پاکر و همکاران، ۱۹۹۶). ریالز و همکاران (۱۹۹۶) و دلانی (۱۹۹۷) شواهدی ارائه کردند که ریوفلاوین به‌عنوان مسیر سیگنالینگ جدید عمل می‌کند و منجر به مقاومت سیستماتیک، فعال شدن PR-genes در آرابیدوپسیس و تنباکو و تحریک مقاومت به عوامل بیماری‌زا می‌شود. گزارش شده است که کاربرد خارجی ریوفلاوین (B_2) مقاومت گیاه برنج را در برابر بیماری زنگ غلاف در برنج افزایش می‌دهد (طاهری و هافت، ۲۰۰۷). استفاده از تیامین و ریوفلاوین موجب افزایش میزان فنل کل در گیاه سویا نسبت به گیاهان شاهد گردید (عبدل منامی، ۲۰۱۱). استفاده از آرژنین به همراه ریوفلاوین موجب افزایش رشد رویشی، عملکرد و کیفیت میوه در گیاه انگور گردید (بلال و همکاران، ۲۰۱۶).

۲-۲-۳- نیاسین

نیکوتین‌آمید (نیاسین) یا ویتامین B_3 به‌طور وسیعی در گیاهان و جانوران یافت می‌شود. نیاسین احتمالاً پایدارترین ویتامین گروه B می‌باشد و تحت تأثیر گرما، نور، اکسیژن، اسید یا قلیا قرار نمی‌گیرد (قنبرزاده، ۱۳۸۲). نام تجاری نیکوتین‌آمید نیاسین امید است (ربانی چادگانی، ۱۳۸۷) و با نام نیکوتینیک اسیدآمید نیز شناخته می‌شود (عبدالحمید و همکاران، ۲۰۱۳). نیکوتین‌آمید به‌عنوان جزء

اصلی کوآنزیم‌های پیریدین دی‌نوکلئوتید NADH و NADPH که در خیلی از واکنش‌های اکسیداسیون و احیاء در سلول‌های زنده دخیل هستند شناخته شده است (برگلاند، ۱۹۹۴). تحقیقات شہات و همکاران (۲۰۱۴) روی گیاه *Lupinus termis* نشان داد که محلول پاشی نیاسین اثر قابل توجهی بر میزان پروتئین و روغن دانه داشت. نیکوتین‌آمید موجب بهبود معنی‌دار خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی و همچنین غلظت قندهای محلول، پرولین، آمینواسیدها و محتوای کل نیتروژن و مواد معدنی در گیاه باقلا تحت تنش شوری گردید (عبدالحمید و همکاران، ۲۰۱۳). حسنین و همکاران (۲۰۰۹) گزارش نمودند که نیکوتین‌آمید به عنوان سد محافظتی از کلروپلاست و دیگر غشاهای سلول در برابر سمیت شوری و نگهداری یکپارچگی غشا عمل می‌نماید. به‌علاوه نیکوتین‌آمید نقش مهمی در فعالسازی آنزیم‌هایی که تنظیم فتوسنتز و احیاء کربن را انجام می‌دهند به‌عهده دارد (تیلور و همکاران، ۱۹۸۲)

۲-۲-۴- اسیدپانتوتنیک

این ویتامین در سال ۱۹۳۸ توسط ویلیامز کشف و معرفی گردید. در سال ۱۹۴۰ لیپمن ساختار آن را مشخص نمود. شکل کوآنزیمی اسیدپانتوتنیک کوآنزیم A (COA) نامگذاری شده است. کوآنزیم A از نظر زیستی در دادن و گرفتن گروه استیل بسیار فعال است (ربانی چادگانی، ۱۳۸۷). این ویتامین به‌سه شکل در می‌آید و به‌نام‌های B₅، پانتنول و کلسیم پانتوتنات نیز نامیده می‌شود. اسید-پانتوتنیک مصنوعی به شکل پانتوتنیک کلسیم و به‌رنگ سفید کریستالی دیده می‌شود. مطالعات کمی در مورد سنتز و نقش پانتوتنات متمرکز در گیاهان انجام شده است (اوتنهوف و همکاران، ۲۰۰۴). پیش تیمار بذور گیاه لوبیا سبز با اسیدپانتوتنیک افزایش قابل توجهی در قطر ساقه، رطوبت نسبی، کلروفیل a و b، سطح برگ و صفات کیفی را به‌دنبال داشت (حلفی، ۱۳۹۷). محلول‌پاشی ۵۰ پی‌پی‌ام اسیدپانتوتنیک سبب افزایش وزن خشک غلاف، تعداد دانه در غلاف، عملکرد سبز، عملکرد دانه،

رنگدانه‌های برگ، فلاونوئید و عملکرد پروتئین در گیاه لوبیا سبز گردید (حیدری خوشکاروندانی، ۱۳۹۶).

۲-۲-۵- پیریدوکسین

پیریدوکسین (B₆) یکی دیگر از ویتامین‌های محلول در آب است. پیریدوکسین، پیریدکسال و پیریدکسامین مجموعاً ویتامین B₆ نامیده می‌شوند. به‌عنوان کوفاکتور برای خیلی از واکنش‌های آنزیمی است خصوصاً آن‌هایی که درگیر در متابولیسم آمینو اسید هستند. B₆ برای تمام ارگانیسم‌ها مورد نیاز است (ترائل عزیز و همکاران، ۲۰۰۳). این ویتامین برای رشد و توسعه گیاهان و تحمل رادیکال‌های اکسیداتیو تولید شده توسط تنش‌های غیرزنده الزامی می‌باشد (چن و ژیانگ، ۲۰۰۵). مطالعات متعددی بیانگر اثر مثبت کاربرد پیریدوکسین در افزایش جذب ریشه و سرعت ظهور برگ و افزایش عملکرد (خان و همکاران، ۱۹۹۶ و ایوب و همکاران، ۱۹۹۹)، افزایش جذب نیتروژن و فسفر (سمیع اله و همکاران، ۱۹۹۲)، افزایش درصد جوانه‌زنی و وزن خشک گیاه‌چه و تأثیر معنی‌دار بر مقدار کاتالاز و فعالیت آنزیم پراکسیداز بوده است (ارادتمند اصلی و هوشمندفر، ۲۰۰۱). در مطالعه هاواکس و همکاران (۲۰۰۹) نیز نشان داده شد که کمبود ویتامین B₆ موجب افزایش حساسیت به تنش نور زیاد و اکسیداسیون نوری می‌گردد.

۲-۳- ملاتونین

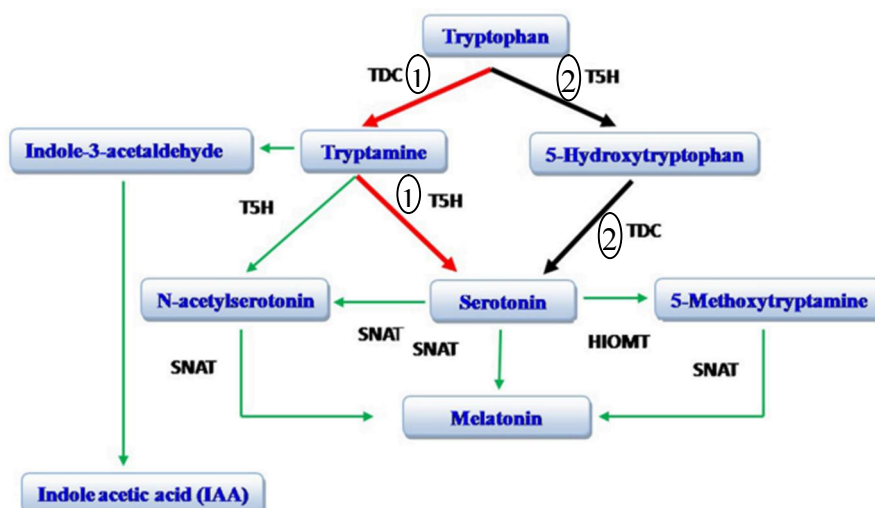
با توجه به تغییرات آب و هوایی نیاز به توسعه استراتژی‌های کشاورزی قابل تطابق با تغییرات محیطی ضروری می‌باشد (رای ورو و همکاران، ۲۰۰۷). ملاتونین از جمله موادی است که اخیراً به صورت کاربرد خارجی جهت افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌ها و یا افزایش عملکرد و کیفیت آن‌ها در شرایط مزرعه استفاده می‌شود. ملاتونین مولکولی است که سودمندی‌اش برای انسان به‌خوبی شناخته

شده است. ملاتونین همچنین در خیلی از فرآیندهای فیزیولوژیکی در گیاهان به صورت غیرمستقیم (واسطه) نقش دارد (لیو و همکاران، ۲۰۱۵). ملاتونین یک ترکیب طبیعی ایندول آمین مشتق شده از تریپتوفان (ان استیل ۵ متوکسی تریپتامین) است که ابتدا تصور می‌شد که فقط در جانوران وجود دارد (جاناس و پاسمیک، ۲۰۱۳). این ماده در غده صنوبری گاو در سال ۱۹۵۸ کشف شد (لرنر و همکاران، ۱۹۵۸). بعد از این کشف برای چهار دهه‌ی بعد منحصراً به‌عنوان یک هورمون حیوانی خصوصاً نوروهورمون مطرح می‌شد (ریتر، ۱۹۹۱). در سال ۱۹۹۳ وجود ملاتونین در گیاه *Pharbitis nil* تشخیص داده شد ولی این اطلاعات تا سال ۱۹۹۵ گزارش نشد (ون تاسل و همکاران، ۱۹۹۵). در سال ۱۹۹۵ وجود ملاتونین در گیاهان تک لپه و دولپه خوراکی تشخیص داده شد (دوبلز و همکاران، ۱۹۹۵ و هاتوری و همکاران، ۱۹۹۵). ملاتونین می‌تواند مستقیماً از سروتونین در یک فرآیند واسط و کاتالیز شده توسط $^1\text{HIOMT}/^2\text{ASMT}$ و $^3\text{SNAT}$ تولید شود که البته مسیر ترجیحی در گیاهان با مسیر سنتز اکسین (وابسته به تریپتوفان) اشتراک دارد (آرنائو و هراندز رویز، ۲۰۱۴ و بایون و همکاران، ۲۰۱۴) (شکل ۱-۲). ایندول استیک اسید (IAA) هم همچنین از تریپتامین و ایندول ۳ استالدئید ایجاد شده در فرآیند واسط تولید می‌شود (کریستانا و همکاران، ۲۰۰۹). ساختار شیمیایی ملاتونین نیز در شکل ۲-۲ ارائه شده است.

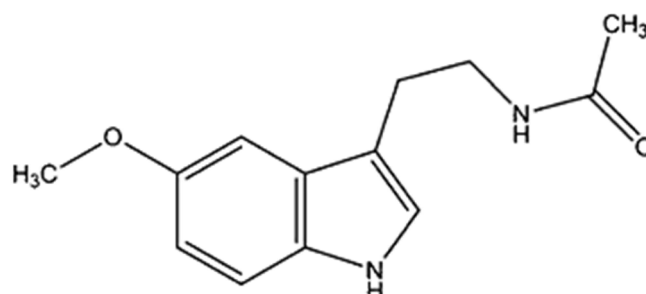
۱- Hydroxyindole-*O*-methyltransferase

۲- Acetyl serotonin methyl transferase

۳- Serotonin N-acetyltransferase



شکل ۲-۱- بیوسنتز ملاتونین. خطوط شماره ۱ مسیر ترجیحی در گیاهان و خطوط ۲ مسیر اصلی در حیوانات. TDC (تریپتوفان دکربوکسیلاز)، T5H (تریپتوفان ۵ هیدروکسیلاز)، SNAT (سروتونین ان استیل ترانسفراز)، HIOMT (هیدروکسی ایندول ا متیل ترانسفراز - همچنین به عنوان استیل سروتونین متیل ترانسفراز (ASMT) شناخته می‌شود. (آرنائو و هرماندز رویز، ۲۰۱۴)

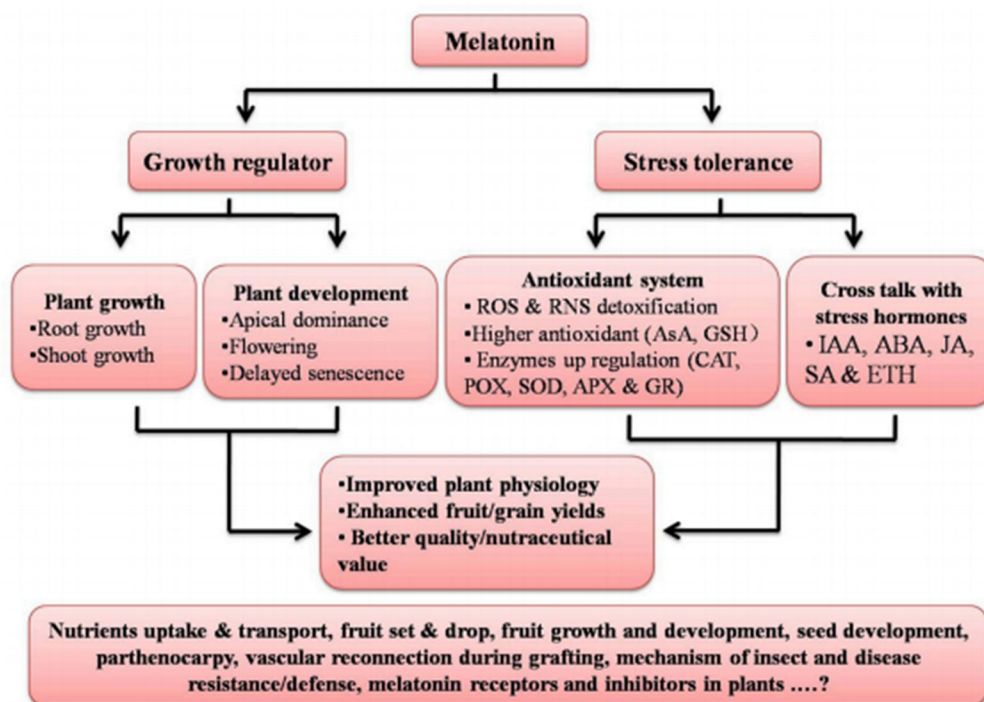


شکل ۲-۲- ساختار شیمیایی ملاتونین (گومز و همکاران، ۲۰۱۵)

۲-۳-۱- نقش ملاتونین در گیاهان

در حال حاضر مشخص شده است که ملاتونین در قسمت‌های مختلف گیاهان شامل ریشه، ساقه، برگ، گل، میوه و دانه موجود است (جمیما و همکاران، ۲۰۱۱ و ریتر و همکاران، ۲۰۱۵). ملاتونین اعمال مختلف فیزیولوژیکی را در گیاهان موجب می‌شود. این ماده نقش مهمی در تنظیم رشد و توسعه گیاهان از قبیل جوانه‌زنی بذر، ریشه‌زایی و تحریک رشد رویشی و گلدهی و پاسخ به تنش بر عهده دارد (آرنائو و هراندز رویز، ۲۰۱۴).

ملاتونین به‌عنوان یک ایندول آمین در نقش یک شبه اکسین در تنظیم توسعه ریشه در گیاهان عمل می‌نماید (مارچ و همکاران، ۲۰۰۱). این ترکیب علاوه بر نقش پیام‌رسانی تاریکی و محرک تنظیم‌کننده‌های رشد، نقش قابل توجهی به‌عنوان فعالیت آنتی‌اکسیدانی مرتبط با محافظت گیاهان در برابر تنش‌های اکسیداتیو داخلی و محیطی بازی می‌کند (ریتر و همکاران، ۲۰۱۵ و ژانگ و همکاران، ۲۰۱۵). ملاتونین همچنین ژن‌های ضدتنش درگیر در تنظیم فتوسنتز، چرخه سلول، رونوشت برداری از DNA، متابولیسم کربوهیدرات و بیوسنتز لیپید را در شرایط تنش‌های غیر زنده مجدداً تنظیم می‌نماید (آرنائو و هراندز رویز، ۲۰۱۴). به‌طور خاص ملاتونین نقش مهمی در بهبود فرآیند فتوسنتز تحت شرایط تنش‌های محیطی دارد. ملاتونین موجب اصلاح عملکرد روزنه از طریق تعادل آب و کاهش تولید ABA در شرایط تنش خشکی می‌شود (لای و همکاران، ۲۰۱۵). ملاتونین همچنین در کارایی انتقال الکترون تحت شرایط تنش کمبود آب مشارکت دارد (وانگ و همکاران، ۲۰۱۳b، ژانگ و همکاران، ۲۰۱۳ و منگ و همکاران، ۲۰۱۴). خلاصه عملکرد ملاتونین در گیاهان در شکل ۲-۳ نشان داده شده است (نواز و همکاران، ۲۰۱۶).



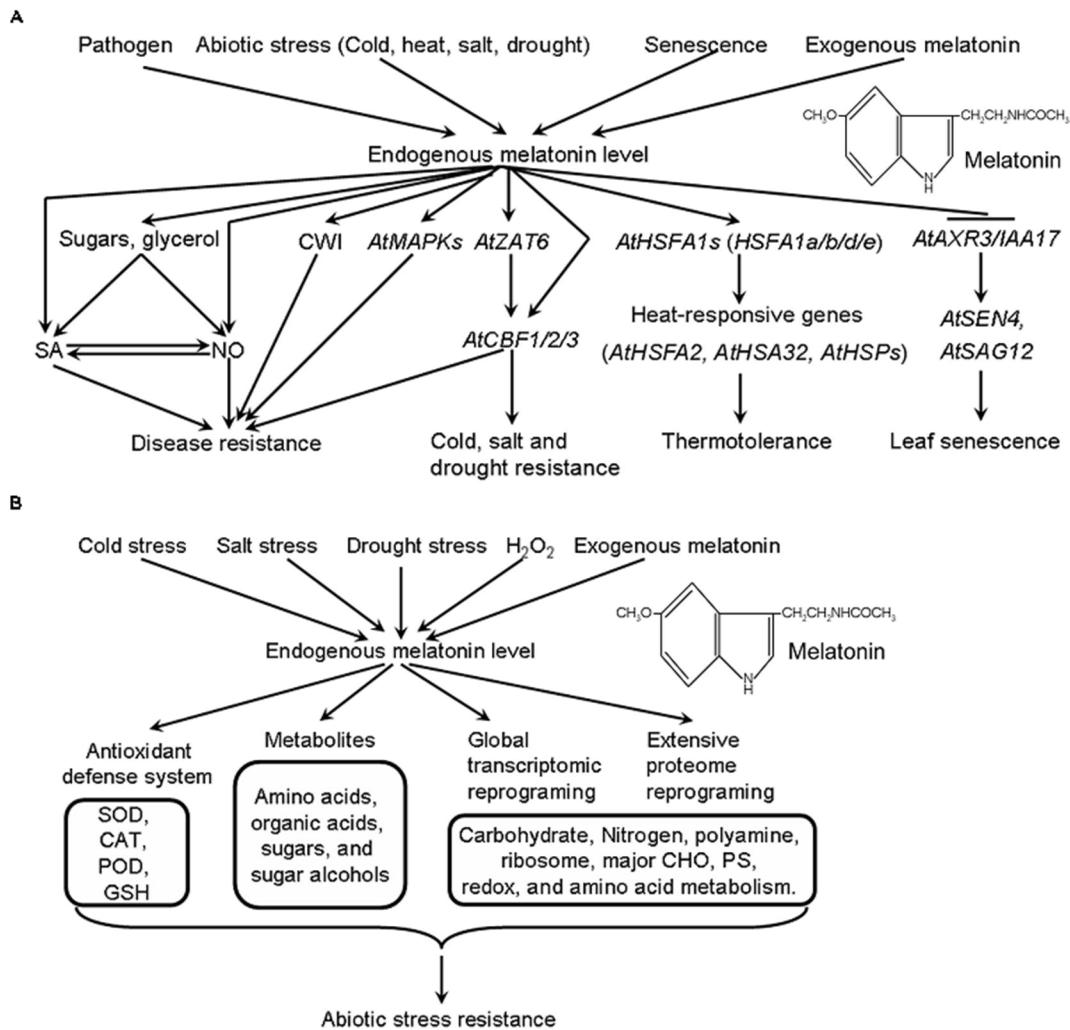
شکل ۲-۳- خلاصه عملکرد ملاتونین در گیاهان. ROS (گونه‌های فعال اکسیژن)، RNS (گونه‌های فعال نیتروژن)، ASA (اسید آسکوربیک)، GSH (گلووتاتیون)، CAT (کاتالاز)، POX (پراکسیداز)، SOD (سوپراکسید دیسموتاز)، APX (آسکورات پراکسیداز)، GR (گلووتاتیون ردوکتاز)، IAA (ایندول ۳ استیک اسید)، ABA (اسید آبسزیک)، JA (جاسمونیک اسید)، SA (اسید سالیسیلیک) و ETH (اتیلن). (نواز و همکاران، ۲۰۱۶)

ملاتونین به‌عنوان خط اول دفاع و حسگر داخلی تنش اکسیداتیو در گیاهان گزارش شده است (تان و همکاران، ۲۰۱۱). این ماده از گیاهان در برابر خسارات ایجاد شده به‌واسطه محرک‌های تنش شامل فلزات سنگین، اشعه ماوراء بنفش و نوسانات دمایی حفاظت می‌کند. همچنین پیری برگ را به تأخیر می‌اندازد (آرنائو و هرماندز رویز، ۲۰۰۹ و وانگ و همکاران، ۲۰۱۲). فعالیت آنتی‌اکسیدانی ملاتونین شامل ۱- پاکسازی مستقیم رادیکال‌های آزاد، ۲- تحریک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ۳- تقویت فعالیت دیگر آنتی‌اکسیدان‌ها و ۴- افزایش کارایی زنجیره انتقال الکترون میتوکندریایی و در نتیجه تخفیف تراوش الکترون و کاهش تولید رادیکال‌های آزاد می‌باشد (گالانو و همکاران، ۲۰۱۱، پارادس و همکاران، ۲۰۰۹، رودریگز و همکاران، ۲۰۰۴ و سولیزمونوس و همکاران، ۲۰۱۱). گزارش شده که

ملاتونین می‌تواند از گیاهان در برابر تنش‌های غیرزنده از قبیل شوری، سرما، خشکی و عفونت‌های بیماری‌زا محافظت کند (ین و همکاران، ۲۰۱۳، باجو و همکاران، ۲۰۱۴، وانگ و همکاران، ۲۰۱۴ و شی و همکاران، ۲۰۱۵ a, b و c).

برای مثال این مولکول مقاومت به خشکی، شکل‌گیری ریشه جانبی و سبز شدن بذر خیار را تحریک کرده است (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۳). اعمال تیمار با ملاتونین اثرات منفی تنش خشکی را در گیاه گوجه‌فرنگی تخفیف داد و گیاه را قادر به حفظ ظرفیت فتوسنتزی خود نمود. بیان شده است که ملاتونین سبب افزایش قدرت ریشه، تخفیف اثرات تنش‌های دیگر مرتبط با خسارت به مرکز واکنش فتوسیستم II، به حداقل رساندن اثرات منفی تنش خشکی توسط تنظیم سیستم آنتی‌اکسیدانی و کاهش محتوای مواد سمی سلول می‌گردد (لیو و همکاران، ۲۰۱۵). ملاتونین موجب کاهش سرعت فرآیند پیری میوه هلو و افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز و همچنین کاهش فعالیت لیپوکسیژناز، سطح آنیون سوپراکسید و پراکسید هیدروژن و محتوای مالون دی‌آلدئید گردید. این نتایج نشان می‌دهد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی ملاتونین در تمیز کردن آنیون سوپراکسید و پراکسید هیدروژن با حفظ تمامیت غشاء مرتبط است که بخشی از مکانیسم درگیر در تأخیر پیری میوه هلو می‌باشد (گائو و همکاران، ۲۰۱۶). نشان داده شده است که ملاتونین اثر آنتی‌اکسیدانی قویتری نسبت به ویتامین C، E و K دارد و ممکن است ناشی از نفوذ بهتر به داخل ترکیبات سلولی باشد. در حالی که ویتامین‌ها فقط قادر به انتقال انتخابی هستند (بانفونت-روزلوت و کولین، ۲۰۱۰). مکانیسم فعالیت ملاتونین هنوز در گیاهان به‌طور کامل آشکار نشده است، به هر حال این ماده رشد و توسعه گیاهان را با عمل کردن به‌عنوان آنتی‌اکسیدان، تثبیت‌کننده غشاء و با تنظیم کاهش یا افزایش بیان ژن تغییر می‌دهد (نواز و همکاران، ۲۰۱۶). اخیراً، آرنائو و هرناندز رویز (۲۰۱۴) پیشنهاد کردند که برخی از عملکردهای ملاتونین در گیاهان با عمل نمودن شبیه به ایندول ۳ استیک اسید (IAA) به انجام می‌رسد.

در شکل ۲-۴ مدل فرضی پاسخ تخفیفی ملاتونین به تنش در آرابیدوپسیس (A) و برمودا گراس (B) تشریح شده است (شی و همکاران، ۲۰۱۶).



شکل ۲-۴- مدل فرضی پاسخ تخفیفی ملاتونین به تنش در آرابیدوپسیس (A) و برمودا گراس (B). A: افزایش سریع و معنی‌دار سطوح ملاتونین درونی در شرایط تنش‌های مختلف پس از ورود ملاتونین افزایش رونوشت‌برداری تعدادی از فاکتورهای رونویسی مرتبط با تنش (*AtAXR3/IAA17* و *AtZAT6*, *AtCBFs*, *AtHSFA1s*), فعال نمودن سیگنالینگ *MAPK*, *CW* و واکولار اینورتاز (VI). تنظیم متابولیسم کربوهیدرات خصوصاً قندها. نتیجه تأثیرات این چرخه موجب بهبود مقاومت به تنش در آرابیدوپسیس می‌شود. B: تحریک معنی‌دار سطوح ملاتونین درونی در پاسخ به تنش‌های غیر زنده. ورود ملاتونین موجب افزایش سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی، تحریک گسترده رونویسی مجدد متابولیت‌های اولیه، ترانسکریپتوم و پروتئوم. *CAT* (کاتالاز)، *SOD* (سوپراکسید دیسموتاز)، *POD* (پراکسیداز)، *GSH* (گلوتاتیون)، *CHO* (کربوهیدرات) و *PS* (فتوستنتز).

ملاتونین هم طبیعت آب‌دوست و چربی‌دوست دارد و می‌تواند از موانع فیزیولوژیکی به راحتی عبور نماید و سریع‌ترین انتقال به داخل سلول را داشته باشد (گالانو و همکاران، ۲۰۱۱ و تان و همکاران، ۲۰۱۱). استفاده از ملاتونین در گیاه‌چه‌های گندم تحت تنش سرما موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل سوپراکسیددیس‌موتاز، گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز و در نتیجه بهبود رشد گیاهان و کاهش خسارت اکسیداتیو گردید (ترک و همکاران، ۲۰۱۴). محلول‌پاشی ۲۰۰ میکرومولار ملاتونین توقف رشد ناشی از تنش سرما را به‌طور معنی‌داری کاهش و سرعت بهبودی گیاهان تحت تنش را در گیاهان خربزه تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۶ c). کاربرد ملاتونین درصد جوانه‌زنی بذرهای *Arabidopsis thaliana* تحت تنش گرما را در مقایسه با گیاهان شاهد بیش از ۶۰ درصد افزایش داد که احتمالاً ناشی از خاصیت قوی آنتی‌اکسیدانی ملاتونین می‌باشد (هرناندز و همکاران، ۲۰۱۵). همچنین محلول‌پاشی ۱۰ میکرومولار ملاتونین موجب تخفیف بازدارندگی نوری و نشت الکترولیت‌های گیاه گوجه‌فرنگی تحت تنش گرما گردید (زو و همکاران، ۲۰۱۶). اثرات مثبت کاربرد ملاتونین در کاهش خسارت اکسیداتیو ایجاد شده توسط تنش کمبود آب در گیاهان *Cucumis sativus* (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۴) و *Lupinus albus* (آرنائو و هرناندز رویز، ۲۰۰۷) گزارش شده است. لی و همکاران (۲۰۱۴ و ۲۰۱۵) دریافتند که استفاده از ملاتونین موجب مقاومت گیاهان آرابیدوپسیس و تنباکو در برابر عوامل بیماری‌زا می‌گردد که ممکن است با سطح سالیسیلیک اسید درونی مرتبط باشد. کاربرد ملاتونین موجب افزایش میزان فتوسنتز خالص، حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II و محتوای کل کلروفیل در گیاهان خیار تحت تنش شوری گردید (وانگ و همکاران، ۲۰۱۶). همچنین محققین گزارش نمودند که پیش تیمار بذور کلم قرمز (*Brassica oleracea rubrum*) با ملاتونین اثرات سمی یون-های مس را در طی جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه حذف نمود (پاسمیک و همکاران، ۲۰۰۸).

فصل سوم

مواد و روشها

این پژوهش در سه بخش آزمایشگاهی، گلدانی و مزرعه‌ای در آزمایشگاه و مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود روی گیاه سویا رقم DPX اجرا گردید.

۳-۱- بخش آزمایشگاهی

این آزمایش به صورت فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار در محیط کاملاً کنترل شده در ژرمیناتور انجام شد. تیمارها شامل پیش تیمار بذر با ۳ سطح ملاتونین (صفر، ۱/۱ و ۲/۲ میلی مولار) و ۶ سطح ویتامین‌های گروه B (شاهد، تیامین، ریبوفلاوین، نیاسین، اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین هر کدام با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بودند. بذور جهت ضد عفونی به مدت ۳۰ ثانیه در محلول وایتکس ۱۰ درصد غوطه‌ور و سپس با آب فراوان شستشو شدند. بذور سویا با غلظت‌های مذکور ویتامین‌های گروه B و ملاتونین به مدت ۷ ساعت پیش تیمار شدند. برای اندازه‌گیری پارامترهای جوانه‌زنی از پتری دیش‌هایی با قطر ۱۲ سانتی‌متر که قبلاً در محلول وایتکس استریل شده بودند با بستر حوله کاغذی استفاده و در هر پتری دیش ۵۰ عدد بذر سالم قرار داده شد. بذرها روزانه و در ساعت ۹ صبح بازبینی و تعداد بذور جوانه‌زده ثبت شدند. ظهور ریشه‌چه به طول ۲ میلی-متر به عنوان جوانه زدن بذر تلقی و در پایان روز هشتم بذرهای جوانه‌زده در هر تیمار شمارش شد.

۳-۱-۱- صفات مربوط به جوانه‌زنی

صفات مانند طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و گیاهچه، درصد و سرعت جوانه‌زنی و قدرت گیاهچه با استفاده از روابط ۳-۱ تا ۳-۴ اندازه‌گیری شدند (اکبری و همکاران، ۲۰۰۷).

(رابطه ۳-۱) $100 \times (\text{تعداد کل بذرها} / \text{تعداد بذرهای جوانه زده تا روز هشتم}) = \text{درصد جوانه‌زنی}$

(رابطه ۳-۲) $GR = \sum_{i=1}^n \frac{ni}{ti}$ سرعت جوانه‌زنی

(n = تعداد بذور جوانه زده در هر شمارش و ti = تعداد روز شمارش تا روز n ام)

(رابطه ۳-۳) ارتفاع گیاهچه (میلی‌متر) \times درصد جوانه‌زنی = شاخص طولی قدرت گیاهچه

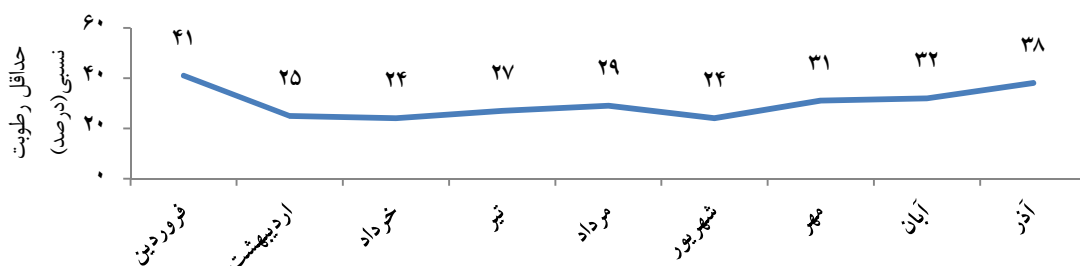
(رابطه ۳-۴) وزن خشک گیاهچه (گرم) × درصد جوانه‌زنی = شاخص وزنی قدرت گیاهچه

برای اندازه‌گیری وزن خشک ریشه‌چه و گیاهچه نمونه‌ها در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه آون به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند و توزین نمونه‌ها با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ صورت گرفت. برای اندازه‌گیری طول گیاهچه و ریشه‌چه از کاغذ شطرنجی استفاده شد.

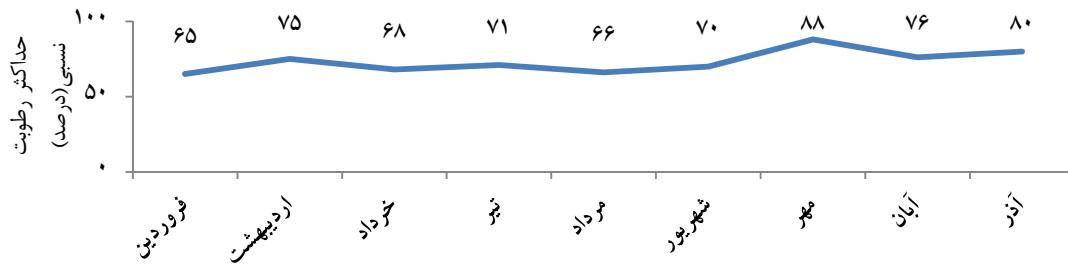
۳-۲- بخش مزرعه‌ای

۳-۲-۱- زمان و مشخصات محل اجرای آزمایش

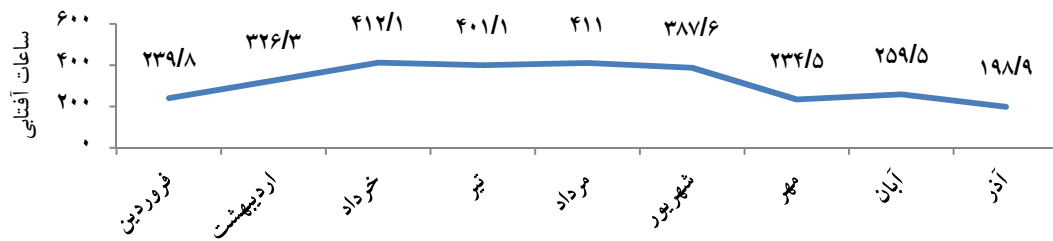
آزمایش در سال ۱۳۹۶ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود، واقع در شهر بسطام (کیلومتر ۸ جاده شاهرود- آزادشهر) اجرا شد. شهر بسطام در عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۲۹ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۵ درجه شرقی از نصف النهار گرینویچ واقع شده است و میانگین ارتفاع آن از سطح دریا ۱۳۶۶ متر است. منطقه بسطام دارای اقلیم سرد و خشک است. بارندگی‌ها عمدتاً در فصل پاییز و بهار رخ می‌دهد. آمار هواشناسی سال ۹۶ بر اساس اطلاعات ثبت شده در ایستگاه هواشناسی بسطام در اشکال ۳-۱ تا ۳-۶ ارائه شده است.



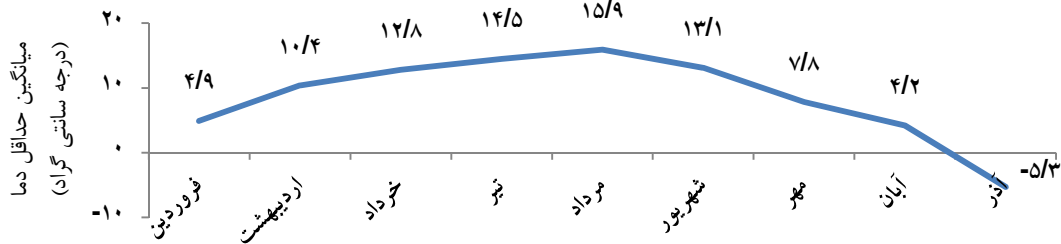
شکل ۳-۱- میانگین حداقل رطوبت نسبی در منطقه بسطام فروردین تا آذرماه سال ۱۳۹۶



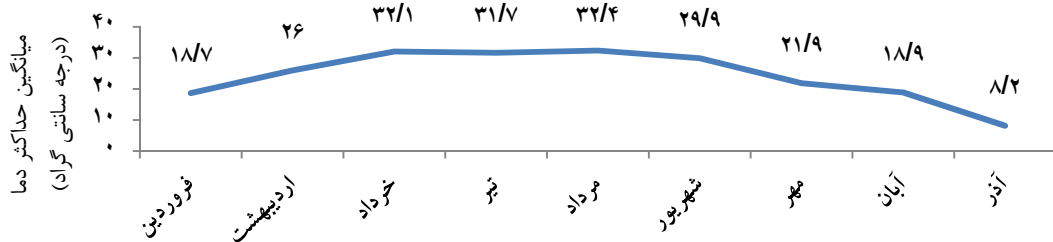
شکل ۲-۳- میانگین حداکثر رطوبت نسبی در منطقه بسطام فروردین تا آذرماه سال ۱۳۹۶



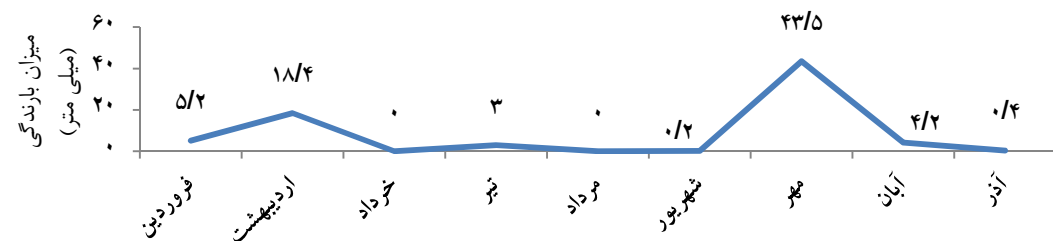
شکل ۳-۳- میانگین ساعات آفتابی در منطقه بسطام فروردین تا آذرماه سال ۱۳۹۶



شکل ۴-۳- میانگین حداقل دما در منطقه بسطام فروردین تا آذرماه سال ۱۳۹۶



شکل ۵-۳- میانگین حداکثر دما در منطقه بسطام فروردین تا آذرماه سال ۱۳۹۶



شکل ۶-۳- میزان بارندگی در منطقه بسطام فروردین تا آذرماه سال ۱۳۹۶

۳-۲-۲- خصوصیات خاک محل اجرای آزمایش

نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه در عمق صفر تا ۳۰ سانتی متری در جدول ۱-۳ نشان داده شده است.

جدول ۱-۳- نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

بافت	اسیدیته	هدایت الکتریکی ($ds.m^{-1}$)	کربن آلی (%)	نیترژن کل (%)	پتاسیم قابل دسترس (ppm)	فسفر قابل دسترس (ppm)
لوم سیلتی	۷/۷۸	۰/۹۵	۰/۵	۰/۰۵	۲۱۵	۱۲/۲

۳-۲-۳- مشخصات طرح آزمایشی بخش مزرعه

تیمارهای این آزمایش شامل ۳ سطح محلول پاشی ملاتونین (صفر (a_1), a_2) و a_3) میلی-مولار) و ۶ سطح محلول پاشی با ویتامین‌های گروه B (شاهد (b_1), تیامین (b_2), ریبوفلاوین (b_3), نیاسین (b_4), اسیدپانتوتنیک (b_5) و پیریدوکسین (b_6) هر کدام با غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) بودند که در قالب یک آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد (جدول ۲-۳). تعداد تیمارها در مجموع ۱۸ و تعداد کل کرت‌های آزمایشی ۵۴ کرت بود (شکل ۳-۷).

تکرار ۳	a_1	a_1	a_2	a_3	a_3	a_1	a_2	a_3	a_2	a_2	a_2	a_3	a_1	a_1	a_3	a_3	a_1	a_2
	b_5	b_4	b_6	b_1	b_4	b_6	b_5	b_6	b_4	b_1	b_2	b_5	b_3	b_2	b_3	b_2	b_1	b_3
تکرار ۲	a_2	a_3	a_3	a_1	a_2	a_1	a_3	a_3	a_1	a_2	a_1	a_1	a_2	a_1	a_3	a_2	a_2	a_3
	b_3	b_3	b_5	b_1	b_1	b_2	b_1	b_2	b_4	b_6	b_3	b_6	b_4	b_5	b_6	b_2	b_5	b_4
تکرار ۱	a_2	a_3	a_2	a_3	a_1	a_2	a_1	a_3	a_2	a_1	a_1	a_3	a_2	a_3	a_1	a_3	a_2	a_1
	b_5	b_6	b_4	b_2	b_3	b_2	b_5	b_4	b_3	b_2	b_1	b_3	b_6	b_1	b_4	b_5	b_1	b_6

LP

شکل ۳-۷- نقشه کاشت طرح آزمایشی مورد استفاده

جدول ۳-۲- ترکیبات تیماری مورد استفاده در آزمایش

علامت	محلول پاشی
a_1b_1	آب (شاهد)
a_1b_2	صفر ملاتونین و تیامین
a_1b_3	صفر ملاتونین و ریبوفلاوین
a_1b_4	صفر ملاتونین و نیاسین
a_1b_5	صفر ملاتونین و اسیدپانتوتنیک
a_1b_6	صفر ملاتونین و پیریدوکسین
a_2b_1	۰/۱ میلی مولار ملاتونین و عدم محلول پاشی ویتامین ب
a_2b_2	۰/۱ میلی مولار ملاتونین و تیامین
a_2b_3	۰/۱ میلی مولار ملاتونین و ریبوفلاوین
a_2b_4	۰/۱ میلی مولار ملاتونین و نیاسین
a_2b_5	۰/۱ میلی مولار ملاتونین و اسیدپانتوتنیک
a_2b_6	۰/۱ میلی مولار ملاتونین و پیریدوکسین
a_3b_1	۰/۲ میلی مولار ملاتونین و عدم محلول پاشی ویتامین ب
a_3b_2	۰/۲ میلی مولار ملاتونین و تیامین
a_3b_3	۰/۲ میلی مولار ملاتونین و ریبوفلاوین
a_3b_4	۰/۲ میلی مولار ملاتونین و نیاسین
a_3b_5	۰/۲ میلی مولار ملاتونین و اسیدپانتوتنیک
a_3b_6	۰/۲ میلی مولار ملاتونین و پیریدوکسین

۳-۲-۴- عملیات اجرایی

۳-۲-۴-۱- آماده سازی زمین و کاشت

زمین در سال قبل به صورت آیش بود. پنج روز قبل از کاشت اقدام به آماده سازی زمین با استفاده از گاوآهن برگردان دار و دیسک گردید. سپس ابعاد کرت ها تعیین شد. هر کرت شامل ۴ خط کاشت به طول ۴ متر و فاصله بین خطوط ۵۰ سانتی متر بود. ۲ خط کناری به عنوان حاشیه و ۲ خط وسط جهت تعیین پارامترهای آزمایش در نظر گرفته شد. عملیات کاشت در تاریخ ۵ خرداد ۱۳۹۶ با دست و در عمق ۵ سانتی متری انجام شد. فاصله دو بوته روی ردیف ۵ سانتی متر در نظر گرفته شد. بذر های سویا رقم (DPX) چند دقیقه قبل از کاشت به باکتری همزیست با سویا^۱ ساخت شرکت فن آوری- زیستی طبیعت گرا (بایوسوی) آغشته شدند.

۳-۲-۴-۲- داشت

آبیاری به صورت جوی و پشته ای هر ۸ روز یکبار انجام شد. مقادیر آب مصرفی برای تمام تیمارها تقریباً یکسان بود. در طی مراحل رشد گیاه در مزرعه نسبت به وجین علف های هرز به طور مرتب و هفتگی توسط دست اقدام شد. هیچ گونه آفت یا بیماری خاصی در مزرعه مشاهده نگردید.

۳-۲-۴-۳- اعمال تیمارها

قبل از گلدهی (معادل ۶۰ روز پس از کاشت) اقدام به اعمال تیمارهای محلول پاشی با غلظت های مختلف ملاتونین (صفر، ۱/۱ و ۲/۰ میلی مولار) و ویتامین های گروه B (شاهد، تیامین، ریبوفلاوین، نیاسین، اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین هر کدام با غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) ساخت شرکت سیگما با فاصله ۲ روز از یکدیگر در تاریخ های ۳ و ۵ مردادماه گردید. در تیمار شاهد از آب خالص جهت محلول پاشی استفاده گردید. استفاده از آب خالص به منظور مشخص شدن اثر واقعی ملاتونین و

۱- *Bradyrhizobium japonicum*

ویتامین‌های گروه B انجام گرفت. محلول‌پاشی‌ها در اواخر روز و در هوای صاف و نسیم ملایم اعمال شد به نحوی که برگ‌های سویا کاملاً خیس شدند.

۳-۲-۴- برداشت

پس از رسیدگی کامل بوته‌ها برداشت برای اندازه‌گیری عملکرد و اجزای عملکرد در تاریخ ۱۴ آبان ۱۳۹۶ (مقارن با ۱۶۰ روز پس از کاشت) انجام گردید.

۳-۲-۵- نمونه‌برداری جهت صفات زراعی و مورفولوژیک

از ۲ هفته پس از محلول‌پاشی از هر کرت ۵ بوته پس از در نظر گرفتن حاشیه به‌عنوان نماینده آن کرت برداشت گردید. صفاتی از قبیل سطح برگ، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه، ارتفاع ساقه، قطر ساقه اندازه‌گیری شدند. سپس از داده‌های به دست آمده میانگین‌گیری و عدد آن ثبت شد.

۳-۲-۵-۱- وزن خشک برگ و ساقه

نمونه‌های برداشت شده پس از جدا کردن برگ‌ها از ساقه به‌صورت مجزا در پاکت قرار داده شدند و توسط دستگاه آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. پس از این مدت نمونه‌ها با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ وزن شدند. مقادیر به‌دست آمده بر حسب گرم در مترمربع محاسبه گردید. از مجموع وزن خشک برگ، ساقه و در صورت وجود غلاف هر نمونه وزن خشک کل بر حسب گرم در مترمربع به‌دست آمد.

۳-۲-۵-۲- ارتفاع و قطر ساقه

ارتفاع ۵ بوته بر حسب سانتی‌متر اندازه‌گیری و پس از میانگین‌گیری ثبت گردید. قطر ساقه تمام بوته‌های برداشت شده توسط دستگاه کولیس با دقت ۰/۰۱ بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

۳-۲-۵-۳- سطح برگ

سطح برگ نمونه‌ها پس از جداسازی توسط دستگاه سنجش سطح برگ ساخت کشور انگلستان مدل Licor تعیین شد. سپس بر حسب مترمربع سطح برگ در مترمربع سطح زمین محاسبه گردید.

۳-۲-۶- عملکرد و اجزای عملکرد

از هر کرت تعداد ۲۰ بوته با در نظر گرفتن حاشیه برای تعیین عملکرد برداشت گردید. مساحت اشغال شده توسط این بوته‌ها محاسبه و عملکرد نهایی بر حسب تن در هکتار محاسبه شد. اجزای عملکرد در گیاه سویا شامل تعداد غلاف در گیاه، تعداد دانه در غلاف و وزن هزار دانه می باشد که مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند.

۳-۲-۷- نمونه‌برداری جهت صفات فیزیولوژیک

۳-۲-۷-۱- کلروفیل (شاخص اسپد)^۱

اندازه‌گیری کلروفیل برگ از ۸۰ روز پس از کاشت با فاصله‌های زمانی ۱۰ روزه آغاز و تا ۱۳۰ روز پس از کاشت ادامه یافت. از هر کرت تعداد ۳ بوته به‌عنوان معیار انتخاب و علامت‌گذاری گردیدند. در هر اندازه‌گیری تعداد ۹ برگ (۳ برگ بالا، ۳ برگ میانی و ۳ برگ پایین) از هر بوته انتخاب شد و کلروفیل آن توسط دستگاه SPAD 502 تعیین و میانگین آن‌ها محاسبه شد. میانگین کلروفیل ۳ بوته در هر کرت شامل ۳ عدد (برگ‌های بالا، برگ‌های میانی و برگ‌های پایین) بر حسب واحد SPAD (هیسکوکس و ایسرایلیستام، ۱۹۷۸) برای محاسبات ثبت گردید. هدف از این شیوه اندازه‌گیری، علاوه بر ارزیابی تأثیر تیمارها بر مقدار کلروفیل هر یک از برگ‌ها، بررسی روند تخریب کلروفیل و پیری گیاه در مواجهه با تیمارهای اعمال شده بود.

۱- SPAD INDEX

۳-۲-۷-۲- کاروفیل و کاروتنوئید برگ

برای اندازه‌گیری کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید برگ، ۷۰ روز پس از کاشت به‌طور تصادفی اقدام به نمونه برداری از برگ‌های جوان، کاملاً توسعه یافته و همسن گیاه گردید. استخراج کلروفیل به‌روش بدون لهیدگی و با استفاده از دی‌متیل سولفوکسید انجام شد (هیسکوکس و ایسرلیستام، ۱۹۷۸). برای این منظور به ۰/۰۱ گرم از دیسک برگ‌ی تهیه شده، ۶ میلی‌لیتر دی‌متیل سولفوکسید اضافه شد و محلول حاصل به مدت ۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد درون حمام آب گرم قرار گرفت. جذب نوری نمونه‌های برگ‌ی پس از خروج از حمام آب گرم و سرد شدن، در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر UNICO مدل UV4802 قرائت شدند. سپس با استفاده از روابط ۳-۵ الی ۳-۷ میزان کلروفیل a و b و کاروتنوئید محاسبه گردید (آرنون، ۱۹۴۹). پس از جایگزین کردن داده‌ها در روابط یاد شده اعداد به‌دست آمده در $V/W \times 1000$ ضرب گردید تا بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ به‌دست آیند. V حجم محلول کلروفیل بر حسب میلی‌لیتر و W وزن نمونه تر برگ بر حسب گرم می‌باشد.

$$\text{Chla}(\mu\text{g/ml}) = (12.25 A_{663}) - (2.55 A_{645}) \quad (\text{رابطه ۳-۵})$$

$$\text{Chl b}(\mu\text{g/ml}) = (20.31 A_{645}) - (4.91 A_{663}) \quad (\text{رابطه ۳-۶})$$

$$\text{Car}(\mu\text{g/ml}) = (1000 A_{470} - 1.90 \text{Chl a} - 63.14 \text{Chl b})/214 \quad (\text{رابطه ۳-۷})$$

۳-۲-۷-۳- پایداری غشای پلاسمایی برگ

اندازه‌گیری شاخص پایداری ۸۰ روز پس از کاشت با استفاده از روش سایرام و اسویراستاوا (۲۰۰۱) انجام شد. بدین منظور از هر ترکیب تیماری تعدادی برگ هم‌سن انتخاب و قطع گردید و داخل فلاسک یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. سپس از هر تیمار ۲ نمونه ۰/۱ گرمی دیسک برگ‌ی توسط پانچ برای تعیین هدایت الکتریکی برگ در دمای ۱۰۰ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد تهیه شدند.

به منظور اندازه‌گیری هدایت الکتریکی دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر در فالکن‌های حاوی ۰/۱ گرم دیسک برگی ریخته شد. سپس فالکن‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد (C₁) در حمام آب گرم قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری هدایت الکتریکی نمونه‌ها در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد، فالکن‌های آزمایش حاوی ۰/۱ گرم نمونه‌های دیسک برگی و ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد (C₂) قرار داده شدند. پس از سرد شدن نمونه‌ها، هدایت الکتریکی محلول‌ها اندازه‌گیری شد و با استفاده از رابطه ۳-۸ میزان پایداری غشای پلاسمایی اندازه‌گیری گردید.

$$\text{رابطه ۳-۸)} \quad 100 \times (C_2 / C_1 - 1) = \text{شاخص پایداری غشای پلاسمایی}$$

۳-۲-۷-۴- مقدار آب نسبی برگ (RWC)

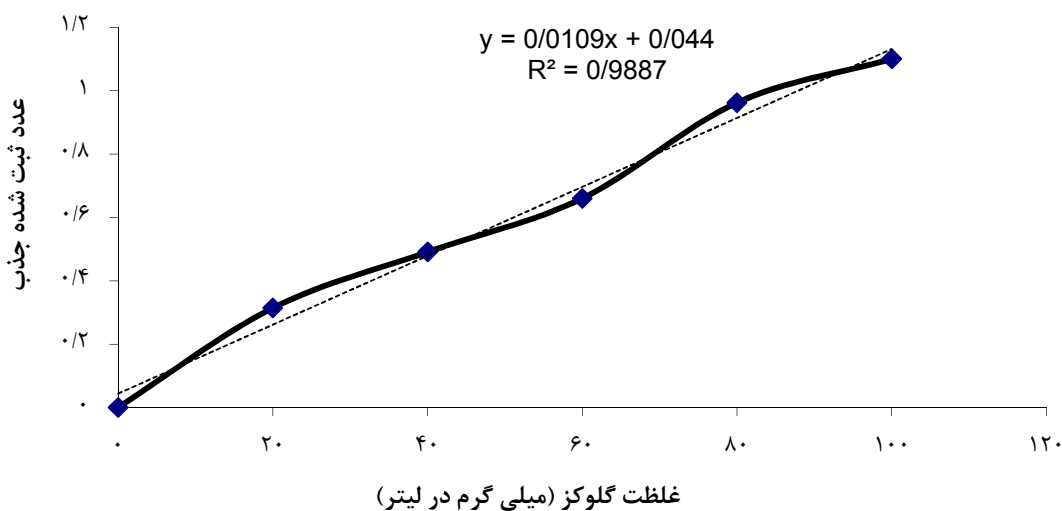
برای اندازه‌گیری این صفت از هر ترکیب ۸۳ روز پس از کاشت ۲ بوته به‌طور تصادفی انتخاب و از هر بوته سه برگ هم‌سن قطع گردید. برگ‌ها در یک پوشش پلاستیکی داخل فلاسک یخ به آزمایشگاه منتقل و با ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ وزن شدند (وزن تر) و سپس به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر در یخچال و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند (کرامر، ۱۹۸۳). سپس آب روی آن‌ها با کاغذ صافی خشک شد و دوباره وزن شدند (وزن اشباع). پس از آن به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس وزن شدند (وزن خشک). محاسبه مقدار آب نسبی برگ با استفاده از رابطه ۳-۹ صورت گرفت.

$$\text{رابطه ۳-۹)} \quad 100 \times \left\{ \frac{\text{وزن خشک} - \text{وزن اشباع}}{\text{وزن خشک} - \text{وزن تر}} \right\} = \text{مقدار آب نسبی برگ}$$

۳-۲-۷-۵- محتوای قند محلول برگ

۰/۵ گرم از بافت برگ ۹۸ روز پس از کاشت به همراه ۵ میلی‌لیتر از اتانول ۹۵ درصد در داخل هاون چینی سائیده شد و قسمت رویی محلول جدا گردید. عمل استخراج دو بار دیگر و هر بار با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد تکرار شد، سپس محلول به‌دست آمده به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰

دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و بعد از جدا کردن بخش رویی فاز مایع، عصاره الکلی حاصل تا زمان اندازه‌گیری در یخچال نگهداری شد. برای اندازه‌گیری قندهای محلول، ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره نگهداری شده در یخچال برداشته و در لوله آزمایش ریخته شد و سپس ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون (۱۵۰ میلی‌گرم آنترون + ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک) به آن اضافه شده و بعد از آن لوله‌های آزمایش به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفتند تا ماده رنگی حاصل شود. پس از خنک شدن نمونه‌ها میزان جذب آن‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری (ایریگوئین و همکاران، ۱۹۹۲) و میزان قند محلول بر اساس میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ بیان گردید. با استفاده از گلوکز خالص با غلظت‌های ۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر منحنی استاندارد قند تهیه، و کلیه مراحل روی آن تکرار شد (شکل ۳-۸).



شکل ۳-۸- منحنی استاندارد گلوکز در طول موج ۶۲۵ نانومتر

۳-۲-۷-۶- میزان آنتوسیانین برگ

برای سنجش میزان آنتوسیانین کل مقدار ۰/۰۲ گرم از برگ تازه ۸۵ روز پس از کاشت با ۴ میلی‌لیتر محلول اسیدکلریدریک یک درصد و متانول در یک هاون چینی ساییده شد. محلول حاصل به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد. سپس، محلول به مدت ۱۰ دقیقه و در ۱۳۰۰۰ دور

سانتریفیوژ گردید. فاز رویی برداشته و جذب محلول‌ها در طول موج ۵۳۰ و ۶۵۷ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. برای محاسبه غلظت، ضریب خاموشی ۳۳۰۰۰ سانتی‌متر بر مول در نظر گرفته شد. میزان آنتوسیانین برای هر عصاره با استفاده از رابطه‌ی ۳-۱۰ اندازه‌گیری گردید (میتا، ۱۹۹۷).

$$\text{رابطه (۳-۱۰)} \quad A = A_{530} - (0.25 \times A_{657}) \quad \text{جذب محلول}$$

۳-۲-۷- میزان فلاونوئید

برای سنجش فلاونوئید، میزان ۰/۲ گرم از برگ ۹۲ روز پس از کاشت در ۳ میلی‌لیتر متانول اسیدی شامل متانول و اسیدکلریدریک به نسبت ۹۹ به ۱ به‌طور کامل سائیده و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. محلول رویی به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب‌گرم با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از سرد شدن توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۳۰۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت از ضریب خاموشی ۳۳۰۰۰ سانتی‌متر بر مول استفاده شد (کرزک و همکاران، ۱۹۹۸).

۳-۲-۷-۸- سنجش درصد و عملکرد روغن

روغن موجود در دانه با استفاده از دستگاه سوکسله تمام اتوماتیک Soxtherm 2000 automatic Gerhardt تعیین گردید. برای این منظور بالن خوب شسته و داخل آن ۲ عدد سنگ جوش ریخته شد. بالن و سنگ جوش‌ها در آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱/۵ ساعت قرار داده شدند. سپس از آون خارج و در داخل دسیکاتور تمیز و خشک، سرد شدند. مقدار یک گرم نمونه آسیاب شده و همگن در یک کاغذ صافی مناسب پیچیده شد و در کارتوش مخصوص دستگاه قرار داده شد. کارتوش درون بالن در نگهدارنده فلزی قرار داده شد. مقدار ۱۴۰ میلی‌لیتر حلال آلی (اتر) به بالن اضافه و تا تکمیل فرآیند آزمایش صبر شد. در انتهای کار، بالن بدون نمونه و نگهدارنده به آون ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید و به مدت یک ساعت حرارت داده شد. سپس بالن به دسیکاتور

منتقل و پس از سرد شدن توزین گردید. برای محاسبه درصد روغن موجود در نمونه ها از رابطه ۳-۱۱ استفاده شد (بی نام، ۱۳۸۸).

(رابطه ۳-۱۱) $100 \times (\text{وزن نمونه} / \text{وزن اولیه بالن} - \text{وزن ثانویه بالن}) = \text{درصد روغن موجود در نمونه}$

برای محاسبه عملکرد روغن دانه از حاصل ضرب عملکرد دانه در درصد روغن دانه استفاده گردید.

۳-۲-۷-۹- سنجش درصد و عملکرد پروتئین

مقدار نیتروژن موجود در دانه پس از برداشت با دستگاه NIR^۱ مدل KJT-270 ساخت شرکت Kett ژاپن تعیین گردید. برای تبدیل درصد نیتروژن به درصد پروتئین از رابطه ۳-۸ استفاده گردید. ضریب تبدیل پروتئین ۵/۷۵ در نظر گرفته شد (AOAC, 1999).

(رابطه ۳-۱۲) $\text{ضریب تبدیل پروتئین} \times \text{درصد نیتروژن} = \text{درصد پروتئین نمونه}$

۳-۲-۷-۱۰- اندازه گیری هدایت روزنه ای

میزان هدایت روزنه ای ۸۱ روز پس از کاشت با استفاده از دستگاه پرومتر (Decagon devices, Inc)^۲ ساخت کشور آمریکا اندازه گیری شد. برای این منظور از قسمت میانی برگ جوان کاملاً توسعه یافته استفاده شد.

۳-۲-۷-۱۱- اندازه گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدها

میزان پراکسیداسیون لیپید در بافتها از طریق تعیین محتوای مالون دی آلدئید (MDA) در واکنش با اسید تیوباربیوتیک با استفاده از روش هس و پکر (۱۹۶۸) اندازه گیری شد. بدین منظور ۰/۲ گرم بافت تازه برگ ۹۵ روز پس از کاشت در ۵ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد ساییده شد. عصاره به دست آمده به مدت ۲۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتیفریوژ شد. یک میلی لیتر از

۱- Near Infrared Radiation

۲- Leaf Porometer

محلول رویی به ۴ میلی‌لیتر محلول TCA ۲۰ درصد حاوی ۰/۵ درصد اسید تیوباربیوتیک اضافه شد. محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۹۶ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس بلافاصله به مدت ۵ دقیقه وارد یخ و بعد به مدت ۱۰ دقیقه در ۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. جذب محلول حاصل توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت مالون دی‌آلدئید از ضریب خاموشی معادل $155 \text{Mm}^{-1} \text{cm}^{-1}$ غلظت استفاده شد.

۳-۳- بخش گلدانی

۳-۳-۱- مشخصات آزمایش و عملیات اجرایی

آزمایش در سال ۱۳۹۶ به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در فضای باز مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل ۳ سطح محلول پاشی ملاتونین (صفر، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار) و ۶ سطح محلول پاشی با ویتامین‌های گروه B (شاهد، تیمامین، ریوفلاوین، نیاسین، اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین هر کدام با غلظت ۱۰۰ میلی-گرم در لیتر) در سه تکرار بودند. گلدان‌هایی با قطر دهانه ۲۲ و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر انتخاب و خاک گلدان با نسبت خاک مزرعه با مشخصات جدول ۳-۱ (سه قسمت) و پرلیت (یک قسمت) تهیه شد. کاشت بذر در تاریخ ۱۰ خرداد ماه صورت گرفت. بذرهای سویا چند دقیقه قبل از کاشت به باکتری همزیست با سویا (برادی رایزوبیوم ژاپونیکوم) آغشته شدند. در هر گلدان ۷ عدد بذر در عمق ۴ سانتی‌متر کاشته شد که پس از استقرار گیاه‌چه‌ها، بوته‌های اضافی حذف و در هر گلدان چهار بوته جهت اندازه‌گیری صفات حفظ شدند. جهت تامین تعداد بوته کافی از هر تیمار سه گلدان و در مجموع ۱۶۲ گلدان در نظر گرفته شد. آبیاری گلدان‌ها با حجم مشخص و مساوی هر دو روز یک‌بار برای همه تیمارها انجام گردید.

۳-۳-۲- اعمال تیمارها

قبل از گلدهی (معادل ۵۵ روز پس از کاشت) اقدام به اعمال تیمارهای محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه B با فاصله ۲ روز از یکدیگر گردید. محلول‌پاشی‌ها در اواخر روز و در هوای صاف و نسیم ملایم اعمال شد به نحوی که برگ‌های سویا کاملاً خیس شدند.

۳-۳-۳- صفات زراعی و مورفولوژیک

۳-۳-۳-۱- طول و حجم ریشه

برای تعیین پارامترهای ریشه در پایان دوره‌ی رشد برای خارج نمودن ریشه‌ها ابتدا اندام‌های هوایی گیاه جدا و گلدان‌ها به‌طور کامل خیس و سپس خاک هر گلدان همراه با ریشه‌ها از گلدان خارج گردیدند. برای جدا نمودن ذرات خاک تمامی ریشه‌ها به‌طور کامل و با رعایت حداقل آسیب دیدگی به آهستگی و با استفاده از آب جاری درون تشتک شسته شدند. طول ریشه بر حسب سانتی‌متر با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد. حجم ریشه با استفاده از قانون ارشمیدس و بر اساس تغییر میزان حجم آب در استوانه مدرج پس از وارد کردن ریشه‌های شسته شده به داخل آن اندازه‌گیری گردید (علی‌زاده، ۱۳۹۲).

۳-۳-۳-۲- وزن خشک ریشه

وزن خشک ریشه پس از برداشت بوته‌ها و جدا نمودن ریشه آن‌ها اندازه‌گیری شد. برای این منظور ریشه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک و به‌وسیله ترازو با دقت ۰/۰۰۱ توزین شدند.

۳-۳-۴- صفات فیزیولوژیک

تعدادی از صفات فیزیولوژیک شامل مقدار کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید، محتوای قندهای محلول برگ، پایداری غشای پلاسمایی برگ، مقدار نسبی آب برگ، میزان فلاونوئید و آنتوسیانین و میزان پراکسیداسیون لیپیدها از ۲ هفته پس از محلول پاشی به طور تصادفی اقدام به نمونه برداری از برگ‌های جوان، کاملاً توسعه یافته و همسن گیاه به همان روش‌های ذکر شده در بخش مزرعه‌ای مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند.

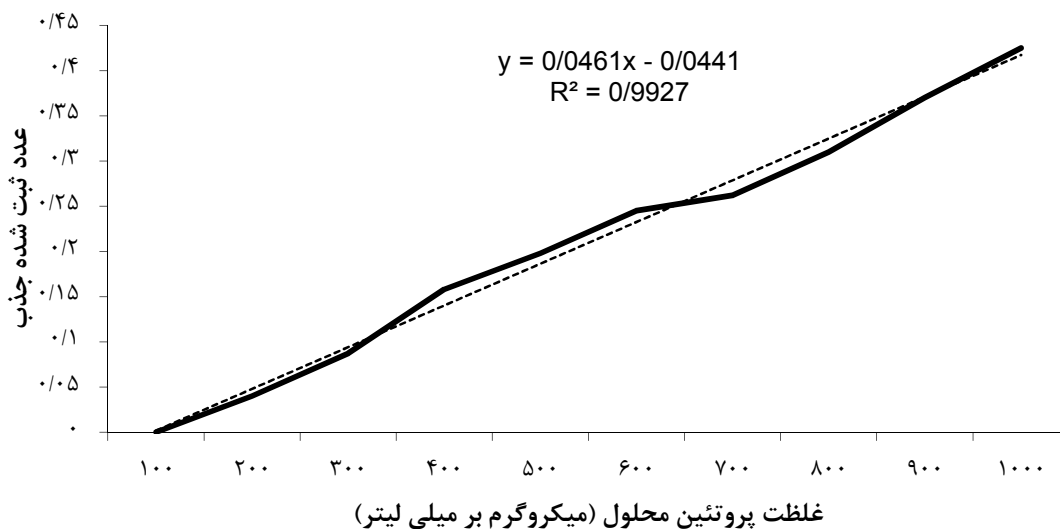
۳-۳-۴-۱- اندازه‌گیری پرولین

برای تعیین مقدار پرولین از روش بیتس و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. ابتدا ۱۰۲ روز پس از کاشت ۰/۵ گرم ماده تر برگ را با ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد ساییده شد تا محلول همگن ایجاد شود. ۲ میلی‌لیتر از محلول فوق با ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ۲ میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین مخلوط شد. محلول حاصل به مدت یک ساعت در بن ماری ۱۰۰ درجه سانتی-گراد قرار داده شد. پس از این مدت برای پایان یافتن واکنش لوله‌های آزمایش در داخل یک بستر یخی قرار گرفتند و ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هر لوله اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه به شدت به هم زده شدند. این عمل موجب دو فاز شدن محتویات لوله (فاز تولوئن رنگی حاوی پرولین در بالا و فاز آبی شفاف در پایین لوله) می‌شود. جذب نوری محلول در ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. میزان پرولین نمونه‌ها بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

۳-۳-۴-۲- تهیه عصاره آنزیمی

جهت اندازه‌گیری آنزیم‌ها ۷۷ روز پس از کاشت ۰/۵ گرم اندام تر برگ در یک هاون چینی محتوی ۵ میلی‌لیتر بافر تریس (۰/۰۵ مولار pH= ۷/۵) به مدت ۳۰ دقیقه و در حمام یخ کاملاً ساییده شد. سپس به لوله سانتریفیوژ منتقل شد و پس از ده دقیقه سکون به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۵۰۰ دور،

سانتریفیوژ نمونه‌ها انجام شد. در پایان مرحله سانتریفیوژ لوله‌ها به آرامی از دستگاه خارج و مرحله رویی از کاغذ صافی عبور داده شد. عصاره پروتئینی حاصل برای بررسی فعالیت آنزیم‌ها مورد استفاده قرار گرفت. برای محاسبه فعالیت اختصاصی آنزیم‌های مورد آزمون و تعمیم فعالیت آنزیم به میلی-گرم پروتئین موجود در بافت، میزان پروتئین موجود در نمونه‌ها به روش برادفورد (۱۹۷۶) تعیین شد. برای تهیه معرف برادفورد مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم پودر کوماسی بریلیانت بلو (۲۵۰) G را در ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪ حل کرده (محلولی زنگالی رنگ)، سپس اسید ارتوفسفریک ۸۵ درصد به صورت قطره قطره به محلول فوق اضافه شد. رنگ محلول به تدریج تغییر نموده و نهایتاً قهوه‌ای روشن شد (برادفورد، ۱۹۸۶). ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره پروتئینی با پنج میلی‌لیتر معرف برادفورد مخلوط و پس از مخلوط کردن، جذب آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری و بر اساس منحنی استاندارد ترسیم شده با سرم آلبومین گاوی، غلظت پروتئین محاسبه گردید (شکل ۳-۹).

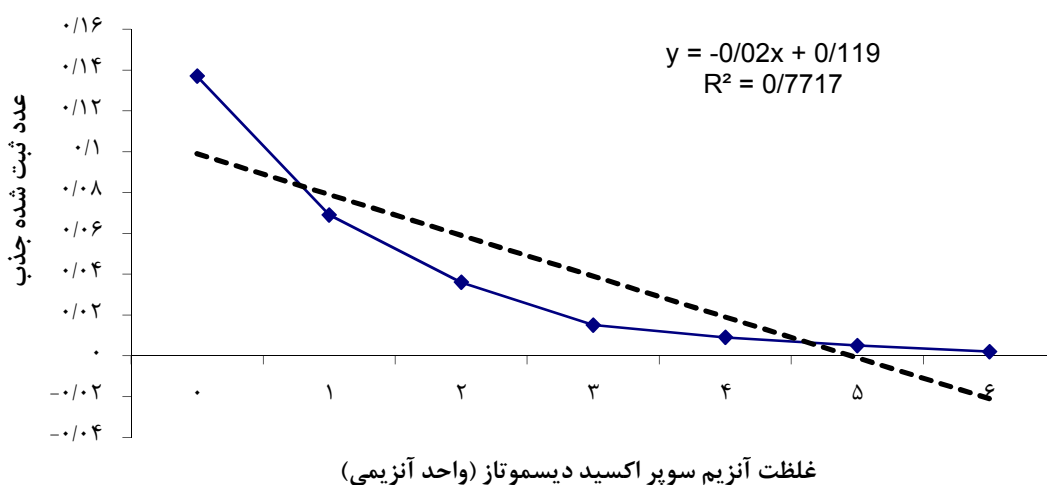


شکل ۳-۹- منحنی استاندارد غلظت پروتئین محلول

۳-۳-۴-۳- سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از روش بیوچمپ و فری دوویچ (۱۹۷۱) استفاده شد. سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از سنجش مهار احیاء نوری نیتروبلوتترازولیوم (NBT) در طول موج ۵۶۰ nm انجام گرفت. بدین منظور ابتدا محلول بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با $\text{pH} = 7.5$ تهیه شد. سپس برای تهیه مخلوط واکنش، ترکیبات زیر با حجم‌های مشخص به بافر اضافه شد. EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، نیتروبلوتترازولیوم (NBT) ۷۵ میکرومولار، متیونین ۱۳ میلی‌مولار، ریبوفلاوین ۴ میکرومولار، به ترتیب اضافه گردید. قبل از اضافه کردن این ترکیبات به بافر فسفات پتاسیم ظرف حاوی مخلوط واکنش با فویل آلومینیومی به‌خوبی پوشانده شد تا به هیچ‌وجه نور نبیند. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از هر نمونه عصاره با سمپلر در هر لوله آزمایش ریخته و ۳ میلی‌لیتر از محلول فوق به آن اضافه شد. بعد از این مرحله، خیلی سریع لوله‌ها داخل جا لوله‌ای، تحت روشنایی لامپ فلورسنت (۴۰ وات) با فاصله ۵۰ سانتی‌متر قرار داده شدند و بلافاصله واکنش آغاز گردید. پس از گذشت ۱۵ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. برای صفر کردن دستگاه، به‌عنوان شاهد، ۳ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده با بافر فسفات پتاسیم را که فاقد عصاره بود، بدون آن‌که نور ببیند، درون کووت ریخته و دستگاه با آن صفر شد. برای سنجش فعالیت این آنزیم علاوه بر این شاهد، نیاز به نمونه کنترل نیز می‌باشد، که به آن شاهد روشنایی گفته می‌شود. برای تهیه شاهد روشنایی یک لوله آزمایش حاوی ۳ میلی‌لیتر از محلول واکنش (فاقد عصاره) همراه با دیگر لوله‌های حاوی عصاره، در زیر نور فلورسنت با همان مدت زمان، قرار گرفت. میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در نمونه‌ها در مقایسه با شاهد روشنایی سنجیده شد. به دلیل عدم وجود آنزیم در لوله شاهد روشنایی، احیاء NBT در حضور نور به‌طور ۱۰۰ درصد انجام گرفت و تمام نیتروبلوتترازولیوم موجود در محلول واکنش به فورمازان تبدیل شد و رنگ این لوله از بقیه تیره‌تر بود. میزان جذب این شاهد در ۵۶۰ نانومتر، احیاء نوری ۱۰۰ درصد NBT را نشان داد که نیمی از میزان این جذب معادل یک واحد آنزیمی در نظر گرفته شد. یک واحد آنزیمی

سوپر اکسید دیسموتاز مقدار آنزیمی در نظر گرفته شد که موجب ۵۰ درصد ممانعت از احیاء نوری NBT گشت. اختلاف جذب نمونه‌ها و شاهد روشنایی در ۵۶۰ نانومتر، مهار احیاء نوری NBT در حضور آنزیم سوپراکسیددیسموتاز موجود در نمونه‌ها را نشان داد. با استفاده از این اختلاف جذب، واحد آنزیمی نمونه‌ها محاسبه و فعالیت آنزیمی بر حسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل (میلی گرم) در ۱۰۰ میکرولیتر عصاره که به روش نوری محاسبه شد، بیان گردید (شکل ۳-۱۰).



شکل ۳-۱۰- منحنی استاندارد آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در طول موج ۵۶۰ نانومتر

۳-۴-۳-۴- سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

اندازه‌گیری کاتالاز به روش ابی (۱۹۸۴) انجام پذیرفت. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (pH = ۷) شامل ۰/۲ میلی لیتر پراکسید هیدروژن ۱ درصد و ۰/۳ میلی لیتر عصاره استخراجی بود. سپس فعالیت آنزیم کاتالاز به صورت کاهش در جذب طی ۱ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه شد. برای سنجش فعالیت کاتالاز از ضریب خاموشی ($0.043 \text{ Mm}^{-1} \text{ Cm}^{-1}$) استفاده شد.

۳-۴-۵- سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

جهت اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از روش ناکانو و آسادا (۱۹۸۱)، استفاده شد. بر این اساس، ۳ میلی‌لیتر محلول واکنش شامل ۵۰ میلی‌مول بافر فسفات با $\text{pH}=7$ ، ۰/۵ میلی‌مول اسیدآسکوربیک، ۰/۱ میلی‌مول H_2O_2 و ۱۰۰ میکرولیتر آنزیم استخراجی بود. ابتدا بافر فسفات سدیم با ۲ میلی‌لیتر آب اکسیژنه و آسکوربات در حمام یخ مخلوط شد، بلافاصله عصاره آنزیمی برگ اضافه و منحنی تغییرات جذب در ۲۹۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر به مدت ۱ دقیقه و با فواصل ۱۰ ثانیه، بررسی شد. واحد آنزیمی به صورت حجم مورد نیاز از آنزیم جهت هیدرولیز ۱ mmol از عصاره در یک دقیقه و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تعریف شد. سپس فعالیت آنزیم بر حسب واحد در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد. فعالیت آنزیمی با استفاده از ضریب خاموشی $2/8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ گزارش گردید.

۳-۴-۶- اندازه‌گیری میزان پراکسید هیدروژن (H_2O_2)

میزان پراکسید هیدروژن با روش جانا و چادهوری (۱۹۸۱) اندازه‌گیری شد. ۹۵ روز پس از کاشت ۰/۵ گرم بافت برگ در ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات با اسیدیت ۶/۸ ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۲۵ دقیقه با نیروی ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. برای تعیین میزان پراکسید هیدروژن ۳ میلی‌لیتر از عصاره حاصل برداشته شد و روی آن ۱ میلی‌لیتر تیتانیوم کلراید ۰/۱ درصد در اسید سولفوریک ۲۰ درصد (حجمی/حجمی) اضافه گردید و محلول به‌دست آمده به مدت ۱۵ دقیقه در ۶۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. جذب محلول زردرنگ حاصل توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۴۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (ضریب خاموشی $0/28 \mu\text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

۳-۴- تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و رسم نمودارها توسط نرم افزار EXCEL انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

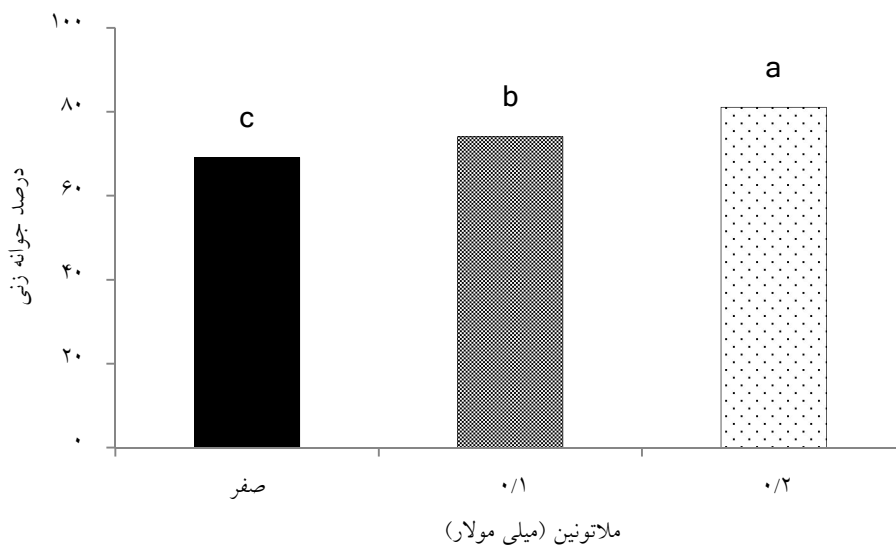
فصل چہارم

نتایج و بحث

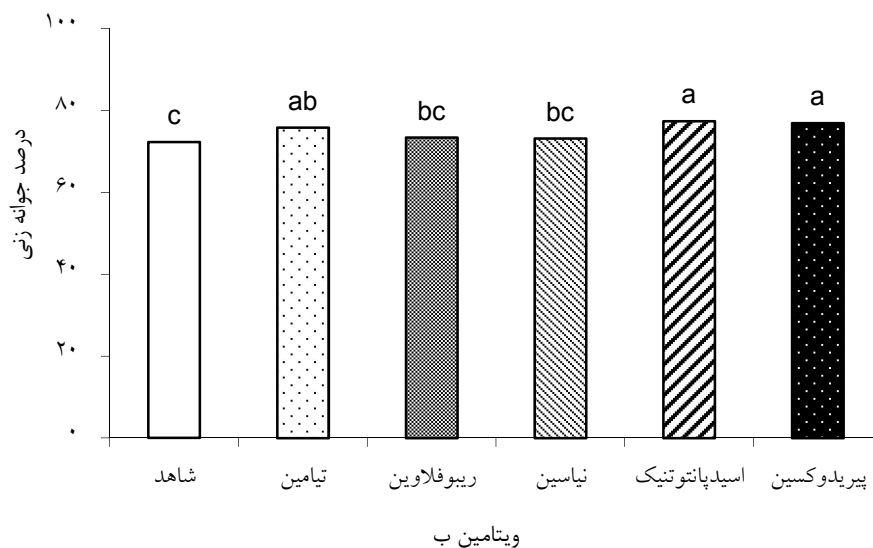
۱-۴- بخش آزمایشگاهی

۱-۱-۴- درصد جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تیمارهای ویتامین ب و ملاتونین تأثیر معنی‌داری ($P < 0.01$) بر درصد جوانه‌زنی داشتند (جدول پیوست ۱). پیش‌تیمار ملاتونین و افزایش غلظت آن موجب افزایش درصد جوانه‌زنی بذور پیش‌تیمار شده گردید. بیشترین درصد جوانه‌زنی مربوط به تیمار ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین با ۸۱ درصد و کمترین مقدار مربوط به گیاهان شاهد با ۶۹ درصد بود که اختلاف معنی‌داری با دو غلظت ملاتونین نشان داد (شکل ۴-۱). در بین ویتامین‌های ب مورد بررسی تیمارهای اسیدپانتوتنیک، پیریدوکسین و تیامین به‌طور معنی‌داری درصد جوانه‌زنی بذور را بهبود بخشیدند. این سه ویتامین از نظر آماری در گروه برتر قرار گرفتند و اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (شکل ۴-۲).



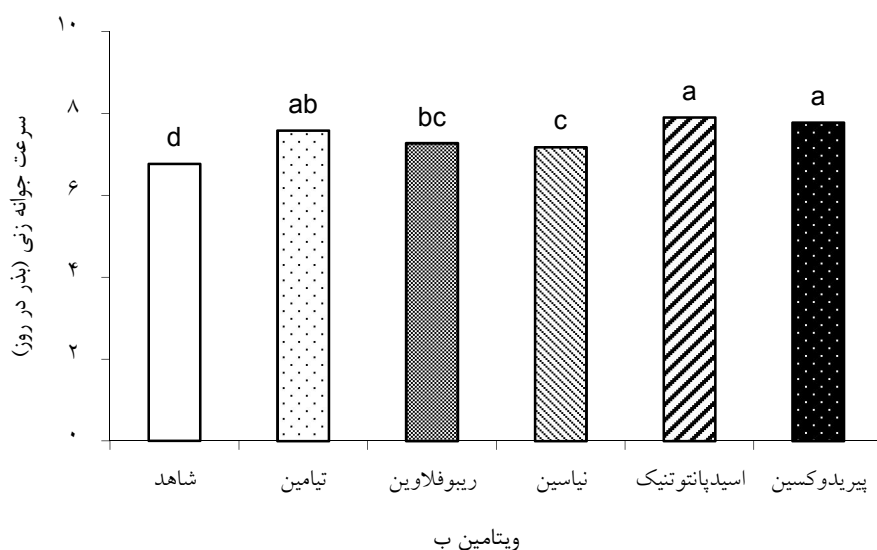
شکل ۴-۱ - مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی بذور تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین



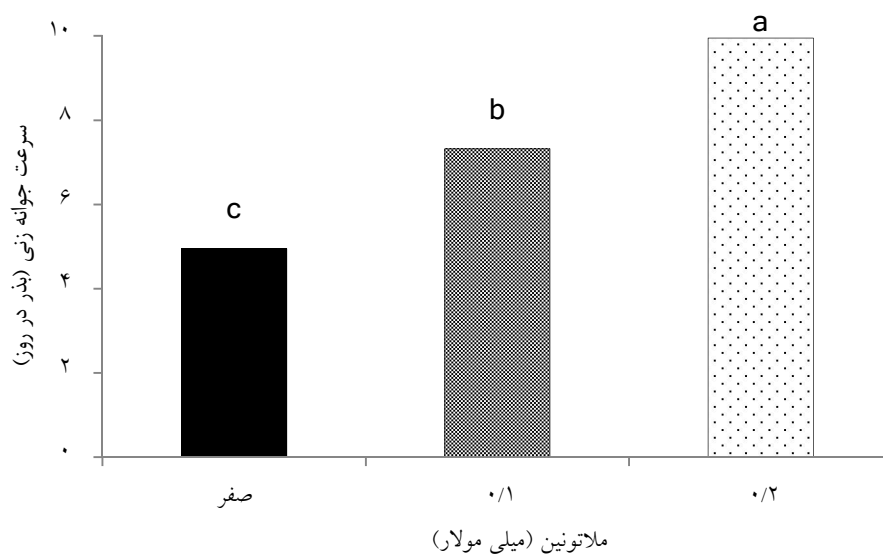
شکل ۴-۲- مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی بذر تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب

۴-۱-۲- سرعت جوانه‌زنی

همانند درصد جوانه‌زنی اثر اصلی ویتامین ب و ملاتونین بر سرعت جوانه زنی بذر در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد ولی اثر متقابل آن‌ها معنی‌دار نگردید (جدول پیوست ۱). پیش‌تیمار بذر با ویتامین‌های ب بر سرعت جوانه‌زنی اثر افزایشی داشت (شکل ۴-۳). کمترین سرعت جوانه‌زنی با اختلاف معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها از تیمار شاهد و بیشترین مقدار آن مربوط به اسیدپانتوتنیک با افزایش ۱۸ درصدی و سپس پیریدوکسین و تیامین بود که این سه ویتامین اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. پیش‌تیمار بذر با ملاتونین نیز سرعت جوانه‌زنی را نسبت به بذور تیمار نشده افزایش داد. به نحوی که سرعت جوانه‌زنی بذر از ۴/۹ بذر در روز در سطح صفر به ۷/۳ و ۹/۹ به ترتیب در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار افزایش یافت که افزایشی ۴۹ و ۱۰۲ درصدی را نشان می‌دهد (شکل ۴-۴).



شکل ۴-۳- مقایسه میانگین سرعت جوانه‌زنی بذر تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب

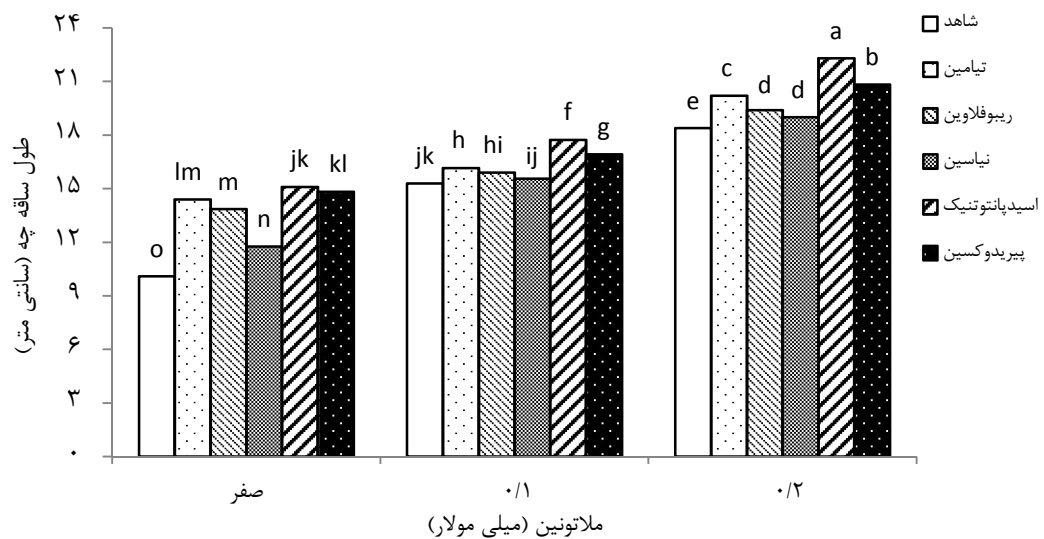


شکل ۴-۴- مقایسه میانگین سرعت جوانه زنی بذر تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین

۴-۱-۳- طول ریشه‌چه، ساقه‌چه

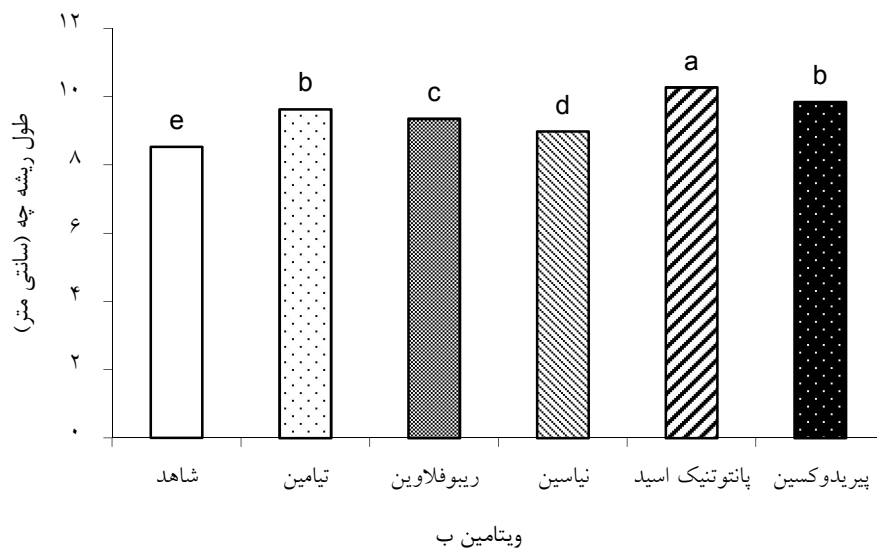
اثر هردو تیمار و برهم‌کنش آن‌ها بر طول ساقه‌چه و فقط اثر اصلی ملاتونین و ویتامین ب بر طول ریشه‌چه در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول پیوست ۱). پیش‌تیمار بذر با ویتامین ب به همراه ملاتونین سبب افزایش طول ساقه‌چه گردید. به‌نحوی که با افزایش غلظت ملاتونین و کاربرد ویتامین رشد ساقه‌چه تحریک شد. بیشترین طول ساقه‌چه ثبت‌شده از ترکیب تیماری ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین

و اسیدپانتوتنیک معادل ۲۲/۳ سانتی‌متر و کمترین طول ساقه‌چه نیز از گیاهان شاهد با حدود ۱۰ سانتی‌متر به دست آمد (شکل ۴-۵). اگرچه همه ویتامین‌ها تأثیر مثبتی بر این صفت داشتند ولی پس از اسیدپانتوتنیک، اثر پیریدوکسین و تیامین نیز قابل توجه بود. شایان ذکر است که ویتامین‌های ب به تنهایی نیز موجب اثر افزایش بر این صفت شدند که حتی در غلظت صفر ملاتونین کاربرد ویتامین-ها به‌طور معنی‌داری و بین ۱۶/۴ تا ۴۹/۵ درصد موجب افزایش طول ساقه‌چه نسبت به شاهد گردیدند (شکل ۴-۵).

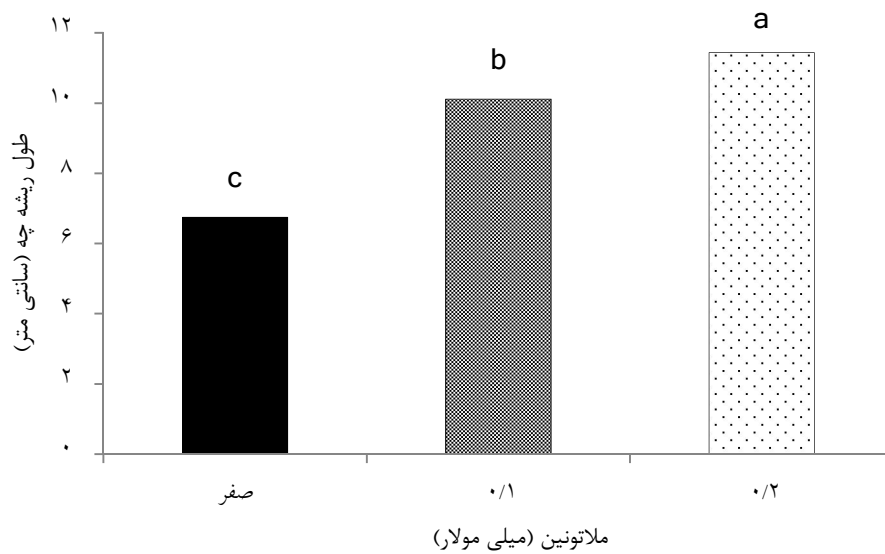


شکل ۴-۵- مقایسه میانگین طول ساقه‌چه بذر سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

پیش‌تیمار بذر با ویتامین‌های ب سبب افزایش طول ریشه‌چه شد (شکل ۴-۶). این افزایش بین ۵ درصد در تیمار نیاسین تا ۲۰ درصد در تیمار اسیدپانتوتنیک متغیر بود. پیش‌تیمار با ملاتونین نیز میزان این صفت را بهبود بخشید. بالاترین غلظت ملاتونین طول ریشه‌چه را حدود ۱/۷ برابر و غلظت ۰/۱ میلی‌مولار حدود ۱/۵ برابر نسبت به شاهد افزایش داد (شکل ۴-۷).



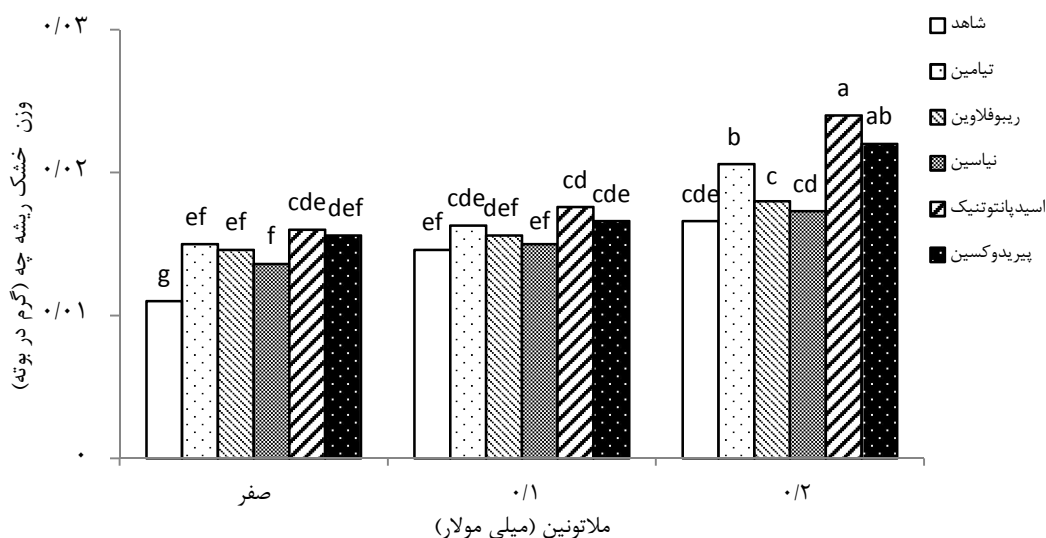
شکل ۴-۶- مقایسه میانگین طول ریشه چه تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب



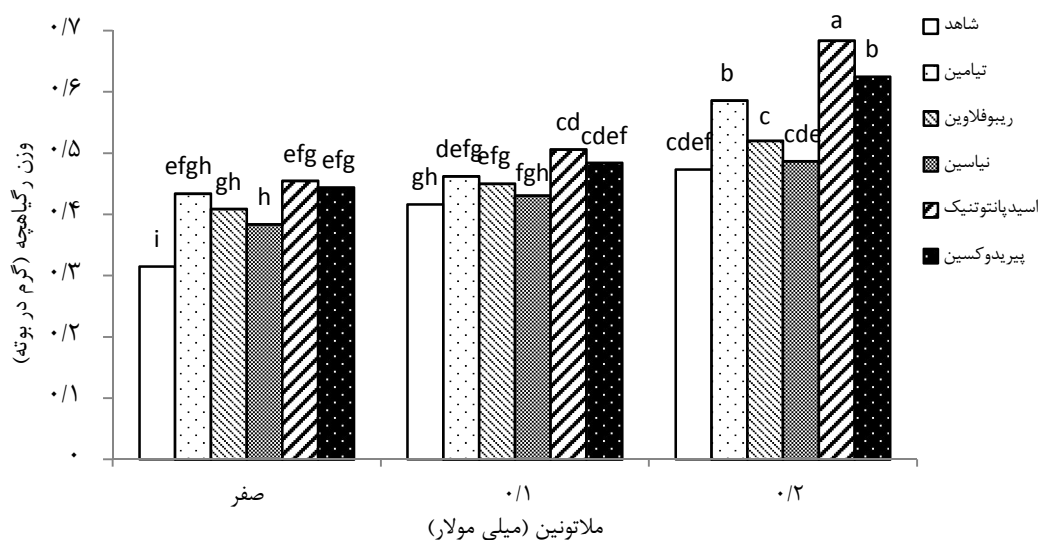
شکل ۴-۷- مقایسه میانگین طول ریشه چه تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین

۴-۱-۴- وزن خشک گیاهچه و ریشهچه

اثرات اصلی ($P < 0.01$) و برهم‌کنش آن‌ها ($P < 0.05$) تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک گیاهچه و ریشهچه داشتند (جدول پیوست ۲). اثر تیمارها بر این دو صفت تقریباً یکسان بود. به‌طوری‌که کمترین مقدار این صفات در گیاهان شاهد مشاهده شد و استفاده از ویتامین‌های ب به همراه ملاتونین موجب افزایش وزن خشک ریشهچه و گیاهچه نسبت به گیاهان شاهد گردید (شکل ۴-۸). بیشترین وزن خشک ریشه اندازه‌گیری شده از ترکیب تیماری اسیدپانتوتنیک و ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین در حدود ۰/۰۲۴ گرم در بوته به‌دست آمد که البته اختلاف معنی‌داری با همین غلظت ملاتونین و پیریدوکسین نداشت. این در حالی است که مقدار این صفت در گیاهان شاهد حدود ۰/۰۱۱ گرم در بوته بود. وزن گیاهچه نیز همانند وزن ریشهچه تحت تأثیر پیش‌تیمار توأم این دو ماده افزایش یافت (شکل ۴-۹). به نحوی که تیمار شاهد دارای کمترین وزن در حدود ۰/۳۱ گرم در بوته بود و بیشترین میزان این صفت با ۱۱۷ درصد افزایش نسبت به شاهد از ترکیب اسیدپانتوتنیک و بالاترین غلظت ملاتونین در حدود ۰/۶۸ گرم در بوته به‌دست آمد (شکل ۴-۹). شایان ذکر است در هر دو صفت وزن خشک ریشهچه و گیاهچه پیش‌تیمار بذر با ویتامین‌های ب به‌تنهایی بدون حضور ملاتونین نیز تأثیر قابل توجه و معنی‌داری در بهبود این صفات داشت. البته بین ویتامین‌ها اختلاف چشمگیری مشاهده نگردید (شکل‌های ۴-۸ و ۴-۹).



شکل ۴-۸- مقایسه میانگین وزن خشک ریشه‌چه سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

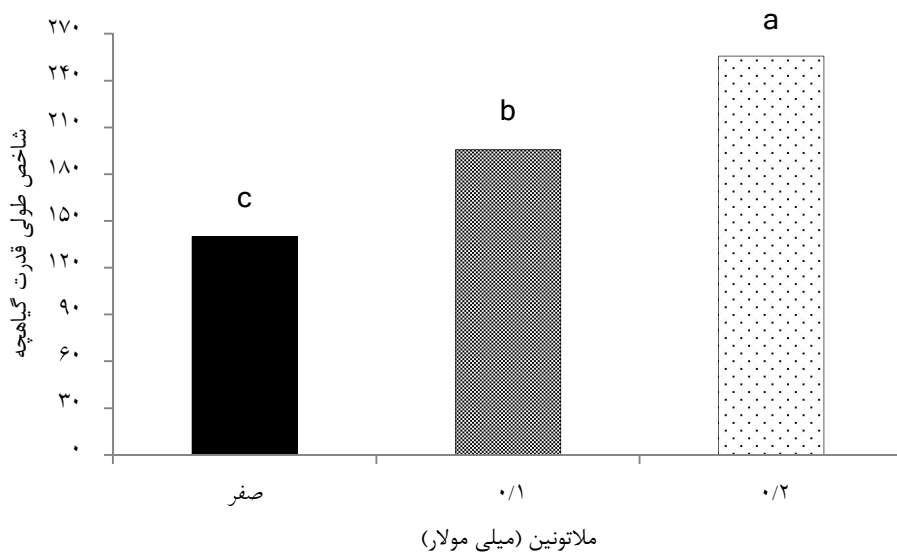


شکل ۴-۹- مقایسه میانگین وزن خشک گیاهچه سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

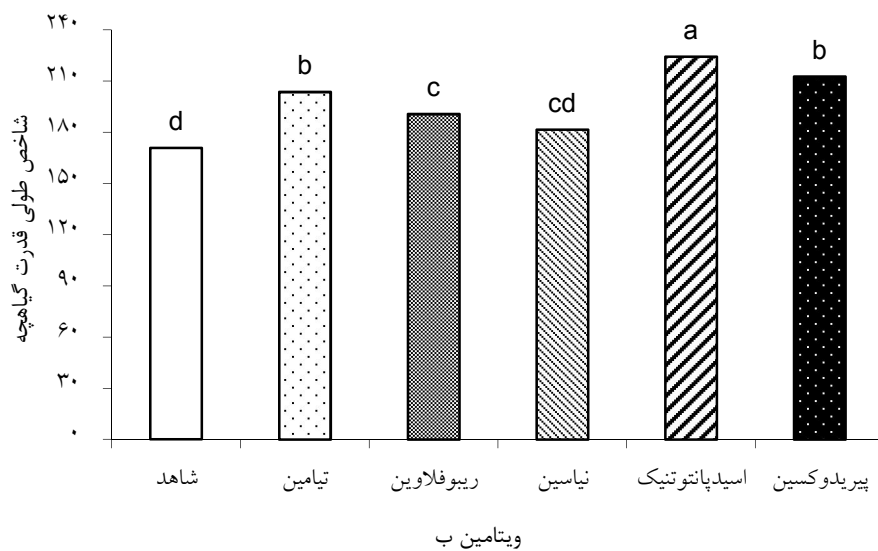
۴-۱-۵- شاخص طولی قدرت گیاهچه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که شاخص طولی قدرت گیاهچه در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر اثر ویتامین ب و ملاتونین قرار گرفت ولی اثر متقابل آن‌ها معنی‌دار نشد (جدول پیوست ۲). ملاتونین و افزایش غلظت آن سبب افزایش قدرت گیاهچه‌های سویا نسبت به گیاهان شاهد گردید به طوری که بیشترین قدرت گیاهچه در آخرین غلظت این ماده با افزایشی ۱/۸ برابری نسبت به غلظت

صفر اندازه‌گیری شد (شکل ۴-۱۰). محلول پاشی ویتامین ب نیز سبب افزایش قدرت گیاهچه گردید. بالاترین قدرت گیاهچه در تیمار اسیدپانتوتنیک مشاهده شد و پس از آن پیریدوکسین و تیامین قرار داشت (شکل ۴-۱۱).



شکل ۴-۱۰- مقایسه میانگین شاخص طولی قدرت گیاهچه سویا تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین



شکل ۴-۱۱- مقایسه میانگین شاخص طولی قدرت گیاهچه سویا تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب

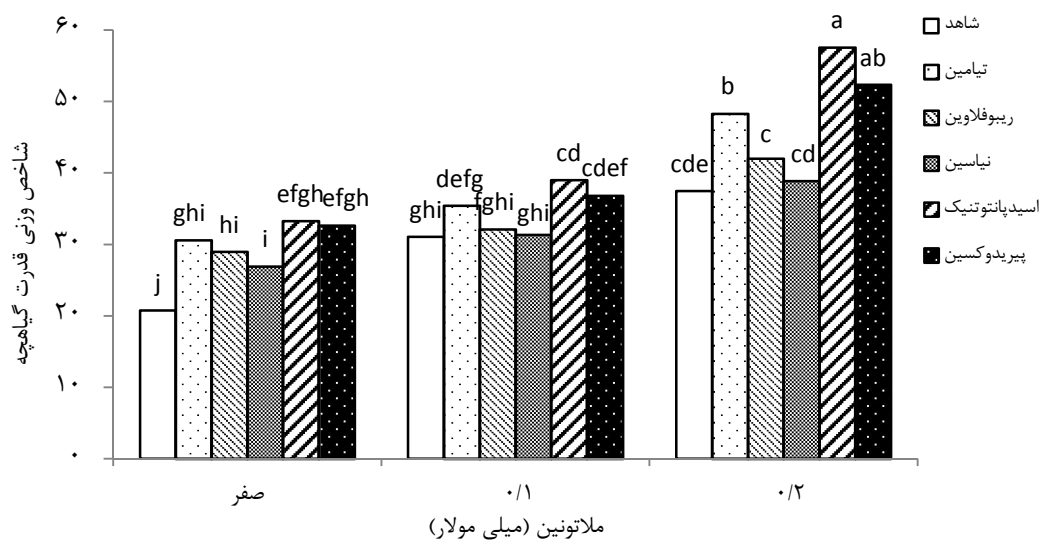
۴-۱-۶- شاخص وزنی قدرت گیاهچه

برهم‌کنش ملاتونین و ویتامین ب در سطح احتمال ۵ درصد و اثر اصلی آن‌ها در سطح احتمال ۱ درصد بر این شاخص معنی‌دار گردید (جدول پیوست ۲). پیش‌ تیمار ویتامین ب و ملاتونین به‌تنهایی و توأم باهم میزان قدرت گیاهچه را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. البته اثر کاربرد توأم بیشتر از کاربرد این تیمارها به‌تنهایی بود (شکل ۴-۱۲). بیشترین قدرت گیاهچه از ترکیبات تیماری اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین با غلظت ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین به‌دست آمد که اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد. کمترین میزان این شاخص نیز در گیاهان شاهد اندازه‌گیری گردید. افزایش حاصل از ویتامین-های ب نسبت به گیاهان شاهد در سطح صفر ملاتونین بین ۲۹/۶ تا ۶۰/۳ درصد، در غلظت ۰/۱ ملاتونین بین ۴۹/۶ و ۸۸ درصد و در غلظت ۰/۲ ملاتونین بین ۸۰/۶ و ۱۷۷ درصد متغیر بود (شکل ۴-۱۲).

افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی و همچنین ارتفاع و وزن خشک گیاهچه با استفاده از بذور پیش- تیمار شده با ملاتونین در مطالعه حشمتی و همکاران (۱۳۹۷) نیز گزارش شد. پیش‌ تیمار بذر با ملاتونین موجب افزایش درصد جوانه‌زنی بذور، بهبود شاخص‌های رشد گیاهچه از قبیل تعداد برگ، طول ساقه اصلی، سطح برگ و ماده خشک کل و همچنین افزایش محتوای کلروفیل و مقدار نسبی آب برگ و کاهش نشت الکترولیت تحت تنش شوری در گیاه *Cucumis melo* گردید (کاستانارس و بوزو، ۲۰۱۹). تأثیر مثبت پیش‌ تیمار بذر با ملاتونین در مطالعه جیانگ و همکاران (۲۰۱۶) در گیاه ذرت، ژانگ و همکاران (۲۰۱۴) در گیاه خیار و سیملا و همکاران (۲۰۱۸) در گیاه استویا نیز مشاهده گردید. پیش‌ تیمار بذر با پیریدوکسین درصد جوانه‌زنی، وزن خشک گیاه، طول ساقه و ریشه و فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه خربزه را افزایش داد (صادقی و همکاران، ۲۰۱۳) و ارادتمند اصلی و هوشمندفر، ۲۰۰۱). همچنین پیش‌ تیمار پیریدوکسین موجب افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی، طول گیاهچه و وزن خشک گیاهچه خارمریم تحت تنش خشکی گردید

(معصومی زواریان و همکاران، ۲۰۱۵). پیش‌تیمار بذور با تیامین درصد جوانه‌زنی و رشد و توسعه

گیاهچه‌های لوبیا تحت تنش غرقابی را افزایش داد (نئومان و همکاران، ۱۹۹۶).



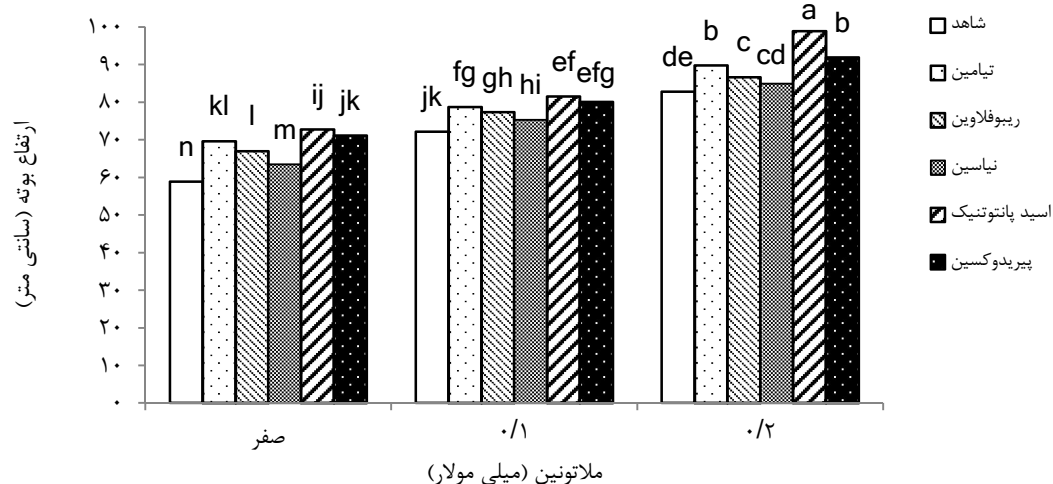
شکل ۴-۱۲- مقایسه میانگین شاخص وزنی قدرت گیاهچه سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

۴-۲- صفات مورفولوژیک و زراعی بخش مزرعه‌ای

۴-۲-۱- ارتفاع بوته

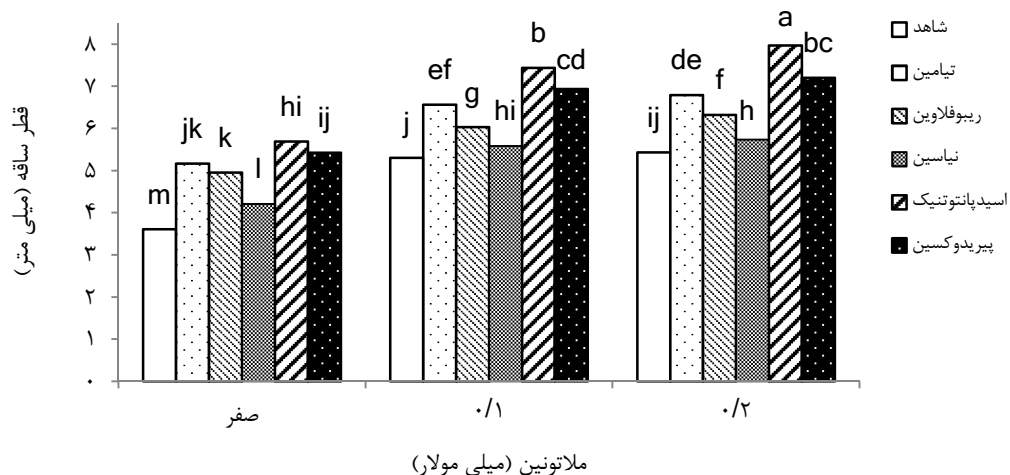
ارتفاع بوته در سطح احتمال ۱ درصد از محلول‌پاشی ملاتونین و ویتامین ب تأثیر پذیرفت. برهم-کنش محلول‌پاشی ملاتونین و ویتامین ب نیز بر ارتفاع بوته ($P < 0.05$) معنی‌دار گردید (جدول پیوست ۳). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که محلول‌پاشی با دو ماده به‌تنهایی یا توأم باهم سبب افزایش ارتفاع بوته نسبت به تیمار شاهد گردید. ارتفاع بوته در گیاهان شاهد حدود ۵۹ سانتی‌متر بود که در کمترین تأثیرپذیری از تیمارها در اثر استفاده از ویتامین ب ۳ (نیاسین) به‌تنهایی با ۷/۵ درصد افزایش به ۶۳/۴ سانتی‌متر و در بیشترین تأثیرپذیری در اثر استفاده همزمان از ویتامین ب ۵ (اسیدپانتوتینیک) و ملاتونین با غلظت ۰/۲ میلی‌مولار با ۶۷/۶ درصد افزایش نسبت به شاهد به ۹۸/۹ سانتی‌متر رسید (شکل ۴-۱۳).

گزارش شده است که گیاهان *Arabidopsis thaliana* تیمار شده با ۱۰ تا ۳۰ میکرومولار ملاتونین ارتفاع بوته بالاتری نسبت به گیاهان تیمار نشده داشتند (باجوا و همکاران، ۲۰۱۴). بایون و بک (۲۰۱۴) نیز گزارش کردند که گیاهان برنج تراریخته غنی از ملاتونین تحت شرایط مزرعه قویتر ظاهر شدند و ارتفاع و بیوماس بیشتری نسبت به انواع وحشی گیاه داشتند. در آزمایش شی و همکاران (۲۰۱۵a) نیز در گیاهان تیمار شده با ملاتونین تولید گونه‌های فعال اکسیژن کمتر و ارتفاع و وزن گیاه بیشتر بود که به وضوح تأثیر بر کربوهیدرات و متابولیسم نیتروژن که بیشترین محلول درگیر در پاسخ به تنش اسمزی می باشد را نشان داد. محلول پاشی پیریدوکسین در گیاه همیشه بهار موجب افزایش طول ساقه نسبت به تیمار شاهد گردید (سلطانی و همکاران، ۲۰۱۲).



شکل ۴-۱۳- مقایسه میانگین ارتفاع بوته سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

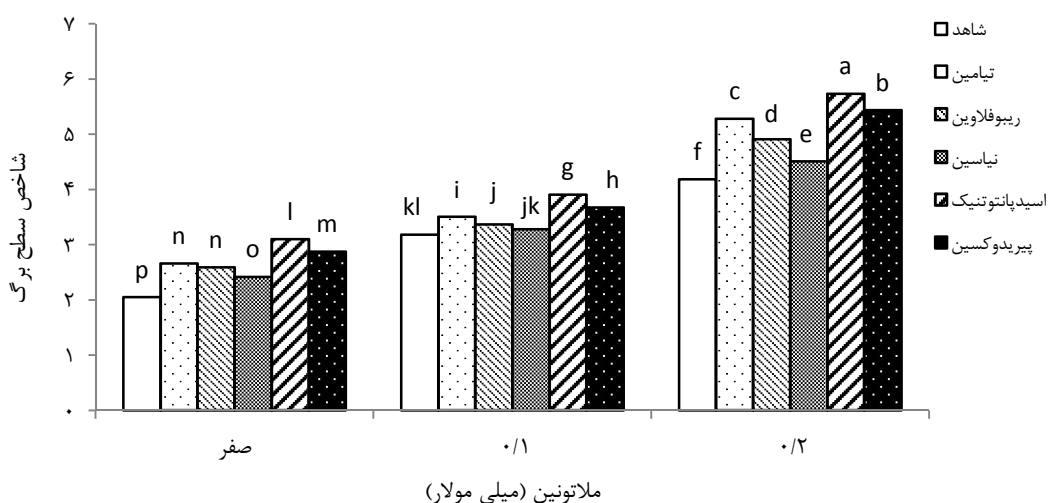
اثر اصلی ملاتونین و ویتامین‌های ب و همچنین برهم‌کنش آن‌ها بر قطر ساقه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول پیوست ۳). صفت قطر ساقه از نظر میزان تأمین استقرار و پایداری گیاه حائز اهمیت است. همه ۱۷ ترکیب تیماری مورد مطالعه توانستند صفت قطر ساقه را نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش دهند (شکل ۴-۱۴). کاربرد همزمان اسیدپانتوتنیک و غلظت ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین قطورترین ساقه‌ها را با میانگین ۷/۹ میلی‌متر ایجاد نمود که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت. در مجموع محلولپاشی با ویتامین‌های ب سبب افزایش قطر ساقه نسبت به تیمار شاهد شد که با افزایش غلظت ملاتونین اثر افزایشی آن‌ها بر این صفت نیز بیشتر شد. در بین ویتامین‌ها، اسیدپانتوتنیک و پس از آن پیریدوکسین بیشترین اثر را داشتند (شکل ۴-۱۴). قطر ساقه گیاهانی که فقط ملاتونین ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار را دریافت کرده بودند (بدون حضور ویتامین ب) حدود ۵۰ درصد بیشتر از شاهد بود. بنابراین تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین نیز بر این صفت قابل توجه بود. افزایش قطر ساقه با محلول‌پاشی ۵۰ پی‌پی‌ام اسیدپانتوتنیک و روی با غلظت ۶ گرم در لیتر در لوبیا سبز نیز گزارش شد (حیدری خوشکاروندانی، ۱۳۹۶). همچنین گیاهچه‌های گوجه-فرنگی تیمار شده با ۰/۱ میلی‌مولار ملاتونین قطر ساقه بیشتری نسبت به تیمار شاهد داشتند (لیو و همکاران، ۲۰۱۵).



شکل ۴-۱۴- مقایسه میانگین قطر ساقه سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

۴-۲-۳- شاخص سطح برگ

اثر کلیه منابع تغییر بر شاخص سطح برگ سویا در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول پیوست ۳). محلول‌پاشی ملاتونین و افزایش در غلظت آن به‌طور معنی‌داری شاخص سطح برگ را افزایش داد. بین سطوح مختلف ویتامین‌های ب در سطح صفر نیز اختلاف معنی‌داری از لحاظ شاخص سطح برگ مشاهده گردید. در این بین اسیدپانتوتونیک و پیریدوکسین مؤثرتر از بقیه بودند. البته اثر همه ویتامین‌های مورد مطالعه در حضور ملاتونین بیشتر شد به‌طوری‌که بیشترین شاخص سطح برگ مربوط به گیاهانی بود که به‌طور همزمان با غلظت ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین و اسیدپانتوتونیک محلول‌پاشی شدند که با میانگین حدود ۵/۷ به لحاظ آماری نسبت به سایر ترکیبات تیماری برتری داشت. این در حالی است که مقدار این شاخص در شرایط عدم محلول‌پاشی ملاتونین و ویتامین‌های ب حدود ۲ به‌دست آمد (شکل ۴-۱۵). در سایر تحقیقات نیز شاخص سلامتی بالاتر در گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی تیمار شده با ملاتونین و سطح برگ بزرگتر در گیاهچه‌های ذرت تیمار شده با ملاتونین تحت تنش خشکی مشاهده گردیده است. شاخص سلامتی و سطح برگ بیشتر گیاهان را به نگهداری ظرفیت فتوسنتزی بالاتر قادر خواهد ساخت (لیو و همکاران، ۲۰۱۵ و یه و همکاران، ۲۰۱۶). کاربرد خارجی ملاتونین خصوصیات مرفولوژیکی گیاهچه‌های خیار در معرض تنش اسیدسینامیک را بهبود بخشید، که این بهبودی بیشتر با استفاده از ملاتونین به‌واسطه محافظت از پژمردگی و خم شدن برگ‌ها، تحریک گسترش سطح برگ و افزایش رشد ریشه به‌دست آمد (لای و همکاران، ۲۰۱۷b). مطالعات اخیر شواهد مستقیمی را در اختیار قرار می‌دهد که پوشش بذر با ملاتونین موجب افزایش معنی‌دار سطح برگ سویا می‌شود (وی و همکاران، ۲۰۱۵). خان و همکاران (۲۰۰۱) بهبود شرایط فیزیولوژیکی گیاه و افزایش شاخص سطح برگ با پیش‌تیمار بذر با پیریدوکسین را در گندم و خردل گزارش نمودند.

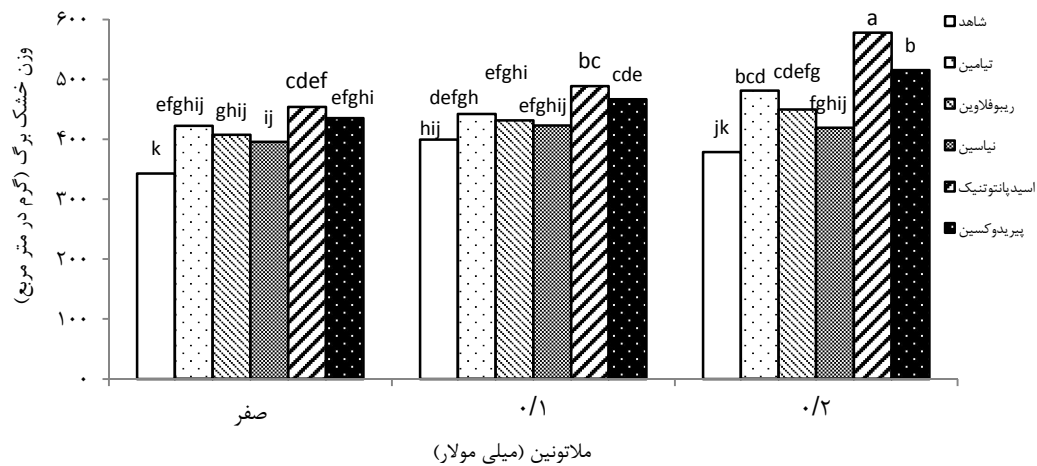


شکل ۴-۱۵- مقایسه میانگین شاخص سطح برگ سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

۴-۲-۴- وزن خشک برگ

تأثیر ملاتونین و ویتامین ب در سطح احتمال ۱ درصد و برهم‌کنش آن‌ها در سطح احتمال ۵ درصد بر وزن خشک برگ معنی‌دار شد (جدول پیوست ۴). نتایج مقایسه میانگین برهم‌کنش محلول-پاشی ملاتونین و ویتامین‌های ب بر وزن خشک برگ نشان داد که بیشترین وزن خشک برگ با اختلاف معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها با میانگین ۵۷۷/۹ گرم در مترمربع مربوط به تیمار غلظت ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین و اسیدپانتوتنیک بود که نسبت به تیمار شاهد (عدم محلول‌پاشی ملاتونین و ویتامین ب) با میانگین ۳۴۳ گرم در مترمربع افزایشی معادل ۶۸ درصد را نشان داد که حاکی از اثر مثبت این دو ماده بر میزان وزن خشک برگ و در نهایت تولید کربوهیدرات بیشتر برای گیاه بود. برتری نسبی اسیدپانتوتنیک و پس از آن پیریدوکسین در هر سه سطح ملاتونین مشهود بود (شکل ۴-۱۶). لای و همکاران (۲۰۱۷b) ملاحظه کردند که نسبت‌های IAA/ABA و GA₃/ABA که ارتباط قوی مثبتی با بیشتر پارامترهای مورفولوژیکی (از قبیل RGR، وزن خشک برگ، مساحت رویه ریشه و حجم ریشه) داشت به‌طور آشکار با استفاده ملاتونین در گیاهان تحت تنش اسید سینامیک افزایش یافت. نتایج مشابه نیز از گیاهان تیمار شده با ملاتونین تحت تنش‌های غیرزنده از قبیل شوری و تنش

سرما به دست آمد (هوانگ و همکاران، ۲۰۱۵ و پومیانو و همکاران، ۲۰۱۶). پیش تیمار بذر لوبیا سبز با اسیدپانتوتنیک همراه با پیریدوکسین موجب افزایش معنی دار وزن خشک برگ نسبت به تیمار شاهد گردید (حلفی، ۱۳۹۷).

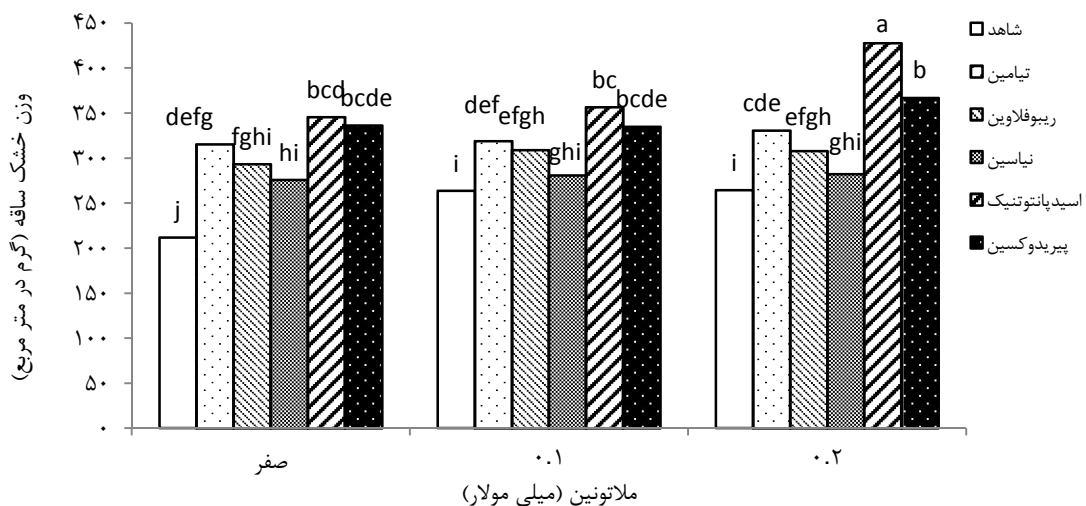


شکل ۴-۱۶- مقایسه میانگین وزن خشک برگ سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

۴-۲-۵- وزن خشک ساقه

اثر ملاتونین و ویتامین ب در سطح احتمال ۱ درصد و برهم کنش آن‌ها در سطح احتمال ۵ درصد بر این صفت معنی دار بود (جدول پیوست ۴). محلول پاشی ملاتونین با غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ میلی-مولار بدون حضور ویتامین ب تقریباً به یک اندازه و حدود ۲۵ درصد وزن خشک ساقه را افزایش دادند. این افزایش از نظر آماری معنی دار بود. ویتامین‌های ب نیز در سطح صفر ملاتونین به طور معنی دار و بین ۳۰ تا ۶۳ درصد این صفت را بهبود بخشیدند که البته اختلاف چندانی بین ویتامین‌ها از این لحاظ وجود نداشت و فقط اثر نیاسین کمتر از بقیه بود. اضافه شدن ملاتونین به ویتامین‌های ب و دوبرابر شدن غلظت آن تأثیر قابل توجهی بر مقادیر ثبت شده برای این صفت نداشت. فقط ترکیب تیماری ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین و اسیدپانتوتنیک با حدود ۴۲۸ گرم در مترمربع متفاوت بود و در گروه برتر آماری قرار گرفت و با اختلاف معنی دار نسبت به سایر ترکیب‌های تیماری بیشترین وزن

خشک ساقه را رقم زد. تیمار عدم محلول پاشی (شاهد) با مقدار حدود ۲۱۱ گرم در مترمربع کمترین وزن خشک ساقه را دارا بود (شکل ۴-۱۷). گزارش شده است که وزن خشک ساقه گیاه خیار در ترکیب تیماری ۰/۴ میلی مولار اسیدسینامیک و عدم استفاده از ملاتونین به طور معنی داری نسبت به گیاهان تیمار شده با ملاتونین کمتر بود، که اثر منفی اسیدسینامیک به طور مؤثری با ۱۰ میکرومولار ملاتونین و ۰/۴ میلی مولار اسیدسینامیک کاهش یافت (لای و همکاران، ۲۰۱۷b). گیاهچه‌های گوجه-فرنگی تیمار شده با ملاتونین وزن خشک ساقه بیشتر نسبت به گیاهان شاهد برخوردار بودند (لیو و همکاران، ۲۰۱۵).



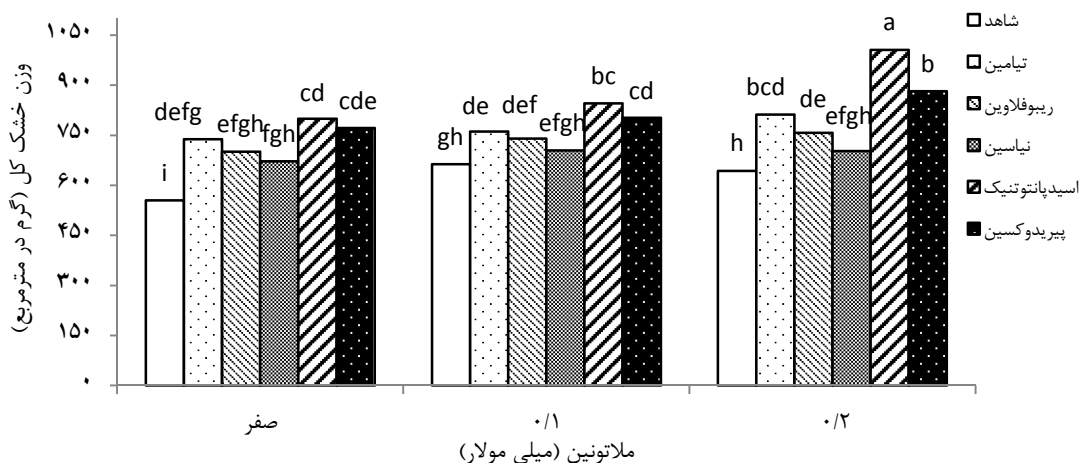
شکل ۴-۱۷- مقایسه میانگین وزن خشک ساقه سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

۴-۲-۶- ماده خشک کل

اثر محلول پاشی ویتامین ب و ملاتونین ($P < 0/01$) و نیز برهم‌کنش آن‌ها ($P < 0/05$) بر ماده خشک کل معنی دار شد (جدول پیوست ۴). وزن خشک کل از مجموع وزن خشک برگ، ساقه و غلاف هر نمونه بر حسب گرم در مترمربع به دست آمد. مقایسه میانگین ترکیبات تیماری حاصل از محلول-پاشی ملاتونین و ویتامین‌های ب افزایش معنی دار تجمع ماده خشک کل را در اثر همه تیمارها نسبت به شاهد نشان داد (شکل ۴-۱۸). در نهایت بیشترین مقدار ماده خشک در ترکیب تیماری ۰/۲ میلی-

مولار ملاتونین و اسیدپانتوتنیک با میانگین حدود ۱۰۰۰ گرم در متر مربع ثبت شد که به لحاظ آماری نیز نسبت به سایر ترکیبات تیماری برتری داشت در حالی که مقدار این صفت در گیاهان شاهد حدود ۵۵۴ گرم در مترمربع به دست آمد. این نتیجه حاصل همراه شدن غلظت بالای ملاتونین با اسیدپانتوتنیک بود چرا که بیشترین میزان این شاخص در ترکیب تیماری عدم محلول پاشی ملاتونین و تیمار اسیدپانتوتنیک حدود ۸۰۰ گرم در مترمربع بود که با افزایش غلظت ملاتونین با غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ میلی مولار همراه با محلول پاشی اسیدپانتوتنیک به ترتیب به حدود ۸۴۵ و ۱۰۰۰ افزایش پیدا کرد. پس از اسیدپانتوتنیک، اثر پیریدوکسین نیز مثبت بود که البته اختلاف معنی داری با برخی از تیمارها نداشت به جز تیمارهای یاد شده (اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین) که تحت تأثیر همراه شدن با غلظت بالای ملاتونین اثر مضاعفی از خود نشان دادند، اضافه شدن ملاتونین به سایر ویتامین‌های ب تغییری در اثر این ویتامین‌ها ایجاد نکرد (شکل ۴-۱۸).

بیشترین افزایش معنی دار وزن خشک ساقه گیاه نخود در شرایط خاک شنی با کاربرد تیمار ملاتونین با غلظت ۰/۵ و ۱ میلی مولار به دست آمد (ال آوادی و همکاران، ۲۰۱۷). پاردس و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که در گیاهان به‌ویژه در شرایط محیطی مانند خشکی دانه‌ها که نمی‌توانند دفع مسمومیت آنزیمی رادیکال‌های آزاد را به‌خوبی انجام دهند، ملاتونین موجب افزایش محافظت آنتی-اکسیدانی می‌شود. بیان شده است که غلظت‌های پایین ملاتونین (۰/۱ و ۰/۱۵ میلی مولار) می‌تواند کارآیی تبدیل CO₂ و تجمع وزن خشک را بالا ببرد (لیو و همکاران، ۲۰۱۵). محلول پاشی اسیدپانتوتنیک نیز موجب افزایش معنی دار وزن خشک برگ در لوبیا سبز گردید (حیدری خوشکاروندانی، ۱۳۹۶). طبق تحقیقات خان و همکاران (۱۹۹۵) نقش افزایش‌دهنده ویتامین ب در میزان جذب ریشه، موجب افزایش ظهور برگ می‌شود که این امر به نوبه خود سبب افزایش توان فتوسنتزی و سرعت جذب خالص و در نتیجه افزایش تجمع ماده خشک در گیاه می‌شود. به عنوان مثال پیریدوکسین موجب افزایش میزان سرعت جذب مواد غذایی در ذرت گردیده است (خان و همکاران، ۲۰۰۱).



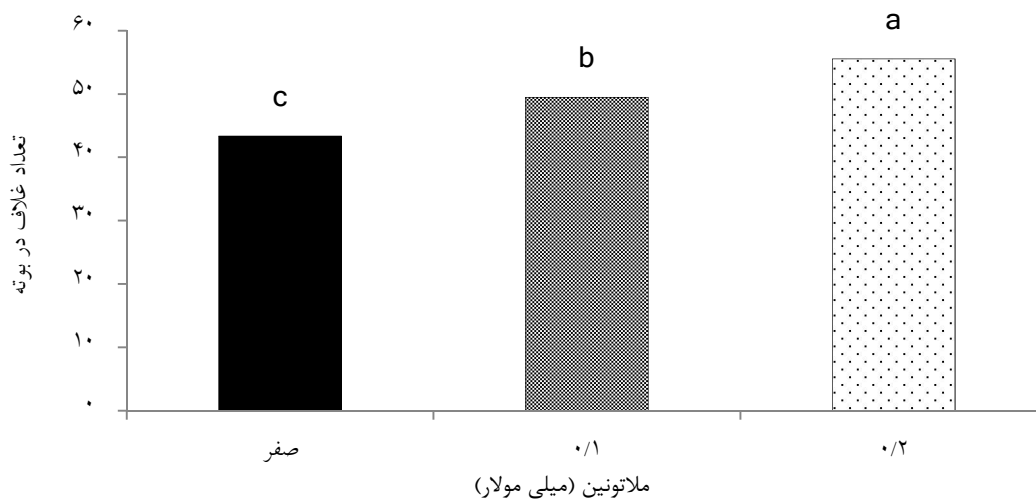
شکل ۴-۱۸- مقایسه میانگین ماده خشک کل سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

۴-۳- عملکرد و اجزای عملکرد

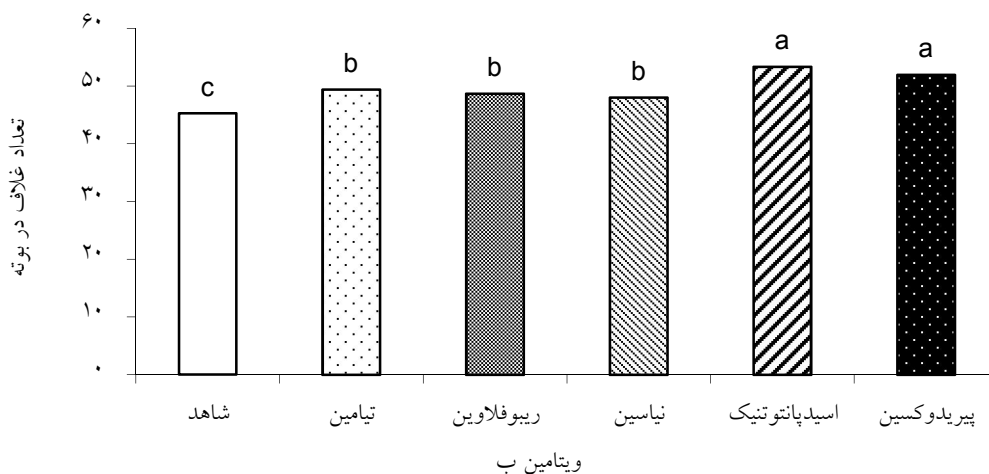
۴-۳-۱- تعداد غلاف در بوته

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی ملاتونین و ویتامین‌های ب بر تعداد غلاف در بوته در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود در حالی که برهم‌کنش غلظت محلول‌پاشی ملاتونین و ویتامین‌های ب معنی‌دار نشد (جدول پیوست ۵). تعداد غلاف در بوته در اثر محلول‌پاشی ملاتونین و افزایش غلظت آن به‌طور معنی‌داری افزایش یافت به‌نحوی که بیشترین مقدار این صفت از تیمار ۰/۲ میلی مولار ملاتونین به‌دست آمد که تقریباً ۲۷ درصد نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود (شکل ۴-۱۹). ویتامین‌های ب نیز نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی افزایش معنی‌داری در تعداد غلاف در بوته ایجاد نمودند. بیشترین مقدار این صفت با میانگین ۵۳/۳ و ۵۱/۹۸ به‌ترتیب متعلق به تیمارهای اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین بود که اختلاف معنی‌داری نسبت به هم نداشتند اثر نیاسین، ربیوفلاوین و تیمامین نیز بر این جزء عملکردی یکسان بود و در مرتبه دوم آماری قرار داشتند. کمترین تعداد غلاف در بوته مربوط به تیمار شاهد با میانگین ۴۵/۲ بود (شکل ۴-۲۰). تعداد غلاف در گیاهان لوبیای مانگ (*Vigna radiata* L.) رشد یافته از بذرهای هیدروپرایم شده با ۵۰ μ M ملاتونین نسبت به گیاهان هیدروپرایم شده بدون ملاتونین و پرایم نشده بیشتر بود (جاناس و پاسمیک،

۲۰۱۳). مطالعات اخیر شواهد مستقیمی از اثر معنی‌دار ملاتونین بر افزایش تعداد غلاف در گیاهان تولید شده از بذرهای تیمار شده با این ماده ارائه می‌دهند (وی و همکاران، ۲۰۱۵). افزایش تعداد غلاف در بوته با محلول‌پاشی توأم اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین (حیدری خوشکاروندانی، ۱۳۹۶) و اسیدپانتوتنیک (خان و همکاران، ۲۰۰۱) نیز گزارش شد.



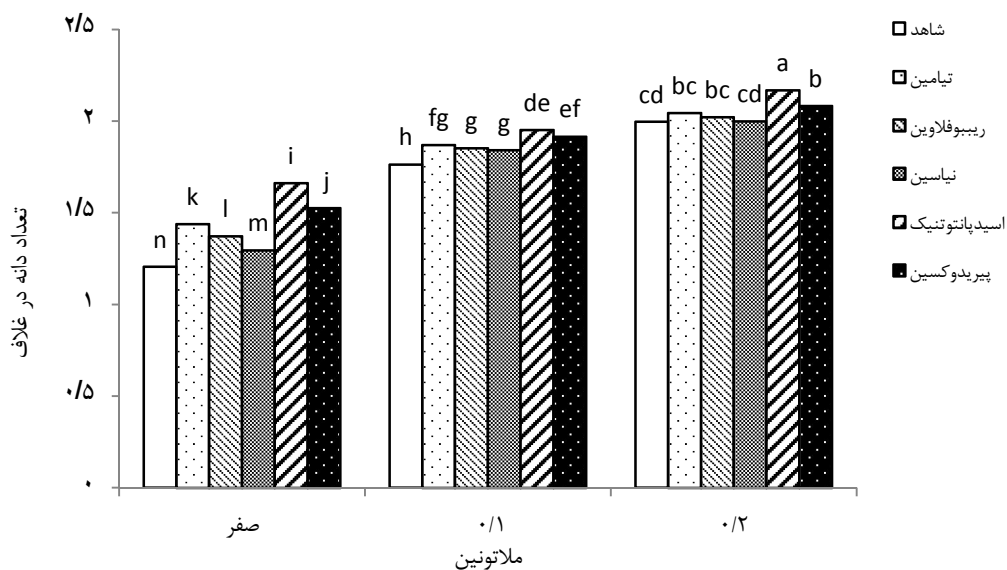
شکل ۴-۱۹- مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین



شکل ۴-۲۰- مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب

۴-۳-۲- تعداد دانه در غلاف

اثر ملاتونین و ویتامین‌های ب و همچنین برهم‌کنش این دو ترکیب بر تعداد دانه در غلاف در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول پیوست ۵). تعداد دانه در غلاف نیز تحت تأثیر همه تیمارهای اعمال شده بین ۷/۵ تا ۷۹ درصد نسبت به شاهد بهبود یافت. نتایج نشان داد که اثر محلول پاشی ملاتونین به تنهایی بر این جزء عملکرد بیشتر از اثر محلول پاشی ویتامین‌های ب به تنهایی است. ولی مانند سایر صفات در اینجا نیز اثر کاربرد توأم این مواد مضاعف بود. بیشترین مقدار این صفت با اختلاف معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها مربوط به ترکیب تیماری اسیدپانتوتنیک و ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین با میانگین ۲/۱ بود که ۱/۷۵ برابر نسبت به کمترین مقدار آن در تیمار شاهد با میانگین ۱/۲ دانه در غلاف بیشتر بود (شکل ۴-۲۱). در آزمایش وی و همکاران (۲۰۱۵)، گیاهان سویای تیمار شده با ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین تعداد دانه بیشتری نسبت به گیاهان شاهد و کمی بیشتر از گیاهان تیمار شده با ۵۰ میکرومولار ملاتونین داشتند. همچنین استفاده از پیریدوکسین موجب افزایش تعداد دانه در بلال گیاه ذرت نسبت به گیاهان شاهد شد (فرخی و ارادتمند اصلی، ۱۳۸۷).

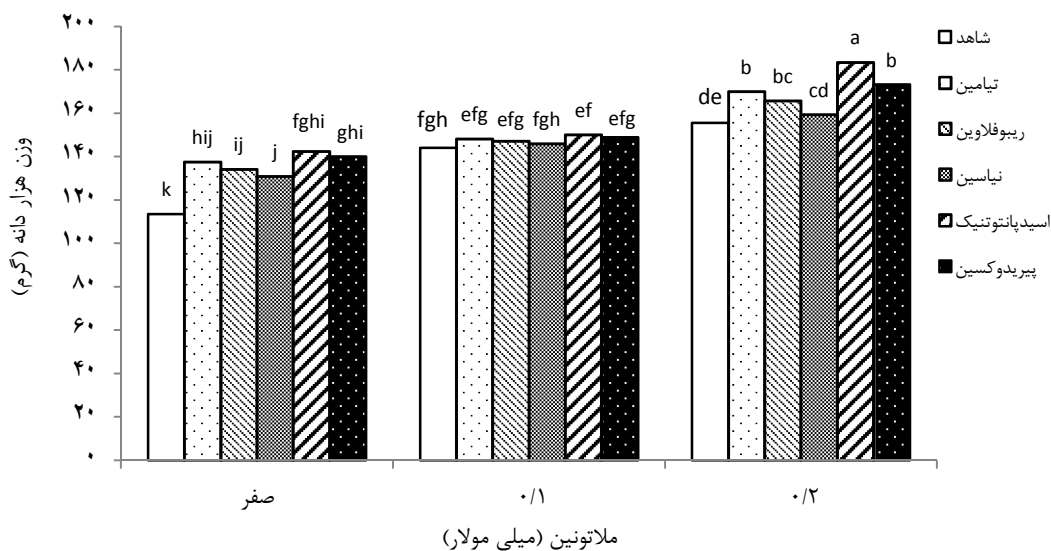


شکل ۴-۲۱- مقایسه میانگین تعداد دانه در غلاف تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

۴-۳-۳- وزن هزار دانه

وزن هزاردانه در سطح احتمال ۱ درصد از محلول‌پاشی ملاتونین و ویتامین ب تأثیر پذیرفت. اثر متقابل محلول‌پاشی این دو ماده نیز بر وزن هزاردانه ($P < 0.05$) معنی‌دار گردید (جدول پیوست ۵). نتایج مشابهی برای وزن هزاردانه همانند تعداد دانه در غلاف رقم خورد. طوری که همه ترکیبات تیماری مورد مطالعه این صفت را بهبود بخشیدند. در دو سطح صفر و ۰/۱ میلی‌مولار ملاتونین اختلاف زیادی بین ویتامین‌های ب از لحاظ تأثیرگذاری بر این صفت وجود نداشت و اثرگذاری سطح ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین بیشتر بود. بدین ترتیب کمترین وزن هزاردانه مربوط به تیمار شاهد (عدم محلول‌پاشی) با ۱۱۳/۵ گرم بود و بیشترین مقدار آن معادل ۱۸۳/۵ گرم از ترکیبات تیماری ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین و ویتامین ب ۵ (اسیدپانتوتنیک) به‌دست آمد (شکل ۴-۲۲). اثر مثبت اسیدپانتوتنیک (حیدری خوشکاروندانی، ۱۳۹۶) و پیریدوکسین به همراه روی (فرخی و ارادتمند اصلی، ۱۳۸۷) بر افزایش وزن دانه پیش از این نیز گزارش شده است. اعلام شده است که تیمار ملاتونین اثر معنی‌داری بر افزایش وزن دانه در شرایط مزرعه داشته است ولی بر وزن دانه در شرایط گلخانه اثری نداشت (وی و همکاران، ۲۰۱۵). وجود شاخص سطح برگ مطلوب سبب استفاده بهینه از

نور و در نتیجه افزایش فتوسنتز و تولید بیشتر ماده خشک و نهایتاً افزایش وزن هزاردانه گردید.

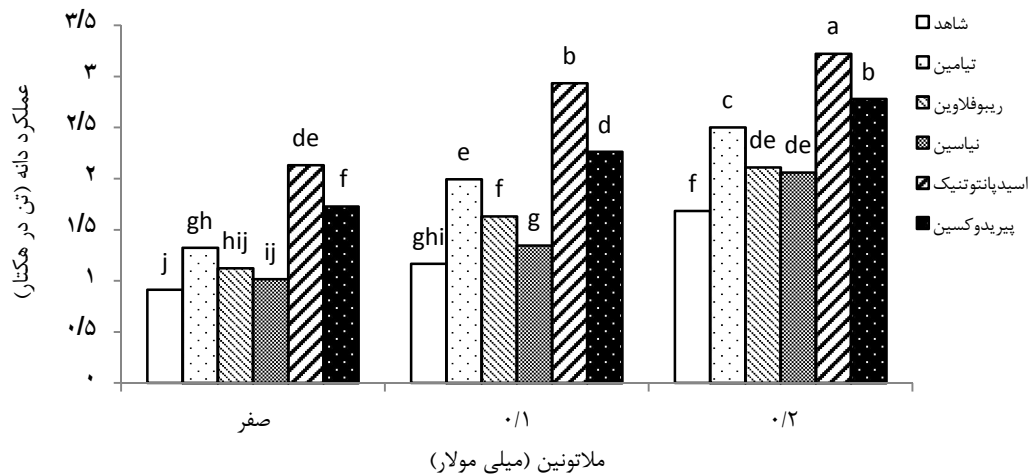


شکل ۴-۲۲- مقایسه میانگین وزن هزار دانه سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

تأثیر محلول پاشی ملاتونین و ویتامین ب در سطح احتمال ۱ درصد و برهم کنش آن‌ها در سطح احتمال ۵ درصد بر عملکرد دانه معنی‌دار شد (جدول پیوست ۵). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که استفاده از ملاتونین و ویتامین‌های ب سبب افزایش در میزان عملکرد دانه گردید به طوری که افزایش غلظت ملاتونین همراه با ویتامین ب اثر بیشتری بر عملکرد دانه داشت. بالاترین عملکرد در ترکیب تیماری ۰/۲ میلی مولار ملاتونین و اسیدپانتوتنیک به دست آمد که ضمن اختلاف معنی‌دار با سایر ترکیب‌های تیماری، افزایش تقریباً ۳/۵ برابری نسبت به گیاهان شاهد نشان داد. مقایسه ویتامین‌های ب نشان می‌دهد که در هر سه سطح ملاتونین بیشترین اثر مربوط به اسیدپانتوتنیک و پس از آن پیریدوکسین و تیامین بود. اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین به تنهایی توانستند عملکرد دانه را به ترتیب ۱۳۳ و ۸۹ درصد نسبت به شاهد افزایش دهند که این اثر با حضور ملاتونین چشمگیرتر شد. در عدم-حضور ویتامین‌های ب محلول پاشی ملاتونین با غلظت ۰/۱ میلی مولار و دو برابر شدن غلظت آن عملکرد دانه را به ترتیب ۲۷ و ۸۴ درصد افزایش داد (شکل ۴-۲۳).

محلول پاشی ملاتونین تحمل به شرایط تنش را در گیاهان افزایش و کاهش عملکرد و اجزای عملکرد ناشی از رشد در شرایط تنش غیرزنده را تخفیف می‌دهد (تان و همکاران، ۲۰۱۱). اثرات مثبت پرایمینگ بذر با ملاتونین نه تنها کیفیت بذر (جوانه زنی و قدرت بیشتر در پایین تر از شرایط نرمال)، بلکه توسعه گیاهچه، رشد گیاه و عملکرد محصول را نیز افزایش می‌دهد (جاناس و همکاران، ۲۰۰۹ و سافرانسکا و همکاران، ۲۰۱۶). ملاتونین ممکن است به عنوان واسطه خیلی از فعالیت‌های فیزیولوژیکی در گیاهان به عنوان تنظیم کننده رشد، تعادل یونی و افزایش رشد رویشی در تعدادی از گونه‌های گیاهی عمل نماید که منجر به افزایش عملکرد دانه می‌شود (کولار و ماچاکوا، ۲۰۰۵ و ساروپولو و همکاران، ۲۰۱۲). بیان شده است که گیاهان تیمار شده با پیریدوکسین و اسیدپانتوتنیک توان جذب و توان فتوسنتزی و عملکرد دانه خردل، گندم و ذرت را به طور معنی‌داری افزایش دادند (خان و همکاران، ۲۰۰۱ و فرخی و ازادتمند اصلی، ۱۳۸۷). خان و همکاران (۱۹۹۵) بیان نمودند که

پیریدوکسین موجب افزایش توان فتوسنتزی و در نتیجه افزایش ماده خشک تولیدی از طریق تأثیر مثبت بر سرعت جذب خالص (NAR) می‌شود.



شکل ۴-۲۳- مقایسه میانگین عملکرد دانه سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

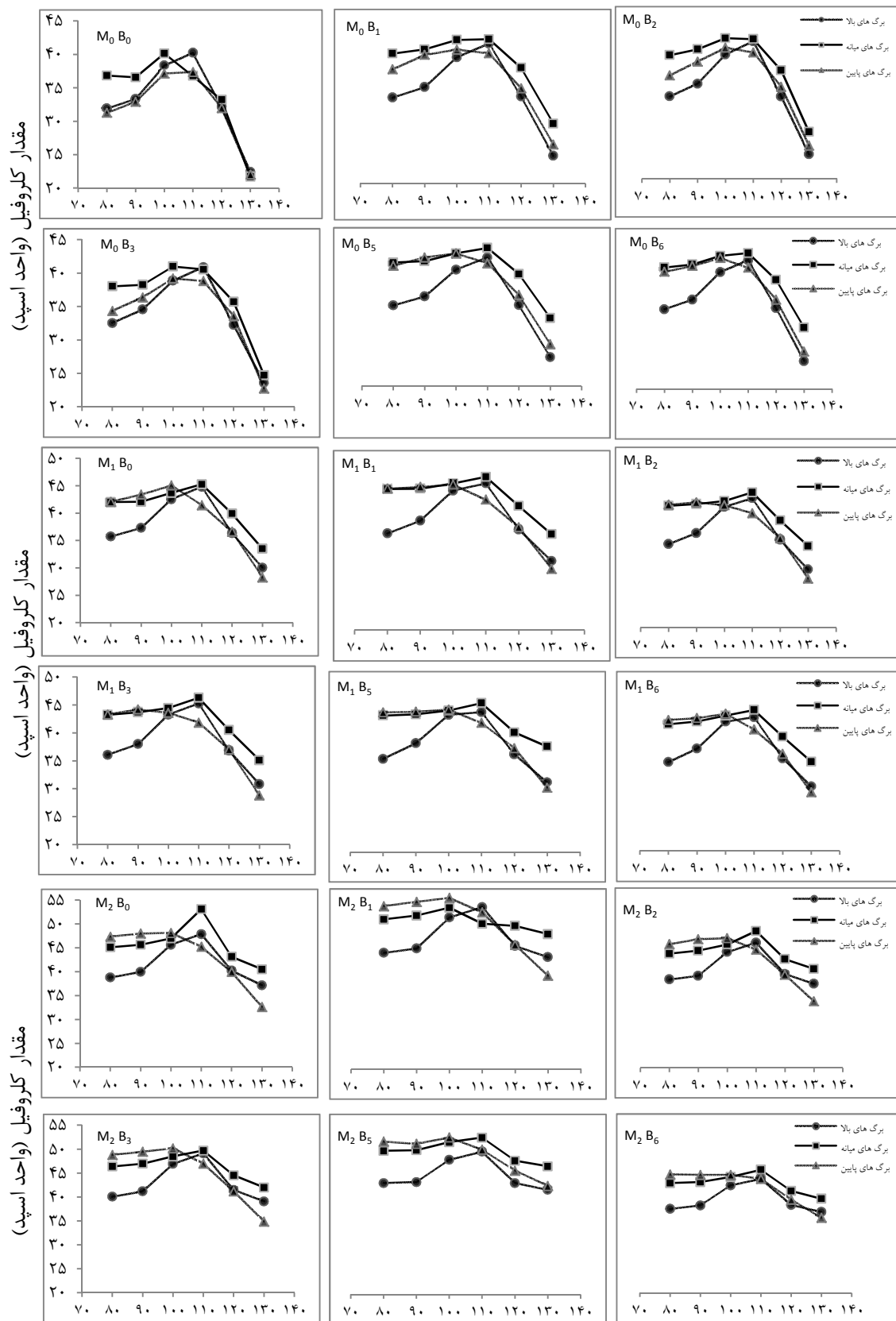
۴-۴- صفات فیزیولوژیک بخش مزرعه‌ای

۴-۴-۱- روند پیری برگ (شاخص اسپد)

شکل ۴-۲۴ میزان کلروفیل برگ‌های سویا را براساس شاخص اسپد با هدف بررسی روند پیر شدن گیاه از بالای بوته به پایین آن تحت تأثیر ترکیبات تیماری مختلف نشان می‌دهد. تقریباً در تمام شکل‌ها دیده می‌شود که تا حدود ۱۱۰ روز پس از کاشت روند تغییرات کلروفیل ثابت یا افزایشی بود و پس از آن کاهش یافت. در ابتدای فصل در سطوح صفر و ۰/۱ میلی‌مولار ملاتونین مقدار کلروفیل تقریباً در برگ‌های میانی و در تیمار ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین در برگ‌های پایینی بیشتر بود. با گذشت ۱۰۰ روز از کاشت و پس از آن بیشترین کلروفیل مربوط به برگ‌های میانی بود. محلول‌پاشی ملاتونین اثر مثبتی بر کاهش روند تخریب کلروفیل برگ داشت به طوری که گیاهانی که غلظت بیشتری از ملاتونین را دریافت کرده بودند میزان کلروفیل موجود در برگ آن‌ها با سرعت کمتری دچار افت گردید، درحالی که کاهش کلروفیل برگ گیاهان در معرض تیمار عدم محلول‌پاشی سریع‌تر اتفاق

افتاد. در اثر محلول‌پاشی با ویتامین‌های ب نیز از روند سریع کاهش کلروفیل برگ کاسته شد. به نحوی که در آخرین اندازه‌گیری مقدار کلروفیل باقیمانده در برگ گیاهانی که ویتامین‌های ب را دریافت کرده بودند، بیشتر بود. در این بین بیشترین میزان کلروفیل مربوط به تیمار اسیدپانتوتینیک بود. در مجموع هنگامی که بالاترین سطح ملاتونین با ویتامین‌های ب همراه بود، پیری برگ با تأخیر اتفاق افتاد. برعکس هنگامی که محلول‌پاشی انجام نشد روند پیری همه برگ‌ها شدت بیشتری داشت. مقایسه همه ترکیبات تیماری نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل موجود در برگ در آخرین اندازه‌گیری کلروفیل مربوط به ترکیب تیماری ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین و اسیدپانتوتینیک در برگ‌های بالا، میانه و پایین کانوپی گیاه بود که به ترتیب حدوداً برابر با ۴۴، ۵۰ و ۴۵ (واحد اسپد) به‌دست آمد. در حالی که این مقدار در برگ گیاهان شاهد (M_0B_0) حدود ۲۲ واحد اسپد بود.

ملاتونین تأخیر پیشرفت پیری و نگهداری مشخصات کیفی میوه هلو را افزایش داد (گائو و همکاران، ۲۰۱۶). نتایج مشابه از کاربرد ملاتونین و اثر ضد پیری آن در جو و برگ‌های سیب با افزایش سطح کلروفیل (آرنائو و هرناندز رویز، ۲۰۰۹ و وانگ و همکاران، ۲۰۱۲) و کاهش پیری برگ (لی و بک، ۲۰۱۷ و لیانگ و همکاران، ۲۰۱۵) نیز به‌دست آمد. ملاتونین ژن تولید کننده فردوکسین (*PetF*) و اثر بازداری شوری بر این ژن را متوقف نمود. کاهش بیان ژن *PetF* ممکن است بر تمیز کردن گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) تولید شده در طی فتوسنتز و یا نتایج تنش شوری شامل تأخیر در رشد و تجمع H_2O_2 در تنش شوری تأثیر بگذارد (وی و همکاران، ۲۰۱۵). فردوکسین میزان کاهش آسکوربات و محافظت از تخریب کلروفیل را تنظیم می‌کند (لین و همکاران، ۲۰۱۳). گزارش شده است که کاربرد حاکی طولانی مدت ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین محتوای کلروفیل سیب را در مقایسه با درختان شاهد افزایش داد (وانگ و همکاران، ۲۰۱۳a). افزایش میزان کلروفیل برگ در اثر تیمار اسیدپانتوتینیک و پیریدوکسین (حیدری خوشکاروندانی، ۱۳۹۶) و پیریدوکسین (تایتیز و همکاران، ۲۰۰۶ و چن و ژیانگ، ۲۰۰۵) و به دنبال آن افزایش مقابله با تنش‌های غیرزنده و کاهش تنش اکسیداتیو مشاهده شده است.



روز پس از کاشت

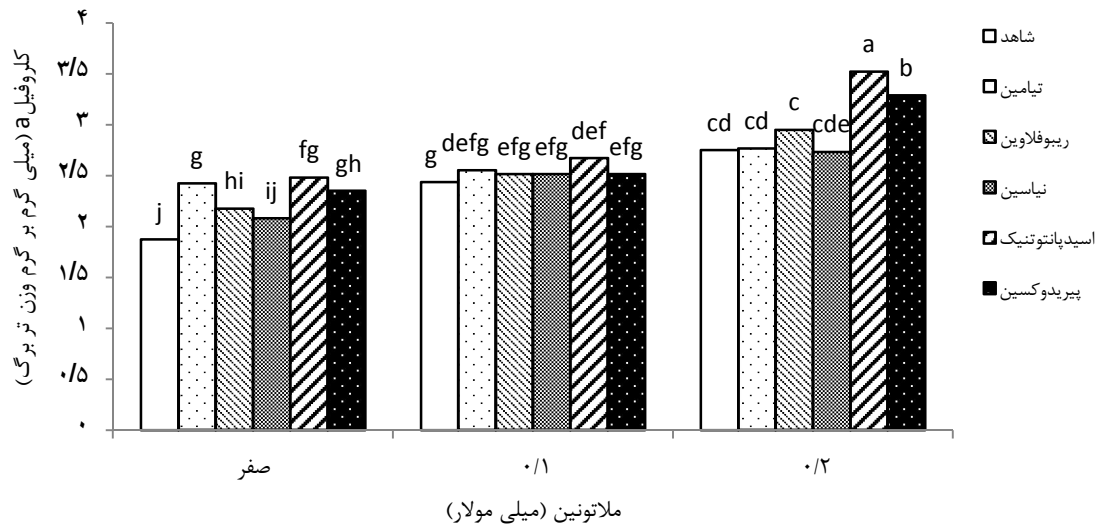
شکل ۴-۲۴- روند پیر شدن برگ‌های مختلف در ترکیبات تیماری حاصل از عدم محلول‌پاشی ملاتونین (M₀), ۱/۰ میلی مولار (M₁) و ۲/۰ میلی مولار (M₂) و محلول‌پاشی با ویتامین‌های گروه B شاهد (B₀), تیامین (B₁), ریبوفلاوین (B₂), نیاسین (B₃), اسیدپانتوتنیک (B₅) و پیریدوکسین (B₆)

۴-۴-۲- کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید برگ

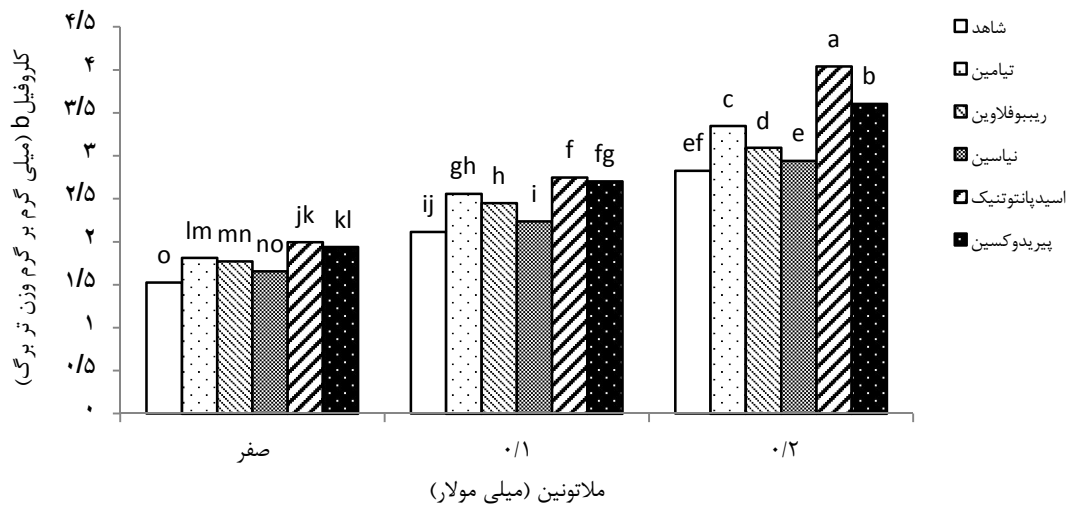
اثر ملاتونین، ویتامین ب و برهم‌کنش آن‌ها در سطح احتمال ۱ درصد بر کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید معنی‌دار بود (جدول پیوست ۶). نتایج نشان داد که محلول‌پاشی و افزایش غلظت ملاتونین به‌تنهایی و همراه با ویتامین‌های ب افزایش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی برگ را سبب گردید. میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئید در برگ گیاهان شاهد (عدم محلول‌پاشی) پایین بود. ترکیبات تیماری مورد مطالعه مقدار کلروفیل a را بین ۱۱ تا ۸۷ درصد، مقدار کلروفیل b را بین ۸/۵ تا ۱۶۵ درصد و میزان کاروتنوئید برگ را بین ۴۳ تا ۲۸۰ درصد بهبود بخشیدند. بیشترین مقدار کلروفیل a و b در برگ گیاهانی به‌ثبت رسید که توسط ملاتونین ۰/۲ میلی‌مولار به‌همراه اسیدپانتوتنیک محلول‌پاشی شدند. محلول‌پاشی با پیریدوکسین در همین سطح از ملاتونین مقام دوم را دارا بود. برآیند میزان کلروفیل a و b در کلروفیل کل مشخص گردید به‌نحوی که بیشترین مقدار آن در آخرین سطح ملاتونین و اسیدپانتوتنیک نسبت به تیمار شاهد حدود ۶۰ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ افزایش در میزان کلروفیل را نشان داد. در اثر کاربرد دو ویتامین مذکور (اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین) در هر سه سطح ملاتونین مقدار کاروتنوئید برگ بالا بود. البته اثرگذاری نیاسین در غلظت بالای ملاتونین و تیمامین در هر سه سطح ملاتونین بر این صفت نیز قابل توجه بود (شکل ۴-۲۵، ۴-۲۶، ۴-۲۷ و ۴-۲۸).

پیش‌تیمار بذرهاى نخودفرنگى با ملاتونین موجب کاهش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در بافت برگ، محافظت از رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b و کاروتنوئید)، بهبود عملکرد اجزای فتوسنتز و محتوای آب بیشتر در بافت‌های گیاهان حاصل از این بذرها تحت تنش پاراکوات گردید (سافرانسکا و همکاران، ۲۰۱۶). تنظیم اعمال زیادی در بیش از ۸۰۰ ژن مرتبط با پیری (SAGs) دلالت بر برنامه‌ریزی فرآیند پیری برگ‌ها دارد (بوچانان و ولاستون و همکاران، ۲۰۰۵). در این فرآیند، ماکرومولکول‌ها، پروتئین‌های اصلی و لیپیدها هیدرولیز شده و ترکیبات دیگر به سرعت به مخازن دیگر گیاه (بذر، میوه، برگ‌های جدید و...) منتقل می‌شوند. تخریب کلروپلاست در طی فرآیند از دست

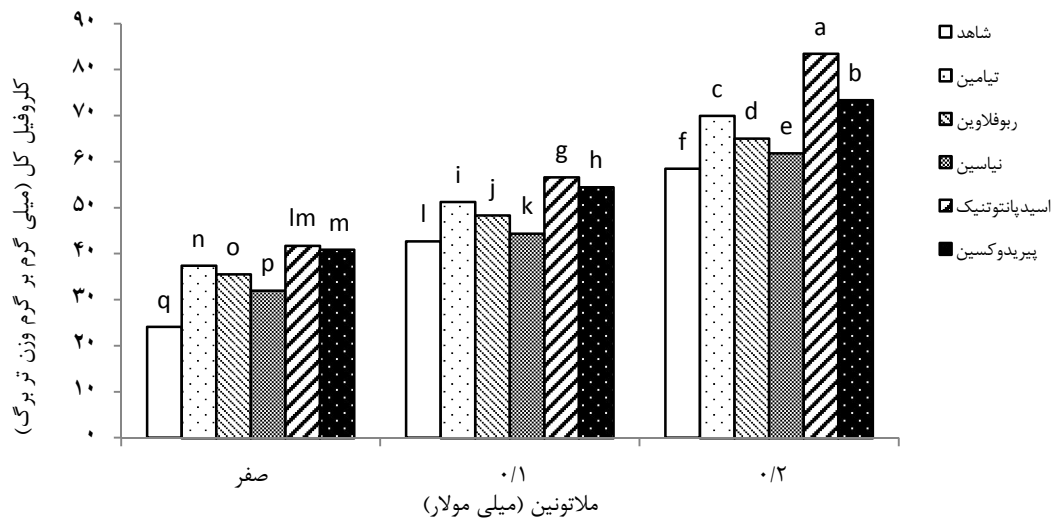
دادن پروتئین‌ها از قبیل روبیسکو و پروتئین‌های متصل به کلروفیل اتفاق می‌افتد. تخریب فتوسیستم I و II (مجموعه کلروفیل - پروتئین) با انتشار و تخریب کلروفیل‌ها همراه می‌باشد. در این فرآیند، فعالیت پروتئین‌ها به‌ویژه سنتز و یا فعال شده در طی پیری، روی مجموعه کلروفیل - پروتئین آن‌ها را بی‌ثبات می‌کند و سبب انتشار کلروفیل‌ها می‌گردد. همچنین آغاز پیری با بعضی از موقعیت‌های (وضعیت) خاص تنش مرتبط است، جایی که بین مسیر سیگنالینگ تنش و پیری برگ‌ها ارتباطی وجود دارد. برای مثال می‌توان به افزایش معنی دار در راه‌اندازی سیستم آنتی‌اکسیدانی همه مکانیسم‌های دفاعی و دفع مسمومیت در سلول‌های پیر برگ‌ها اشاره نمود (لیم و همکاران، ۲۰۰۷ و هورتن استینر، ۲۰۰۶). ملاتونین ممکن است در نقش یک آنتی‌اکسیدان از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزاد (ROS, RNS) و رادیکال‌های لیپید جلوگیری نماید و بنابراین فرآیند پیری را به تأخیر بیندازد و زمان بیشتری برای انتقال مجدد ترکیبات هیدرولیز شده فراهم نماید (آرنائو و هراندز رویز، ۲۰۰۹). افزایش معنی دار کلروفیل b و کلروفیل کل در گیاه همیشه بهار با محلول‌پاشی پیریدوکسین در مطالعه سلطانی و همکاران (۲۰۱۲) مشاهده شد. پیریدوکسین با غلظت ۵۰ پی‌پی‌ام افزایش ۱۴۱ درصدی کلروفیل a و ۱۱۵ درصدی کاروتنوئید و با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام افزایش ۲۰۹ درصدی کلروفیل b را در گیاه باقلای مصری نشان داد (ال‌آوادی و همکاران، ۲۰۱۶). گاپالا و ساستری (۱۹۷۲) گزارش نمودند که تمام ویتامین‌های گروه B ممکن است با سنتز کلروفیل مرتبط باشند. در این رابطه حامد و خلائی (۲۰۰۰) دریافتند که خیساندن بذور یا پیش‌تیمار گیاهچه باقلا (*Vicia faba*) با پیریدوکسین بیوسنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی را تحریک می‌نماید. تیامین نیز به‌عنوان پیش‌ماده تیامین دی‌فسفات به‌صورت یک کوآنزیم در بسیاری از مسیرهای متابولیکی شامل بیوسنتز رنگدانه‌های گیاه (فردریچ، ۱۹۸۷) و متابولیسم کربوهیدرات‌ها (کاوآزکی، ۱۹۹۱) عمل می‌نماید.



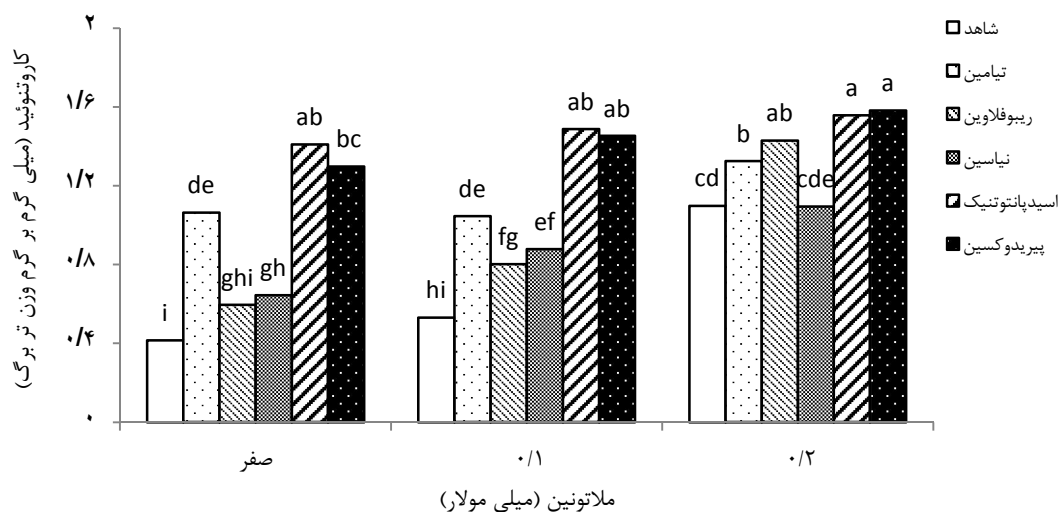
شکل ۴-۲۵- مقایسه میانگین کلروفیل a تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب



شکل ۴-۲۶- مقایسه میانگین کلروفیل b تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب



شکل ۴-۲۷- مقایسه میانگین کلروفیل کل تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب



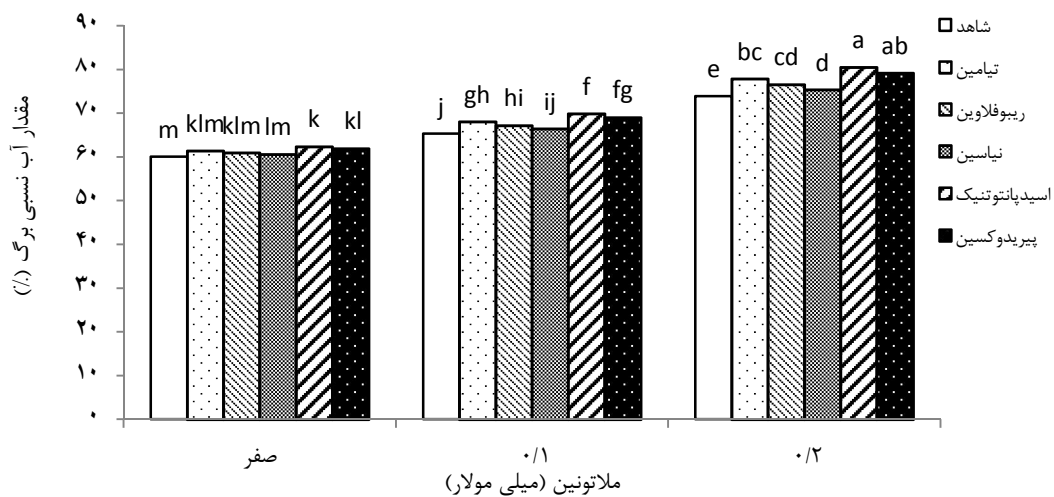
شکل ۴-۲۸- مقایسه میانگین کاروتنوئید تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

۴-۳- مقدار آب نسبی برگ (RWC)

مقدار نسبی آب برگ از ویتامین ب و ملاتونین در سطح احتمال ۱ درصد، و از برهم‌کنش این تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد تأثیر پذیرفت (جدول پیوست ۷). در اثر محلول‌پاشی اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین به‌تنهایی، ملاتونین به‌تنهایی و نیز همراه شدن هر دو غلظت ملاتونین با کلیه ویتامین‌های ب وضعیت آبی برگ به‌طور معنی‌داری بهبود یافت. مقادیر این صفت در غلظت بالای ملاتونین (۰/۲ میلی‌مولار) بیشتر بود. به نحوی که بیشترین مقدار آن مربوط به اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین همراه با غلظت ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین به‌ترتیب با میانگین ۸۰/۵ و ۷۹/۲ درصد بود که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (شکل ۴-۲۹).

اغلب برای بررسی میزان آب بافت گیاهان، رطوبت نسبی برگ اندازه‌گیری می‌شود (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۳). کاربرد ملاتونین روی بذرهای نخودفرنگی موجب افزایش معنی‌دار میزان آب نسبی برگ گیاه‌چه‌های حاصل از این بذرهای تحت تنش اکسیداتیو پاراکوات (سافرانسکا و همکاران، ۲۰۱۶) و گیاه‌چه‌های تحت تنش سرما (ترک و همکاران، ۲۰۱۴ و هان و همکاران، ۲۰۱۷) گردید. استفاده از ملاتونین به گیاهان در حفظ فشار تورگر بالاتر کمک می‌نماید و در باز نگهداشتن روزنه‌ها و سرعت نسبتاً بالاتر فتوسنتز مشارکت دارد (منگ و همکاران، ۲۰۱۴). گیاهان تیمار شده با ملاتونین پتانسیل

آب برگ و رطوبت نسبی بیشتری نسبت به گیاهان تیمار نشده جهش یافته با کمبود ABA نشان دادند که این نتایج بیان می‌کند که ملاتونین در وضعیت آبی گیاهان تحت تنش سرما که مستقل از ABA است، درگیر می‌باشد (لای و همکاران، ۲۰۱۶). همچنین گزارش شده است که استفاده از تیمار اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین موجب افزایش معنی‌دار آب نسبی برگ لوبیاسبز گردید (حیدری خوشکاروندانی، ۱۳۹۶). افزایش رطوبت نسبی برگ در گیاهان تیمار شده با تیامین نیز مشاهده شد. که ممکن است به دلیل ایفای نقش تیامین به‌عنوان تخفیف دهنده اثرات تنش و فاکتوری برای افزایش رشد ریشه و ساقه تحت شرایط تنش باشد (ساید و گاداله، ۲۰۰۱).

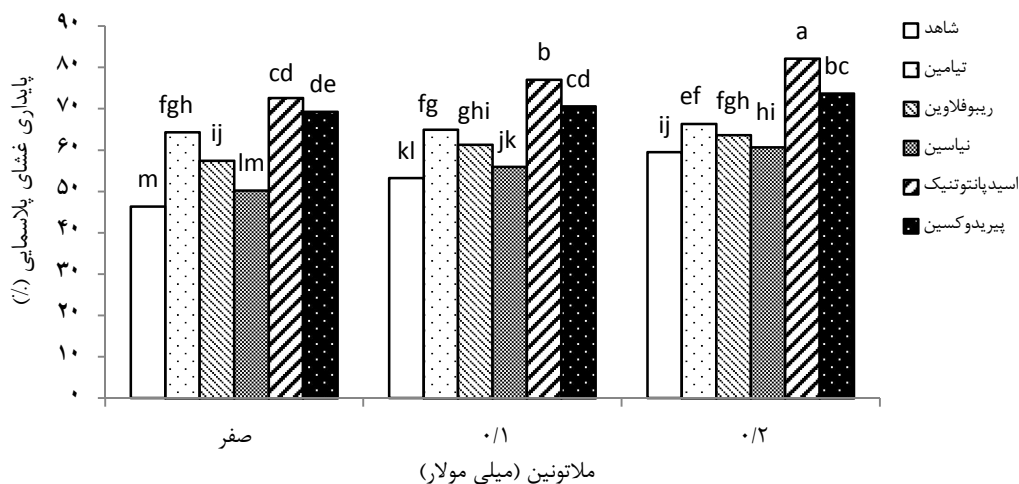


شکل ۴-۲۹- مقایسه میانگین مقدار آب نسبی برگ سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

۴-۴-۴- پایداری غشای پلاسمایی

تأثیر ملاتونین و ویتامین ب بر پایداری غشای پلاسمایی برگ معنی‌دار ($P < 0.01$) گردید. اثر متقابل ترکیب تیماری محلول‌پاشی ملاتونین و ویتامین ب نیز بر این صفت در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول پیوست ۷). نتایج مقایسه میانگین اثر ترکیبات تیماری بر پایداری غشای پلاسمایی برگ سویا نشان داد که هر دو ماده سبب افزایش پایداری غشاء نسبت به تیمار شاهد گردیدند. بیشترین پایداری غشاء متعلق به ترکیب تیماری ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین و اسیدپانتوتنیک

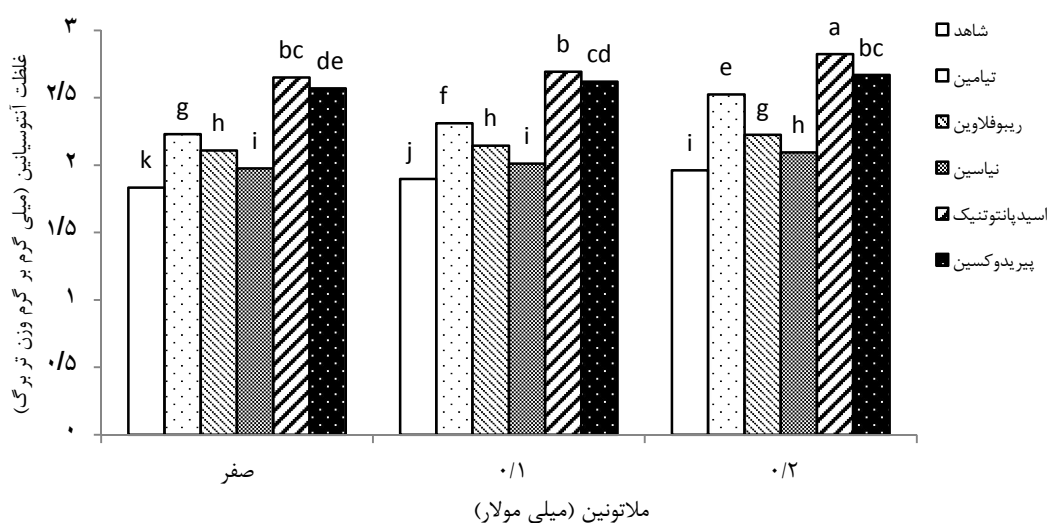
بود که افزایش تقریباً ۱/۸ برابری نسبت به تیمار شاهد (غلظت صفر ملاتونین و عدم محلول‌پاشی ویتامین ب) را نشان داد. کمترین میزان پایداری غشاء مربوط به تیمار شاهد بود که البته با ترکیب تیماری عدم محلول‌پاشی ملاتونین و نیاسین تفاوت معنی‌داری نداشت. در مجموع محلول‌پاشی ویتامین ب در هر سه غلظت ملاتونین موجب افزایش پایداری غشاء گردید ولی اثر اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین بیشتر از بقیه بود (شکل ۴-۳۰). مطالعات نشان داده‌اند که ملاتونین با کاهش اکسیداسیون لیپیدها از پایداری غشای برگ در گیاهان تحت تنش حمایت می‌کند (شی و همکاران، ۲۰۱۵a و دینگ و همکاران، ۲۰۱۷). پیری برگ با بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی از قبیل تجمع H_2O_2 ، افزایش نفوذپذیری غشاء، رها شدن پروتئین و دیگر محتویات همراه می‌باشد (لیانگ و همکاران، ۲۰۱۸). ملاتونین تا حدی می‌تواند به‌عنوان پاک‌کننده گونه‌های فعال اکسیژن مطرح باشد که مستقیماً H_2O_2 درگیر در فرآیند پیری را برطرف می‌کند و در نگهداری هموستازی سلول‌ها (مارتا و همکاران، ۲۰۱۶ و گائو و همکاران، ۲۰۱۶) مفید است. بنابراین ملاتونین به‌عنوان اولین مانع در برابر انفجار گونه‌های فعال اکسیژن و در خط دوم دفاع تغییر در بیان خیلی از ژن‌های مسئول واکنش به تنش عمل می‌کند (آرنائو و هراندز رویز، ۲۰۱۲). افزایش تجمع قندهای محلول که می‌تواند از یکپارچگی غشاهای سلول محافظت کند، دلیلی بر محافظت از غشاء در گیاهان تیمار شده با تیامین می‌باشد (ساید و گاداله، ۲۰۰۱).



شکل ۴-۳۰- مقایسه میانگین درصد پایداری غشای برگ سویا تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

مقدار آنتوسیانین برگ به طور معنی داری ($P < 0.01$) تحت تأثیر ملاتونین، ویتامین‌های ب و همچنین برهم‌کنش آن‌ها قرار گرفت (جدول پیوست ۷). در تیمارهای محلول پاشی تنها و توأم با ملاتونین و ویتامین ب افزایش معنی داری در غلظت آنتوسیانین نسبت به تیمار عدم محلول پاشی مشاهده شد (شکل ۴-۳۱). محلول پاشی همه ویتامین‌های ب در افزایش میزان آنتوسیانین برگ نسبت به تیمار شاهد مؤثر بود، البته مانند سایر صفات مورد بررسی اثر اسیدپانتوتنیک از بقیه بیشتر بود و پس از آن به ترتیب پیریدوکسین، تیامین، ریبوفلاوین و نیاسین قرار داشتند. با افزایش غلظت ملاتونین اثر افزایش ویتامین‌ها بر این صفت نیز افزایش یافت و بیشترین غلظت آنتوسیانین از محلول پاشی توأم ملاتونین با غلظت ۰/۲ میلی‌مولار و اسیدپانتوتنیک به دست آمد که ۵۴ درصد از تیمار شاهد بیشتر بود (شکل ۴-۳۱).

تیمار ملاتونین موجب افزایش معنی دار تولید آنتوسیانین و افزایش رشد کلم و سطوح نسخه برداری ژن‌های تنظیم بیوسنتز آنتوسیانین (*bHLH*، *MYB* و *WD40*) گردید (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۶ b). به نظر می‌رسد آنتوسیانین از گیاه در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده محافظت می‌کند. آنتوسیانین ممکن است تمایل به بازدارندگی نوری را کاهش دهد و با جلوگیری از شکل‌گیری رادیکال‌های آزاد و کاهش سطوح گونه‌های فعال اکسیژن اثرات تنش خشکی، شوری، فلزات سنگین یا اکسیداتیو را تخفیف دهد (آگاتی و تاتینی، ۲۰۱۰ و فالکون فریات و همکاران، ۲۰۱۲). در پژوهش حمزه‌نژادی و همکاران (۱۳۹۶)، بیشترین محتوای آنتوسیانین در گیاهان سویا تیمار شده با تیامین و اکسین در ترکیب تیماری غلظت ۱۰ میکرومولار اکسین و ۲۰۰ میکرومولار تیامین مشاهده شد.

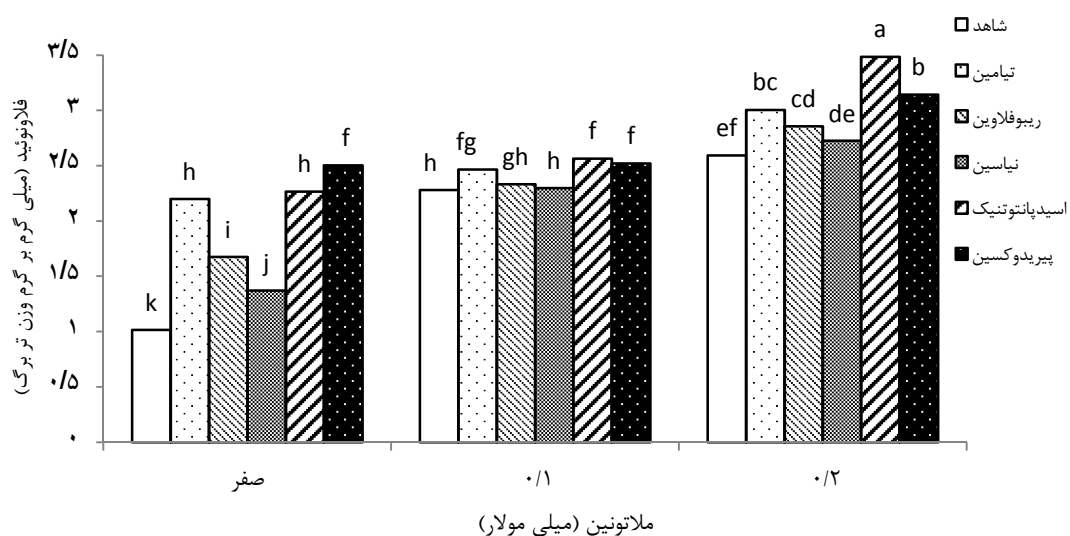


شکل ۴-۳۱- مقایسه میانگین میزان آنتوسیانین تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

۴-۶- میزان فلاونوئید

اثر کلیه منابع تغییر بر میزان فلاونوئید برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول پیوست ۷). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که هر دو تیمار ملاتونین و ویتامین ب سبب افزایش فلاونوئید نسبت به تیمار شاهد گردیدند. مقایسه ۱۷ ترکیب تیماری مورد مطالعه با شاهد نشان داد که کاربرد نیاسین در عدم حضور ملاتونین با ۳۵ درصد افزایش نسبت به شاهد کمترین و توأم شدن اسیدپانتوتنیک با غلظت ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین با ۲۴۰ درصد افزایش نسبت به شاهد بیشترین تأثیر را بر میزان فلاونوئید برگ داشتند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت ملاتونین میزان این صفت افزایش یافت. شایان ذکر است که اگرچه اثر تلفیق غلظت بالای ملاتونین (۰/۲ میلی‌مولار) با ویتامین‌های ب مضاعف بود ولی اثر هر دو غلظت ملاتونین و تک‌تک ویتامین‌های ب مورد بررسی به-تنهایی نیز قابل توجه بود (شکل ۴-۳۲). به گزارش لیانگ و همکاران (۲۰۱۸) مقادیر زیادی از فلاونوئید در گیاهچه‌های کیوی تیمار شده با ملاتونین تجمع پیدا کرد و رونویسی سطوحی از ۸ ژن درگیر در سنتز فلاونوئید شامل (PAL)، (C4H)، (CHS)، (F3H)، (FNS)، (LAR)، (ANR) و (UFGT) در پاسخ به کاربرد ملاتونین افزایش پیدا کردند. تجمع اضافی و کنترل نشده گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) عامل آغاز پیری است. سطوح ROS و دیگر اثرات مخربشان به‌عنوان کنش معمول

گیاه در پاسخ پیری شناخته شده است (اپل و هرت، ۲۰۰۴ و خانا چوبرا، ۲۰۱۲). محققین زیادی نشان داده اند که ملاتونین می‌تواند از ارگانیس‌ها در برابر ROS محافظت کند (شی و همکاران، ۲۰۱۵b و ژانگ و همکاران، ۲۰۱۶a). این فعالیت آنتی‌اکسیدانی از پنج مسیر عمل می‌کند که شامل ۱- پاکسازی مستقیم رادیکال‌های آزاد، ۲- تحریک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (از قبیل پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز)، ۳- تقویت فعالیت دیگر آنتی‌اکسیدان‌ها (از قبیل اسید آسکوربیک، قندهای محلول و فلاونوئید)، ۴- محافظت از آنزیم‌ها از خسارت اکسیداتیو و ۵- افزایش کارایی زنجیره انتقال الکترون میتوکندریایی و در نتیجه تخفیف تراوش الکترون و کاهش تولید رادیکال‌های آزاد می‌باشد (جو و همکاران، ۲۰۱۶ و گانگ و همکاران، ۲۰۱۷). سنتز برخی ترکیب‌های آنتی-اکسیدان و ترکیب‌های فنلی مانند فلاونوئید از مهمترین سیستم‌های دفاعی گیاهان برای کنترل و خنثی کردن رادیکال‌های آزاد می‌باشد (پاندی و همکاران، ۲۰۰۲). مشاهده شده است که کاربرد تیمین کل محتوای فنل سوسن (ناهد و همکاران، ۲۰۰۹) و آویشن (ردا و همکاران، ۲۰۰۵) را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد. این مشاهدات ممکن است ناشی از نقش تیمین در مسیرهای متابولیکی مختلف از قبیل قند و متابولیسم پروتئین، فتوسنتز و تنفس سلولی باشد (گویار، ۲۰۱۰ و تونا و همکاران، ۲۰۱۳).

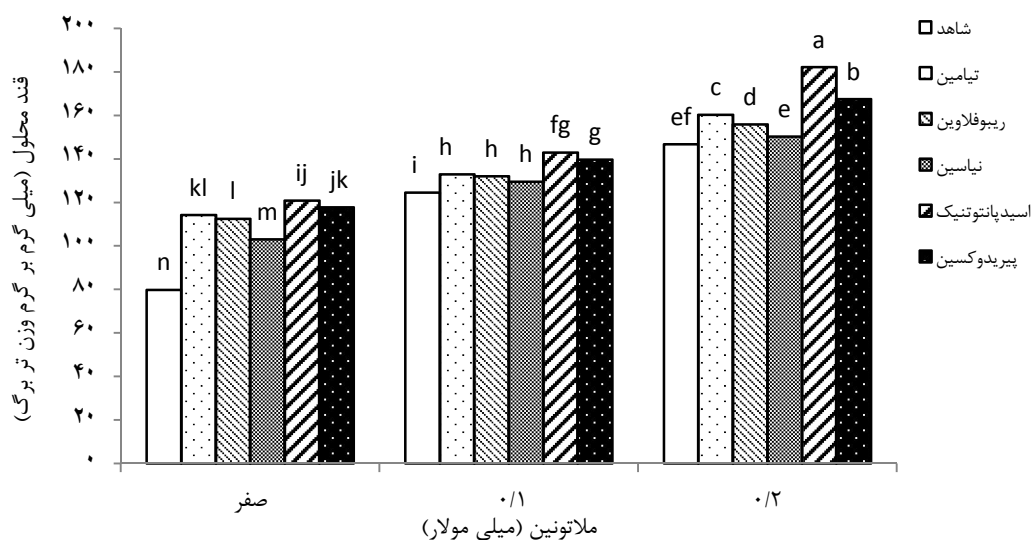


شکل ۴-۳۲- مقایسه میانگین میزان فلاونوئید تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

۴-۴-۷- محتوای قندهای محلول

اثرات اصلی و برهم‌کنش محلول‌پاشی ملاتونین و ویتامین ب بر میزان قند محلول برگ معنی‌دار ($P < 0.01$) گردید (جدول پیوست ۷). نتایج مقایسه میانگین اثر ترکیبات تیماری بر میزان قند محلول برگ سویا نشان داد که هر دو ترکیب مورد بررسی سبب افزایش قند محلول نسبت به تیمار شاهد گردیدند. بیشترین قند محلول اندازه‌گیری شده متعلق به ترکیب تیماری اسیدپانتوتنیک و ۰/۲ میلی-مولار ملاتونین بود که افزایش تقریباً ۲/۲ برابری نسبت به تیمار شاهد (غلظت صفر ملاتونین و عدم محلول‌پاشی ویتامین ب) نشان داد. مقدار این صفت در گیاهان شاهد حدود ۷۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بود که در ترکیب تیماری ذکر شده به ۱۸۲ رسید. کمترین تأثیر مربوط به محلول‌پاشی نیاسین به‌تنهایی در سطح صفر ملاتونین بود که قند محلول ثبت شده در این تیمار ۲۹ درصد بیشتر از شاهد بود (شکل ۴-۳۳).

محتوای قند محلول به‌عنوان آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی در شرایط تنش مهم می‌باشد. تنش سرما بعد از ۶ روز موجب افزایش معنی‌دار محتوای قندهای محلول گیاه‌چه‌های برنج در مقایسه با شاهد شد. علاوه بر این کاربرد ملاتونین موجب افزایش بیشتر تجمع قندهای محلول در شرایط تنش سرما گردید. در ضمن در مقایسه با گیاه‌چه‌های تیمار شده با سرما به‌تنهایی، پیش‌تیمار ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین نسبت به پیش‌تیمار ۲۰ میکرومولار محتوای قند محلول را بیشتر افزایش داد (هان و همکاران، ۲۰۱۷). همچنین تجمع برخی تنظیم‌کننده‌های اسمزی از قبیل قندهای محلول و اسیدهای آمینه در پاسخ به کاربرد تیامین افزایش یافت. این پدیده توسط تغییر پتانسیل آب گیاه می‌تواند فشار اسمزی برای توسعه سلول و در نتیجه رشد گیاه را افزایش دهد (ساید و گاداله، ۲۰۰۱). نتایج مشابه از کاربرد پیریدوکسین (سلطانی و همکاران، ۲۰۱۲) و اسیدپانتوتنیک (حلفی، ۱۳۹۷) در افزایش قند محلول گزارش شده است. افزایش قندهای محلول در گیاه موجب پایداری بیشتر غشای پلاسمایی، آب نسبی برگ و در نهایت تولید بیشتر ماده خشک گردید (شکل‌های ۴-۳۰، ۴-۲۹ و ۴-۱۸).

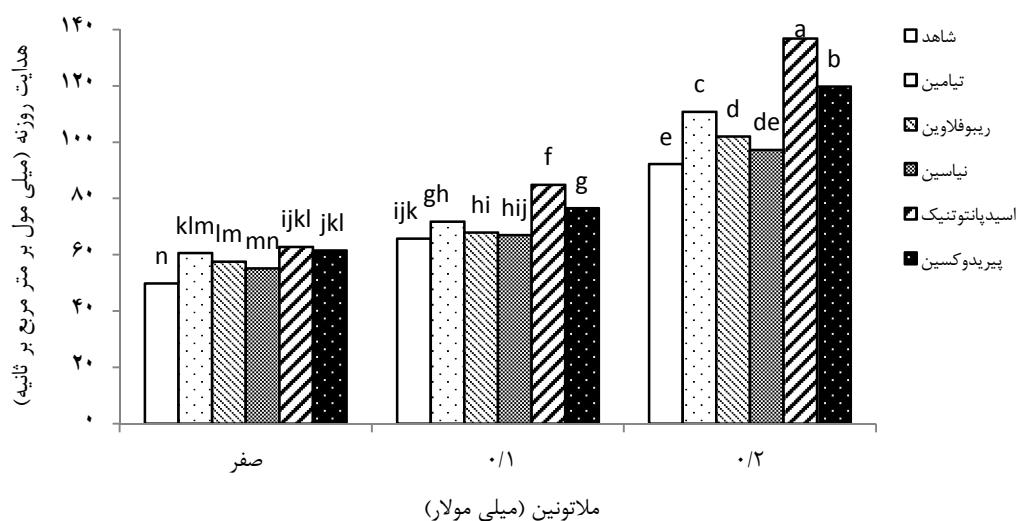


شکل ۴-۳۳- مقایسه میانگین میزان قند محلول تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

۴-۴-۸- میزان هدایت روزه‌های برگ

اثر اصلی ملاتونین و ویتامین‌های ب و همچنین برهم‌کنش آن‌ها بر میزان هدایت روزه‌های برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول پیوست ۸). محلول‌پاشی ویتامین ب موجب افزایش میزان هدایت روزه‌های برگ نسبت به تیمار شاهد گردید. بیشترین هدایت روزه در تیمارهای محلول-پاشی شده با اسیدپانتوتنیک به‌دست آمد که البته در ترکیب با غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری با سایر ویتامین‌های گروه ب داشت که نسبت به تیمار شاهد به‌ترتیب ۷۰ و ۱۷۴ درصد هدایت روزه‌ای را افزایش داد. اثر ویتامین‌های ب بر هدایت روزه‌های زمانی که با تیمار ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین همراه بودند، به مراتب بیشتر بود. پس از اسیدپانتوتنیک، اثر محلول‌پاشی پیریدوکسین و تیامین توأم با ملاتونین نیز قابل توجه بود. البته دو غلظت ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین (بدون حضور ویتامین ب) نیز با افزایش ۳۱ و ۸۵ درصدی در هدایت روزه‌ای، این صفت را به‌طور معنی‌داری بهبود بخشیدند (شکل ۴-۳۴). این افزایش هدایت روزه موجب جذب بیشتر CO_2 و تولید بیشتر مواد فتوسنتزی برگ و ساقه و در نتیجه افزایش عملکرد گیاه گردید (شکل‌های ۴-۱۷، ۴-۱۶ و ۴-۲۳).

عوامل محدود کننده فتوسنتز شامل دو نوع روزنه‌ای و غیرروزنه‌ای می‌باشند. در زمانی که عامل محدود کننده روزنه‌ای باشد با کاهش آب در سلول‌های برگ، روزنه‌ها بسته می‌شوند. در این حالت به دلیل کاهش هدایت روزنه‌ای، انتشار CO_2 به فضای بین‌سلولی کاهش می‌یابد و فعالیت فتوسنتزی کم و یا متوقف می‌شود. در مواقعی که عامل محدود کننده غیرروزنه‌ای باشد، به دلیل اختلال در واکنش‌های بیوشیمیایی گیاه، غلظت CO_2 زیر روزنه افزایش می‌یابد و موجب اشباع برگ‌ها از مواد فتوسنتزی می‌گردد که ممکن است عملکرد دستگاه فتوسنتز را محدود نماید (احمدی و بیکر، ۱۳۷۹). در این رابطه گزارش شده است که عامل اصلی محدود کننده فتوسنتز کاهش هدایت مزوفیلی است (فیشر و همکاران، ۱۹۹۸). کاهش هدایت روزنه‌ای می‌تواند نتیجه کاهش فتوسنتز خالص و کاهش آسمیلات‌های تولیدی باشد که در نهایت سبب بازدارندگی رشد و کاهش عملکرد گیاه خواهد شد (ایسوار راتو و چایتانیا، ۲۰۱۶). ملاتونین در گیاه‌چه‌های برنج پیش‌تیمار شده تحت تنش سرما موجب افزایش معنی‌دار میزان فتوسنتز خالص، هدایت روزنه‌ای و CO_2 بین‌سلولی به‌ویژه در غلظت ۱۰۰ میکرومولار گردید (هان و همکاران، ۲۰۱۷). ملاتونین افزایش کارایی فتوسیستم II تحت شرایط تاریکی و نوری، تخفیف بازدارندگی فتوسنتز در تنش خشکی و همچنین اجازه به برگ‌ها برای نگهداری ظرفیت بالاتر آسمیلاسیون CO_2 و هدایت روزنه‌ای را در درخت سیب نشان داد (وانگ و همکاران، ۲۰۱۳b).

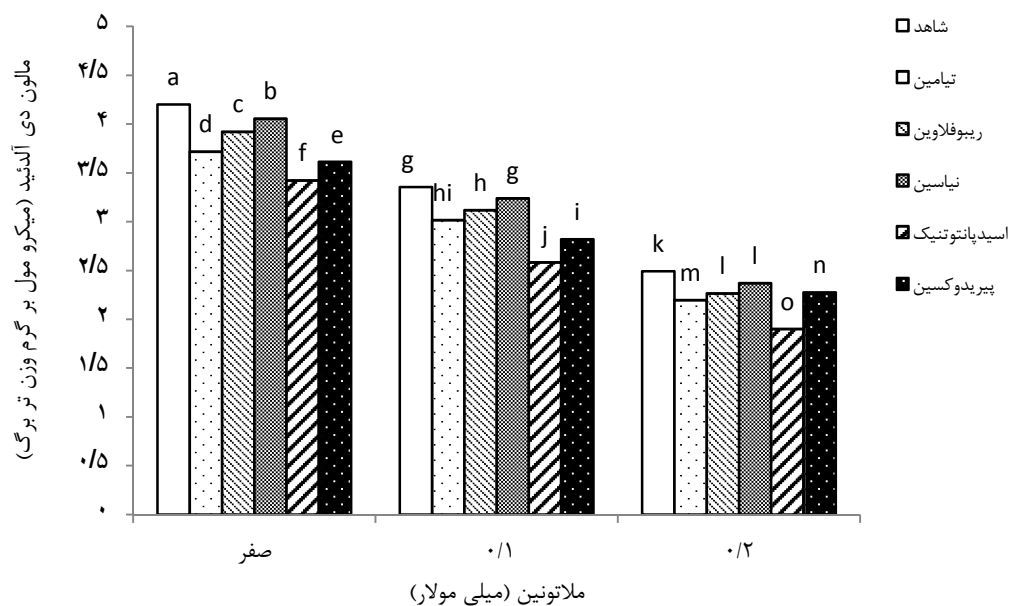


شکل ۴-۳۴- مقایسه میانگین هدایت روزنه‌ای تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

اثر ملاتونین، ویتامین‌های ب و برهم‌کنش آن‌ها بر محتوای مالون دی آلدئید در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول پیوست ۸). محلول پاشی ویتامین ب موجب کاهش معنی‌دار تجمع مالون دی آلدئید گردید به طوری که در غلظت صفر ملاتونین از حدود ۴/۲ میکرومول بر گرم وزن تر برگ در تیمار شاهد به ۴ در تیمار نیاسین و در کمترین تجمع به حدود ۳/۴ در تیمار اسیدپانتوتنیک کاهش پیدا کرد (شکل ۴-۳۵). نتایج نشان می‌دهد که تأثیر ملاتونین بر کاهش پراکسیداسیون لیپیدها بیشتر از ویتامین‌های ب بوده است. زیرا غلظت مالون دی آلدئید ثبت شده در سطوح ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین بدون حضور ویتامین ب به ترتیب ۳/۳ و ۲/۵ میکرومول بر گرم وزن تر برگ بود که نسبت به ویتامین‌های ب در سطح صفر ملاتونین به طور معنی‌داری کمتر و نسبت به شاهد ۲۰ و ۴۰ درصد کمتر بود. اثر ترکیبی ویتامین ب و ملاتونین در مهارگونه‌های فعال اکسیژن و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها امیدوار کننده بود به گونه‌ای که با افزایش غلظت ملاتونین به همراه کاربرد ویتامین ب از تجمع مالون دی آلدئید به طور معنی‌داری کاسته شد که همان‌طور که انتظار می‌رفت بیشترین اثر آن در ترکیب تیماری بالاترین غلظت ملاتونین و اسیدپانتوتنیک به دست آمد که کاهش حدوداً ۵۴ درصدی را نسبت به شاهد نشان داد (شکل ۴-۳۵). وجود بالاترین پایداری غشاء پلاسمایی در این ترکیب تیماری تأییدی بر نتیجه به دست آمده می‌باشد (شکل ۴-۳۰).

تجمع مالون دی آلدئید و نشت الکتروولیت بافت‌های برگ شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدها و خسارت غشای سلولی می‌باشند. افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن می‌تواند پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء را تحریک کند و پس از آن منجر به خسارت غشاء و از دست رفتن تمامیت سلول و در نهایت مرگ آن منجر شود (زنگ و همکاران، ۲۰۱۵). سطح ملاتونین در بافت گیاهی شاخصی از وضعیت پراکسیداسیون لیپیدها است و با تولید گونه‌های فعال اکسیژن (H_2O_2 و O_2^-) همراهی دارد (جیائو و همکاران، ۲۰۱۶). در تحقیق هان و همکاران (۲۰۱۷) در گیاه‌چه‌های برنج تحت تنش سرما

محتوای مالون دی‌آلدئید در پاسخ به تیمار تنش افزایش معنی‌داری پیدا کرد. در حالی که پیش تیمار ملاتونین غلظت مالون دی‌آلدئید را به‌طور معنی‌داری کاهش داد که غلظت ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین کاهش بیشتری در مقدار مالون دی‌آلدئید نسبت به غلظت ۲۰ میکرومولار نشان داد. نتایج مشابه از تحقیق فان و همکاران (۲۰۱۵) و لای و همکاران (۲۰۱۷a) درباره اثر محافظتی ملاتونین از غشای سلول در برابر پراکسیداسیون لیپید نیز گزارش شده است. محلول‌پاشی پیریدوکسین در گیاه ذرت (فتاحی نیسانی و همکاران، ۲۰۰۹) و پیش‌تیمار بذر آفتابگردان، کلزا و گلرنگ با پیریدوکسین سبب جلوگیری از پراکسیداسیون لیپید و کاهش محتوای مالون دی‌آلدئید گردید (دولت آبادیان و ثانوی، ۲۰۰۸). تجمع کمتر مالون دی‌آلدئید سبب تخریب کمتر غشای پلاسمایی و افزایش میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئید در برگ شد (شکل‌های ۴-۲۵، ۴-۲۶ و ۴-۲۸).



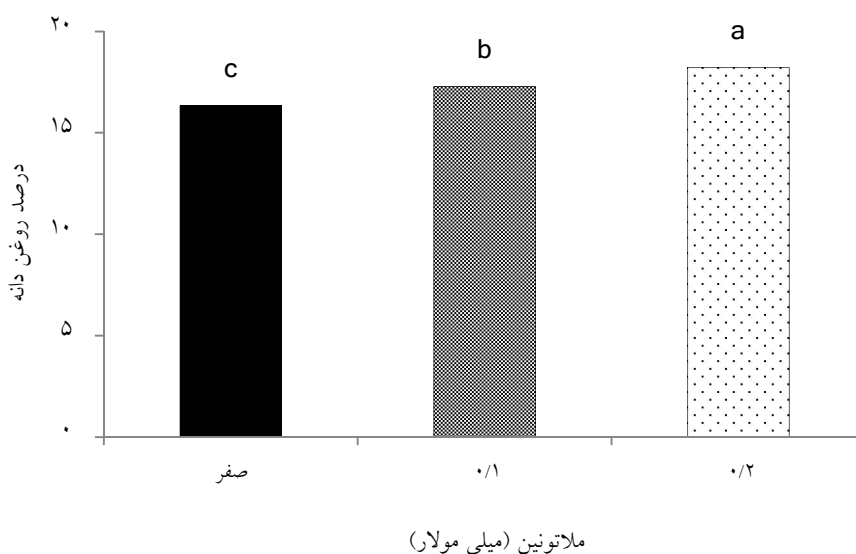
شکل ۴-۳۵- مقایسه میانگین محتوای مالون دی‌آلدئید تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

۴-۵- درصد و عملکرد روغن دانه در بخش مزرع‌ای

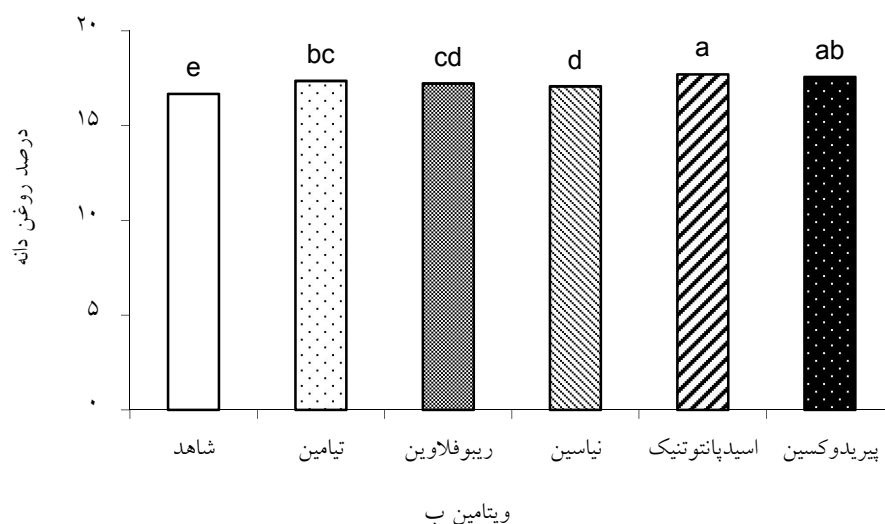
از بین منابع تغییر تنها اثر اصلی ملاتونین و ویتامین ب ($P < 0.01$) بر درصد روغن دانه معنی‌دار بود (جدول پیوست ۹). مقایسه اثر سطوح مختلف ملاتونین و ویتامین‌های ب بر درصد روغن دانه در

شکل ۴-۳۶ و ۴-۳۷ نشان داده شده است. ملاحظه می‌گردد که درصد روغن دانه با کاربرد ملاتونین و دو برابر شدن غلظت آن افزایش یافت. به نحوی که بیشترین مقدار این صفت ۱۸/۲ درصد از تیمار ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین به دست آمد که نسبت به تیمار شاهد (۱۶/۳ درصد) تقریباً ۱/۸ درصد بیشتر بود (شکل ۴-۳۶). ویتامین‌های ب نیز نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی افزایش معنی‌داری در درصد روغن دانه ایجاد نمودند. بیشترین مقدار این صفت با میانگین ۱۷/۷ و ۱۷/۵ درصد به ترتیب متعلق به تیمار اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین بود که اختلاف معنی‌داری نسبت به هم نداشتند. درصد روغن دانه در تیمار شاهد ۱۶/۶ درصد بود (شکل ۴-۳۷).

پیش از این نیز گزارش شده است که تیمار ۰/۵ میلی‌مولار ملاتونین موجب افزایش معنی‌دار روغن دانه گیاه نخود تحت شرایط خاک شنی در حدود ۴۴ درصد، نسبت به تیمار شاهد گردید (ال‌آوادی و همکاران، ۲۰۱۷). علاوه بر این مشخص شده است که ملاتونین تعدادی از ژن‌های بیوسنتز اسیدهای چرب را افزایش می‌دهد (میلار و کانست، ۱۹۹۷ و وو و زو، ۲۰۱۰) که مسئول تجمع اسیدهای چرب در دانه‌های سویا می‌باشند (سانگ و همکاران، ۲۰۱۳). از ویتامین‌های گروه ب نیز محلول‌پاشی ۵۰ پی‌پی‌ام پیریدوکسین و ۱۰۰ پی‌پی‌ام تیامین موجب افزایش معنی‌دار روغن دانه گیاه باقلای مصری (*Lupinus termis* L) گردید (ال‌آوادی و همکاران، ۲۰۱۶). پیریدوکسین به‌عنوان یک کوآنزیم برای آنزیم‌های متابولیکی متعدد شامل متابولیسم اسیدهای آمینه و برای رشد و تمایز گونه‌های مختلف گیاهی مورد نیاز است (دولت‌آبادیان و ثانوی، ۲۰۰۸). افزایش تولید روغن خردل از طریق پیش‌تیمار بذرها با پیریدوکسین به‌واسطه افزایش سنتز اسیدهای آمینه پیش‌ماده روغن خردل از قبیل گلوتامات، آسپاراتات، آلانین یا سرین به دلیل آلفاکتو اسیدهای تولید شده طی چرخه کربس به‌عنوان یک نتیجه از نقش قابل توجه پیریدوکسین به‌عنوان کوآنزیم در سیستم‌های آمینو ترانسفراز مختلف گزارش شده است (منگل و کایرکی، ۱۹۸۲ و لنینگر، ۱۹۸۴).



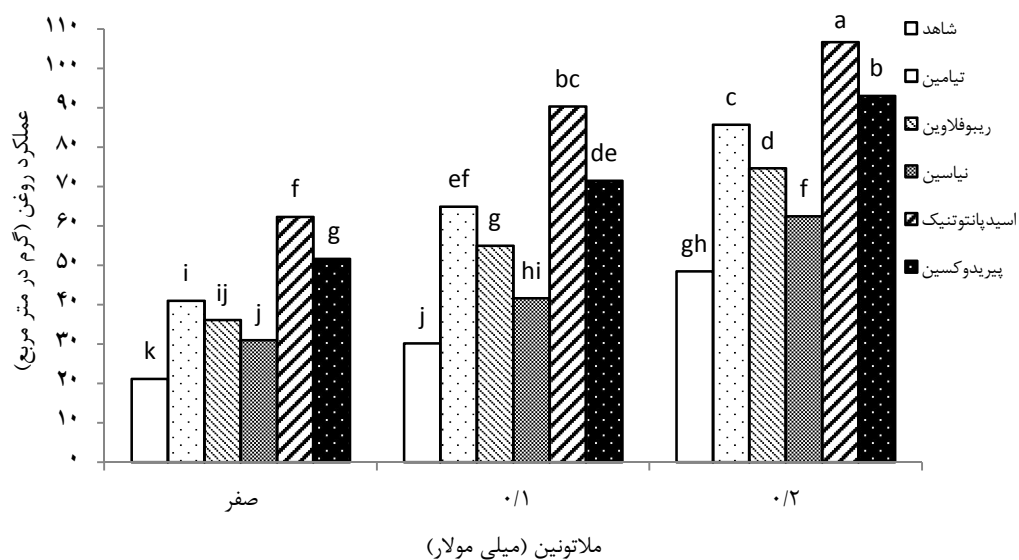
شکل ۴-۳۶- مقایسه میانگین درصد روغن دانه تحت تأثیر سطوح مختلف مالتونین



شکل ۴-۳۷- مقایسه میانگین درصد روغن دانه تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر محلول پاشی مالتونین و ویتامین‌های ب و همچنین برهم‌کنش این دو ترکیب در سطح احتمال یک درصد بر عملکرد روغن دانه معنی‌دار شد (جدول پیوست ۹). مقایسه میانگین نشان داد که مقادیر این صفت با انجام محلول پاشی هر کدام از تیمارها به-تنهایی و به‌صورت ترکیبی افزایش معنی‌داری داشت. کمترین مقدار عملکرد روغن دانه در تیمار عدم محلول پاشی با میانگین حدود ۲۱ گرم در مترمربع به‌دست آمد که اختلاف معنی‌داری با تمام

ترکیبات تیماری آزمایش داشت. استفاده از ویتامین‌های ب همراه با غلظت ۰/۲ میلی‌مولار از ملاتونین بالاترین مقادیر عملکرد روغن را نشان داد که بیشترین مقدار آن نسبت به سایر تیمارها مربوط به ترکیب تیماری اسیدپانتوتنیک و غلظت بالای ملاتونین با میانگین حدود ۱۰۶ گرم در مترمربع بود که افزایش ۵ برابری نسبت به تیمار شاهد داشت. پس از اسیدپانتوتنیک، تأثیر پیریدوکسین و تیامین نیز در هر سه سطح ملاتونین قابل توجه بود. عملکرد روغن در گیاهانی که فقط با غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین محلول‌پاشی شدند (بدون حضور ویتامین ب) به ترتیب ۴۲ و ۱۲۹ درصد بیشتر از شاهد بود. این صفت در اثر کاربرد برگی ویتامین‌های ب به‌تنهایی نیز بین ۴۶ و ۱۹۴ درصد بهبود یافت (شکل ۴-۳۸).

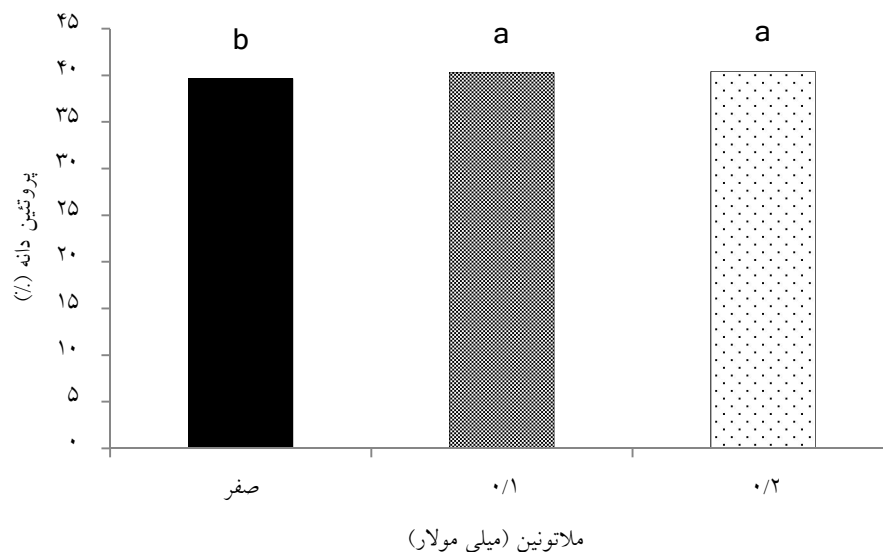


شکل ۴-۳۸- مقایسه میانگین عملکرد روغن تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

۴-۶- درصد و عملکرد پروتئین دانه در بخش مزرعه‌ای

همان‌طور که در جدول تجزیه واریانس (جدول پیوست ۹) مشاهده می‌شود، فقط اثر ساده محلول‌پاشی ملاتونین بر صفت درصد پروتئین دانه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. در اثر محلول‌پاشی ملاتونین میزان پروتئین دانه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ولی بین غلظت‌های ملاتونین اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (شکل ۴-۳۹).

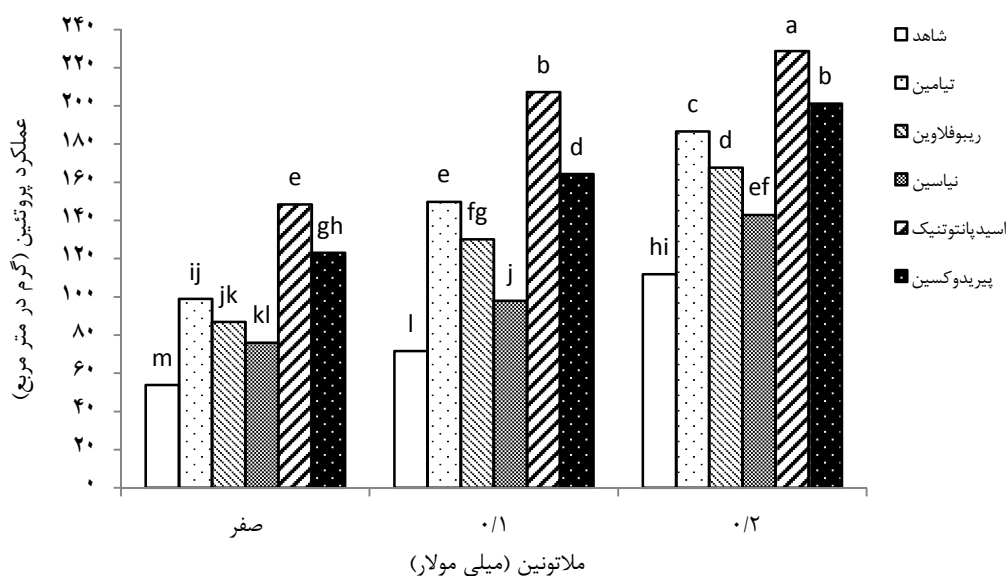
بذرهای ذرت تیمار شده با ملاتونین افزایش در قدرت و کیفیت بذر و بهبود ذخیره پروتئین دانه از قبیل کوپینز و دیگر گلوبولین‌های انتقال یافته به محور جنینی و افزایش تولید انرژی را نشان دادند (کلودزیک و همکاران، ۲۰۱۶) که می‌تواند ناشی از بیان بیش از حد گلیسر آلدئید ۳ فسفات دهیدروژناز باشد (کاتوس و همکاران، ۲۰۱۱).



شکل ۴-۳۹- مقایسه میانگین درصد پروتئین دانه تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین

تمامی اثرات اصلی و متقابل ملاتونین و ویتامین‌های ب بر عملکرد پروتئین دانه معنی‌دار شد (جدول پیوست ۹). عملکرد پروتئین دانه سویا نیز تحت تأثیر محلولپاشی ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب به‌طور چشمگیری افزایش یافت (شکل ۴-۴۰). مقدار این صفت در شاهد بسیار پایین بود که در اثر تیمارهای مورد مطالعه بین ۴۱ تا ۳۲۵ درصد بهبود یافت. مانند سایر صفات، بیشترین مقدار عملکرد پروتئین در گیاهانی ثبت شد که ترکیب تیماری ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین و اسیدپانتوتیک را دریافت کرده بودند. اثر مثبت این ویتامین در هر سه سطح ملاتونین کاملاً مشهود بود و پس از آن پیریدوکسین قرار داشت. همراه شدن ملاتونین با هر ویتامین و دوبرابر شدن غلظت آن نیز تأثیر مضاعفی بر جای گذاشت (شکل ۴-۴۰).

ثابت شده است که پیش تیمار بذر با پیریدوکسین اثر معنی داری بر جذب نیتروژن و فسفر در ماش و گلرنگ (سمیع اله و همکاران، ۱۹۹۱)، ذرت (ارادتمند اصلی و همکاران، ۲۰۰۹) و عملکرد پروتئین دانه (رحیمی، ۱۳۹۴) دارد. پیریدوکسین نه تنها قابلیت دسترسی عناصر برای گیاهان را افزایش می-دهد، بلکه مسئول حفظ ارتباط مطلوب منبع و مخزن است و طی بررسی انجام شده عناصر غذایی بیشتری را برای بذر لوبیای مانگ فراهم نموده است (انصاری و همکاران، ۱۹۹۰).



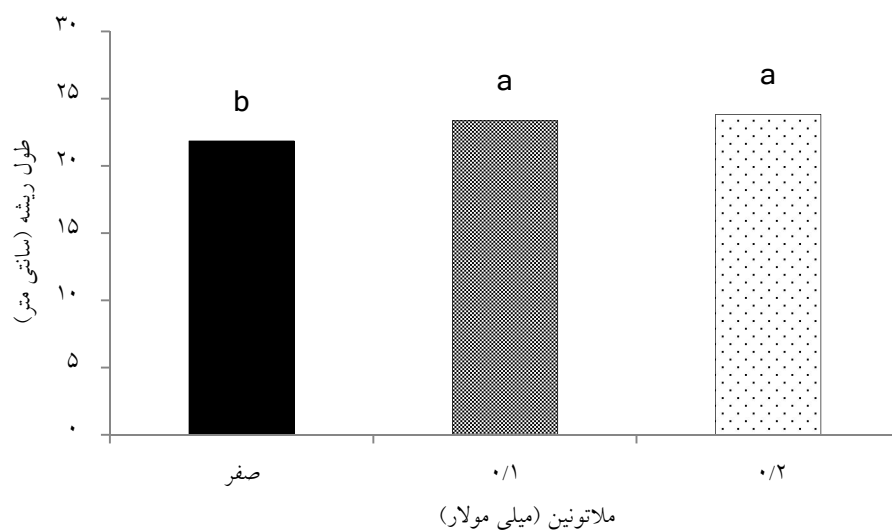
شکل ۴-۴۰- مقایسه میانگین عملکرد پروتئین تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

۷-۴- صفات ریشه در بخش گلدانی

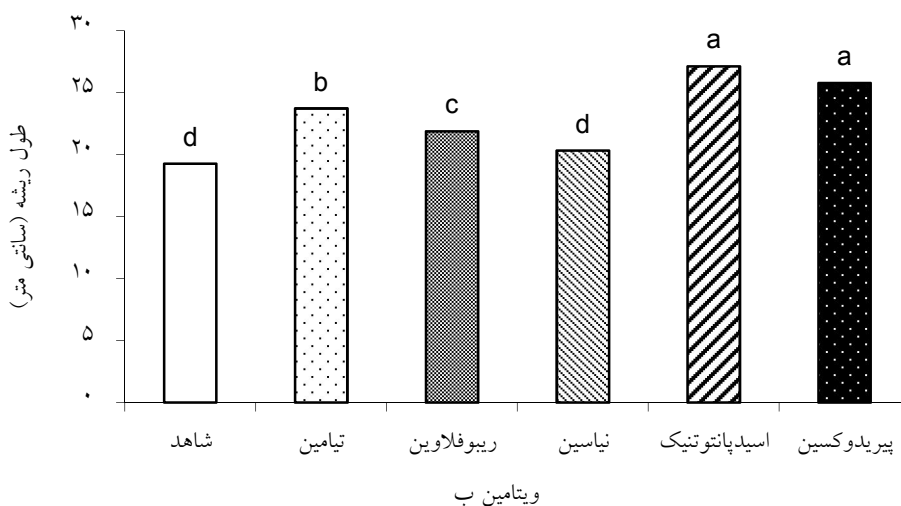
۷-۴-۱- طول ریشه

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل محلول پاشی ویتامین‌های ب و ملاتونین معنی‌دار نشد ولی اثر اصلی ملاتونین و ویتامین‌های ب بر طول ریشه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول پیوست ۱۰). محلول پاشی ملاتونین به‌طور معنی‌داری طول ریشه را افزایش داد به نحوی که هر دو غلظت ۰/۲ و ۰/۱ میلی مولار آن به‌ترتیب موجب افزایش طول ریشه به ترتیب به میزان ۹ و ۶/۸ درصد نسبت به تیمار شاهد گردید که البته این دو غلظت با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند (شکل ۴-۴۱). جذب برگی ویتامین‌های ب به‌جز نیاسین نیز سبب افزایش معنی‌دار در طول ریشه گردید. بیشترین مقدار این صفت با میانگین ۲۷/۱ و ۲۵/۷ سانتی‌متر به‌ترتیب متعلق به تیمارهای اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین بود که اختلاف معنی‌داری نسبت به هم نداشتند و کمترین طول ریشه مربوط به تیمار شاهد و نیاسین به‌ترتیب با میانگین ۱۹/۲ و ۲۰/۳ سانتی‌متر بود (شکل ۴-۴۲).

استفاده از ۲۰۰ میکرومولار ملاتونین در گیاه‌چه‌های تحت تنش خشکی طول ریشه‌ها را در حدود ۵۵ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش داد (لیانگ و همکاران، ۲۰۱۹). کاربرد ملاتونین سبب افزایش اولیه طول ریشه ابتدایی، رشد و بیوماس ریشه گیاهان برنج تراریخته گردید (پارک و بک، ۲۰۱۲). همچنین گزارش شده است که طول ریشه گیاهان آرابیدوپسیس تحت تنش سرما تیمار شده با ملاتونین (۱۰-۳۰ میکرومولار) نسبت به گیاهان شاهد افزایش پیدا نمود (باجوا و همکاران، ۲۰۱۴). ملاتونین موجب تحریک رشد ریشه و تحت تأثیر قرار دادن جذب آب و در نهایت گسترش غیرقابل برگشت دیواره سلول می‌شود که در این راستا اکسین نقش دارد (بلیس و ایوالد، ۱۹۹۳). پیریدوکسین نیز موجب افزایش معنی‌دار طول ریشه آفتابگردان و منداب نسبت به گیاهان شاهد گردید. که نشان-دهنده نقش مهم پیریدوکسین در تقسیم سلولی می‌باشد (دولت آبادیان و ثانوی، ۲۰۰۸).



شکل ۴۱-۴- مقایسه میانگین طول ریشه تحت تأثیر سطوح مختلف مالتونین

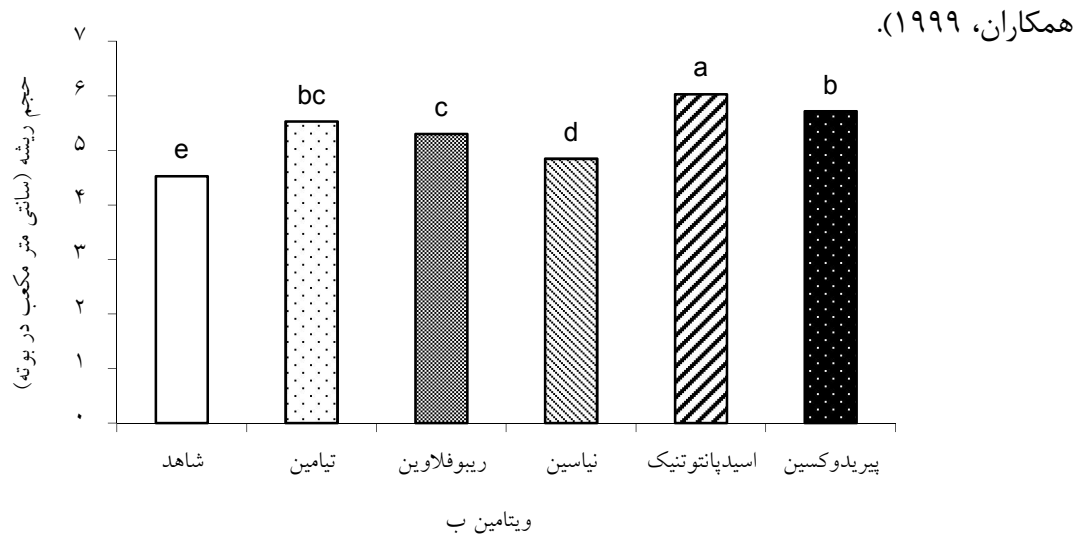


شکل ۴۲-۴- مقایسه میانگین طول ریشه تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب

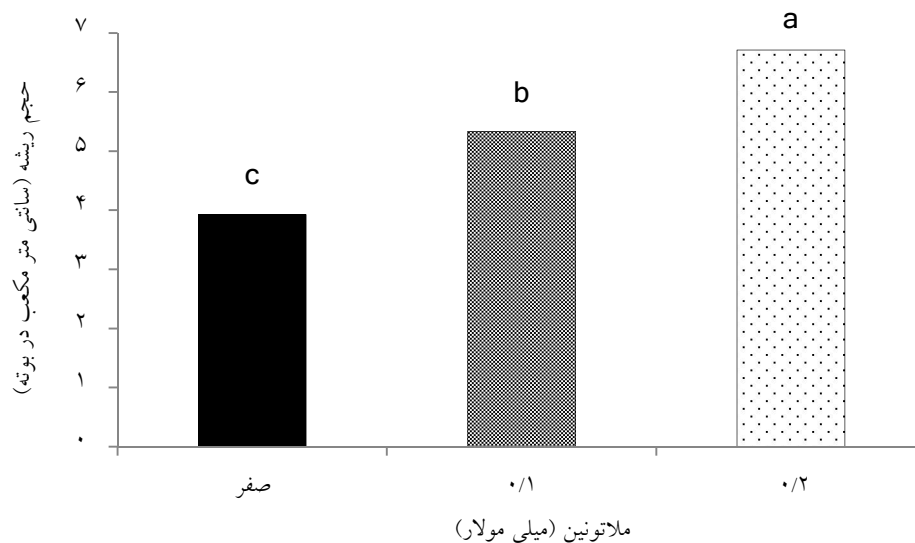
۴-۷-۲- حجم ریشه

از بین منابع تغییر اثر محلول پاشی مالتونین و همچنین ویتامین‌های گروه ب بر میزان حجم ریشه سویا معنی‌دار ($P < 0/01$) شد (جدول پیوست ۱۰). محلول پاشی تمامی ویتامین‌های ب موجب افزایش حجم ریشه بوته‌ها نسبت به تیمار شاهد شد. کمترین حجم ریشه در حدود ۴/۵ سانتی‌متر مکعب مربوط به گیاهان شاهد بود. در بین تیمارهای ویتامین ب نیاسین با حدود ۷ درصد و اسید-پانتوتنیک با حدود ۳۳ درصد افزایش نسبت به شاهد به ترتیب کمترین و بیشترین اثر را بر حجم ریشه گیاه داشتند (شکل ۴۳-۴). مالتونین و افزایش غلظت آن حجم ریشه را از ۳/۹ سانتی‌متر مکعب

در تیمار عدم محلول پاشی به ترتیب به $5/3$ و $6/7$ در غلظت $0/1$ و $0/2$ میلی مولار آن افزایش داد اختلاف بین هر سه سطح ملاتونین از لحاظ آماری معنی دار بود (شکل ۴-۴۴). کاربرد ملاتونین در گیاهچه‌های کیوی تحت تنش خشکی موجب افزایش توسعه سیستم معماری ریشه گردید که بیشترین چگالی ریشه از تیمار 100 میکرومولار ملاتونین به دست آمد (لیانگ و همکاران، ۲۰۱۹). این نتایج نشان‌دهنده اثر تحریک‌کنندگی و بازتولید سیستم معماری ریشه در گیاهان تیمار شده با ملاتونین می‌باشد (هرناندزرویز و همکاران، ۲۰۰۵). گزارش شده است که پیریدوکسین افزایش رشد سیستم ریشه و در نهایت جذب بیشتر عناصر و عملکرد محصول را به همراه داشته است (لون و همکاران، ۱۹۹۹).



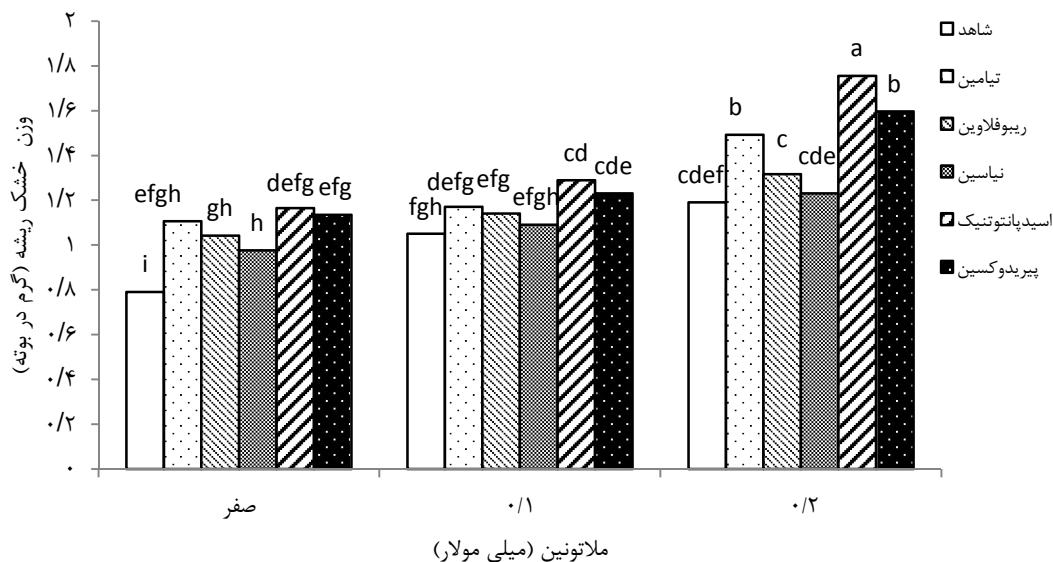
شکل ۴-۴۳- مقایسه میانگین حجم ریشه تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب



شکل ۴-۴۴- مقایسه میانگین حجم ریشه تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین

اثر متقابل محلول‌پاشی ملاتونین و ویتامین ب بر وزن خشک ریشه در سطح احتمال ۵ درصد و اثر اصلی آن‌ها در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول پیوست ۱۰). تمام ۱۷ ترکیب تیماری مورد مطالعه صفت وزن خشک ریشه را به‌طور معنی‌داری افزایش دادند. در سطح صفر و ۰/۱ میلی مولار ملاتونین اختلاف زیادی بین ویتامین‌های ب وجود نداشت ولی در سطح ۰/۲ میلی مولار ملاتونین، ویتامین‌های اسیدپانتوتنیک، پیریدوکسین و تیامین افزایش قابل توجهی در این صفت ایجاد نمودند. بالاترین مقدار این صفت در ترکیب غلظت بالای ملاتونین با تیمار اسیدپانتوتنیک به میزان ۱/۷۵ گرم در بوته مشاهده گردید. در بین تمامی ترکیبات تیماری پایین‌ترین مقدار وزن خشک ریشه در حدود ۰/۸ گرم در بوته مربوط به بوته‌های شاهد بود (شکل ۴-۴۵). به‌طور کلی ریشه‌ها مستقیماً حساسیت یا تحمل به تنش‌های غیرزنده را در گیاهان منعکس می‌کنند. یک سیستم توسعه‌یافته ریشه می‌تواند به‌خوبی در برابر اثرات تنش‌های محیطی مقاومت نماید (وانگ و همکاران، ۲۰۰۶ و آرنائو و هراندز رویز، ۲۰۱۵). مشاهده شده است که ملاتونین موجب افزایش تخصیص مواد جدید کسب شده به ماده خشک ریشه و بهبود تحمل گیاه‌چه‌های خیار در تنش اسید سینامیک به‌واسطه تغییر عناصر مغذی و محتوای هورمون در کل گیاه گردید. همچنین کاربرد ملاتونین تعداد و قطر ریشه‌های جانبی گیاه خیار را افزایش داد (لای و همکاران، ۲۰۱۷b). این نتایج در مطالعه جیانگ و همکاران (۲۰۱۶) درباره افزایش وزن خشک ریشه گیاه‌چه‌های ذرت تحت تنش شوری و به‌طور مشابه (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۳) درباره افزایش تعداد ریشه‌های جانبی گیاهان تحت تنش آب نیز مشاهده گردید. در واقع مورفولوژی ریشه یک صفت مهم توسعه‌ای و زراعی است که تأثیر شدیدی بر جذب عناصر غذایی، مقاومت به تنش‌های غیرزنده و رشد و توسعه کل گیاه دارد (جانگ و مک کوچ، ۲۰۱۳). محلول‌پاشی تیامین موجب افزایش معنی‌دار وزن تازه و خشک ریشه گیاه شنبلیله گردید (امینی‌فر و همکاران، ۲۰۱۸). این احتمال وجود دارد که محلول‌پاشی ویتامین‌ها می‌تواند موجب

تحریک تراوش اسیدهای آلی به داخل خاک و افزایش انحلال پذیری عناصر در منطقه رایزوسفر و در نهایت جذب عناصر بیشتر توسط گیاه گردد (عبدالعزیز و همکاران، ۲۰۰۷).



شکل ۴-۴۵- مقایسه میانگین وزن خشک ریشه تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف مالتونین و ویتامین ب

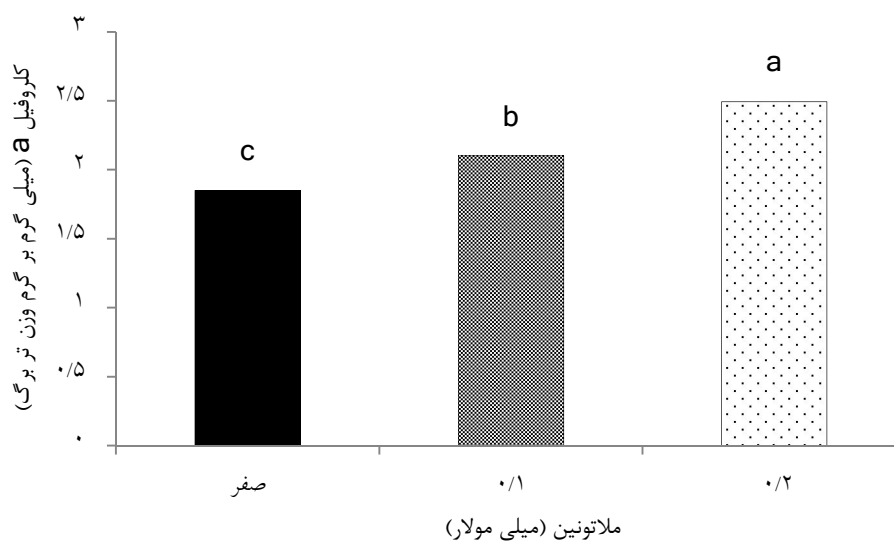
۸-۴-۱- صفات فیزیولوژیک بخش گلدانی

۸-۴-۱-۱- کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید برگ

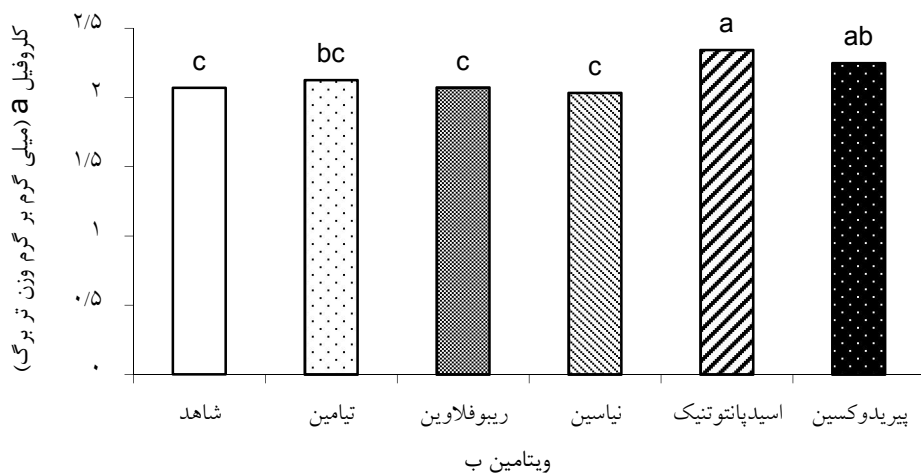
محلول‌پاشی مالتونین و همچنین ویتامین‌های ب بر میزان کلروفیل a برگ در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول پیوست ۱۱). مالتونین افزایش میزان کلروفیل a را از ۱/۸ در سطح صفر به ۲/۱ و ۲/۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ به ترتیب در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار افزایش داد که به ترتیب ۱۳ و ۳۴ درصد بیشتر از عدم محلول‌پاشی بود (شکل ۴-۴۶). از بین ویتامین‌های ب محلول‌پاشی شده فقط اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین توانستند افزایش معنی‌داری در این صفت ایجاد نمایند که البته اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (شکل ۴-۴۷).

اثر کلیه منابع تغییر بر میزان کلروفیل b، کل و کاروتنوئید برگ معنی‌دار شد (جدول پیوست ۱۱). نتایج نشان داد که محلول‌پاشی و افزایش غلظت مالتونین همراه با ویتامین‌های ب افزایش میزان

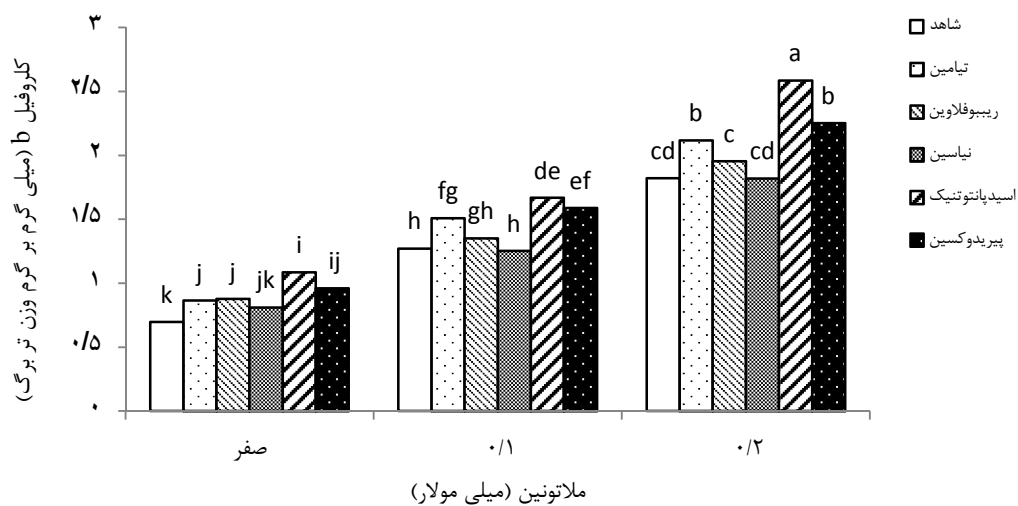
رنگدانه‌های فتوسنتزی برگ را سبب گردید. میزان کلروفیل b، کل و کاروتنوئید در برگ گیاهان شاهد (عدم محلولپاشی) پایین بود. ترکیبات تیماری مورد مطالعه مقدار کلروفیل b را بین ۱۶ تا ۲۷۱ درصد، مقدار کلروفیل کل را بین ۱۰ تا ۱۳۲ درصد و میزان کاروتنوئید برگ را بین ۳۱ تا ۱۶۶ درصد افزایش دادند. بیشترین مقدار کلروفیل b، کل و کاروتنوئید در برگ گیاهانی به ثبت رسید که توسط ملاتونین ۰/۲ میلی‌مولار به همراه اسیدپانتوتنیک محلول‌پاشی شدند. محلول‌پاشی با پیریدوکسین در همین سطح از ملاتونین مقام دوم را در میزان کلروفیل b دارا بود که البته با کاربرد تیمین اختلاف معنی‌داری نداشت ولی در میزان کلروفیل کل برگ این اختلاف کاملاً معنی‌دار بود. در اثر کاربرد دو ویتامین مذکور (اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین) در هر سه سطح ملاتونین همچنین کاربرد نیاسین و ریبوفلاوین در غلظت بالای ملاتونین مقدار کاروتنوئید برگ نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود. ولی اثرگذاری آن‌ها در سطح ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین و همچنین ریبوفلاوین و نیاسین در غلظت بالای ملاتونین یکسان بود و اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (شکل ۴-۴، ۴۸-۴، ۴۹-۴ و ۵۰-۴). نکته قابل توجه در بررسی صفات کلروفیل b و کل، اثرگذاری بیشتر ملاتونین در مقایسه با ویتامین‌های b در شرایط کاربرد این تیمارها به‌تنهایی بود (شکل ۴-۴ و ۴۹-۴). نتایج به‌دست آمده در این بخش کاملاً تأیید کننده نتایج بخش مزرعه‌ای بود.



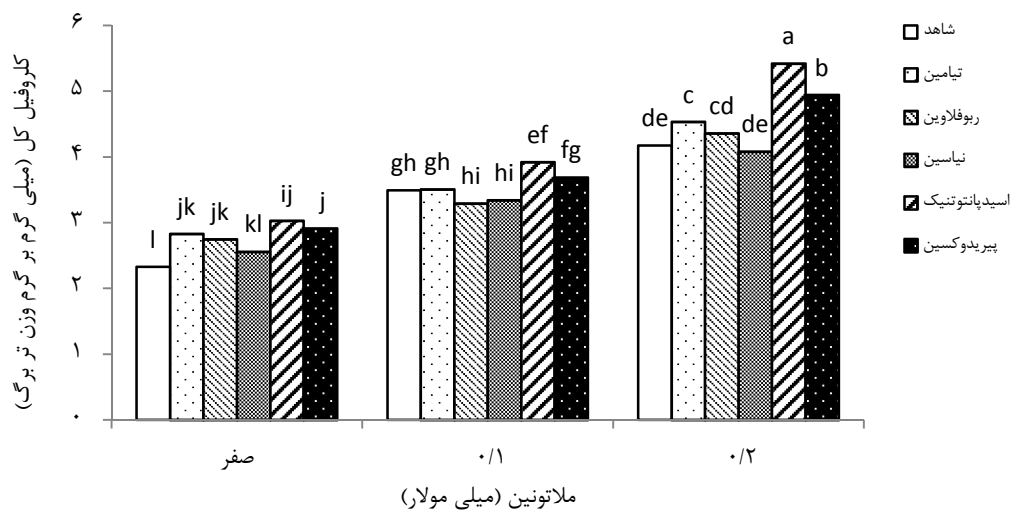
شکل ۴-۴- مقایسه میانگین کلروفیل a تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین



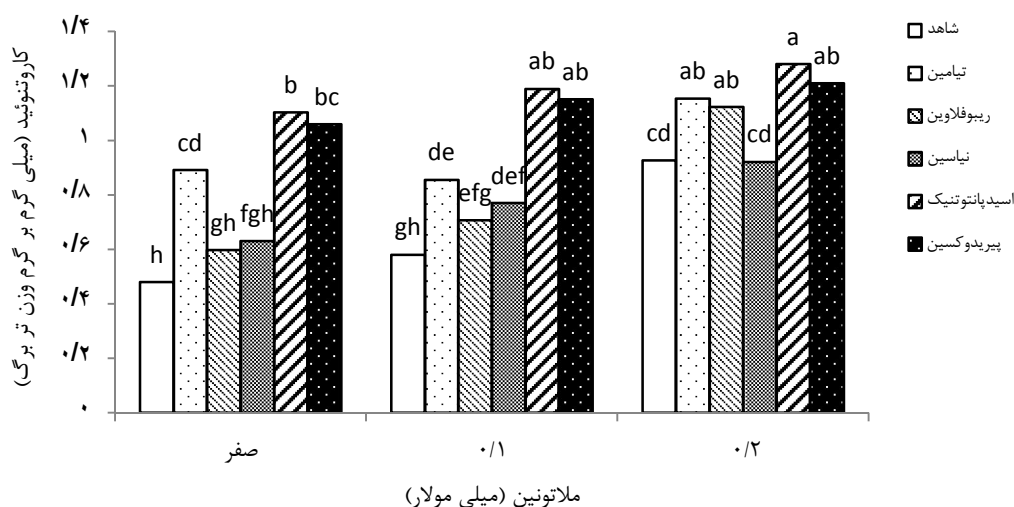
شکل ۴-۴۷- مقایسه میانگین کلروفیل a تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب



شکل ۴-۴۸- مقایسه میانگین کلروفیل b تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب



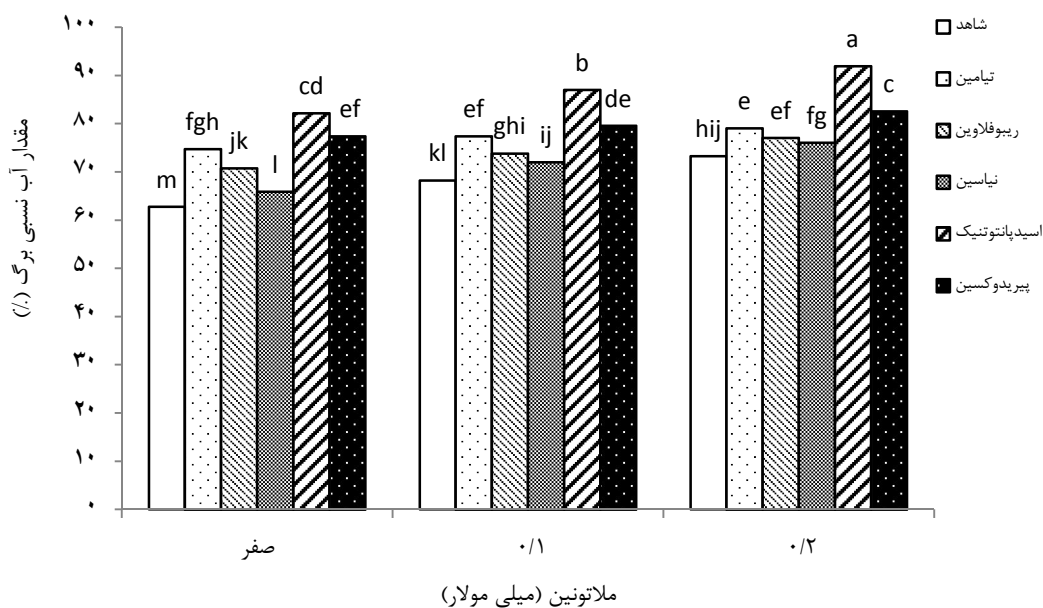
شکل ۴-۴۹- مقایسه میانگین کلروفیل کل تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب



شکل ۴-۵۰- مقایسه میانگین کاروتنوئید تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

۴-۸-۲- مقدار آب نسبی برگ (RWC)

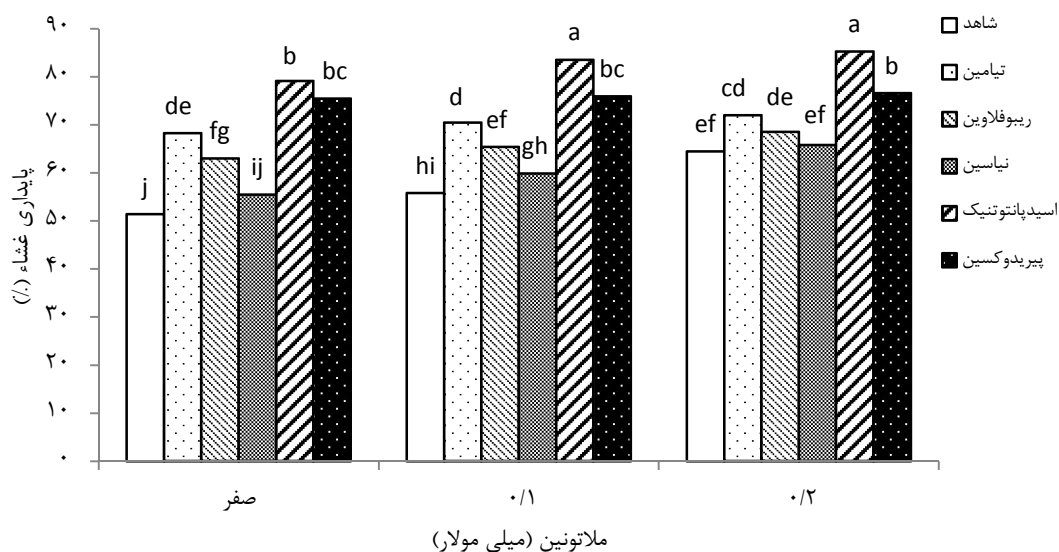
مقدار آب نسبی برگ از اثر محلول‌پاشی ملاتونین و ویتامین ب در سطح احتمال ۱ درصد و از برهم‌کنش این تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد تأثیر پذیرفت (جدول پیوست ۱۲). همه تیمارها شامل محلول‌پاشی ویتامین‌های گروه ب، ملاتونین و ترکیبات تیماری غلظت‌های ملاتونین و ویتامین ب افزایش معنی‌داری در مقدار آب نسبی برگ سویا ایجاد نمودند. بیشترین مقادیر این صفت مربوط به غلظت ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین و پس از آن با اختلاف معنی‌دار در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار ملاتونین همراه با اسیدپانتوتنیک بود که البته اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشتند. کمترین مقدار آب نسبی نیز با ۶۲/۷ درصد در تیمار شاهد اندازه‌گیری شد که اختلاف ۲۹ درصدی نسبت به ترکیب تیماری ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین و اسیدپانتوتنیک داشت (شکل ۴-۵۱).



شکل ۴-۵۱- مقایسه میانگین مقدار آب نسبی برگ تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

۴-۸-۳- پایداری غشای پلاسمایی

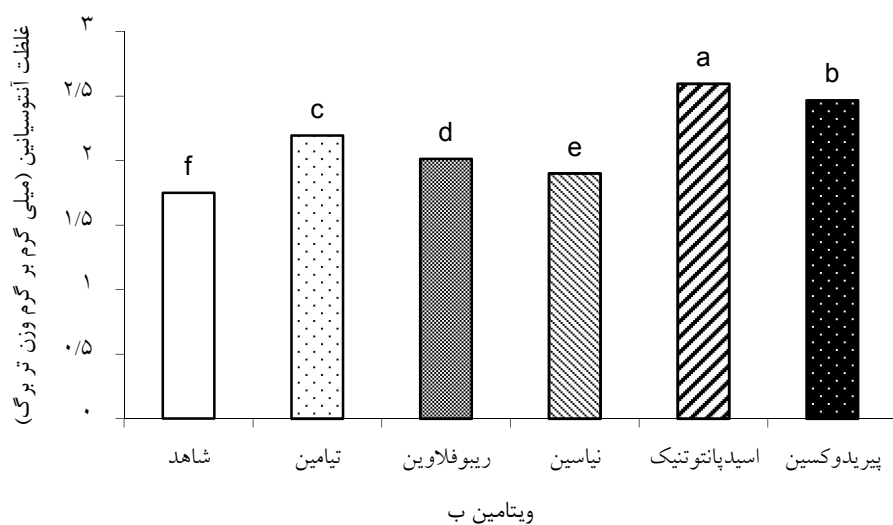
تأثیر ملاتونین و ویتامین ب ($P < 0.01$) و برهم‌کنش آن‌ها ($P < 0.05$) بر پایداری غشای پلاسمایی برگ معنی‌دار شد (جدول پیوست ۱۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که محلول‌پاشی هر دو ماده به صورت تنها و باهم افزایش پایداری در غشاء پلاسمایی را نسبت به تیمار شاهد در برداشت (شکل ۴-۵۲). بیشترین پایداری غشاء متعلق به ترکیب تیماری ۰/۲ و ۰/۱ میلی‌مولار ملاتونین و اسیدپانتوتنیک بود. این ترکیبات تیماری پایداری غشاء را از ۵۱/۴ درصد در گیاهان شاهد به ۸۳ درصد رساندند. در مجموع هر سه غلظت ملاتونین همراه با محلول‌پاشی ویتامین ب موجب بهبود پایداری غشاء گردید ولی اثر اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین بیشتر از بقیه بود (شکل ۴-۵۲).



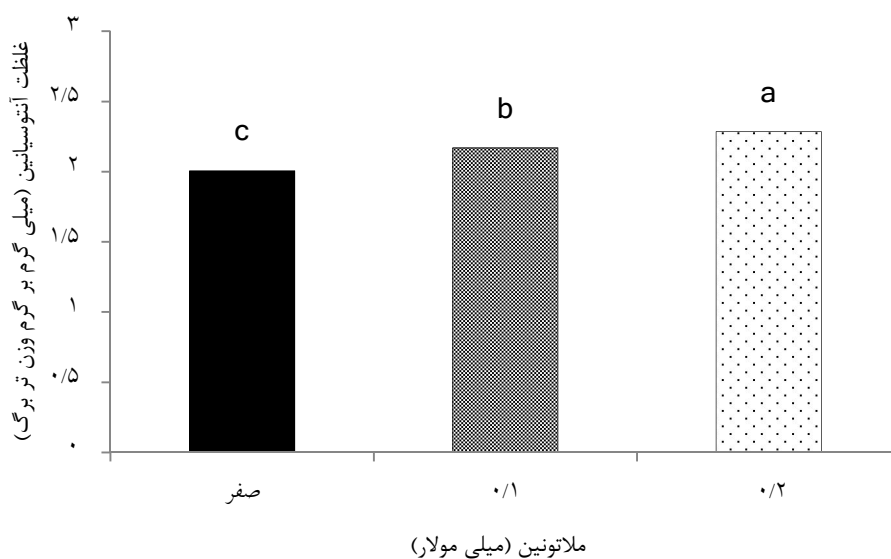
شکل ۴-۵۲- مقایسه میانگین درصد پایداری غشاء تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

۴-۸-۴- میزان آنتوسیانین

اثر اصلی ملاتونین و ویتامین ب بر میزان آنتوسیانین برگ معنی‌دار ($P < 0.01$) بود. در حالی که اثر متقابل ویتامین ب × ملاتونین بر این صفت معنی‌دار نشد (جدول پیوست ۱۲). اثر ویتامین‌های گروه ب و سطوح مختلف ملاتونین در شکل‌های ۴-۵۳ و ۴-۵۴ نشان داده شده است. میزان آنتوسیانین برگ در اثر استفاده از ویتامین ب نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری یافت به‌طوری‌که میانگین این صفت از ۱/۷۵ در برگ گیاهان شاهد به ۲/۵۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ در تیمار اسیدپانتوتنیک افزایش پیدا کرد. تیمارهای پیریدوکسین، تیامین، ریبوفلاوین و نیاسین از لحاظ تأثیرگذاری بر مقدار آنتوسیانین در رده‌های بعدی قرار گرفتند. همان‌طور که در شکل ۴-۵۴ مشاهده می‌گردد مقدار آنتوسیانین با محلول‌پاشی ملاتونین و دو برابر شدن غلظت آن به‌طور معنی‌داری بهبود یافت طوری‌که افزایش حدوداً ۱۳/۸ و ۸ درصدی با استفاده از غلظت‌های ۰/۲ و ۰/۱ میلی‌مولار ملاتونین مشاهده گردید. سان و همکاران (۲۰۱۵) نیز گزارش نمودند که تجمع آنتوسیانین در گیاهان گوجه‌فرنگی تیمار شده با ملاتونین افزایش یافت.



شکل ۴-۵۳- مقایسه میانگین غلظت آنتوسیانین تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب

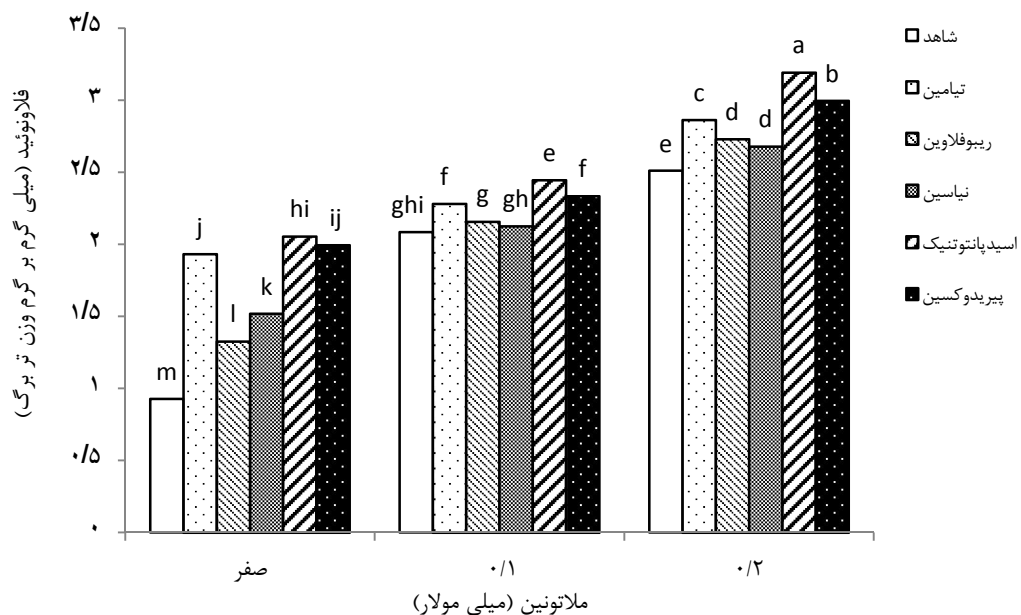


شکل ۴-۵۴- مقایسه میانگین غلظت آنتوسیانین تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین

۴-۸-۵- میزان فلاونوئید

اثر کلیه منابع تغییر در جدول تجزیه واریانس بر میزان فلاونوئید برگ در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول پیوست ۱۲). مقدار فلاونوئید در برگ گیاهان شاهد بسیار پایین تر از سایر ترکیبات تیماری و معادل ۰/۹ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ بود که توسط تک تک تیمارهای آزمایش

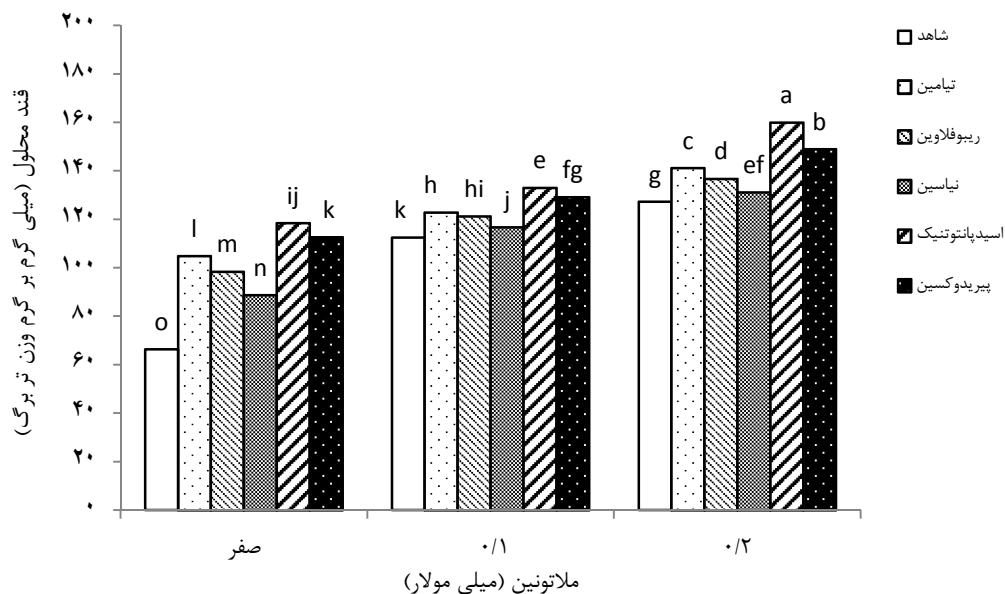
به‌تنهایی یا به‌صورت ترکیبی به‌طور قابل توجهی بهبود یافت (شکل ۴-۵۵). در بین ترکیبات تیماری مورد مطالعه کاربرد ریوفلاوین در سطح صفر ملاتونین با ۴۳ درصد افزایش نسبت به عدم محلول-پاشی کمترین اثر و استفاده همزمان اسیدپانتوتنیک و بالاترین غلظت ملاتونین با حدود ۳/۲ میلی‌گرم بر گرم تر برگ فلاونوئید و ۲۴۵ درصد افزایش بیشترین تأثیر را بر میزان فلاونوئید داشتند. اثر محلول‌پاشی ویتامین‌های ب در غلظت بالای ملاتونین (۰/۲ میلی‌مولار) بسیار بیشتر بود. پس از اسیدپانتوتنیک، اثر پیریدوکسین و تیامین نیز قابل توجه بود (شکل ۵-۵۵). کاربرد ۱۵ میکرومولار ملاتونین موجب افزایش فنل کل و فلاونوئیدهای برگ در محتوای عصاره متانولی گیاهچه‌ها گردید (سارو و همکاران، ۲۰۱۵). محققین گزارش کردند تیامین در افزایش مقاومت به قارچ در گیاه انگور مؤثر است و این ویتامین بیان ژن آنزیم‌های مسیر فنیل پروپانوئید را فعال می‌کند و ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی افزایش می‌یابند (بوبری و همکاران، ۲۰۱۳).



شکل ۴-۵۵- مقایسه میانگین فلاونوئید برگ تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

۴-۸-۶- محتوای قندهای محلول

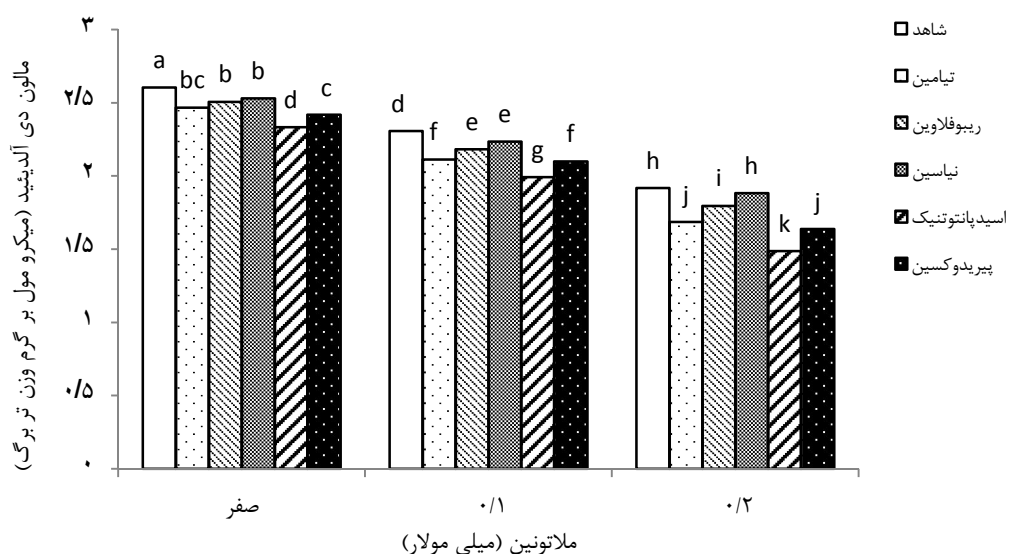
محتوای قندهای محلول برگ تحت تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین و ویتامین ب و همچنین برهم-کنش این دو در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید (جدول پیوست ۱۲). استفاده از ملاتونین و افزایش غلظت آن به همراه ویتامین‌های گروه ب افزایش میزان قند محلول بافت برگی را در تیمارهای مورد مطالعه نشان دادند. بیشترین میزان قند محلول اندازه‌گیری شده از ترکیب آخرین سطح ملاتونین و اسیدپانتوتنیک با حدود ۱۴۹ و کمترین آن از تیمار شاهد با ۶۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ به دست آمد. مقدار قند محلول برگ از ۳۳/۸ درصد افزایش در ترکیب تیماری نیاسین و عدم محلول‌پاشی ملاتونین تا ۱۴۱ درصد افزایش در ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین به همراه اسیدپانتوتنیک نسبت به تیمار شاهد از تیمارهای آزمایش تأثیر پذیرفت (شکل ۴-۵۶). همان‌طور که در شکل مقایسه میانگین (شکل ۴-۵۶) ملاحظه می‌گردد اثر تلفیق دو تیمار به‌ویژه در غلظت بالاتر ملاتونین به‌مراتب بیشتر بود. نتیجه بخش‌گلدانی بسیار شبیه به نتیجه بخش مزرع‌های (شکل ۴-۳۳) بود و آن را عیناً تأیید نمود.



شکل ۴-۵۶- مقایسه میانگین قند محلول برگ تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

۴-۸-۷- محتوای مالون دی آلدئید

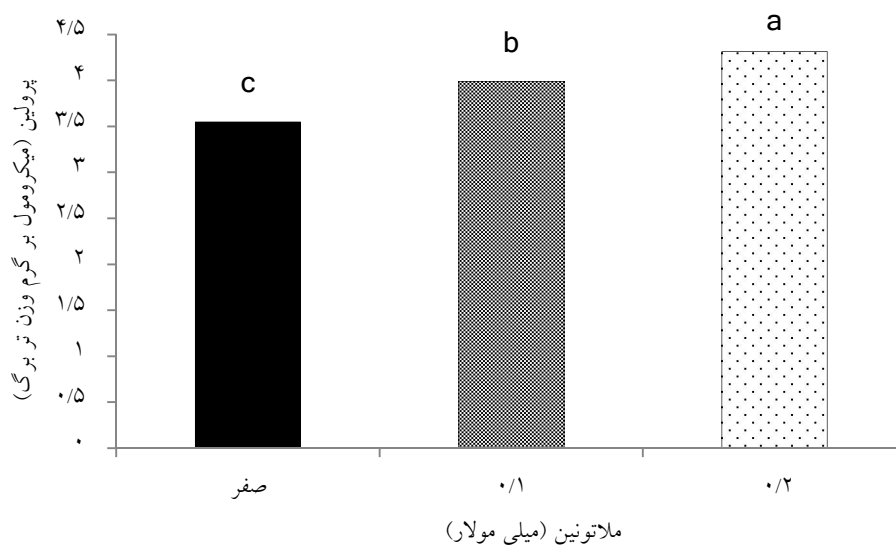
اثر اصلی و برهم کنش تیمارهای ویتامین ب و ملاتونین بر محتوای مالون دی آلدئید معنی دار گردید ($P < 0.01$) (جدول پیوست ۱۳). نتایج به دست آمده برای این صفت نیز در بخش گلدانی بسیار شبیه بخش مزرعه‌ای بود. به طوری که ملاتونین، ویتامین ب و به ویژه کاربرد توأم آن‌ها پراکسیداسیون لیپیدها را به طور محسوسی کاهش داد. از این رو بیشترین میزان تجمع مالون دی آلدئید در برگ گیاهان شاهد مشاهده شد (شکل ۴-۵۷). بازهم اثر اسیدپانتوتنیک در بین تیمارها برجسته بود. به طوری که کاربرد تنهایی این ویتامین در سطح صفر ملاتونین سبب کاهش ۱۰/۳ درصدی مالون دی آلدئید گردید و هنگامی که این ویتامین با غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ میلی مولار ملاتونین همراه شد این میزان کاهش در مالون دی آلدئید نسبت به شاهد به ترتیب به ۲۳/۵ و ۴۲/۸ درصد رسید. بنابراین با عنایت به نتایج ثبت شده در بخش مزرعه‌ای (شکل ۴-۳۵) و تکرار و تأیید آن در بخش گلدانی (شکل ۴-۵۷) می‌توان ترکیب تیماری محلول پاشی اسیدپانتوتنیک توأم با ملاتونین ۰/۲ میلی مولار را ترکیبی مؤثر در کاهش میزان مالون دی آلدئید به عنوان معیار پراکسیداسیون لیپیدها دانست. در شکل‌های ۴-۵۷ و ۴-۳۵ کاملاً قابل مشاهده است که غلظت بالای ملاتونین نقش به‌سزایی در تأثیر ویتامین‌های ب جهت کاهش پراکسیداسیون لیپیدها دارد.



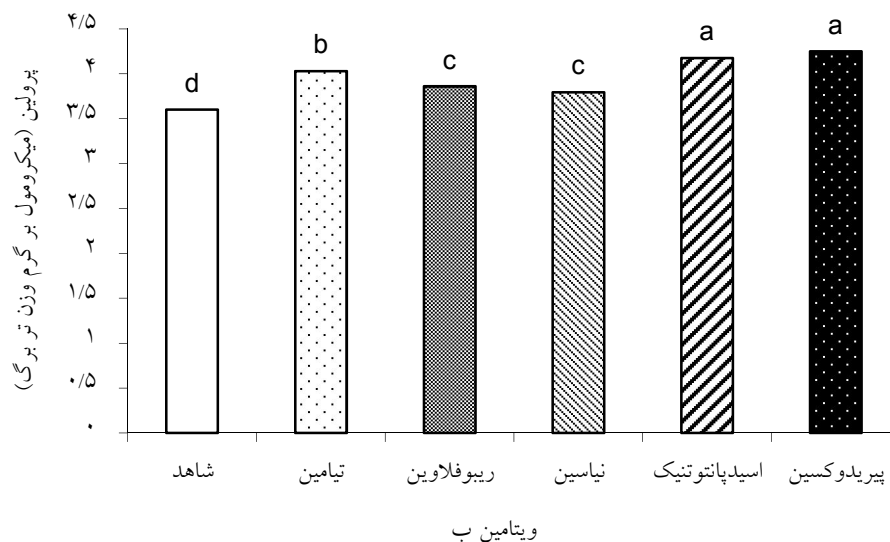
شکل ۴-۵۷- مقایسه میانگین محتوای مالون دی آلدئید تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

۴-۸-۸- پرولین

براساس نتایج جدول تجزیه واریانس فقط اثر اصلی ملاتونین و ویتامین‌های ب بر میزان پرولین برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول پیوست ۱۳). میزان پرولین با استفاده از هر دو غلظت ملاتونین به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. مقدار این افزایش در غلظت‌های ۰/۲ و ۰/۱ میلی-مولار به‌ترتیب حدود ۲۱/۵ و ۸/۲ درصد نسبت به شاهد بود (شکل ۴-۵۸). محلول‌پاشی ویتامین ب نیز سبب تجمع پرولین در برگ گیاهان تیمار شده گردید به‌نحوی که بیشترین مقدار از تیمار پیریدوکسین و اسیدپانتوتنیک به‌دست آمد که البته اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند پس از آن-ها تیمار قرار داشت. اثر ریبوفلاوین و نیاسین نیز یکسان بود. کمترین مقدار نیز از تیمار عدم محلول‌پاشی با حدود ۳/۶ میکرومول بر گرم وزن تر برگ با اختلاف معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها اندازه‌گیری گردید (شکل ۴-۵۹).



شکل ۴-۵۸- مقایسه میانگین غلظت پرولین تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین



شکل ۴-۵۹- مقایسه میانگین غلظت پرولین تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب

ترک و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی تأثیر ملاتونین بر گیاهچه‌های گندم تحت تنش سرما بیان نمودند که در مقایسه با گیاهان شاهد محتوای پرولین به‌طور معنی‌داری با تنش سرما به‌تنهایی و تنش سرما به همراه ملاتونین افزایش معنی‌داری نشان داد. این افزایش در تنش سرما به‌تنهایی ۴۰ درصد و در گیاهان تیمار شده با ملاتونین به میزان ۶۵ درصد بود. پرولین و یکسری کربوهیدرات‌ها (فروکتوز، ساکارز، گلوکز، مالتوز، سلوبیوز، تری‌هالوز، گالاکتوز و گالاکتینول) ترکیبات سازگار مهمی در پاسخ به تنش‌های غیرزنده برای سازگاری اسمزی هستند (کراسنسکی و جوناک، ۲۰۱۲). همانند کربوهیدرات‌ها اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها هم نقش مهمی در مقاومت گیاهان دارند. پرولین یک اسیدآمینه رایج است که در گیاهان عالی اغلب در پاسخ به تنش‌های محیطی در مقدار زیاد تجمع پیدا می‌کند. این اسیدآمینه چندین عمل حیاتی از قبیل تنظیم کننده اسمزی، تمیز کردن گونه‌های فعال اکسیژن، محافظت از تمامیت غشاء و فعالیت‌های آنزیمی را انجام می‌دهد (پالگ و همکاران، ۱۹۸۴، باندورسکا، ۲۰۰۱، نایار و همکاران، ۲۰۰۵ و شارما و دویی، ۲۰۰۵). اثر افزایش میزان پرولین با کاربرد ملاتونین در دو رقم مختلف گیلاس نیز گزارش شده است (ساروپائولو و همکاران، ۲۰۱۲).

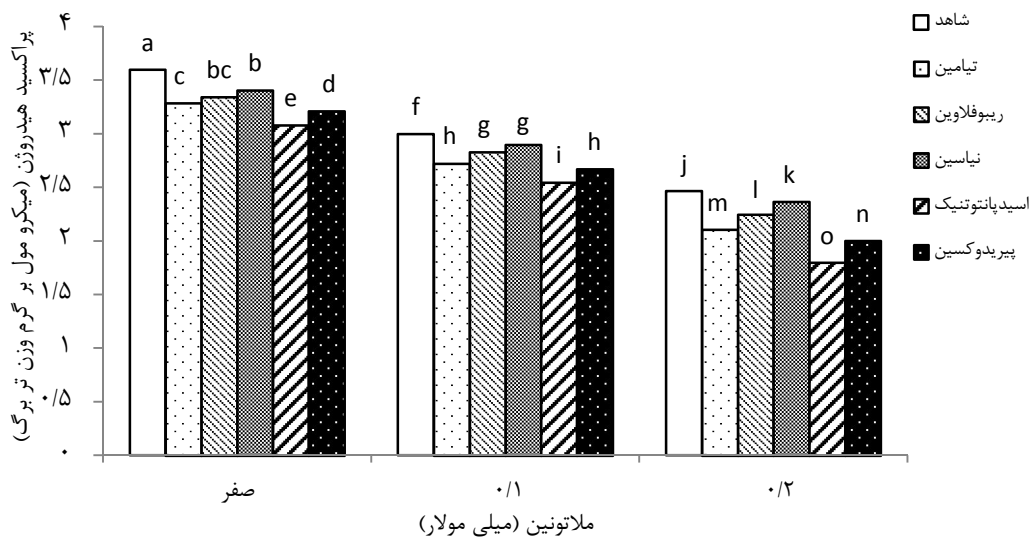
همچنین محلول پاشی برگی اسیدآسکوربیک و تیامین موجب افزایش اسیدهای آمینه پرولین، سرین و گلایسین بتائین در گیاه باقلای مصری (*Lupinus termis* L) گردید (ال آوادی و همکاران، ۲۰۱۶).

۴-۸-۹- میزان پراکسید هیدروژن (H_2O_2)

اثر تمامی منابع تغییر بر میزان تجمع پراکسید هیدروژن در سطح احتمال یک درصد معنی دار گردید (جدول پیوست ۱۳). محلول پاشی ملاتونین و ویتامین‌های ب به تنهایی یا به صورت ترکیبی با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی (شکل‌های ۴-۶۱ تا ۴-۶۴) به ویژه کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز کاهش زیادی در میزان تجمع پراکسید هیدروژن ایجاد نمود. در بین ترکیبات تیماری مورد مطالعه کمترین مهار پراکسید هیدروژن با ۷ درصد کاهش نسبت به شاهد مربوط به محلول پاشی نیاسین و ریوفلاوین در سطح صفر ملاتونین و بیشترین مهار این گونه فعال اکسیژن با ۵۰ درصد کاهش مربوط به کاربرد توأم بالاترین غلظت ملاتونین و اسیدپانتوتنیک بود (شکل ۴-۶۰). استفاده از ملاتونین و افزایش غلظت آن در عدم حضور ویتامین‌های ب نیز میزان تجمع این گونه فعال اکسیژن را به طور معنی داری کاهش داد به نحوی که مقدار آن از حدود ۳/۵ میکرومول بر گرم وزن تر برگ در تیمار عدم محلول پاشی با کاهش ۱۶ و ۳۱ درصدی به ۲/۹ و ۲/۴ میکرومول بر گرم وزن تر برگ در محلول پاشی ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین رسید. مقایسه ویتامین‌های ب نیز نشان می‌دهد که در هر سه سطح ملاتونین بیشترین اثر مربوط به اسیدپانتوتنیک و پس از آن پیریدوکسین و تیامین بود (شکل ۴-۶۰).

H_2O_2 و O_2^- از مهم‌ترین گونه‌های فعال اکسیژن هستند که تولید آن‌ها در تنش‌های محیطی تحریک می‌شود (چن و همکاران، ۲۰۱۶). گیاه‌چه‌های گوجه‌فرنگی تیمار شده با ملاتونین میزان تجمع پراکسید هیدروژن را به طور معنی داری کاهش دادند (جو و همکاران، ۲۰۱۶). وو و همکاران (۲۰۱۹) نیز در تحقیق خود روی گیاه‌چه‌های خربزه تحت تنش شوری بیان نمودند که در مقایسه با

تیمار شوری به‌تنهایی محتوای O_2^- و H_2O_2 در برگ‌های تحت تنش شوری با کاربرد خارجی ملاتونین و کلسیم ۴۲/۱ و ۳۹/۸ درصد تا دهمین روز کاهش پیدا نمود. ملاتونین یک آنتی‌اکسیدان با طیف وسیع و پاک‌کننده مهم گونه‌های فعال اکسیژن است و می‌تواند فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدان را تحریک نماید (هویلا و همکاران، ۲۰۱۴ و هو و همکاران، ۲۰۱۶). همچنین کاربرد خارجی ملاتونین توانایی فعال نمودن سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی یا غیرآنزیمی را برای نگهداری تعادل احیاء دارد (هان و همکاران، ۲۰۱۷). محققین گزارش نمودند که تیامین NADPH اکسیداز (NOX) را فعال می‌کند و تجمع NOX را در پاسخ به تجمع گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده در گیاه آرابیدوپسیس آلوده شده با *Sclerotinia sclerotiorum* تحریک نمود. تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که پیریدوکسین می‌تواند به‌عنوان نوع جدیدی از آنتی‌اکسیدان‌ها در کم کردن تجمع گونه‌های فعال اکسیژن عمل نماید (چن و ژیانگ، ۲۰۰۵).



شکل ۴-۶- مقایسه میانگین میزان پراکسید هیدروژن تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

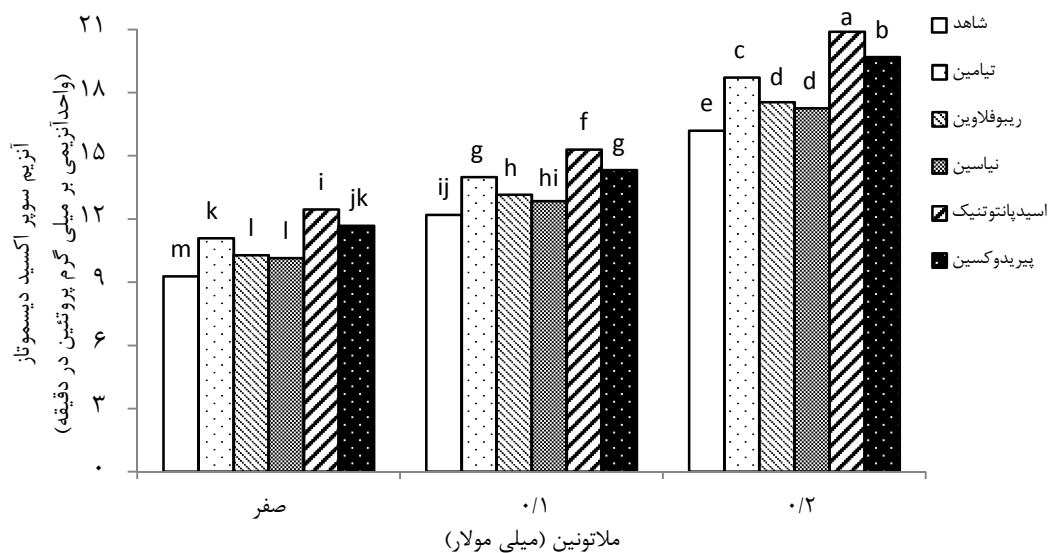
۴-۹- فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

۴-۹-۱- فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)

اثر ملاتونین و ویتامین ب در سطح احتمال ۱ درصد و برهم‌کنش آن‌ها در سطح احتمال ۵ درصد بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز معنی‌دار شد (جدول پیوست ۱۴). نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از ملاتونین به همراه ویتامین ب سبب افزایش فعالیت آنزیم و بهبود سیستم دفاعی گیاه گردید (شکل ۴-۶۱). فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در برگ گیاهان شاهد (بدون محلول‌پاشی) معادل ۹/۲ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بود که در اثر محلول‌پاشی با غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار (بدون حضور ویتامین ب) به ترتیب ۳۱ و ۷۴ درصد افزایش یافت. اثر ویتامین‌های ب نیز بر فعالیت این آنزیم قابل توجه بود. البته همراه شدن این ویتامین‌ها با ملاتونین اثر آن را تشدید نمود. در هر سه سطح ملاتونین کمترین اثر مربوط به نیاسین و ریبوفلاوین و بیشترین اثر متعلق به اسیدپانتوتنیک بود. بنابراین قوی‌ترین خط دفاعی آنزیمی از طریق بیشترین فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در برگ گیاهانی ثبت شد که ترکیب تیماری ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین و اسیدپانتوتنیک را دریافت کرده بودند که افزایش تقریباً ۲/۲ برابری را نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی نشان داد (شکل ۴-۶۱).

گیاهان سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی را برای نگهداری تعادل احیاء در خود درگیر می‌کنند. در بین سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز یک آنزیم کلیدی است که O_2^- را از بین می‌برد و به O_2 و H_2O_2 تبدیل می‌نماید در حالی که کاتالاز و پراکسیداز می‌توانند آن را به H_2O و H_2O_2 از طریق مسیرهای مختلف در سلول گیاهان بشکنند (میتلر، ۲۰۰۲ و هو و همکاران، ۲۰۱۶). کاربرد خارجی ملاتونین به‌طور معنی‌داری سمیت‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز) و غیرآنزیمی گلووتاتیون را برای نگهداری گونه‌های فعال اکسیژن (بیشتر شامل H_2O_2 و O_2^-) در سطح نسبتاً کمتری فعال می‌-

نماید. این مطالب تخفیف خسارت اکسیداتیو ناشی از تنش‌های غیرزنده و بهبود مقاومت به آن‌ها را در گیاه نشان می‌دهد (شی و همکاران، ۲۰۱۵b). افزایش میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با کاربرد ملاتونین در مطالعه محققین دیگر نیز گزارش شده است (وو و همکاران، ۲۰۱۹، سافرانسکا و همکاران، ۲۰۱۶ و مارتا و همکاران، ۲۰۱۶). گزارش شده است که در گیاهان ذرت تیمار شده، تیامین موجب افزایش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز و در نتیجه بهبود تحمل به تنش شوری گردید (کایا و همکاران، ۲۰۱۵). تانک ازمیر و همکاران (۲۰۰۹) بیان نمودند که تیامین دفاع آنتی-اکسیدانی را تحریک می‌کند و از این‌رو نقش مهمی در حفاظت از سلول‌ها در برابر تنش اکسیداتیو در گیاهان دارد.



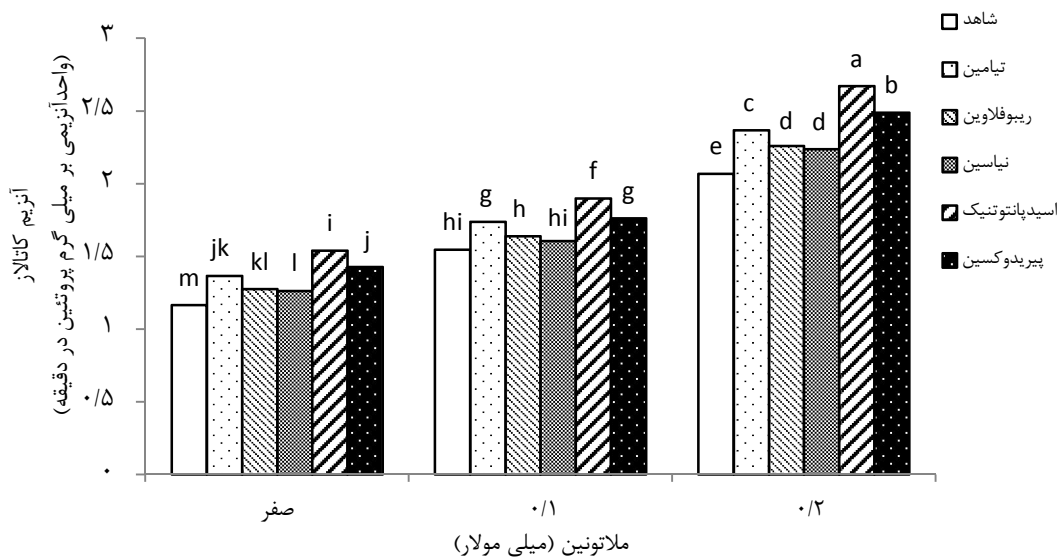
شکل ۴-۶۱- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

۴-۹-۲- فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

اثر متقابل ترکیب تیماری محلول‌پاشی ملاتونین و ویتامین ب بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۵ درصد و اثر اصلی آن‌ها بر این صفت در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول پیوست ۱۴). واکنش آنزیم کاتالاز به ترکیبات تیماری مورد مطالعه مشابه آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز بود به-

گونه‌ای که همه ترکیبات تیماری فعالیت این آنزیم را افزایش دادند. براساس نتایج به‌دست آمده در این آنزیم نیز اثر ملاتونین بیشتر از ویتامین‌های ب بود و تلفیق ملاتونین به‌ویژه غلظت بالای آن (۰/۲ میلی‌مولار) با ویتامین‌های ب تأثیر مضاعفی بر فعالیت این آنزیم داشت. طوری که بیشترین افزایش در فعالیت آنزیم در ترکیب تیماری بالاترین غلظت ملاتونین و اسیدپانتوتنیک با ۱۲۹ درصد افزایش نسبت به شاهد و پس از آن پیریدوکسین و تیامین مشاهده شد. اثر این سه ویتامین در دو سطح صفر و ۰/۱ میلی‌مولار ملاتونین نیز قابل توجه بود. کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز نیز در تیمار عدم محلول-پاشی مشاهده شد (شکل ۴-۶۲).

افزایش معنی‌دار فعالیت کاتالاز با استفاده از کاربرد ملاتونین در گیاهان تحت تنش‌های غیرزنده (خشکی، شوری، سرما) نسبت به گیاهان شاهد در مطالعه محققین دیگر نیز بیان شده است که این کار با پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن و جلوگیری از تجمع آن‌ها و تخفیف اثرات مخرب تنش‌های وارده به گیاه صورت می‌گیرد (هان و همکاران، ۲۰۱۷، ژانگ و همکاران، ۲۰۱۶ b و شی و همکاران، ۲۰۱۵b). گزارش شده است که ملاتونین در پاسخ به تنش وارده به گیاه موجب افزایش رونویسی و بیان ژن کاتالاز در گیاهان تیمار شده می‌گردد (دینگ و همکاران، ۲۰۱۷ و وی و همکاران، ۲۰۱۸). محققین در مطالعه خود روی گل ژربرا مشاهده نمودند که محلول‌پاشی تیامین موجب افزایش معنی‌دار سطح فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به گیاهان شاهد گردید (منصوری و همکاران، ۱۳۹۴).

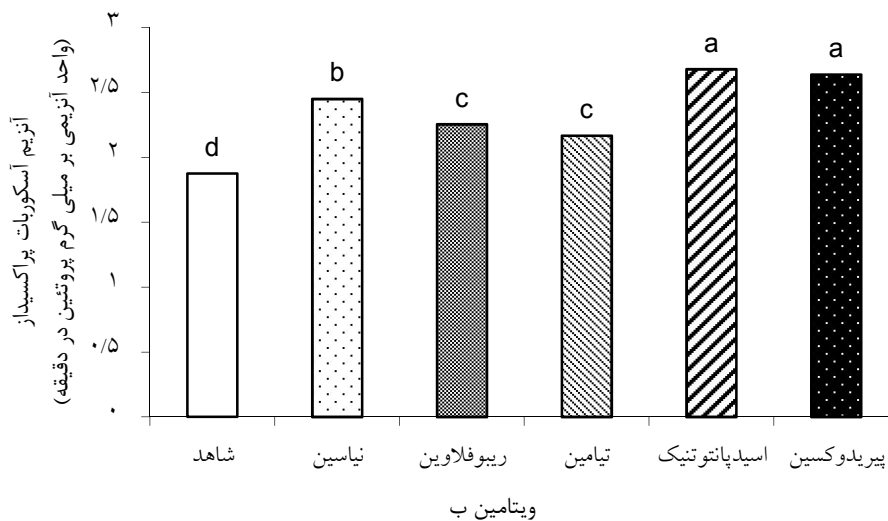


شکل ۴-۶۲- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر ترکیبات تیماری حاصل از غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین ب

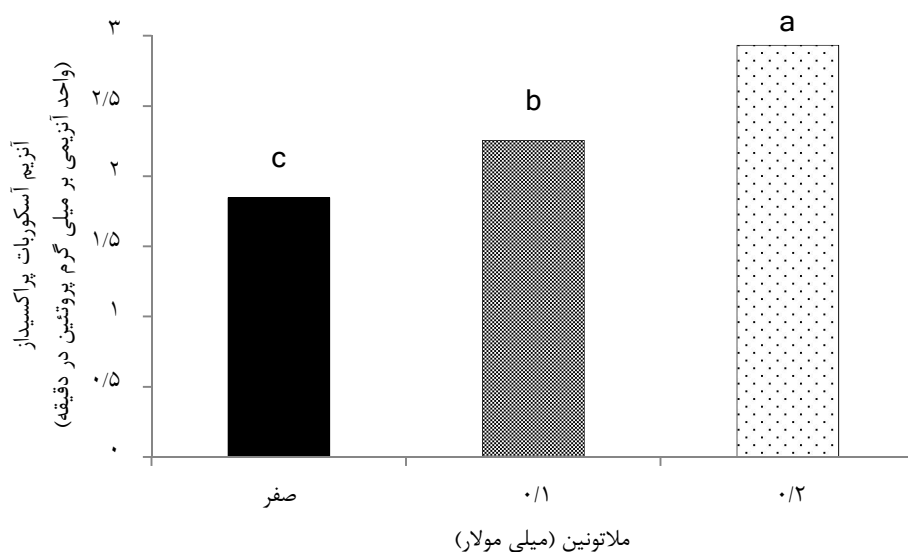
۴-۹-۳- فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که تنها اثر اصلی ملاتونین و ویتامین‌های ب بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول پیوست ۱۴). محلول‌پاشی ویتامین‌های ب موجب افزایش معنی‌دار سطح فعالیت آنزیم نسبت به گیاهان شاهد گردید. تیامین و ریوفلاوین با کمترین افزایش (بدون اختلاف معنی‌دار با یکدیگر) در بین تیمارهای ویتامین ب نسبت به عدم محلول‌پاشی، فعالیت این آنزیم را به ترتیب ۱۵/۵ و ۲۰ درصد بهبود بخشیدند و اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین (بدون اختلاف معنی‌دار با یکدیگر) به ترتیب با ۴۰ و ۴۲ درصد افزایش نسبت به شاهد بیشترین تأثیر را داشتند (شکل ۴-۶۳). ملاتونین و افزایش غلظت آن فعالیت آنزیم را به میزان زیادی افزایش داد به نحوی که سطح فعالیت آنزیم در بالاترین غلظت محلول-پاشی حدود ۱/۵ برابر و در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار حدود ۱/۲ برابر نسبت به غلظت صفر افزایش یافت (شکل ۴-۶۴).

آنزیم آسکوربات پراکسیداز نقش مهمی در رفع سمیت پراکسید هیدروژن و کم کردن خسارت تنش اکسیداتیو در گیاه دارد (میتوا و همکاران، ۲۰۰۰ و آرورا و همکاران، ۲۰۰۲). پیش‌تیمار گیاه‌چه‌های ذرت تحت تنش شوری با ملاتونین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را در حدود ۲۶ درصد نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد. افزایش فعالیت آنزیم در این گیاه‌چه‌ها با کمترین نشت الکترولیت و محتوای مالون دی‌آلدئید منطبق بود و تخفیف خسارت اکسیداتیو ایجاد شده توسط تنش شوری با کاربرد ملاتونین را نشان داد (جیانگ و همکاران، ۲۰۱۶). دو راه برای توضیح این پاسخ وجود دارد ۱- پاکسازی مستقیم رادیکال‌های آزاد (تان و همکاران، ۲۰۰۷) ۲- افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (گالانو و همکاران، ۲۰۱۱ و لای و همکاران، ۲۰۱۲). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاهان کلزا که بذر آن‌ها با پیریدوکسین پیش‌تیمار شده بود افزایش یافت (اورابی و همکاران، ۲۰۱۶).



شکل ۴-۶۳- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین ب



شکل ۴-۶۴- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر سطوح مختلف ملاتونین

۴-۱۰- نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب موجب بهبود صفات مورد بررسی در هر سه قسمت آزمایشگاهی، مزرعه‌ای و گلدانی گردید. در بخش آزمایشگاهی تیمارهای به‌کار رفته افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی و قدرت گیاهچه را به‌همراه داشت. پیش‌تیمار بذر سبب افزایش طول ساقه‌چه گردید به‌نحوی که با افزایش غلظت ملاتونین و کاربرد ویتامین ب رشد ساقه‌چه تحریک شد. بیشترین طول ساقه‌چه ثبت‌شده از ترکیب تیماری ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین و اسیدپانتوتنیک به‌دست آمد. بیشترین قدرت گیاهچه نیز از ترکیبات تیماری اسیدپانتوتنیک و پیریدوکسین با غلظت ۰/۲ میلی‌مولار ملاتونین به‌دست آمد. در بخش مزرعه‌ای محلول‌پاشی ویتامین‌های ب و ملاتونین موجب افزایش تجمع ماده خشک، ارتفاع بوته و قطر ساقه، عملکرد و اجزای عملکرد، رنگدانه‌های کلروفیل و کاروتنوئید، عملکرد روغن و پروتئین دانه در گیاه گردید. محلول‌پاشی ملاتونین با غلظت ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار عملکرد دانه را به ترتیب ۲۷ و ۸۴ درصد افزایش داد.

عملکرد روغن دانه با انجام محلول پاشی هر کدام از تیمارها به تنهایی و به صورت ترکیبی افزایش معنی-داری داشت به طوری که بالاترین مقادیر عملکرد روغن مربوط به استفاده از اسیدپانتوتنیک همراه با غلظت ۰/۲ میلی مولار از ملاتونین بود. محلول پاشی توأم ویتامین و ملاتونین اثر مثبتی بر کاهش روند تخریب کلروفیل برگ داشت به طوری که میزان کلروفیل موجود در برگ این گیاهان با سرعت کمتری دچار افت گردید. در بخش گلدانی صفاتی از قبیل طول، حجم و وزن خشک ریشه، رنگدانه‌های فتوسنتزی و میزان آنتوسیانین با استفاده از ویتامین‌های گروه ب و ملاتونین افزایش قابل توجهی یافت. همچنین محلول پاشی سبب کاهش تجمع پراکسید هیدروژن، افزایش میزان پرولین و تقویت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی در برابر افزایش گونه‌های فعال تشکیل شده ناشی از تنش اکسیداتیو شد. واکنش آنزیم کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز به ترکیبات تیماری مورد مطالعه مشابه بود به گونه-ای که همه ترکیبات تیماری فعالیت آن‌ها را افزایش دادند. براساس نتایج آزمایش تلفیق ملاتونین به-ویژه غلظت بالای آن (۰/۲ میلی مولار) با ویتامین‌های ب تأثیر مضاعفی بر فعالیت این آنزیم‌ها داشت. در آزمایش مزرعه‌ای و گلدانی بیشترین تأثیر مثبت اثر متقابل محلول پاشی ملاتونین و ویتامین ب بر صفات مقدار آب نسبی برگ، پایداری غشای پلاسمایی، کلروفیل b، کاروتنوئید، قند محلول و فلاونوئید برگ از بالاترین غلظت ملاتونین و اسیدپانتوتنیک به دست آمد. مقدار فلاونوئید توسط تک تک تیمارهای آزمایش به تنهایی یا به صورت ترکیبی نسبت به گیاهان شاهد به طور قابل توجهی افزایش یافت. کاربرد ریبوفلاوین در سطح صفر ملاتونین کمترین و استفاده همزمان بالاترین غلظت ملاتونین و اسیدپانتوتنیک بیشترین تأثیر را نسبت به عدم محلول پاشی بر میزان فلاونوئید داشتند. با توجه به نتایج هر دو آزمایش گلدانی و مزرعه‌ای که تأیید کننده یکدیگر بودند می‌توان بیان داشت که به طور کلی، استفاده از ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب می‌تواند آسیب‌های وارده به گیاه به واسطه تولید گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط تابستان را تا حد زیادی کاهش دهد و به عنوان یک راهکار برای افزایش عملکرد و کیفیت آن در نظر گرفته شود. با توجه به محدوده تیمارهای مورد مطالعه در

این پژوهش ترکیب تیماری اسیدپانتوتنیک و غلظت ۰/۲ میلی مولار ملاتونین به عنوان تیمار برتر محلول پاشی و پیش تیمار بذر قابل توجیه است.

۴-۱۱- پیشنهادها

۱- با توجه به مفید بودن غلظت‌های محلول پاشی و پیش تیمار ملاتونین و تأثیرگذاری بیشتر غلظت ۰/۲ میلی مولار آن، توصیه می‌شود غلظت‌های دیگر ملاتونین مورد بررسی قرار گیرد.

۲- در محدوده این تحقیق تنها از یک غلظت ویتامین‌های گروه ب استفاده گردید و اسیدپانتوتنیک بیشترین تأثیر مثبت را در بین سایر ویتامین‌ها نشان داد، توصیه می‌شود سایر غلظت‌های این ویتامین‌ها نیز مورد بررسی قرار گیرد تا نتایج استفاده آن‌ها بر گیاهان مورد سنجش قرار گیرد.

پیوست

جدول پیوست ۱- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر درصد و سرعت جوانه-زنی، طول ساقه‌چه، گیاه‌چه و ریشه‌چه در بخش آزمایشگاهی

منابع تغییر	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	طول ساقه‌چه	طول ریشه‌چه
تکرار	۲	۲۲۸۳/۵۵	۵۶/۷۳	۱/۲۵	۰/۴۷
ملاتونین	۲	۶۵۴**	۱۱۲/۹۳**	۲۰/۱۷۰**	۱۰۵/۴۷**
ویتامین ب	۵	۴۲/۰۸**	۱/۶۰**	۱۷/۰۹**	۳/۴۸**
ملاتونین×ویتامین ب	۱۰	۶/۸۸	۰/۰۷	۱/۵۹**	۰/۱۴
خطا	۳۴	۱۰/۸۴	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۰۷
ضریب تغییرات (درصد)	-	۴/۴۰	۴/۷۷	۲/۱۱	۲/۹۴

و* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

جدول پیوست ۲- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر وزن خشک ریشه‌چه و گیاه‌چه، شاخص طولی و وزنی قدرت گیاه‌چه در بخش آزمایشگاهی

منابع تغییر	درجه آزادی	وزن خشک ریشه‌چه	وزن خشک گیاه‌چه	شاخص طولی قدرت گیاه‌چه	شاخص وزنی قدرت گیاه‌چه
تکرار	۲	۰/۰۰۰۰۵۶	۰/۰۴۵	۱۸۳۵۱/۳۴	۱۳۸۵/۹۴
ملاتونین	۲	۰/۰۰۰۱۴۰**	۰/۱۱۳**	۶۰۵۵۲/۴۷**	۱۳۹۷/۶۸**
ویتامین ب	۵	۰/۰۰۰۰۳۱**	۰/۰۲۶**	۳۵۹۲/۵۶**	۲۳۷/۷۶**
ملاتونین×ویتامین ب	۱۰	۰/۰۰۰۰۰۳*	۰/۰۰۲*	۱۹۴/۹۶	۲۴/۳۹*
خطا	۳۴	۰/۰۰۰۰۰۱	۰/۰۰۱	۱۲۹/۷۵	۱۰/۴۵
ضریب تغییرات (درصد)	-	۷/۳۶	۶/۹۲	۵/۷۷	۸/۸۸

و* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

جدول پیوست ۳- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر ارتفاع بوته، قطر ساقه و شاخص سطح برگ در آزمایش مزرعه‌ای

منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع بوته	قطر ساقه	شاخص سطح برگ
تکرار	۲	۱۱۳۲/۴۹۸	۰/۰۱۰	۰/۱۶۴
ملاتونین	۲	۲۱۸۱/۹۲۱**	۱۵/۷۱۳**	۲۶/۴۴۲**
ویتامین ب	۵	۱۹۸/۰۰۶**	۶/۳۶۱**	۱/۴۴۹**
ملاتونین×ویتامین ب	۱۰	۹/۲۹۴**	۰/۰۸۸**	۰/۰۹۵**
خطا	۳۴	۳/۰۸۴	۰/۰۲۷	۰/۰۰۶
ضریب تغییرات (درصد)	-	۲/۲۵۳	۲/۷۸۸	۲/۱۸۶

و* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

جدول پیوست ۴- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر وزن خشک برگ، ، وزن خشک ساقه و ماده خشک کل در آزمایش مزرعه‌ای

منابع تغییر	درجه آزادی	وزن خشک برگ	وزن خشک ساقه	ماده خشک کل
تکرار	۲	۱۹۴۹۵/۴۹۶	۱۳۳۳۲/۸۶۵	۳۰۱۱/۶۱۴
ملاتونین	۲	۱۶۶۲۲/۱۲۷**	۵۱۵۲/۷۲۹**	۴۰۱۴۹/۰۵۶**
ویتامین ب	۵	۱۹۴۵۴/۷۵۲**	۱۹۵۰۵/۱۵۵**	۷۷۸۵۳/۷۴۷**
ملاتونین×ویتامین ب	۱۰	۱۵۳۸/۳۴۷*	۱۰۱۰/۰۵۹*	۴۵۶۶/۳۴۱*
خطا	۳۴	۷۲۰/۰۰۱	۴۵۱/۸۳۳	۲۱۱۷/۱۶۴
ضریب تغییرات (درصد)	-	۶/۰۸۹	۶/۸۰۲	۶/۱۰۹

و* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

جدول پیوست ۵- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر عملکرد و اجزای عملکرد در آزمایش مزرعه‌ای

منابع تغییر	درجه آزادی	تعداد غلاف در بوته	تعداد دانه در غلاف	وزن هزاردانه	عملکرد
تکرار	۲	۳۶۳۴/۴۳۱	۰/۵۴۰	۲۶۷/۳۰۶	۰/۴۵۰
ملاتونین	۲	۶۷۰/۱۰۳**	۱/۹۲۰**	۵۵۰۶/۸۷۵**	۴/۶۸۷**
ویتامین ب	۵	۷۵/۵۲۷**	۰/۰۸۴**	۴۸۰/۸۸۸**	۲/۷۸۷**
ملاتونین×ویتامین ب	۱۰	۰/۹۳۳	۰/۰۱۰**	۸۲/۶۲۷*	۰/۰۳۹*
خطا	۳۴	۶/۷۸۰	۰/۰۰۱	۲۹/۵۷۲	۰/۰۱۷
ضریب تغییرات (درصد)	-	۵/۲۶۳	۲/۱۷۳	۳/۶۳۸	۷/۰۱۲

**و* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

جدول پیوست ۶- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید برگ در آزمایش مزرعه‌ای

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
تکرار	۲	۰/۰۲۰	۰/۰۶۳	۰/۱۱۴	۰/۱۴۰
ملاتونین	۲	۲/۷۱۷**	۱۰/۵۱۹**	۲۳/۹۱۰**	۰/۹۳۸**
ویتامین ب	۵	۰/۳۳۵**	۰/۷۵۵**	۲/۰۸۶**	۰/۹۳۷**
ملاتونین×ویتامین ب	۱۰	۰/۰۸۴**	۰/۰۷۵**	۰/۲۳۳**	۰/۰۶۶**
خطا	۳۴	۰/۰۱۸	۰/۰۰۸	۰/۰۱۲	۰/۰۱۷
ضریب تغییرات (درصد)	-	۵/۲۲۵	۳/۷۵۴	۲/۱۶۲	۱۱/۹۶۱

**و* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

جدول پیوست ۷- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر مقدار آب نسبی برگ، پایداری غشای پلاسمایی، آنتوسیانین، فلاونوئید و قندهای محلول برگ در آزمایش مزرعه‌ای

منابع تغییر	درجه آزادی	مقدار آب نسبی برگ	پایداری غشای پلاسمایی	آنتوسیانین	فلاونوئید	قندهای محلول
تکرار	۲	۶۳/۰۴۴	۳۷۳/۸۳۵	۰/۰۰۹	۰/۰۹۹	۱۸۳/۳۷۹
ملاتونین	۲	۱۱۶۸/۱۱۱**	۲۶۲/۲۴۳**	۰/۱۱۳**	۵/۷۵۴**	۱۲۳۷۱/۶۶۷**
ویتامین ب	۵	۲۵/۲۸۳**	۷۷۴/۸۱۵**	۰/۹۷۳**	۰/۹۷۶**	۱۰۸۶/۶۷۴**
ملاتونین × ویتامین ب	۱۰	۱/۹۱۸*	۱۳/۲۶۳*	۰/۰۰۴**	۰/۱۹۰**	۱۱۴/۵۴۸**
خطا	۳۴	۰/۷۵۴	۶/۱۳۹	۰/۰۰۱	۰/۰۰۸	۶/۲۶۸
ضریب تغییرات (درصد)	-	۱/۲۶۳	۳/۸۷۸	۱/۵۷۷	۳/۷۹۸	۱/۸۶۸

** و * به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

جدول پیوست ۸- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر میزان هدایت روزنه و محتوای مالون دی آلدئید در آزمایش مزرعه‌ای

منابع تغییر	درجه آزادی	میزان هدایت روزنه	محتوای مالون دی آلدئید
تکرار	۲	۹۶/۹۹۸	۰/۱۱۲
ملاتونین	۲	۱۲۸۹۷/۳۱۷**	۱۱/۱۱۶**
ویتامین ب	۵	۷۸۴/۸۹۲**	۰/۵۷۴**
ملاتونین × ویتامین ب	۱۰	۱۳۰/۱۴۴**	۰/۰۱۹**
خطا	۳۴	۱۲/۰۷۰	۰/۰۰۵
ضریب تغییرات (درصد)	-	۴/۳۴۲	۲/۳۵۴

** و * به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

جدول پیوست ۹- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر درصد و عملکرد روغن و پروتئین دانه در آزمایش مزرعه‌ای

منابع تغییر	درجه آزادی	درصد روغن	عملکرد روغن	درصد پروتئین	عملکرد پروتئین
تکرار	۲	۲/۲۴۳	۳۲۱/۱۱۴	۴/۳۰۰	۲۰۱۵/۶۹۳
ملاتونین	۲	۱۵/۹۵۱**	۶۴۹۴/۲۰۵**	۲/۹۵۰**	۲۵۵۴۸/۳۰۲**
ویتامین ب	۵	۱/۲۱۲**	۳۲۷۲/۳۰۹**	۰/۲۷۴	۱۵۲۵۹/۱۵۷**
ملاتونین×ویتامین ب	۱۰	۰/۰۶۵	۵۴/۸۹۶**	۰/۳۰۱	۲۱۹/۶۶۵**
خطا	۳۴	۰/۰۸۴	۱۷/۲۹۵	۰/۳۰۵	۶۹/۷۲۸
ضریب تغییرات (درصد)	-	۱/۶۷۹	۷/۰۱۰	۱/۳۷۷	۶/۱۴۲

و* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

جدول پیوست ۱۰- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر طول ریشه، حجم ریشه و وزن خشک ریشه در آزمایش گلدانی

منابع تغییر	درجه آزادی	طول ریشه	حجم ریشه	وزن خشک ریشه
تکرار	۲	۲۸/۸۳۷	۱/۱۶۷	۰/۱۹۳
ملاتونین	۲	۱۹/۰۸۷**	۳۴/۸۴۷**	۰/۷۳۰**
ویتامین ب	۵	۸۵/۲۰۷**	۲/۷۹۱**	۰/۱۹۰**
ملاتونین×ویتامین ب	۱۰	۲/۱۶۰	۰/۱۳۰	۰/۰۱۹*
خطا	۳۴	۲/۳۲۳	۰/۱۰۲	۰/۰۰۷
ضریب تغییرات (درصد)	-	۶/۶۲۱	۶/۰۲۵	۷/۲۷۳

و* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

جدول پیوست ۱۱- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید در آزمایش گلدانی

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
تکرار	۲	۰/۰۲۵۳	۰/۱۰۱	۰/۱۶۹	۰/۰۸۷
ملاتونین	۲	۱/۸۸۴**	۶/۵۹۹**	۱۵/۵۱۲**	۰/۴۶۶**
ویتامین ب	۵	۰/۱۳۳**	۰/۳۴۸**	۰/۸۹۸**	۰/۴۰۵**
ملاتونین×ویتامین ب	۱۰	۰/۰۵۶	۰/۰۲۸**	۰/۱۲۱**	۰/۰۲۳*
خطا	۳۴	۰/۰۳۱	۰/۰۰۹	۰/۰۴۰	۰/۰۱۰
ضریب تغییرات (درصد)	-	۸/۲۴۲	۶/۴۵۷	۵/۵۶۷	۱۱/۲۵

و* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

جدول پیوست ۱۲- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر مقدار نسبی آب برگ، پایداری غشای پلاسمایی، میزان آنتوسیانین، میزان فلاونوئید و محتوای قندهای محلول در آزمایش گلدانی

منابع تغییر	درجه آزادی	مقدار آب نسبی برگ	پایداری غشای پلاسمایی	میزان آنتوسیانین	میزان فلاونوئید	محتوای قندهای محلول
تکرار	۲	۳۱/۱۳۰	۱۶۳/۵۸۳	۰/۴۲۰	۰/۰۴۰	۱۴۰/۴۵۳
ملاتونین	۲	۲۶۷/۷۱۱**	۱۹۹/۹۶۸**	۰/۳۵۲**	۷/۲۱۴**	۸۲۳۳/۴۰۵**
ویتامین ب	۵	۴۰۷/۹۱۵**	۸۲۷/۰۶۹**	۰/۹۷۴**	۰/۷۳۴**	۱۴۲۶/۹۴۰**
ملاتونین×ویتامین ب	۱۰	۵/۹۴۵*	۱۵/۵۵۹*	۰/۰۰۴	۰/۱۰۹**	۱۲۳/۳۵۱**
خطا	۳۴	۲/۶۷۸	۶/۷۴۳	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۳/۲۸۷
ضریب تغییرات (درصد)	-	۲/۱۴۸	۳/۷۸۰	۳/۱۹۹	۲/۵۲۰	۱/۵۰۳

و* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

جدول پیوست ۱۳- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر محتوای مالون دی آلدئید، پرولین و میزان پراکسید هیدروژن در آزمایش گلدانی

منابع تغییر	درجه آزادی	محتوای مالون دی آلدئید	پرولین	میزان پراکسید هیدروژن
تکرار	۲	۰/۰۰۹	۱۶/۹۹۱	۰/۰۲۱
ملاتونین	۲	۲/۴۹۳**	۲/۶۶۰**	۶/۰۲۷**
ویتامین ب	۵	۰/۱۳۳**	۰/۵۴۰**	۰/۳۳۷**
ملاتونین X ویتامین ب	۱۰	۰/۰۰۴**	۰/۰۰۶	۰/۰۰۷**
خطا	۳۴	۰/۰۰۱	۰/۰۱۸	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات (درصد)	-	۱/۸۵۲	۳/۴۸۸	۱/۵۹۰

و* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

جدول پیوست ۱۴- میانگین مربعات اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و ویتامین‌های گروه ب بر آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در آزمایش گلدانی

منابع تغییر	درجه آزادی	سوپر اکسید دیسموتاز	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز
تکرار	۲	۶۶/۱۸۲	۱/۱۹۶	۱/۳۳۲
ملاتونین	۲	۲۶۲/۸۷۵**	۴/۷۱۴**	۵/۴۰۶**
ویتامین ب	۵	۱۵/۹۵۰**	۰/۲۲۰**	۰/۸۴۶**
ملاتونین X ویتامین ب	۱۰	۰/۳۶۷*	۰/۰۰۷*	۰/۰۱۱
خطا	۳۴	۰/۱۶۱	۰/۰۰۳	۰/۰۱۷
ضریب تغییرات (درصد)	-	۲/۸۱۰	۳/۱۰۸	۵/۵۶۳

و* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

منابع

- احمدی، ع. و بیکر، د. ۱۳۷۹. عوامل روزنه ای و غیر روزنه ای محدود کننده فتوسنتز در گندم در شرایط تنش خشکی. مجله علوم کشاورزی ایران. ۳۱(۴): ۸۱۳-۸۲۵.
- احمدی، م. ۱۳۷۸. کیفیت و کاربرد دانه های روغنی (ترجمه). چاپ اول. دفتر خدمات تکنولوژی آموزشی (نشر آموزش کشاورزی). ۱۱۳ صفحه.
- برهانی، ح. ۱۳۸۱. آثار و عوارض کمبود ویتامین های گروه ب. مجله پیام زن، شهریور ۱۳۸۱. شماره ۱۲۶. صفحات ۷۶-۷۷.
- بی نام. ۱۳۹۷. آمارنامه کشاورزی. وزارت جهاد کشاورزی. معاونت برنامه ریزی و اقتصادی. مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات. محصولات زراعی. ۱۲۴ صفحه.
- بی نام. ۱۳۸۸. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. دانه های روغنی. اندازه گیری مقدار روغن (روش مرجع). استاندارد ملی ایران. شماره ۷۵۹۳.
- تلاوت، م. و سیادت، ع. ۱۳۹۱. معرفی و تولید گیاهان دانه روغنی. چاپ اول. انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی. ۳۴۹ صفحه.
- جوادی، ع.، اسفندیاری، ع.، پورمحمد، ع. و سیفی، ا. ۱۳۹۴. تأثیر تیمار بر کاهش خسارت ناشی از کلرید سدیم در طی جوانه زنی گندم. چهارمین کنفرانس ملی فیزیولوژی گیاهی ایران. دانشگاه تربیت مدرس.
- حشمتی، س.، اکبری، غ.، سلطانی، ا.، امینی دهقی، م. و فتحی امیرخیز، ک. ۱۳۹۷. بررسی پرایمینگ بذور زوال یافته طبیعی با ملاتونین بر خصوصیات سبز شدن و رشد گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius L.*). پانزدهمین کنگره ملی علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران. ۱۳-۱۵ شهریور. مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر. کرج. موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج.
- حلفی، ج. ۱۳۹۷. تأثیر پیش تیمار بذر با پیریدوکسین، اسیدپانتوتنیک و روی بر رشد، عملکرد و کیفیت لوبیا سبز. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی. دانشگاه صنعتی شاهرود.
- حمزه نژادی، م.، نادرنژاد، ن.، اسرار، ز. و مظفری، ح. ۱۳۹۶. بررسی تاثیر همزمان اکسین و تیمار بر میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالایز و محتوای ترکیبات فنلی در دو مرحله رشد رویشی گیاه سویا (*Glycin max*). زیست شناسی گیاهی ایران. ۹(۳۲): ۵۳-۶۸.
- حیدری خوشکاروندانی، ن. ۱۳۹۶. اثر محلول پاشی پیریدوکسین، پانتوتنیک اسید و عنصر روی بر خصوصیات کمی و کیفی لوبیا سبز. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی. دانشگاه صنعتی شاهرود.
- خواجه پور، م. ر. ۱۳۸۶. گیاهان صنعتی (چاپ سوم). انتشارات جهاد دانشگاهی دانشگاه صنعتی اصفهان. ۵۸۰ صفحه.
- ربانی چادگانی، ع. ۱۳۸۷. مبانی بیوشیمی. انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. ۳۰۱ صفحه.
- رحیمی، گ. ۱۳۹۴. تأثیر پیری بذر و پیش تیمار با پیریدوکسین بر رشد و عملکرد سویا در رقابت با علف های هرز. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی. دانشگاه صنعتی شاهرود.

رمضانی ویشکی، ف. ۱۳۹۲. تنش اکسیداتیو و واکنش گیاهان به آن. مجله رشد آموزش زیست شناسی، ۲۶(۴): ۲۲-۲۵.

سیادت، ع. و مرادی تلاوت، م. ر. ۱۳۹۱. زراعت گیاهان علوفه‌ای. تهران: مرکز نشر دانشگاهی. ۳۲۴ صفحه.

علی‌زاده، ا. ۱۳۹۲. رابطه آب و خاک و گیاه. جلد اول. چاپ چهاردهم. انتشارات دانشگاه امام رضا، مشهد. ۴۷۲ صفحه.

فرخی، غ. ر. و ارادتمند اصلی، د. ۱۳۸۷. تاثیر پیریدوکسین و سطوح مختلف نیتروژن بر عملکرد و اجزای عملکرد ذرت دانه‌ای رقم سینگل کراس ۷۰۴. مجله زراعت و اصلاح نباتات ایران. ۴(۱): ۵-۱۶.

قنبر زاده، ب. ۱۳۸۲. شیمی مواد غذایی. ناشر، آبیژ. ۳۴۴ صفحه.

لطیفی، ن. ۱۳۷۲. زراعت سویا (ترجمه). چاپ اول. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۲۸۲ صفحه.

مالک، ف. ۱۳۸۹. دانه‌های روغنی و روغن‌های نباتی (ویژگی‌ها و فرآوری). چاپ اول. انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی. ۶۰۱ صفحه.

منصوری، م.، شور، م.، تهرانی‌فر، ع. و سلاح ورزی، ی. ۱۳۹۳. بررسی تغییرات بیوشیمیایی ایجاد شده در اثر محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید و تیامین بر گل ژبررا رقم پینک الگانس. نشریه علوم باغبانی. ۲۹(۱): ۱۲۷-۱۳۳.

میرعرب شاهی، ا. ۱۳۸۷. ویتامین‌ها چه فوایدی دارند. مجله دانشکده پیراپزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران. ۳(۲): ۱-۵.

Abd-El-Aziz, N.G., El-Quesni, F.E.M. and Farahat, M.M. 2007. Response of vegetative growth and some chemical constituents of *Syngonium podophyllum* L. to foliar application of thiamine, ascorbic acid and kinetin at Nubaria. *World Journal of Agricultural Sciences*, 3(3): 301–305.

Abdelhamid, M.T., Sadak, M.S.H., Schmidhalter, U.R.S. and El-Saad M. 2013. Interactive effects of salinity stress and nicotinamide on physiological and biochemical parameters on faba bean plant. *Acta Biologica Colombiana*, 18(3): 499-510.

Abdel-Monaim, M.F. 2011. Role of riboflavin and thiamine in induced resistance against charcoal rot disease of soybean. *African Journal of Biotechnology*, 10(53): 10842-10855.

Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzymology*. 105: 121-126.

Agarwal, S. and Pandey, V. 2004. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifoli*. *Biologia Plantarum*, 48(4): 555–560.

Agati, G. and Tattini, M. 2010. Multiple functional roles of flavonoids in photoprotection. *New Phytologist*, 186(4): 786–793.

Ahn, I.P., Kim, S. and Lee, Y.H. 2005. Vitamin B1 functions as an activator of plant disease resistance. *Plant Physiology*, 138(3): 1505–1515.

Akbari, G., Modarres-sanavy, S.A.M. and Yousefzadeh, S. 2007. Effect of auxin and salt stress (NaCl) on seed germination of wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). Pakistan Journal of Biological Sciences. 10(15): 2557-2561.

Aminifar, M.H., Jorkesh, A., Fallahi, H.R. and Alipoor, K. 2018. Foliar application of thiamin stimulates the growth, yield and biochemical compounds production of coriander and fenugreek. Journal of Horticultural Research, 26(1): 77–85.

Ansari, S.A., Samiullah, M.M. and Afridi, R.K. 1990. Enhancement of leaf nitrogen, phosphorus and potassium and seed protein in *Vigna radiata* by pyridoxine application. Plant and Soil. 125: 296-298.

Antonopoulou, C., Dimassi, K., Therios, I., Chatzissavvidis, C. and Tsirakoglou, V. 2005. Inhibitory effects of riboflavin (Vitamin B₂) on the in vitro rooting and nutrient concentration of explants of peach rootstock GF 677 (*Prunus amygdalus* × *P. persica*). Scientia Horticulturae. 106: 268-272.

AOAC. 1999. Association official methods of analysis. Method 988/05. CH. 4, P: 13.

Apel, K. and Hirt, H. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annual Review of Plant Biology, 55: 373–399.

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

Arnao, M.B. and Hernandez-Ruiz, J. 2009. Protective effect of melatonin against chlorophyll degradation during the senescence of barley leaves. Journal of Pineal Research, 46:58–63.

Arnao, M.B. and Hernandez-Ruiz, J. 2012. Functions of melatonin in plants. Journal of Pineal Research, 59(2): 133–150.

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

Arnao, M.B. and Hernandez-Ruiz, J. 2015. Functions of melatonin in plants: areview. 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.

Arora, A., Sairam, R.K. and Srivastava, G.C. 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. Current Science, 82:1227-1238.

Ayub, M.A., Tanveer, K., Mahmud, A., Liand, M. and Azam, M. 1999. Effects of nitrogen and phosphorus on fodder yield and quality of two sorghum cultivars. Pakistan Journal of Biological Sciences, 2: 247- 252.

Azahar, S. 2016. Response of vitamin B1 (Thiamine hydrochloride) in improving growth and yield of mustard (*Brassica juncea* L.). Journal of Functional and Environmental Botany, 6(2): 107-113.

Bajwa, V.S., Shukla, M.R., Sherif, S.M., Murch, S.J. and Saxena, P.K. 2014. Role of melatonin in alleviating cold stress in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Pineal Research*, 56:238–245.

Bandurska, H. 2001 Does proline accumulated in leaves of water deficit stressed barley plant confine cell membrane injuries? II. Proline accumulation during hardening and its involvement in reducing membrane injuries in leaves subjected to severe osmotic stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 23:483–490.

Bandyopadhyay, U., Das, D. and Banerjee, R.K. 1999. Reactive oxygen species: Oxidative damage and pathogenesis. *Current Science*, 77: 658-666.

Bates, L.S., Waldern, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil Environ*, 39: 205–207.

Beauchamp, C. and Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44: 276–286.

Belal, B.E.A., El-Kenawy, M.A. and Uwakiem, M.K. 2016. Foliar application of some amino acids and vitamins to improve growth, physical and chemical properties of flame seedless grapevines. *Egyptian Journal of Horticulture*, 43(1): 123-136.

Berglund, T. 1994. Nicotinamide, a missing link in the early stress response in eukaryotic cells: A hypothesis with special reference to oxidative stress in plants. *Febs Letters*, 351(2): 375-383.

Bleiss, W. and Ehwald, R. 1993. Transient changes in length and growth of wheat coleoptile segments following treatments with osmotica and auxin. *Physiologia Plantarum*, 88: 541–548.

Bonnefont-Rousselot, D. and Collin, F. 2010. Melatonin: action as antioxidant and potential applications in human. *Toxicology*, 278(1): 55–67.

Boubakri, H., Poutaraud, A., Wahab, M.A., Clayeux, C., Baltenweck-Guyot, R., Steyer, D. Marcic, C. Mliki, A. and Soustre-Gacougnolle, I. 2013. Thiamine modulates metabolism of the phenylpropanoid pathway leading to enhanced resistance to *Plasmopara viticola* in grapevine. *Bmc Plant Biology*, 26:13-31.

Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities in utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.

Briantais, J., Dacosta, J., Goulas, Y., Ducruet, J. and Moya I. 1996. Heat stress induces in leaves an increase of the minimum level of chlorophyll fluorescence, Fo: A time-resolved analysis. *Photosynthesis Research*, 48 (1-2): 189-196.

Buchanan-Wollaston, V., Page, T., Harrison, E., Breeze, E., Lim, P.O., Nam, H.G., Lin, J.F., Wu, S.H., Swidzinski, J., Ishizaki, K. and Leaver, C.J. 2005. Comparative transcriptome analysis reveals significant differences in gene expression and signaling pathways between developmental and dark/starvation-induced senescence in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 42(4): 567–585.

Burguieres, E., McCue, P., Kwon, Y.I. and Shetty, K. 2007. Effect of vitamin C and folic acid on seed vigour response and phenolic-linked antioxidant activity. *Bioresource Technology*, 98(7): 1393–1404.

Byeon, Y. and Back, K. 2014. An increase in melatonin in transgenic rice causes pleiotropic phenotypes, including enhanced seedling growth, delayed flowering, and low grain yield. *Journal of Pineal Research*, 56:408–414.

Byeon, Y., Lee, H. Y., Lee, K., Park, S. and Back, K. 2014. Cellular localization and kinetics of the rice melatonin biosynthetic enzymes SNAT and ASMT. *Journal of Pineal Research*, 56, 107–114.

Castanares, J.L. and Bouzo, C.A. 2019. Effect of exogenous melatonin on seed germination and seedling growth in melon (*Cucumis melo* L.) under salt stress. *Horticultural Plant Journal*, 5(2): 79-87.

Catusse, J., Meinhard, J., Job, C., Strub, J.M., Fischer, U., Pestsova, E., Westhoff, P., Van Dorselaer, A. and Job, D. 2011. Proteomics reveals potential biomarkers of seed vigor in sugarbeet. *Proteomics*, 11:1569–1580.

Chen, H. and Xiong, L. 2005. Pyridoxine is required for post-embryonic root development and tolerance to osmotic and oxidative stresses. *The Plant Journal*, 44(3): 396–408.

Chen, Y.E., Cui, J.M., Li, G.X., Yuan, M., Zhang, Z.W., Yuan, S. and Zhang, H.Y. 2016. Effect of salicylic acid on the antioxidant system and photosystem II in wheat seedlings. *Biologia Plantarum*, 60: 139–147.

Chirkova, T., Novitskaya, V. and Blokhina, O.B. 1998. Lipid peroxidation and antioxidant systems under anaerobic in plants differing in their tolerance to oxygen deficiency. *Russian Journal of Plant Physiology*, 45: 55-62.

Cross, R.H., McKay, S.A.B., McHughen, A.G. and Bonham-Smith, P.C. 2003. Heat-stress effects on reproduction and seed set in *Linum usitatissimum* L. (flax). *Plant, Cell and Environment*, 26: 1013-1020.

Delaney, T.P. 1997. Genetic dissection of acquired resistance to disease. *Plant Physiology*, 113: 5-12.

Ding, F., Wang, M., Liu, B. and Zhang, S. 2017. Exogenous melatonin mitigates photoinhibition by accelerating non-photochemical quenching in tomato seedlings exposed to moderate light during chilling. *Frontiers in Plant Science*, 8(244): 1–11.

Dolatabadian, A. and Sanavy S.A.M. 2008. Effect of the ascorbic acid, pyridoxine and hydrogen peroxide treatments on germination, catalase activity, protein and malondialdehyde content of three oil seeds. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 36(2): 61-66.

Dubbels, R., Reiter, R.J., Klenke, E., Goebel, A., Schnakenberg, E., Ehlers, C., Schiwara, H.W. and Schloot, W. 1995. Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Pineal Research*, 18(1): 28–31.

Easwar-Rao, D. and Chaitanya, K.V. 2016. Photosynthesis and antioxidative defense mechanisms in deciphering drought stress tolerance of crop plants. *Biologia Plantarum*, 60(2): 201–218.

El-awadi, M.E., Abd Elbaky, Y.R., Dawood, M.G., Shalaby, M.A. and Bakry, B.A. 2016. Enhancement quality and quantity of lupine plant via foliar application of some vitamins under sandy soil conditions. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7(4): 1012-1024.

El-Awadi, M.E., Dawood, M.G., AbdElbaky, Y.R. and Hassan, E.A. 2017. 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, Special issue*, 3:35–44.

El-Fawakhry, F.M. and El-Tayeb, H.F. 2003. Effect of some amino acids and vitamins on Chrysanthemum production. *Alexandria Journal of Agricultural Research*, 8(4): 755-766.

EradatmandAsli, D. and Houshmandfar, A. 2001. Seed germination and early seedling growth of corn (*Zea Mays* L.) as affected by different seed pyridoxine-priming duration. *Advances in Environmental Biology*, 5(5): 1014-1018.

EradatmandAsli, D., Farrokhi, G.H.R. and YosefiRad, M. 2009. Effect of pyridoxine on yield and yield components of corn (*Zea mays* L. Var. SC. 704). *Journal of Plant Science and Research*, 14: 35-38.

Falcone Ferreyra, M.L., Rius, S.P. and Casati, P. 2012. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Frontiers in Plant Science*, 3(222): 1-15.

Fan, J., Hu, Z., Xie, Y., Chan, Z., Chen, K., Amombo, E., Chen, L. and Fu, J. 2015. Alleviation of cold damage to photosystem II and metabolisms by melatonin in Bermudagrass. *Frontiers in Plant Science*, 6(925): 1-14.

Fardet, A., Rock, E. and Christian, R. 2008. Is the in vitro antioxidant potential of whole grain cereals and cereal products well reflected in vivo?, *Journal of Cereal Science*, 48: 258–276.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra S.M.A. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*. 29(1): 185-212.

Fattahi-Neisiani, F., Modarres-Sanavy, S.A.M., Ghanati, F. and Dolatabadian, A. 2009. Effect of foliar application of pyridoxine on antioxidant enzyme activity, proline accumulation and lipid peroxidation of maize (*Zea mays* L.) under water deficit. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 37(1): 116-121.

Fisher, R., Rees, D. Sayre, K. Lu, Z., Candon, A. and Saavedra, A. 1998. Wheat yield progress associated with higher stomata conductance and photosynthetic rate, and cooler canopies. *Crop Science*. 38:1467-1475.

- Frederick, J.R., Camp, C.R. and Bauer, P.J. 2001.** Drought stress effects on branch and main stem seed yield and yield component of determinate soybean. *Crop Science*, 41:759-763.
- Friedrich, W. 1987.** Thiamin (Vitamin B1, aneurin). In: *Handbuch der Vitamine*. Munich: Urban and Schwartzenberg, 240–258.
- Galano, A., Tan, D.X. and Reiter, R.J. 2011** Melatonin as a natural ally against oxidative stress: a physicochemical examination. *Journal of Pineal Research* 51:1–16.
- Gao, H., Zhang, Z.K., Chai, H.K., Cheng, N., Yang, Y., Wang, D.N., Yang, T. and Cao, W. 2016.** Melatonin treatment delays postharvest senescence and regulates reactive oxygen species metabolism in peach fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 118: 103–110.
- Georgieva, K. 1999.** Some mechanisms of damage and acclimation of the photosynthetic apparatus due to high temperature. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 25 (3-4): 89-99.
- Gomez, F.J.V, Martin, A., Silva, M.F. and Escarpa, A. 2015.** Screen-printed electrodes modified with carbon nanotubes or graphene for simultaneous determination of melatonin and serotonin. *Microchimica Acta*, 182: 1925-1931.
- Gong, X.Q., Shi, S.T., Dou, F.F., Song, Y. and Ma, F.W. 2017.** Exogenous melatonin alleviates alkaline stress in *Malus hupehensis* Rehd. By regulating the biosynthesis of polyamines. *Molecules*, 22(9): 1-20.
- Gopala-Rao, P. and Sastry, K.S. 1972.** B-group vitamins during seedling growth of late and early varieties of groundnut *Arachis hypogea* L. *The Indian Botanical Society*, 51:155– 161.
- Goyer, A. 2010.** Thiamine in plants: Aspects of its metabolism and functions. *Phytochemistry*, 71(14-15): 1615-1624.
- Gur, A., Demirel, U., Ozden, M., Kahraman, K. and Copur, O. 2010.** Diurnal gradual heat stress affects antioxidant enzymes, proline accumulation and some physiological components in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *African Journal of Biotechnology*, 9 (7): 1008-1015.
- Halliwell, B. 2006.** Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *Journal of Neurochemistry*, 97: 1634–1658.
- Hamada, A.M. and Khulaef, E.M. 2000.** Stimulative effects of ascorbic acid, thiamin or pyridoxine on *Vicia faba* growth and some related metabolic activities. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 3: 1330-1332.
- Han, Q.H., Huang, B., Ding, C.B., Zhang, Z.W., Chen, Y.E., Hu C, Zhou, L.J., Huang, Y., Liao, J.Q., Yuan, S. and Yuan, M. 2017.** Effects of melatonin on anti-oxidative systems and photosystem II in cold-stressed rice seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 8(785): 1-14.
- Hassanein, R.A., Bassony, F.M., Barakat, D.M. and Khalil, R.R. 2009.** Physiological effects of nicotinamide and ascorbic acid on *Zea mays* plant grown under

salinity stress. 1- Changes in growth, some relevant metabolic activities and oxidative defense systems. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 5(1):72-80.

Hattori, A., Migitaka, H., Iigo, M., Itoh, M., Yamamoto, K., Ohtani-Kaneko, R., Hara, M., Suzuki, T. and Reiter, R.J. 1995. Identification of melatonin in plants and its effects on plasma melatonin levels and binding to melatonin receptors in vertebrates. *Biochemistry and Molecular Biology International*, 35(3): 627–634.

Havaux, M.B., Ksas, A., Szewczyk, D., rumeau, F., Francks, F., Caffarri, S. and Triantaphylides, C. 2009. Vitamin B6 deficient plants display increased sensitivity to high light and photo-oxidative stress. *Plant Biology*, 35:168-177.

Heath, R.L. and Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplast: I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archive of Biochemistry and Biophysics*, 125(1): 189-198.

Hernandez, I.G., Gomez, F.J.V., Cerutti, S., Arana, M.V. and Silva, M.F. 2015. Melatonin in *Arabidopsis thaliana* acts as plant growth regulator at low concentrations and preserves seed viability at high concentrations. *Plant Physiology and Biochemistry*, 94: 191–196.

Hernandez-Ruiz, J., Cano, A. and Arnao, M.B. 2005. Melatonin acts as a growth-stimulating compound in some monocot species. *Journal of Pineal Research*, 39: 137–142.

Hiscox, J.D. and Israelstom, G.F. 1978. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Canadian Journal of Botany*, 57(12): 1332-1334.

Hortensteiner, S. 2006. Chlorophyll degradation during senescence. *Annual Review of Plant Biology*, 57: 55–77.

Hu, Z.R., Fan, J.B., Xie, Y., Amombo, E., Liu, A., Gitau, M.M., Khaldun, A.B.M., Chen, L. and Fu, J. 2016. Comparative photosynthetic and metabolic analyses reveal mechanism of improved cold stress tolerance in bermudagrass by exogenous melatonin. *Plant Physiology and Biochemistry*, 100: 94–104.

Huang, C., Zhao, S., Wang, L., Anjum, S.A., Chen, M., Zhou, H. and Zou, C. 2013. Alteration in chlorophyll fluorescence, lipidperoxidation and antioxidant enzymes activities in hybrid ramie (*Boehmeria nivea*L.) under drought stress. *Australian Journal of Crop Science*, 7:594–599.

Huang, X., Chen, M.R., Yang, L.T., Li, Y.R. and Wu, J.M. 2015. Effects of exogenous abscisic acid on cell membrane and endogenous hormone contents in leaves of sugarcane seedlings under cold stress. *Sugar Tech*, 17(1):59-64.

Hulya, T., Serkan, E., Mucip, G., Okkes, A., Yavuz, D. and Derya, Y. 2014. The regulatory effect of melatonin on physiological, biochemical and molecular parameters in cold-stressed wheat seedlings. *Plant Growth Regulation*. 74: 139–152.

Hussain, M., Malik, M.A., Farooq, M., Ashraf, M.Y. and Cheema, M.A. 2008. Improving drought tolerance by exogenous application of glycinebetaine and salicylic acid in sunflower. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194: 193-199.

Irigoyen, J.J., Emerich, D.W. and Sanchez-Diaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentration of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia plantarum*, 84: 55-60.

Jana, S. and Choudhuri, M.A. 1981. Glycolate metabolism of three submerged aquatic angiosperms during aging. *Aquatic Botany*, 12: 345-354.

Janas, K.M. and Posmyk, M.M. 2013. Melatonin, an underestimated natural substance with great potential for agricultural application. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(12): 3285–3292.

Janas, K.M., Ciupinska, E. and Posmyk, M.M. 2009. Melatonin applied by hydropriming, as phytobiostimulator improving corn (*Zea mays* L.) seedlings growth at abiotic stresses conditions. in *Progress in Environmental Science and Technology*, Vol. II A, S. Li, Y. Wang, F. Cao, P. Huang, and Y. Zhang (eds.), Princeton, NJ: Science Press USA Inc, 383–388.

Jemima, J., Bhattacharjee, P. and Singhal, R.S. 2011. Melatonin a review on the lesser known potential nutraceutical. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(8): 1975–1987.

Jiang, C., Cui, Q., Feng, K., Xu, D., Li, C. and Zheng, Q. 2016. Melatonin improves antioxidant capacity and ion homeostasis and enhances salt tolerance in maize seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(82):1-10.

Jiang, X., Li, H. and Song, X. 2016. Seed priming with melatonin effects on seed germination and seedling growth in maize under salinity stress. *Pakistan Journal of Botany*, 48: 1345–1353.

Jiao, J., Ma, Y., Chen, S., Liu, C., Song, Y., Qin, Y., Yuan, C. and Liu, Y. 2016. Melatonin-Producing endophytic bacteria from grapevine roots promote the abiotic stress-induced production of endogenous melatonin in their hosts. *Frontiers in Plant Science*, 7(3): 1387-1400.

Jung, J.K.H. and McCouch, S. 2013. Getting to the roots of it: genetic and hormonal control of root architecture. *Frontiers in Plant Science*, 4(186): 1-33.

Kawasaki, T. 1991. *Modern chromatographic Analysis of Vitamins*. New York, Marcel Dekker, 60: 319-354.

Kaya, C., Ashraf, M., Sonmez, O., Tuna, A.L., Polat, T., & Aydemir, S. 2015. Exogenous application of thiamin promotes growth and antioxidative defense system at initial phases of development in salt-stressed plants of two maize cultivars differing in salinity tolerance. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37: 1-12.

Khan, M., Samiullah, N. and Khan, N.A. 2001. Response of mustard and wheat to presowing seed treatment with pyridoxine and basal level of calcium. *Indian Journal of Plant Physiology*, 6(3): 300-305.

Khan, N.A., Khan, F.A., Aziz, O. and Samiullah, N. 1995. Pyridoxine enhances root growth and leaf NPK content of lentil grown with phosphorus levels. In: I.A. Khan (Ed.), *Frontiers in plant Science*, PP. 807- 808.

- Khan, N.A., Khan, T., Hayat, S. and Khan, M. 1996.** Pyridoxine improves growth, nitrate reductase and carbonic anhydrase activity in wheat. *Science as Culture*, 62:160-161.
- Khanna-Chopra, R. 2012.** Leaf senescence and abiotic stresses share reactive oxygen species-mediated chloroplast degradation. *Protoplasma*, 249(3): 469–481.
- King, C.A. and Purcell, L.C. 2001.** Soybean nodule size and relationship to nitrogen fixation response to water deficit. *Crop Science*, 41: 1099-1107.
- Kipp, E. 2008.** Heat stress effects on growth and development in three ecotypes of varying latitude of *Arabidopsis*. *Journal of Applied Ecology and Environmental Research*, 6 (4): 1-14.
- Kipp, E. and Boyle, M. 2013.** The Effects of Heat Stress on Reactive Oxygen Species Production and Chlorophyll Concentration in *Arabidopsis Thaliana*. *Research in Plant Sciences*, 1(2): 20-23.
- Kolar, J. and Machackova, I. 2005.** Melatonin in higher plants: occurrence and possible functions. *Journal of Pineal Research*, 39(4): 333–341.
- Kołodziejczyk, I., Dzitko, K., Szewczyk, R. and Posmyk, M.M. 2016.** Exogenous melatonin expediently modifies proteome of maize (*Zea mays* L.) embryo during seed germination. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(146): 1-18.
- Kovtun, Y., Chiu, W., Tena, G. and Sheen, J. 2001.** Functional analysis of oxidative stress-activated mitogen-activated protein kinase cascade in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97 (6): 2940-2945.
- Kramer, P.S. 1983.** Water relations of plants. Academic Press, PP. 342-415.
- Krasensky, J. and Jonak, C. 2012.** Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *Journal of Experimental Botany*, 63: 1593–1608.
- Krizek, D.T., Britz, S.J. and Mirecki, R.M. 1998.** Inhibitory effect of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New RED FIRE lettuce. *Physiologia Plantarum*, 103(1): 1-7.
- Krystyna, M.J., Posmyk, M.M. and Janas, K.M. 2009.** Melatonin in plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31: 1–11.
- Lee, H.Y., Byeon, Y. and Back, K. 2014.** Melatonin as a signal molecule triggering defense responses against pathogen attack in *Arabidopsis* and tobacco. *Journal of Pineal Research*, 57: 262–268.
- Lee, H.Y., Byeon, Y., Tan, D.X., Reiter, R.J. and Back, K. 2015.** *Arabidopsis* serotonin N acetyltransferase knockout mutant plants exhibit decreased melatonin and salicylic acid levels resulting in susceptibility to an avirulent pathogen. *Journal of Pineal Research*, 58: 291–299.

Lee, K. and Back, K. 2017. Overexpression of rice serotonin N-acetyltransferase 1 in transgenic rice plants confers resistance to cadmium and senescence and increases grain yield. *Journal of Pineal Research*, 62(3): 96-145.

Lehninger, A.L. 1984. Principles of Biochemistry. New York, Worth Publishers Inc, 1011p.

Lerner, A.B., Case, J.D., Takahashi, Y., Lee, T.H. and Mori, W. 1958. Isolation of melatonin, a pineal factor that lightens melanocytes. *Journal of the American Chemical Society*, 80(10): 2587-2587.

Li, C., Tan, D.X., Liang, D., Chang, C., Jia, D. and Ma, F. 2015. Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behaviour in two *Malus* species under drought stress. *Journal of Experimental Botany*, 66: 669–680.

Li, C., Wang, P., Wei, Z., Liang, D., Liu, C., Yin, L., Jia, D., Fu, M. and Ma, F. 2012. The mitigation effects of exogenous melatonin on salinity-induced stress in *Malus hupehensis*. *Journal of Pineal Research*, 53: 298–306.

Li, H., Chang, J., Chen, H., Wang, Z., Gu, X., Wei, C., Zhang, Y., Ma, J., Yang, J.Q. and Zhang, X. 2017a. Exogenous Melatonin Confers Salt Stress Tolerance to Watermelon by Improving Photosynthesis and Redox Homeostasis. *Frontiers in Plant Science*, 8(295): 1-9.

Li, J., Li, Y., Tian, Y., Qu, M., Zhang, W. and Gao, L. 2017b. Melatonin has the potential to alleviate cinnamic acid stress in cucumber seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 8(1193): 1-12.

Li, X., Dun-Xian, T., Dong, J. and Fulai, L. 2016. Melatonin enhances cold tolerance in drought- primed wild- type and abscisic acid- deficient mutant barley. *Journal of Pineal Research*, 61(3): 328–339.

Liang, C., Zheng, G., Li, W., Wang, Y., Hu, B., Wang, H., Wu, H., Qian, Y., Zhu, X.G., Tan, D.X., Chen, S.Y. and Chu, C1. 2015. Melatonin delays leaf senescence and enhances salt stress tolerance in rice. *Journal of Pineal Research*, 59(1): 91–101.

Liang, D., Shen, Y., Ni, Z., Wang, Q., Lei, Z., Xu, N., Deng, Q., Lin, L., Wang, J., Lv, X. and Xia, H. 2018. Exogenous melatonin application delays senescence of kiwifruit leaves by regulating the antioxidant capacity and biosynthesis of flavonoids. *Frontiers in plant Science*, 9(426): 1-14.

Liang, D., Zhiyou, N., Hui, X., Yue, X., Xiulan, L., Jin, W., Lijin, L., Qunxian, D. and Xian, L. 2019. Exogenous melatonin promotes biomass accumulation and photosynthesis of kiwifruit seedlings under drought stress. *Scientia Horticulturae*, 246: 34–43.

Lim, P.O., Kim, H.J. and Nam, H.G. 2007. Leaf senescence. *Annual Review of Plant Biology*, 58:115–136.

Lin, Y.H., Pan, K.Y., Hung, C.H., Huang, H.E., Chen, C.L., Feng, T.Y. and Huang, L.F. 2013. Overexpression of ferredoxin, PETF, enhances tolerance to heat stress in *Chlamydomonas reinhardtii*. *International Journal of Molecular Sciences*. 14(10): 20913–20929.

- Liu, J., Wang, W., Wang, L. and Sun, Y. 2015.** Exogenous melatonin improves seedling health index and drought tolerance in tomato. *Plant Growth Regulation*, 77(3): 317-326.
- Liu, X. and Huang, B. 2001.** Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in creeping bentgrass. *Crop Science*, 40 (2):503-510.
- Lone, N.A., Khan, N.A., Hayat, S., Azam, Z.M. and samiullah, N. 1999.** Evaluation of effect of some B- vitamins on root development of mustard. *Annals of Applied Biology*, 134: 30-37.
- Mahgoub, H.M., Abdel-Aziz, G.N. and Mazhar, M.A. 2011.** Response of *Dahlia pinnata* L. plant to foliar spray with putrescine and thiamine on growth, flowering and photosynthetic pigments. *American-Eurasian Journal of Agri and Environmental Sciences*, 10(5): 769-775.
- Maria-Janas, K. and Maria-Posmyk, M., 2013.** Melatonin, an underestimated natural substance with great potential for agricultural application. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35:3285–3292.
- Marta, B., M., Szafranska, K. and Posmyk, M.M. 2016.** Exogenous melatonin improves antioxidant defence in cucumber seeds (*Cucumis sativus* L.) germinated under chilling stress. *Frontiers in Plant Science*, 7(575): 1-12.
- Mascher, R., Nagy, E., Lippmann, B., Hornlein, S., Fischer, S., Scheiding, W., Neagoe, A. and Bergmann, H. 2005.** Improvement of tolerance to paraquat and drought in barley (*Hordeum vulgare* L.) by exogenous 2-aminoethanol: effects on superoxide dismutase activity and chloroplast ultrastructure. *Plant Science*, 168: 691-698.
- Masoumi-Zavariyan, A., Yousefi-Rad, M. and Asghari, M. 2015.** Effect of seed priming by pyridoxine on germination and biochemical indices in *Silybum marianum* L. under drought stress, 9(1): 17-22.
- Meng, J.F., Xu, T.F., Wang, Z.Z., Fang, Y.L., Xi, Z.M. and Zhang, Z.W. 2014.** The ameliorative effects of exogenous melatonin on grape cuttings under water-deficient stress: antioxidant metabolites, leaf anatomy, and chloroplast morphology. *Journal of Pineal Resrarch*, 57(2): 200–212.
- Mengel, K. and Kirkby, E.A. 1982.** Principles of Plant Nutrition. (3rd ed). International Potash Institute, Worblaufen-Bern, Switzerland, 655p.
- Mer, C.L.A. 1957.** Re-examination of the supposed effect of riboflavin on growth. *Plant physiology*, 32: 175 - 185.
- Millar, A.A. and Kunst, L. 1997.** Very-long-chain fatty acid biosynthesis is controlled through the expression and specificity of the condensing enzyme. *Plant Journal*, 12(1): 121–131.
- Mita, R. 1997.** Oxidative stress. Antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9): 405-410.

Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7: 405–410.

Mittova, V., Volokita, M., Guy, M. and Tal, M. 2000. Activities of SOD and the ascorbate-glutathione cycle enzymes in subcellular compartments in leaves and roots of the cultivated tomato and its wild salt tolerant relative (*lycopersi conpennellii*). *Physiology plant*, 110:41-45.

Movahhedy-Dehnavy, M., Modarres-Sanavy, S.A. and Mokhtassi-Bidgoli, A. 2009. Foliar application of zinc and manganese improves seed yield and quality of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) grown under water deficit stress. *Industrial Crops and Products*, 30:82–92.

Murch, S.J., Campbell, S.S.B. and Saxena, P.K. 2001. The role of serotonin and melatonin in plant morphogenesis: regulation of auxin-induced root organogenesis in vitro-cultured explants of st. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 37: 786–793.

Nahed, G.A., Lobna, T. and Soad, M.I. 2009. Some studies on effect of putresine, ascorbic acid and thiamine on growth, flowering and some chemical constituents of gladiolus plants at Nurbaria. *Ozean Journal of Applied Science*, 2(2): 169-179.

Nakano, Y. and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*. 22: 867-880.

Nawaz, M.A., Huang, Y., Bie., Z., Ahmed., W., Reiter, R.J., Niu, M. and Hameed, S. 2016. Melatonin: Current status and future perspectives in plant science. *Frontiers in Plant Science*, 6(1230): 1-13.

Nayyar, H., Bains, T.S. and Kumar, S. 2005. Chilling stressed chickpea:effect of cold acclimation, calcium and abscisic acid on cryoprotective solutes and oxidative damage. *Environmental and Experimental Botany*, 54: 275–285.

Neumann, G., Azaizeh, H. A. and Marschner, H. 1996. Thiamine (vitamin B1) seed treatment enhances germination and seedling growth of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) exposed to soaking injury. *Journal of Plant Nutrition and soil Science*, 159(5):491-498.

Orabi, S.A., Sharara, F.A. and Talaat, I. 2016. Effect of putrescine and pyridoxine (Vitamin b6) on the antioxidant defense systems and free radical scavenging activity in canola plants. *International Journal of PharmTech Research*, 9(8): 1-8.

Ottenhoff, H.H., Ashurst, J.L., Whitney, H.M., Saldanha, S.A., Schmitzberger, F., Gweon, H.S., Blundell, T.L., Abell, C. and Smith, A.G. 2004. Organisation of the pantothenate (vitamin B5) biosynthesis pathway in higher plants. *The Plant Journal*, 37: 61-72.

Packer, L., Podda, M., Kitazawa, M., Thiele, J., Saliou, C., Witt, E. and Traber, M.G. 1996. Vitamin E and the metabolic antioxidant network. In: *Molecular mechanism of signaling and membrane transport*, K.W.A. Wirtz.(ed.), pp. 283-304, Springer- Verlag, Berlin.

Paknejad, F., Mirakhori, M., Jami Al-Ahmadi, M., Tookalo, M., Pazoki, A. and Nazeri, P. 2009. Physiological response of soybean (*Glycine max*) to foliar application

of methanol under different soil moistures. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 4(4): 311-318.

Paleg, L.G., Stewart, G.R. and Bradbeer, J.W. 1984. Proline and glycinebetaine influence on protein salvation. *Plant Physiology*, 75:974–978.

Pandy, N., Singh, A.K., Pathak, G.C. and Sharma, C.P. 2002. Effect of zinc on antioxidant response in maize (*Zea mays* L.) leaves. *Indian Journal of Experimental Biology*, 40(8): 954-956.

Paredes, S.D., Korkmaz, A., Manchester, L.C., Tan, D.X. and Reiter, R.J. 2009. Phyto melatonin: a review. *Journal of Experimental Botany*, 60(1): 57–69.

Park, S. and Back, K. 2012. Melatonin promotes seminal root elongation and root growth in transgenic rice after germination. *Journal of Pineal Research*, 53: 385–389.

Pessarakli, M. 2016. Handbook of plant and crop stress. CRC press, 157p.

Pompeiano, A., Damiani, C.R., Stefanini, S.S., Vernieri, P., Reyes, T.H., Volterrani, M. and Guglielminetti, L. 2016. Seedling establishment of tall fescue exposed to long-term starvation stress. *Plos One*, 11(11): 1-17.

Porch, T.G. and Jahn, M. 2001. Effects of high-temperature stress on microsporogenesis in heat-sensitive and heat-tolerant genotypes of *Phaseolus vulgaris*. *Plant, Cell and Environment*, 24: 723-731.

Posmyk, M.M., Kuran, H., Marciniak, K. and Janas, K.M. 2008. Presowing seed treatment with melatonin protects red cabbage seedlings against toxic copper ion concentrations. *Journal of Pineal Research*, 45: 24–31.

Qiujie, D., Bin, Y.S., Xiao, Z. and Wang, Z. 1996. Flooding–induce membrane damage lipid oxidation and activated oxygen generation in corn leaves. *Plant and soil*, 179: 261-268.

Reda, F., Abdel-Rahim, E.A., El-Baroty, G.S.A. and Ayad, H.S. 2005. Response of essential oil, phenolic components and polyphenol oxidative activity of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) to some bioregulators and vitamins. *International Journal of Agriculture and Biology*, 7(5): 735-739.

Reiter, R.J. 1991. Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocrine Reviews*, 12: 151–180.

Reiter, R.J., Tan, D.X., Zhou, Z., Cruz, M.H.C., Fuentes-Broto, L. and Galano, A. 2015. Phyto melatonin: assisting plants to survive and thrive. *Molecules*, 20: 7396–7437.

Rivero, R.M., Kojima, M., Gepstein, A., Sakakibara, H., Mittler, R., Gepstein, S. and Blumwald, E. 2007. Delayed leaf senescence induces extreme drought tolerance in a flowering plant. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(49): 19631–19636.

Rodriguez, C., Mayo, J.C., Sainz, R.M., Antolin, I., Herrera, F., Martin, V. and Reiter, R.J. 2004. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *Journal of Pineal Research*, 36:1–9.

Ryals, J.A., Neuenschwander, U.H., Willits, M.G., Molina, A., Steiner, H.Y. and Hunt, M.D. 1996. Systemic acquired resistance. *Plant Cell*, 8: 1809-1819.

Sadeghi, E., Moradi, P. and Asli, D.E. 2013. Effect of seed priming by pyridoxine on biochemical activity and germination indices of melon under drought stress. *International Journal of Farming and Allied Sciences*, 2(17): 582-586.

Sairam, R.K. and Srivastava, G.C. 2001. Water stress tolerance of wheat *Triticum aestivum* L.: Variation in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotypes. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 186(1): 63–70.

Samiullah, N., Khan, F.A., Khan, N.A. and Ansari, S.A. 1992. Improvement of productivity and quality of *Lens culinaris* by pyridoxine and phosphorus application. *Acta agronomica academiae scientiarum hungaricae*, 41: 93-100.

Samiullah, N., Khan, N.A., Ansari, S.A. and Afridi, M.M.R.K. 1991. Pyridoxine augments growth yield and quality of mustard through efficient utilization of soil applied N P fertilizers. *Acta agronomica academiae scientiarum hungaricae*, 40:111-116.

Samiullah, S.A., Ansari, M.M. and Afridi, R.K. 1988. B-vitamins in relation to crop productivity. *Indian review of life sciences*, 8: 59-67.

Sarropoulou, V.N., Therios, I.N. and Dimassi-Theriou, K.N. 2012. Melatonin promotes adventitious root regeneration in vitro shoot tip explants of the commercial sweet cherry rootstocks CAB-6P (*Prunus cerasus* L.), Gisela 6 (*P. cerasus* × *P. canescens*), and M×M 60 (*P. avium* × *P. mahaleb*). *Journal of Pineal Research*, 52(1): 38–46.

Sarrou, E., Chatzopoulou, P., Dimassi-Theriou, K., Therios, I. and Koularmani, A. 2015. Effect of melatonin, salicylic acid and gibberellic acid on leaf essential oil and other secondary metabolites of bitter orange young seedlings. *The Journal of Essential Oil Research*, 27(6): 487-496.

Sato, S., Peet, M.M. and Thomas, J.F. 2000. Physiological factors limit fruit set of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) under chronic, mild heat stress. *Plant Cell and Environment*, 23: 719-726.

Sayed, S.A. and Gadallah, M.A.A. 2001. Effects of shoot and root application of thiamin on salt-stressed sunflower plants. *Plant Growth Regulation*, 36(1): 71– 80.

Schneider, J.R., Caverzan, A. and Chavarria, G. 2018. Water deficit stress, ROS involvement, and plant performance. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 65(8): 1160-1181.

Shalata, A. and Neumann, P.M. 2001. Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation. *Journal of Experimental Botany*. 364: 2207–2211.

Sharma, P. and Dubey, R.S. 2005. Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant. *Journal of Plant Physiology*, 162: 854–864.

Shi, H., Chen, K., Wei, Y. and He, C. 2016. Fundamental Issues of Melatonin-Mediated Stress Signaling in Plants. *Frontiers in Plant Science*. 7(1124): 1-6.

Shi, H.T., Jiang, C., Ye, T., Tan, D.X., Reiter, R.J., Zhang, H., Liu, R. and Chan, Z. 2015a. Comparative physiological, metabolomic, and transcriptomic analyses reveal mechanisms of improved abiotic stress tolerance resistance in bermudagrass [*Cynodon dactylon* (L). Pers.] by exogenous melatonin. *Journal of Experimental Botany*, 66: 681–694.

Shi, H.T., Qian, Y.Q., Tan, D.X., Reiter, R.J. and He, C.Z. 2015b. Melatonin induces the transcripts of CBF/DREB1s and their involvement in both abiotic and biotic stresses in *Arabidopsis*. *Journal of Pineal Research*, 59: 334–342.

Shi, H.T., Wang, X., Tan, D.X., Reiter, R.J. and Chan, Z.L. 2015c. Comparative physiological and proteomic analyses reveal the actions of melatonin in the reduction of oxidative stress in Bermuda grass (*Cynodon dactylon* L. Pers.). *Journal of Pineal Research*, 59: 120–131.

Shshhat, I.M.A., Gazal, G.M. and Mohamed, G.S. 2014. Effect of ascorbic acid and niacin on protein, oil fatty acids and antibacterial activity of *Lupinus termis* seeds. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6(4): 866-873.

Simlat, M., Ptak, A., Skrzypek, E., Warchol, M., Moranska, E. and Piorkowska, E. 2018. Melatonin significantly influences seed germination and seedling growth of *Stevia rebaudiana* Bertoni. Peer-reviewed journal, 6(6): 5009.

Soliman, W.S., Fujimori, M., Tase, K. and Sugiyama, S.I. 2011. Oxidative stress and physiological damage under prolonged heat stress in C₃ grass *Lolium perenne*. *Grassland Science*, 57:101–106.

Solis-Munoz, P., Solis-Herruzo, J.A., Fernandez-Moreira, D., GomezIzquierdo, E., Garcia-Consuegra, I., Munoz-Yague, T. and Garcia Ruiz, I. 2011. Melatonin improves mitochondrial respiratory chain activity and liver morphology in ob/ob mice. *Journal of Pineal Research*, 51:113–123.

Soltani, Y., Saffari, V.R., Maghsoudi-moud, A.A. and Mehrabani, M. 2012. Effect of foliar application of α -tocopherol and pyridoxine on vegetative growth, flowering, and some biochemical constituents of (*Calendula officinalis* L.) plants. *African Journal of Biotechnology*, 11(56): 11931-11935.

Song, Q.X., Li, Q.T., Liu, Y.F., Zhang, F.X., Ma, B., Zhang, W.K., Man, W.Q., Du, W.G., Wang, G.D., Chen, S.Y. and Zhang, J.S. 2013. Soybean GmbZIP123 gene enhances lipid content in the seeds of transgenic *Arabidopsis* plants. *Journal of Experimental Botany*, 64(14): 4329–4341.

Sun, Q., Zhang, N., Wang, J., Zhang, H., Li, D., Shi, J., Weeda, S., Zhao, B., Ren, S. and Guo, Y.D. 2015. Melatonin promotes ripening and improves quality of tomato fruit during postharvest life. *Journal of Experimental Botany*, 66: 657–668.

Szafarska, K., Reiter, R.J. and Posmyk, M.M. 2016. Melatonin application to *pisum sativum* l. seeds positively influences the function of the photosynthetic apparatus in

growing seedlings during paraquat-induced oxidative stress. *Frontiers in Plant Science*, 7(1663): 1-12.

Taheri, P. and Hofte, M. 2007. Riboflavin-induced resistance against rice sheath blight functions through the potentiation of lignin formation and jasmonic acid signalling pathway. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 72(2): 309–313.

Taiz, L., Zeiger, E., Moller, I.M. and Murphy, A. 2017. *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. (6th ed.). Artemed Editora, 888p.

Tan, D.X. 2015. Melatonin and plants. *Journal of Experimental Botany*, 66(3): 625–626.

Tan, D.X., Hardeland, R., Manchester, L.C., Korkmaz, A., Ma, S., Rosales-Corral, S. and Reiter, R.J. 2011. Functional roles of melatonin in plants, and perspectives in nutritional and agricultural science. *Journal of Experimental Botany*, 63(2): 577–597.

Tan, D.X., Manchester, L.C., Helton, P. and Reiter, R.J. 2007. Phytoremediative capacity of plants enriched with melatonin. *Plant Signal and Behavior*, 6: 514–516.

Taylor, S.E., Terry, N. and Huston, R.P. 1982. Limiting factors in photosynthesis. *Plant Physiology*, 10:1541-1543.

Titiz, O., Tambasco-Studart, M., Warzych, E., Apel K.I., Amrhein, N., Laloi, C. and Fitzpatrick, T.B. 2006. PDX1 is essential for vitamin B6 biosynthesis, development and stress tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Journal*, 48: 933–946.

Trotel-Aziz, P., Niogret, M.F., Deleu, C., Bouchereau, A., Aziz, A. and Larher, F.R. 2003. The control of proline consumption by abscisic acid during osmotic stress recovery of canola leaf discs. *Physiologia Plantarum*, 117: 213-221.

Tuna, A.L., Kaya, C., Altunlu, H. and Ashraf, M. 2013. Mitigation effects of non-enzymatic antioxidants in maize (*Zea mays* L.) plants under salinity stress. *Australian Journal of Crop Science*, 7: 1181–1188.

Tunc-Ozdemir, M., Miller, G., Song, L., Kim, J., Sodek, A., Koussevitzky, S. Misra, A.N., Mittler, R. and Shintani, D. 2009. Thiamin confers enhanced tolerance to oxidative stress in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 151: 421–432.

Turk, H., Erdal, S., Genisel, M., Atci, O., Demir, Y. and Yanmis, D. 2014. The regulatory effect of melatonin on physiological, biochemical and molecular parameters in cold-stressed wheat seedlings. *Plant Growth Regulation*, 74(2): 139–152.

Van-Tassel, D.L., Roberts, N.J. and O'Neill, S.D. 1995. Melatonin from higher plants: isolation and identification of N-acetyl-5-methoxytryptamine. *Plant Physiology*, 108(suppl): 101.

Vega, D.L., Fernandez, R.P., Meteo, M.C.M., Bstamante, J., Bustamante, A., Herro, A.M. and Munguira, F.B. 2003. Study of activity of glutathione-peroxidase, glutathion-transferase and glutathion reductase in renal transplants. *Transplantation Proceedings*, 35:1346-1350.

- Vinchesi, A.C., Rondon, S.I. and Goyer, A. 2016.** Priming potato with thiamin to control potato virus Y. *American Journal of Potato Research*, 94(2): 1-16.
- Wang, H., Inukai, Y. and Yamauchi, A. 2006.** Root development and nutrient uptake. *Crc Critical Reviews in Plant Sciences*, 25:279–301.
- Wang, L., Zhao, Y., Reiter, R.J., He, C., Liu, G., Lei, Q., Zuo, B., Zheng, X.D., Li, Q. and Kong, J. 2014.** Changes in melatonin levels in transgenic ‘Micro-Tom’ tomato overexpressing ovine AANAT and ovine HIOMT genes. *Journal of Pineal Research*, 56: 134–142.
- Wang, L.Y., Liu, J.L., Wang, W.X. and Sun, Y. 2016.** Exogenous melatonin improves growth and photosynthetic capacity of cucumber under salinity-induced stress. *Photosynthetica*, 54:19-27.
- Wang, P., Sun, X., Chang, C., Feng, F., Liang, D., Cheng, L. and Ma, F. 2013a.** 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.
- Wang, P., Sun, X., Li, C., Wei, Z., Liang, D. and Ma, F. 2013b.** Long-term exogenous application of melatonin delays drought-induced leaf senescence in apple. *Journal of Pineal Research*, 54: 292–302.
- Wang, P., Yin, L., Liang, D., Li, C., Ma, F. and Yue, Z. 2012.** Delayed senescence of apple leaves by exogenous melatonin treatment: toward regulating the ascorbate-glutathione cycle. *Journal of Pineal Research*, 53:11–20.
- 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. and Chen, S.Y. 2015.** Melatonin enhances plant growth and abiotic stress tolerance in soybean plants. *Journal of Experimental Botany*, 66(3): 695–707.
- Wei, Z., Gao, T., Liang, B., Zhao, Q., Ma, F. and Li, C. 2018.** Effects of exogenous melatonin on methyl viologen-mediated oxidative stress in apple leaf. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(316): 1-14.
- Wu, G.Z. and Xue, H.W. 2010.** *Arabidopsis* β -ketoacyl-[acyl carrier protein] synthase I is crucial for fatty acid synthesis and plays a role in chloroplast division and embryo development. *The Plant Cell*, 22(11): 3726–3744.
- Wu, Y., Gao, Q., Huang, S. and Jia, S. 2019.** Enhancing salt tolerance in melon by exogenous application of melatonin and Ca^{2+} . *Pakistan Journal of Botany*, 51(3): 781-787.
- Xu, W., Cai, S.Y., Zhang, Y., Wang, Y.h., Ahammed, G.J., Xia, X.J., Shi, K., Zhou, Y.H., Yu, J.Q., Reiter, R.J. and Zhou, J. 2016.** Melatonin enhances thermo tolerance by promoting cellular protein protection in tomato plants. *Journal of Pineal Research*, 61(4): 457-469.
- Ye, J., Wang, S.W., Deng, X.P., Yin, L.N., Xiong, B.L. and Wang, X.Y. 2016.** Melatonin increased maize (*Zea mays* L.) seedlings drought tolerance by alleviating

drought-induced photosynthetic inhibition and oxidative damage. *Acta Physiologiae Plantarum*. 38(2): 1-13.

Yin, L.H., Wang, P., Li, M., Ke, X.W., Li, C., Liang, D., Wu, S., Ma, X., Li, C., Zou, Y. and Ma, F. 2013. Exogenous melatonin improves *Malus* resistance to Marssonina apple blotch. *Journal of Pineal Research*, 54: 426–434.

Zeng, F.F., Jiang, T.J., Wang, Y.S. and Luo, Z.H. 2015. Effect of UV-C treatment on modulating antioxidative system and proline metabolism of bamboo shoots subjected to chilling stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37: 244–254.

Zhang, H.J., Zhang, N., Yang, R.C., Wang, L., Sun, Q.Q., Li, D.B., Cao, Y.Y., Weeda, S., Zhao, B., Ren, S. and Guo, Y.D. 2014. Melatonin promotes seed germination under high salinity by regulating antioxidant systems, ABA and GA interaction in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Pineal Research*, 57: 269–279.

Zhang, J., Li, H., Xu, B., Li, J. and Huang, B. 2016a. Exogenous melatonin suppresses dark-induced leaf senescence by activating the superoxide dismutase-catalase antioxidant pathway and down-regulating chlorophyll degradation in excised leaves of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Frontiers in Plant Science*, 7(1500): 1-15.

Zhang, N., Sun, Q., Li, H., Li, X., Cao, Y., Zhang, H., Li, S., Zhang, L., Qi, Y., Ren, S., Zhao, B. and Guo, Y. D. 2016b. Melatonin improved anthocyanin accumulation by regulating gene expressions and resulted in high reactive oxygen species scavenging capacity in cabbage. *Frontiers in Plant Science*, 7(197): 1-17.

Zhang, N., Sun, Q.Q., Zhang, H.J., Cao, Y.Y., Weeda, S. and Ren, S.X. 2015. Role of melatonin in abiotic stress resistance in plants. *Journal of Experimental Botany*, 66: 647–656.

Zhang, N., Zhao, B., Zhang, H.J., Weeda, S., Yang, Ch., Yang, Z.C, Ren, S. and Guo, Y.D. 2013. Melatonin promotes water-stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Pineal Research*, 54(1): 15–23.

Zhang, Y.P., Yang, S.J. and Chen, Y.Y. 2016c. Effects of melatonin on photosynthetic performance and antioxidants in melon during cold and recovery. *Biologia Plantarum*.61(3): 571-578.

Zhou, X., Zhao, H., Cao, K., Hu., L., Du, T., Baluska, F. and Zou, Z. 2016. Beneficial roles of melatonin on redox regulation of photosynthetic electron transport and synthesis of d1 protein in tomato seedlings under salt stress. *Frontiers in Plant Science*,7(1823): 1-10.

Abstract

The external application of compounds such as vitamins and melatonin have been tested to reduce the negative effects of environmental stresses on the plant. Melatonin and vitamins B group has a significant role as a inhibition of reactive oxygen species, antioxidant activity in plant. In this regard, the effect of these materials on physiological, agronomical and qualitative aspect of soybean was investigated. This study consists of three experiment ; laboratory, pot and field were carried out at the department of agronomy and plant breeding of shahrood university of technology in 2017 on soybean. In laboratory, was conducted as a factorial experiment based on completely randomized design with three replications in germinator. Soybean seeds were pretreated with melatonin (0, 0.1 and 0.2 mM) and vitamins B group (0, thiamine, riboflavin, niacin, pantothenic acid, and pyridoxine 100 mg / l) for 10 hours. Pot and field was conducted as a factorial experiment based on completely randomized block design with three replications. Treatments including foliar application melatonin (0, 0.1 and 0.2 mM) and vitamins B group (0, thiamine, riboflavin, niacin, pantothenic acid, and pyridoxine 100 mg / l). Foliar application was done in the pot and field experiments 60 days after planting with 2 interval days. 15 days after treatment, the samples and their characteristic were recorded. In the laboratory, pretreatment of melatonin and vitamin b significantly increased shoot length, seedling dry weight, root dry weight and seedling vigor weight index. In most of traits, the combination of 0.2 Mm melatonin and pantothenic acid showed the most positive effect. In the field and pot experiment, interactions between the foliar application of melatonin and vitamin B increased chlorophyll b, carotenoids, relative leaf water content, plasma membrane stability, flavonoid, and soluble sugar content. The maximum yield was obtained in the combination of treatment with the highest concentration of melatonin and pantothenic acid, which showed an increase of approximately 3.5 times that of the control plants. The effect of melatonin in the non-presence of vitamin b, the percent of protein and oil content increased. Vitamins B also increased seed oil percent compared to non- application treatment. The highest value of seed oil percent was obtained with pantothenic acid and pyridoxine which had no significant difference. In the pot, foliar application of melatonin and vitamin B enhanced the plant protective system and increased the detoxification of reactive oxygen species by reducing the accumulation of hydrogen peroxide, malondialdehyde and increasing the activity of antioxidant enzymes. The maximum activity of superoxide dismutase and minimum accumulation of hydrogen peroxide were recorded in the plants that received the highest combination of melatonin and pantothenic acid. Finally, in the research area, pantothenic acid with 0.2 mM melatonin had more effect on traits and can be described as the best treatment combination.

Keywords: oxidative stress, antioxidant enzymes, vitamins, oil, protein, leaf senescence



Shahrood University of Technology

Faculty of Agriculture

Ph.D Thesis in Agronomy

**Effect of melatonin and vitamins B group application on agronomical,
physiological and qualitative traits of soybean**

By: Yusef Mohammadi

Supervisor

Dr. Mehdi Baradaran Firouzabadi

Advisors

Dr. Ahmad Gholami

Dr. Hassan Makarian

September 2019