Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Crop Production

Print ISSN: 2008- 739x
Online ISSN: 2008- 7403

Iranian Society of Agronomy and Plant Breeding Sciences

The effect of spermidine and melatonin on antioxidant enzymes, the amount of routine active ingredient and yield in Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) under drought stress

Meysam Miri[1], Mohammadreza Amerian[2*], Mohsen Edalat[3], Mehdi Baradaran Firouzabadi[4], Hasan Makarian[5]

[1] PhD Student in Crop Physiology, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahroud University of Technology, Shahroud, Iran, Email: miri.meysam67@gmail.com
[2] Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahroud University of Technology, Shahroud, Iran, Email: amerianuk@yahoo.co.uk
[3] Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran, Email: edalat@shirazu.ac.ir
[4]Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahroud University of Technology, Shahroud, Iran, Email: m.baradaran.f@gmail.com
[5]Associate Professor of Agronomy, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahroud University of Technology, Shahroud, Iran, Email: h.makarian@yahoo.com

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 2022/04/04
Revised: 2022/08/18
Accepted: 2022/09/21

Keywords:
Buckwheat
Catalase
Germination
Polyamine
Yield

ABSTRACT

Background and objectives: Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) is an annual plant of the Polyganales family, native to the United States of America. This plant is one of the most important medicinal plants. However, Drought stress as a limiting factor has a great effect on reducing its yield. Therefore, this study aimed to investigate the effect of seed per treatment and seedling foliar application with polyamine compounds on the activity of antioxidant enzymes, routine and Seed yield was monitored under drought stress.

Materials and methods: This study was created out in three stages in agricultural faculty and natural resources at Shiraz University during the 2019-2020 growing season. The first experiment was for the effect of pretreatment of Buckwheat seed with polyamines on germination characteristics which was performed as a two-factor factorial in a randomized complete block design with four replications in vitro. Experimental treatments included drought stress at seven levels (zero, -0.2, -0.4, -0.6, -0.8, -1 and -1.2 MPa) and seed pretreatment with melatonin (zero, 0.125, 0.250, 0.375 and 0.500 mmol) and spermidine (zero, 0.5, 1, 1.5 and 2 mmol). The second experiment (greenhouse) and the third (farm) were performed as three-factor and split-factorial factories in a randomized complete block design with three replications, respectively. In greenhouse conditions, drought stress at three levels of irrigation (irrigation at 10, 40, and 70 % field capacity depletion), and on-farm drought stress at three levels: full-field irrigation (no stress), 8-day irrigation once (mild stress) and irrigation Applied once every 16 days (severe stress).

Results: In the first stage, the results of the laboratory section showed that different treatments of spermidine and melatonin in

comparison with the control treatment had a significant effect on germination traits so that under drought stress concentrations of 1.5 mM spermidine and 0.375 ml Melatonin had the greatest effect on improving dilar germination, so they were selected as experimental treatments in greenhouses and farms. In greenhouse experiments, the three-way interactions of drought stress, seed pretreatment and foliar application of spermidine and melatonin on the activity of antioxidant enzymes and proline content were significant and the highest amount of catalase was 259.8 mg (mg protein). The highest amount of catalase is 259.8 (mg of protein per minute) and proline 5.12 (µg / ml) were observed in combination of seed pretreatment with melatonin (0.375 mmol) and melatonin foliar application (0.375 mmol) under 70% discharge conditions crop capacity was observed. In the field conditions, the interaction effect of drought stress, seed pretreatment and foliar spraying with spermidine and melatonin had a significant effect on the duration of plant growth and seed yield, and the highest seed yield was obtained from seed pretreatment with melatonin combined with its foliar application. It was allocated with a concentration of 0.375 mM and normal humidity conditions.

Conclusion: In general, Seed pretreatment and seedling treating with melatonin in 0.375 mmol concentration, showed more effects in Buckwheat plant in both greenhouse and open field condition and the highest yield (538.2 kg/ha) observed in this concentration.

Cite this article: Miri, M., Amerian, M.R., Edalat, M., Baradaran Firouzabadi, M., Makarian, H. 2022. The effect of spermidine and melatonin on antioxidant enzymes, the amount of routine active ingredient and yield in Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) under drought stress. *Crop Production Journal*, 15 (4), 63-84.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/ejcp.2023.19969.2484
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

تولید گیاهان زراعی
شاپا چاپی: ۷۳۹x-۲۰۰۸
شاپا الکترونیکی: ۷۴۰۳-۲۰۰۸

بررسی اثر اسپرمیدین و ملاتونین بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، میزان ماده موثره روتین و عملکرد در گیاه دیلار (*Fagopyrum esculentum* Moench) تحت تنش خشکی

میثم میری[۱]، محمدرضا عامریان[۲*]، محسن عدالت[۳]، مهدی برادران فیروزآبادی[۴]، حسن مکاریان[۵]

[۱] دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران، رایانامه: miri.meysam67@gmail.com

[۲] دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران، رایانامه: amerianuk@yahoo.co.uk

[۳] دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران، رایانامه: edalat@shirazu.ac.ir

[۴] دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران، رایانامه: m.baradaran.f@gmail.com

[۵] دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود ، شاهرود، ایران، رایانامه: h.makarian@yahoo.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۱۵
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۵/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۳۰

واژه‌های کلیدی:
پلی‌آمین
جوانه‌زنی
عملکرد
کاتالاز
گندم سیاه

چکیده

سابقه و هدف: دیلار (*Fagopyrum esculentum* Moench) گیاهی یک‌ساله، از خانواده علف هفت‌بند (Polygnaece) و بومی آمریکاست، این گیاه از منابع مهم دارویی به‌شمار می‌رود اما تنش خشکی به‌عنوان محدود کننده آن، تأثیر زیادی در کاهش عملکرد آن دارد، تحقیقات نشان داده که ترکیبات پلی‌آمینی مانند اسپرمیدین و ملاتونین می‌توانند تحمل به تنش خشکی را افزایش دهند. به همین دلیل، این پژوهش با هدف بررسی اثر پیش‌تیمار بذر و محلول‌پاشی گیاهچه با ترکیبات پلی‌آمینی برفعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، میزان روتین و عملکرد دانه این گیاه تحت تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها: این آزمایش در سه مرحله و در سال‌های زراعی ۱۳۹۹– ۱۳۹۸ در دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه شیراز (باجگاه) اجرا شد. آزمایش اول جهت تأثیر پیش‌تیمار بذر دیلار با پلی‌آمین‌ها بر خصوصیات جوانه‌زنی بود که به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک-های کامل تصادفی با چهار تکرار در شرایط آزمایشگاهی اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل تنش خشکی در هفت سطح (صفر، ۰/۲–، ۰/٤–، ۰/٦–، ۰/۸–، ۱– و ۱/۲– مگاپاسکال) و پیش تیمار بذر با ملاتونین (صفر، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵۰، ۰/۳۷۵ و ۰/۵۰۰ میلی‌مولار) و اسپرمیدین (صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌مولار) بودند. آزمایش دوم (گلخانه) و سوم (مزرعه) به ترتیب به‌صورت فاکتوریل و اسپلیت پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با سه تکرار اجرا شد در شرایط گلخانه تنش خشکی در سه سطح آبیاری (۱۰، ٤۰ و ۷۰ درصد تخلیه ظرفیت زراعی) و در مزرعه نیز تنش خشکی به صورت دور آبیاری در سه سطح: آبیاری نرمال مزرعه (چهار روز یک بار)، آبیاری ۸ روز یک بار و آبیاری ۱٦روز یک بار اعمال شد. پیش‌تیمار بذر در سه سطح (بدون پیش‌تیمار، پیش‌تیمار با ملاتونین، پیش‌تیمار با اسپرمیدین) و همچنین محلول‌پاشی گیاهچه در سه سطح (بدون محلول‌پاشی، محلول‌پاشی با ملاتونین، محلول‌پاشی با اسپرمیدین) در شرایط گلخانه و مزرعه بودند.

یافته‌ها: در مرحله اول نتایج بخش آزمایشگاهی مشخص شد که تیمارهای مختلف اسپرمیدین و ملاتونین در مقایسه با تیمار شاهد اثر معنی‌داری بر صفات جوانه‌زنی داشت، به طوری که در شرایط تنش خشکی غلظت‌های ۱/۵ میلی‌مولار اسپرمیدین و ۰/۳۷۵ میلی‌مولار ملاتونین بیش‌ترین تأثیر را بر بهبود جوانه‌زنی دیلار داشت، به همین خاطر به عنوان تیمارهای آزمایشی مد نظر در گلخانه و مزرعه انتخاب شدند. در آزمایشات گلخانه‌ای اثرات متقابل سه‌جانبه تنش خشکی، پیش‌تیمار بذر و محلول‌پاشی اسپرمیدین و ملاتونین بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان پرولین معنی‌دار شد و بیش‌ترین میزان کاتالاز ۲۵۹/۸ (میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) و پرولین ۵/۱۲ (میکروگرم بر میلی‌لیتر) در تیمار توأم پیش‌تیمار بذر با ملاتونین (۰/۳۷۵ میلی‌مولار) و محلول‌پاشی ملاتونین (۰/۳۷۵ میلی‌مولار) تحت شرایط ۷۰ درصد تخلیه ظرفیت زراعی، مشاهده شد. در شرایط مزرعه نیز اثر متقابل تنش خشکی، پیش‌تیمار بذر و محلول‌پاشی اسپرمیدین و ملاتونین اثر معنی‌داری بر طول دوره رشد گیاه و عملکرد دانه داشت و بالاترین عملکرد دانه به پیش‌تیمار بذر با ملاتونین توام با محلول‌پاشی آن با غلظت ۰/۳۷۵ میلی‌مولار و شرایط نرمال رطوبتی اختصاص یافت.

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی، پیش‌تیمار بذر و همچنین محلول‌پاشی گیاهچه با غلظت ۰/۳۷۵ میلی‌مولار ملاتونین در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای گیاه دیلار را بیش‌تر از سایر تیمارها تحت تأثیر قرار داد و بیشترین عملکرد دانه (۵۳۸/۲ کیلوگرم در هکتار) نیز با پیش‌تیمار بذر و محلول‌پاشی ملاتونین (۰/۳۷۵ میلی‌مولار) تحت شرایط مطلوب آبیاری به‌دست آمد.

استناد: میری، م.، عامریان، م.ر.، عدالت، م.، برادران فیروزآبادی، م.، مکاریان، ح. (۱۴۰۱). بررسی اثر اسپرمیدین و ملاتونین بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، میزان ماده موثره روتین و عملکرد در گیاه دیلار (*Fagopyrum esculentum* Moench) تحت تنش خشکی. *مجله تولید گیاهان زراعی*، ۱۵ (٤)، ۸٤-٦٣.

DOI: 10.22069/ejcp.2023.19969.2484

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

امروزه کشت گیاهان دارویی به‌دلیل اثرات سوء ناشی از مصرف داروهای شیمیایی در بیماران و همچنین نیاز مواد اولیه کارخانه‌های داروسازی مورد توجه بوده است. از طرفی، شرایط اکولوژیک مختلف در کشور پتانسیل خوبی برای تولید دامنه وسیعی از این گیاهان را فراهم می‌نماید (۱). کاهش بارندگی و تغییرات آب و هوایی آینده، ثبات منابع آبی و زمین‌ها را تهدید کرده و شرایط رشد محصول را نامساعدتر می‌نماید (۲). تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی بوده و از عوامل اصلی محدودکننده رشد و تولید گیاهان به شمار می‌رود (۳). یکی از پیامدهای رایج ناشی از تنش خشکی، کاهش پتانسیل آب در بستر بذر است که در مراحل اولیه جوانه‌زنی، منجر به کاهش جذب آب توسط بذر و بازدارندهٔ تداوم فرآیندهای مربوط به جوانه‌زنی شده و در نتیجه باعث کاهش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و طول گیاهچه می‌شود (٤). گیاهان در زمان مواجه با تنش خشکی، با تغییر در برخی خصوصیات فیزیولوژیک، نسبت به تنش‌های محیطی واکنش نشان می‌دهند، گیاهان دارای یک سیستم آنتی‌اکسیدان هستند که گونه‌های فعال اکسیژن را تحت شرایط تنش کنترل می‌کنند به طوری که این آنتی‌اکسیدان‌ها با تولید ترکیبات فنولی و کارتنوئیدها از ساختارهای سلولی خود در برابر رادیکال‌های فعال تولید شده محافظت نموده و از خسارت وارده به گیاه جلوگیری می‌کنند و از طرف دیگر سطح مناسبی از گونه‌های فعال اکسیژن را برای رشد و مسیر انتقال پیام حفظ می‌نمایند (٥).

تحقیقات پیشین نشان داده است که استفاده از ترکیبات آلی گوناگون مانند پلی‌آمین‌ها سبب افزایش مقاومت گیاهان به تنش می‌شود و در فرآیندهای فیزیولوژیک مانند رشد، نمو و پاسخ به تحمل تنش نقش مهمی دارند (٦). پلی‌آمین‌ها در پاسخ به خشکی به مقدار زیادی انباشته می‌شوند و در همانندسازی DNA، تغییر فعالیت آنزیم‌ها و حفظ یکپارچگی و بقای غشای سیتوپلاسمی و اندامک‌های سلولی نقش دارند (۷). همچنین، برخی محققان گزارش دادند که پلی‌آمین‌ها سبب افزایش تولید آبسیزیک اسید تحت تنش خشکی می‌شوند (۸). اسپرمیدین پلی‌آمینی با وزن مولکولی کم می‌باشد که در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه از جمله تثبیت غشا، فعال کردن آنزیم‌ها، تقسیم سلولی و فرایندهای درگیر در رشد و توسعه سلول‌ها (۹)، جنین‌زایی، جوانه‌زنی بذر و واکنش به تنش‌ها نقش دارند (۱۰). در این خصوص برخی مطالعات افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی از جمله کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز تحت تنش شدید خشکی در گیاه بنگ دانه (*Hyosyamus niger*) را گزارش کردند که با کاربرد اسپرمیدین فقط کاتالاز افزایش پیدا کرد (۱۱). همچنین، لیو و همکاران (۲۰۱۵) با بررسی اثر متقابل تنش خشکی و محلول‌پاشی اسپرمیدین، گزارش کردند محلول پاشی اسپرمیدین با کاهش آسیب اکسیداتیو موجب کاهش خسارت اثرات تنش خشکی و کاهش عملکرد ناشی از آن در برنج می‌شود (۱۲).

ملاتونین[1] ماده‌ای با وزن مولکولی کم می‌باشد و به‌عنوان یک مولکول آنتی‌اکسیدانی، چربی‌ها، پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها را در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش‌ها محافظت می‌نماید (۱۲). همچنین، یافته‌های به‌دست آمده در سال‌های اخیر نشان می‌دهد که ملاتونین یک ترکیب بسیار مفید برای کاهش اثرات تنش‌های زیست محیطی، به‌ویژه تنش خشکی بوده است (۱۳) و آنچه مطالعه ملاتونین را در گیاهان جالب می‌سازد نقش‌های متعددی است که در رشد گیاه و دفاع در برابر عوامل محیطی ایفا می‌کند (١٤). به‌طور کلی، در سال‌های اخیر نتایج متعددی در

1. N-acetlyl-5-methoxytryptamine

خصوص اثر تنش خشکی بر متابولیسم گیاهان گزارش شده است، اما اطلاعات واکنش گیاهان دارویی به تنش خشکی محدود می‌باشد (۱۵). دیلار (*Fagopyrum esculentum* Moench) گیاهی یکساله، از خانواده علف هفت‌بند و بومی آمریکا است. این گیاه از منابع مهم دارویی دارای اثرات مفیدی مانند ضد تجمع پلاکت و ضد آسم و تثبیت کننده و تأثیر بر فشار خون بالا می‌باشد (۱٦). روتین (کوئرستین-۳-گالاگتوزید) مهم‌ترین ماده موثره دیلار بوده که به‌عنوان دارو در درمان ناهنجاری‌های عروق استفاده می‌شود و در برگ‌ها، ساقه، گل‌ها و میوه‌های این گیاه تجمع می‌یابد (۱۷). یافته‌های برخی محققان نشان داده است که دیلار به‌دلیل سازگاری اکولوژیک بالا، مستعد کشت در بسیاری از مناطق می‌باشد (۱۸) اما تنش خشکی به‌عنوان محدودکننده آن، تأثیر زیادی در کاهش عملکرد آن داشته است (۱۹). به همین خاطر، این پژوهش با هدف بررسی اثر پیش‌تیمار بذر و محلول-پاشی گیاهچه با ترکیبات پلی‌آمینی برفعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، میزان روتین و عملکرد دانه در دیلار تحت تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر اسپرمیدین و ملاتونین بر جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و میزان ماده موثره روتین در گیاه دیلار تحت تنش خشکی، آزمایش در سه مرحله جداگانه در آزمایشگاه، گلخانه و مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه شیراز در سال ۱۳۹۹ – ۱۳۹۸ اجرا شد.

الف)- مرحله اول (بخش آزمایشگاهی): به منظور انتخاب بهترین غلظت پیش‌تیمار بذر با ملاتونین و اسپرمیدین به صورت دو آزمایش جداگانه با تجزیه مجزا انجام شد، در این مرحله تعداد ۲۵ عدد بذر از هر تیمار در ظرف‌های پتری نه سانتی‌متر که حاوی دو عدد کاغذ صافی واتمن شماره یک و ۱۰ میلی‌لیتر از آب مقطر یا محلول پلی‌اتیلن گلایکول ٦۰۰۰ (PEG6000) بود قرار داده شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کاملا تصادفی و با چهار تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل تنش خشکی در هفت سطح پتانسیل اسمزی صفر (شاهد)، ۰/۲-، ۰/٤-، ۰/٦-، ۰/۸-، ۱- و ۱/۲- مگاپاسکال، پیش‌تیمار بذر به مدت ۱۲ ساعت (۳۰ ساعت قبل از اولین جوانه‌زنی) با اسپرمیدین در چهار سطح، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌مولار و ملاتونین نیز در چهار سطح، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵۰، ۰/۳۷۵ و ۰/۵۰۰ میلی‌مولار و یک تیمار شاهد بدون پرایمینگ بودند. صفات ارزیابی شده در این مرحله شامل درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی و طول‌گیاهچه بودند که پس از هفت روز (دوره جوانه‌زنی) مطابق با روابط زیر محاسبه شدند.

درصد جوانه‌زنی از رابطه ۱ محاسبه شد (۲۰):

رابطه ۱: $GP=100 \times (N/NT)$

GP= درصد جوانه‌زنی

N= تعداد بذر جوانه‌زده

NT= تعداد بذر کشت شده

سرعت جوانه زنی از رابطه ۲ محاسبه شد (۲۱):

رابطه۲: $GR=\sum(ni/di)$

GR= سرعت جوانه‌زنی

ni= تعداد بذر جوانه‌زده در روز i ام

di= زمان پس از کشت برحسب روز.

ب) مرحله دوم (شرایط گلخانه‌ای): پس از انتخاب بهترین تیمارهای آزمایشی در آزمایشگاه بر اساس خصوصیات جوانه‌زنی در گلخانه دانشگاه شیراز آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کاملا تصادفی و در سه تکرار اجرا گردید. گلخانه تحقیقاتی در مجاور مزرعه تحقیقاتی به صورت شمالی- جنوبی بود و در شرایط دمای روز ۲±۲۰ درجه، دمای شب ۲±۱۵ درجه و رطوبت ۵±۵۰ درصد تنظیم گردید

تنش خشکی در گلخانه در سه سطح آبیاری در ۱۰ درصد تخلیه ظرفیت زراعی (آبیاری مطلوب)، آبیاری در ٤٠ درصد تخلیه ظرفیت زراعی (تنش ملایم) و آبیاری در ۷۰ درصد تخلیه ظرفیت زراعی (تنش شدید) اعمال شدند، پیش‌تیمار بذر در سه سطح: بدون پیش‌تیمار (شاهد)، پیش‌تیمار با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اسپرمیدین، پیش‌تیمار با غلظت ۰/۳۷۵ میلی‌مولار ملاتونین و همچنین محلول‌پاشی گیاهچه نیز در سه سطح: بدون محلول‌پاشی، محلول‌پاشی گیاهچه با اسپرمیدین ۱/۵ میلی‌مولار و محلول‌پاشی گیاهچه با ملاتونین ۰/۳۷۵ میلی‌مولار مد نظر قرار گرفتند. غلظت مواد پیش‌تیمار و محلول‌پاشی از بهترین تیمارهای آزمایشگاه انتخاب شدند. پیش‌تیمار بذر قبل از کشت بذر و محلول‌پاشی در مرحله ساقه روی و ابتدای گلدهی انجام شد. پس از پیش‌تیمار بذر (۱۲ ساعت)، تعداد ۸۱ گلدان ۵ کیلوگرمی با مقادیر یکسان و مشخص از خاک مزرعه پر شدند و تعداد ۱۰ بذر درون هر گلدان کشت گردید. در این روش ابتدا به هر گلدان وزن مشخصی از خاک مزرعه به صورت یکنواخت ریخته شد. صفات مد نظر شامل: محتوای پرولین، فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان روتین در برگ گیاه دیلار بودند که در مرحله ۵۰ درصد گل‌دهی بررسی شدند.

سنجش پرولین از روش نین‌هیدرین (۲۲) در طول موج ۵۲۰ نانومتر، فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Aebi در طول موج ۲٤۰ نانومتر (۲۳) ، فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش گایاکول (۲٤) در طول موج ٤۳٦ نانومتر، فعالیت پلی‌فنل اکسیداز روش گایاکول در طول موج ٤۲۰ نانومتر و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از روش سیرم و همکاران، (۲۰۰۲) (۲۵) و در طول موج ٥٦۰ نانومتر و با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (Jenway 7315- England) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری روتین از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) استفاده شد و میزان روتین در طول موج ۳۵۵ نانومتر قرائت گردید (۲٦).

ج) مرحله سوم (مزرعه): پس از بررسی نتایج گلخانه-های و تعیین اثر تیمارهای آزمایشی و همچنین، جهت تأیید اثرات مثبت تیمارهای اسپرمیدین و ملاتونین بر بهبود تنش خشکی، آزمایش در شرایط مزرعه پی-گیری شد، مزرعه تحقیقاتی در منطقه باجگاه در ۱۵ کیلومتری شمال شیراز با طول جغرافیایی ۵۲ درجه و ۵۳ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۲۹ درجه و ٤۰ دقیقه شمالی در ارتفاع ۱۸۱۰ متری از سطح دریا واقع بود. در این مرحله نیز آزمایش به صورت اسپلیت پلات فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار اجرا شد، آبیاری در سه سطح: آبیاری نرمال مزرعه (چهار روز یک بار، تخلیه ۱۰ میلی‌متر آب از تشت تبخیر)، آبیاری ۸ روز یک بار (تخلیه ۳۰ میلی-متر آب از تشت تبخیر) و آبیاری ۱٦روز یک بار (تخلیه ۹۰ میلی‌متر آب از تشت تبخیر) به عنوان عامل اصلی اعمال شد و همچنین، پیش‌تیمار بذر و محلول‌پاشی نیز در سه سطح همانند گلخانه به عنوان عامل فرعی بودند. پس از آماده‌سازی کرت‌های با طول چهار متر، عرض دو متر و با فاصله ردیف ۱۵ سانتی‌متر و فاصله بوته روی ردیف ۵ سانتی‌متر عملیات کشت در اسفند ماه سال ۱۳۹۹ انجام گردید آبیاری بلافاصله بعد از کاشت صورت گرفت و بعد از آن مطابق با تیمارهای مورد نظر و با توجه به اندازه‌گیری میزان تبخیر تجمعی از سطح تشت تبخیر کلاس A انجام شد در نهایت جهت تعیین عملکرد دانه با رعایت اثر حاشیه (یک متر) در زمان رسیدگی فیزیولوژیکی در خرداد ماه سال ۱٤۰۰، اقدام به برداشت گیاه و ارزیابی عملکرد دانه شد. در نهایت پس از ارزیابی صفات، تجزیه واریانس با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. از

نرم افزار اکسل (نسخه ۲۰۱۳) نیز برای رسم شکل‌ها استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج بخش آزمایشگاهی: بر اساس نتایج تجزیه واریانس در جدول ۱، اثر متقابل دوگانه تیمارهای تنش خشکی و پیش‌تیمار بذر بر خصوصیات جوانه‌زنی با احتمال خطای آماری یک درصد معنی‌دار شد. همچنین، مطابق با نتایج موجود در جدول ۱ پتانسیل‌های مختلف پلی‌اتیلن گلایکول تأثیر معنی‌داری بر درصد، سرعت جوانه‌زنی بذر و طول گیاهچه دیلار داشتند. با افزایش سطوح تنش از ۰/۲- تا ۱/۲- مگاپاسکال، خصوصیات جوانه‌زنی به طور معنی‌داری کاهش یافت. با منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی، آب قابل دسترس گیاه نیز کاهش یافته و به تبع آن درصد و سرعت جوانه‌زنی کاهش یافت. کاهش در سرعت جوانه‌زنی احتمالاً به دلیل وقفه‌هایی است که در شروع فرآیند جوانه‌زنی ایجاد می‌شود. علت وقفه ایجاد شده این است که بذرها برای جبران خسارت‌های وارد شده به غشا و دیگر قسمت‌های سلول و همچنین، آغاز مجدد فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی و جلوگیری از بروز تنش اکسیداتیو نیاز به زمان دارد و جبران این خسارت‌ها ممکن است پس از جذب آب توسط بذر امکان‌پذیر شود. این روند تغییرات در جوانه‌زنی دیلار قبلا نیزگزارش شده است، که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد (۱۹). همچنین، برخی محققان نشان دادند که انجام فرآیند جوانه‌زنی نیازمند وجود رطوبت کافی در بستر رشد بذر و جذب آب از محیط است و کاهش یا تأخیر جوانه‌زنی در شرایط تنش‌های محیطی با استقرار ضعیف و تراکم پایین گیاهچه همراه است (۲۷). پیش تیمار بذر با غلظت‌های مختلف اسپرمیدین و ملاتونین باعث کاهش اثر تنش خشکی شدند. با افزایش غلظت اسپرمیدین تا ۱/۵ میلی‌مولار، درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی افزایش نشان داد و پس از آن در غلظت ۲ میلی‌مولار صفات جوانه‌زنی کاهش یافت. با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها مشخص شد که تا غلظت ۰/۳۷۵ میلی‌مولار ملاتونین، صفات مرتبط با جوانه‌زنی روند صعودی داشتند و پس از آن در غلظت ۰/۵۰۰ میلی‌مولار، درصد و سرعت جوانه‌زنی و طول گیاهچه کاهش یافت. در این راستا، مطالعه بر روی اثر پیش تیمار بذر گندم با برخی پلی‌آمین‌ها بر بهبود جوانه‌زنی در شرایط تنش خشکی نشان داد که پیش تیمار اسپرمیدین با تاثیر بر هورمون‌ها و متابولیسم نشاسته موجب بهبود جوانه‌زنی بذر گندم تحت شرایط تنش خشکی شد (۲۸). همچنین، در مطالعه دیگری محققان پیش‌تیمار بذرهای زوال یافته طبیعی با ملاتونین بر خصوصیات سبز شدن و رشد گیاهچه گلرنگ تحت تنش خشکی را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که با استفاده از روش مقرون به صرفه پیش‌تیمار بذر با ملاتونین، تا حد بسیار قابل توجهی، می‌توان آسیب ناشی از زوال را تحت این شرایط، کاهش داد (۲۹) که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت. تحقیقات پیشین نشان داده است که ترکیبات پلی‌آمینی مانند ملاتونین ایفاگر عملکردهای ضروری در تنظیم رشد و نموگیاه شامل فرآیندهای تحریک رشد رویشی، جوانه‌زنی و ریشه‌دهی می‌باشد (۳۰). به طور کلی، با توجه به نتایج به‌دست آمده در آزمایشگاه، پیش‌تیمار بذر با ۱/۵ میلی‌مولار اسپرمیدین و ۰/۳۷۵ میلی‌مولار ملاتونین بالاترین درصد و سرعت جوانه‌زنی و طول گیاهچه را به خود اختصاص دادند و جهت بررسی در گلخانه انتخاب شدند (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تنش خشکی و پیش‌تیمار بذر با ملاتونین و اسپرمیدین بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر دیلار.

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

		میانگین مربعات (MS) Mean square					
		ملاتونین (Melatonin)			اسپرمیدین(Spermidine)		
منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	طول گیاهچه Seedling length	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	طول گیاهچه Seedling length	سرعت جوانه‌زنی Germination rate
بلوک Block	3	8.09	0.46	0.09	25.7	0.77	0.006
تنش خشکی Drought stress (D.S)	6	11023.17**	213.26**	10.34**	9652.54**	283.20**	8.78**
پیش‌تیمار Pretreatment (P)	4	791.60**	3.92**	5.89**	591.7**	1.85**	3.34**
تنش خشکی * پیش‌تیمار (D.S) ×(P)	24	20.73**	1.73**	0.105**	14.52**	3.52**	0.07**
خطا error	102	5.19	0.19	0.014	4.5	0.318	0.006
ضریب‌تغییرات(درصد) CV (%)	-	3.59	8.26	4.48	3.53	10.48	3.87

ns، *، ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشند.

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

نتایج بخش گلخانه: در شرایط گلخانه نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل سه‌گانه تنش خشکی، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی اسپرمیدین و ملاتونین بر میزان پرولین، فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل‌اکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز با خطای آماری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند (جدول ۳). همچنین، اثر متقابل پیش‌تیمار بذر و محلول‌پاشی ملاتونین بر میزان ماده موثره روتین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد، در حالی که تنش خشکی اثر معنی‌داری بر میزان روتین نشان نداد براساس مطالعات انجام شده، در گیاه آویشن باغی اثر مثبت و معنی‌دار تنش خشکی بر میزان روتین بیان شده است (۱۹) که با نتایج حاصل از این پژوهش مغایرت داشت، اما در سیاه‌دانه عدم معنی‌داری تنش خشکی بر میزان روتین گزارش شده است که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت. با توجه به اینکه تنش خشکی نتایجی از قبیل بسته شدن روزنه‌ها، کاهش در سرعت انتقال مواد غذایی در گیاهان، کاهش پتانسیل آب در بافت‌های گیاهی، کاهش فتوسنتز، بازدارندگی از رشد، افزایش در تجمع آبسیزیک اسید، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین، تشکیل رادیکال‌های آزاد و تنش اکسیداتیو را به همراه دارد، لذا زمانی که گیاهان در شرایط تنش محیطی قرار می‌گیرند، از طریق تولید متابولیت‌های ثانویه مختلف خودشان را از این شرایط حفظ می‌کنند (۳۱).

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنش خشکی در اسپرمیدین و تنش خشکی در ملاتونین بر صفات جوانه‌زنی دیلار

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

تنش خشکی (مگاپاسکال) Drought stress (MPa)	اسپرمیدین (میلی‌مولار) Spermidine (mmolar)	درصد جوانه زنی Germination (%)	سرعت جوانه‌زنی (تعداد در روز) Germination rate (Number per day)	طول گیاهچه (سانتی متر) Seedling length (cm)	ملاتونین (میلی‌مولار) Melatonin (mmolar)	درصد جوانه زنی Germination (%)	سرعت جوانه‌زنی (تعداد در روز) Germination rate (Number per day)	طول گیاهچه (سانتی‌متر) Seedling length (cm)
0	0	82^{kg}	2.40^{lj}	9.91^{d}	0	83^{gh}	2.40^{jk}	9.41^{d}
	0.5	84.5^{efg}	2.98^{det}	12.33^{a}	0.125	90.5^{fc}	3.05^{f}	11.00^{c}
	1	88.28^{bcd}	3.10^{cd}	11.50^{b}	0.250	92.75^{bcd}	3.45^{bc}	11.66^{b}
	1.5	92^{a}	3.46^{a}	12.87^{a}	0.375	96.14^{a}	3.68^{a}	12.50^{a}
	2	83.52^{fgh}	2.88^{tg}	12.65^{a}	0.500	93.5^{abc}	3.31^{cd}	8.88^{d}
-0.2	0	81.27^{lh}	2.37^{jk}	8.07^{e}	0	81.25^{gh}	2.37^{kl}	8.07^{e}
	0.5	83^{ghi}	2.96^{et}	7.25^{f}	0.125	89.5^{def}	3.06^{f}	7.97^{ef}
	1	87.77^{bcd}	3.07^{cde}	10.83^{bc}	0.250	91.2^{eb}	3.45^{bc}	7.38^{f}
	1.5	90.25^{ab}	3.41^{a}	6.98^{f}	0.375	94^{ab}	3.66^{a}	7.70^{ef}
	2	81^{lh}	2.8^{tg}	10.34^{cd}	0.500	91.11^{eb}	3.30^{cd}	7.40^{f}
-0.4	0	79.5^{kl}	2.17^{m}	6.63^{f}	0	79.5^{hi}	2.17^{m}	6.63^{g}
	0.5	81.5^{kh}	2.79^{gh}	4.85^{h}	0.125	90^{def}	2.85^{g}	6.32^{g}
	1	87^{cde}	2.89^{tg}	5.67^{g}	0.250	91.05^{eb}	3.26^{de}	5.63^{h}
	1.5	89.75^{abc}	3.13^{bc}	5.82^{g}	0.375	92.06^{eb}	3.46^{bc}	6.37^{g}
	2	80.5^{li}	2.69^{h}	5.72^{g}	0.500	89^{def}	3.10^{ef}	5.10^{hi}
-0.6	0	73.5^{m}	2.23^{lm}	3.70^{jk}	0	73.5^{j}	2.23^{lm}	3.70^{lm}
	0.5	81^{lh}	2.81^{gh}	4.38^{hij}	0.125	83^{g}	2.86^{g}	4.62^{ijk}
	1	86^{def}	2.90^{tg}	4.53^{hi}	0.250	87.68^{f}	3.30^{cd}	4.97^{ij}
	1.5	88.5^{bcd}	3.24^{b}	5.17^{gh}	0.375	89.25^{ef}	3.52^{ab}	4.38^{jk}
	2	78.5^{l}	2.70^{h}	4.67^{h}	0.500	90.27^{def}	3.13^{ef}	4.13^{kl}
-0.8	0	65.75^{o}	1.63^{o}	3.70^{jk}	0	65.75^{k}	1.63^{n}	3.70^{lm}
	0.5	75.25^{m}	2.32^{jkl}	3.65^{jk}	0.125	74^{j}	2.34^{kl}	2.98^{no}
	1	80^{jkl}	2.42^{lj}	2.78^{lm}	0.250	78^{i}	2.79^{gh}	3.51^{mn}
	1.5	82.5^{gj}	2.86^{tg}	3.83^{ijk}	0.375	83.28^{g}	3.18^{def}	3.58^{lm}
	2	70.5^{n}	2.16^{m}	3.32^{kl}	0.500	83^{g}	2.66^{hi}	2.90^{o}
-1	0	44.76^{s}	1.37^{p}	2.83^{lm}	0	44.72^{n}	1.37^{o}	2.83^{op}
	0.5	52^{q}	2.12^{m}	2.08^{mno}	0.125	54^{m}	2.11^{m}	2.19^{q}
	1	57^{p}	2.23^{klm}	1.97^{no}	0.250	58.7^{l}	2.56^{ij}	2.12^{qr}
	1.5	57.75^{p}	2.53^{l}	2.14^{mno}	0.375	60^{l}	2.78^{gh}	1.86^{qrs}
	2	48.75^{r}	1.91^{n}	2.58^{lmn}	0.500	61.02^{l}	2.35^{kl}	2.11^{qr}
-1.2	0	25.75^{u}	1.04^{r}	1.55^{op}	0	25.75^{p}	1.04^{q}	1.54^{rs}
	0.5	28.49^{tu}	1.15^{qr}	0.98^{pq}	0.125	28^{op}	1.13^{pq}	2.26^{pq}
	1	28.25^{tu}	1.12^{qr}	0.68^{q}	0.250	28^{op}	1.23^{op}	1.32^{st}
	1.5	30.73^{t}	1.21^{q}	1.50^{op}	0.375	30.28^{o}	1.33^{o}	1.47^{s}
	2	27	1.09	90.0	0.500	28.2	1.22	0.77
	مقادیر LSD (درصد)	2.98	0.13	0.79	-	3.2	0.16	0.59

گزارش‌هایی در مورد نقش پلی‌آمین‌ها در کاهش اثرات حاصل از تنش وجود دارد، به طوری که قنبری و همکاران (۲۰۱۸) اثر معنی‌دار اسپرمیدین بر میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاه کدو تحت تنش خشکی و حسینی تفرشی و همکاران (۲۰۲۰) اثر ملاتونین بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت را گزارش نمودند که با این نتایج هم‌خوانی داشت. هنگامی‌که گیاه با تنش خشکی مواجه می‌شود، غلظت اسمولیت‌های خود را افزایش می‌دهد تا با تنظیم اسمزی به جذب آب ادامه دهد؛ این پدیده با تجمع یون‌های غیر آلی که در غلظت بالا سمی نبوده و با تولید اسمولیت‌های آلی با وزن مولکولی کم‌تر همراه می‌باشد، در بین مواد محلول سازگار، پرولین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان جزء اسمولیت‌های سازگار به شمار می‌آید (۳۲). در سال‌های اخیر رابطه مستقیمی بین کاربرد پلی‌آمین‌های برون‌زاد و افزایش تحمل به خشکی در گیاهان مشاهده شده است. در چندین گیاه تراریخته مانند

برنج، سیب زمینی، تنباکو و آرابیدوپسیس تالیانا مشاهده شد که استفاده از ژن‌های بیوسنتز کننده پلی‌آمین‌ها سبب افزایش تحمل به خشکی می‌شود (۳۳). یو و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که اسپرمیدین، تخریب اکسیداتیو القا شده در گیاه *Allium fistulosum* را از طریق افزایش ظرفیت آنتی-اکسیدانی گیاه، کاهش می‌دهد؛ آن‌ها دریافتند که کاربرد برون‌زاد پلی‌آمین منجر به کاهش رادیکال سوپراکسید و مقدار H_2O_2 می‌گردد و در نهایت تنش اکسیداتیو گیاه را کاهش می‌دهد (۳٤).

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تنش خشکی، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی ملاتونین و اسپرمیدین بر صفات آزمایشی در شرایط گلخانه.

Table 3- Analysis of variance effect drought stress, pretreatment, and foliar application of melatonin and spermidine on experimental traits in greenhouse conditions.

		میانگین مربعات (MS)				
منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	کاتالاز Catalase	سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase	پلی‌فنل‌اکسیداز Poly-phenol oxidase	پرولین Proline	روتین Routine
بلوک Block	2	17.75	4.81	0.009	0.004	0.03
تنش خشکی Drought stress (D.S)	2	64026.65**	33587.61**	6.13**	16.41**	0.004ns
پیش‌تیمار Pretreatment (P)	2	2923.80**	1857.39**	1.15**	2.13**	0.97**
تنش خشکی * پیش تیمار (D.S) *(P)	4	76.52	54.06**	0.1**	0.07**	0.001ns
محلول‌پاشی (Spraying)	2	2592.6**	2110.86**	1.91**	1.52**	2.52**
تنش خشکی *محلول پاشی (D.S) *(S)	4	55.65**	17.59**	0.1**	0.017ns	0.002ns
پیش‌تیمار * محلول‌پاشی (P)*(S)	4	145.35**	101.12**	0.37**	0.04ns	0.36**
تنش خشکی * پیش تیمار* محلول پاشی (D.S)*(P)*(S)	8	23.6**	63.24**	0.1**	0.07**	0.002ns
خطا Error	52	4.54	5.2	0.01	0.017	0.004
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	1.26	1.13	1.92	2.83	3.1

ns، *، ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشند.

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

مطابق با جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ٤) تأثیر هم‌سوی تنش خشکی و تیمارهای آزمایشی بر محتوای پرولین به اثبات رسید، به نحوی که با افزایش شدت تنش و همچنین، با کاربرد پیش‌تیمار بذر و محلول‌پاشی اسپرمیدین و ملاتونین محتوای پرولین روند افزایشی داشت. در این خصوص برخی مطالعات نشان داده است که پرولین عمل حفاظتی و کاهش پتانسیل اسمزی، حفاظت درشت مولکول‌ها، غشاها، ثبات pH و واکنش‌های اکسیداسیون و احیاء را به عهده دارد و به همین خاطر غلظت آن در گیاه با وقوع تنش افزایش می‌یابد (۳۲). در پژوهش حاضر، علاوه بر تنش خشکی تیمارهای اسپرمیدین وملاتونین نیز نقش حفاظتی داشتند. به اعتقاد برخی پژوهش‌گران اثر حفاظتی پلی‌آمین‌ها متفاوت است و ممکن است

دارای اثرات چندگانه باشند. به عنوان مثال، این ترکیبات علاوه بر اینکه سبب حذف رادیکال‌های آزاد ثبات غشا می‌شوند، می‌توانند بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز) و نیز پرولین مؤثر واقع شوند (۱۲). افزایش پرولین در گیاه واکنش سریع در مقابل کاهش محتوای نسبی آب برگ‌ها می‌باشد. در این پژوهش، در گیاهانی که تحت تیمار با اسپرمیدین و ملاتونین قرار نگرفته بودند، تنش خشکی باعث تجمع پرولین شد و تیمار با اسپرمیدین و ملاتونین نیز، سبب تشدید تجمع پرولین گردید و بالاترین میزان تجمع پرولین در تیمار آبیاری در ۷۰ درصد تخلیه ظرفیت زراعی، پیش‌تیمار بذر و محلول‌پاشی با ملاتونین مشاهده شد (۵/۱۲ میلی‌مول بر گرم وزن تر برگ).

براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها مشخص شد که با وقوع تنش خشکی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پلی‌فنل‌اکسیداز در دیلار افزایش یافت و با افزایش شدت تنش میزان فعالیت کاتالاز روند صعودی داشت، اما در خصوص سوپراکسید دیسموتاز و پلی‌فنل اکسیداز، آبیاری مزرعه با تخلیه ٤۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به آبیاری با تخلیه ۷۰ درصد ظرفیت زراعی اثر بیشتری در افزایش فعالیت آنزیم نشان داد (جدول ٤). افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه آویشن باغی (۱۹) و آنزیم سوپراکسیداز در گلرنگ (۳۵) هم‌سو با نتایج این پژوهش گزارش شده است. همچنین، در گیاه بابونه گزارش شده است که تنش ملایم موجب افزایش فعالیت پلی‌فنل اکسیداز و تنش شدید خشکی موجب کاهش فعالیت این آنزیم شدند که آن‌ها کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز تحت تنش شدید را به تخریب عملکرد این آنزیم در شرایط تنش شدید نسبت دادند (۳٦). تنش خشکی به دلیل اثرات اسمزی سبب کمبود آب در گیاهان می‌شود. کمبود آب به تشکیل انواع اکسیژن‌های دوبار فعال شده (ROS) نظیر سوپراکسید (O_2) پراکسیدهیدروژن (H_2O_2)، رادیکال هیدروکسیل (OH^-) و اکسیژن منفرد منجر می‌شود، انواع اکسیژن‌های فعال شده به‌طور جدی به متابولیسم‌های طبیعی گیاه آسیب وارد نموده و سبب خسارت به لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای هسته‌ای می‌شوند (۱۹). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بر اثر افزایش گونه‌های فعال اکسیژن است که با فعال کردن مسیرهای انتقال پیام باعث افزایش بیان ژن‌های این آنزیم‌ها می‌شود (۱۹). بر اساس نتایج این پژوهش، کاربرد اسپرمیدین و ملاتونین هم به‌صورت پیش‌اندازی بذر و هم به‌صورت محلول‌پاشی اثر مثبت و معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پلی‌فنل‌اکسیداز داشتند. بنابراین، می‌توان اظهار نمود که استفاده از روش مقرون به صرفه و بسیار کارآمد پیش‌تیمار بذر و محلول‌پاشی با پلی‌آمین‌ها، به دلیل توانایی از بین بردن رادیکال‌های آزاد تولید شده در طی تنش، شرایط مناسب‌تری برای رشد گیاه ایجاد می‌نمایند. در خصوص افزایش فعالیت کاتالاز با کاربرد اسپرمیدین و ملاتونین نتایج مشابهی در گیاه کدو و درخت هلو گزارش شده است (۳۲؛ ۳۷). همچنین، نتایج مشابهی در گیاه شبدر سفید تیمار شده با اسپرمیدین تحت تنش خشکی و در گیاه خربزه با کاربرد خارجی ملاتونین در رابطه با آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، و در گیاه ذرت در خصوص فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز گزارش شده است (۳۷، ۳۸، ۳۹). در پژوهش حاضر بالاترین میزان کاتالاز با پیش‌تیمار بذر و همچنین، محلول‌پاشی گیاهچه با ملاتونین تحت شرایط آبیاری در زمان تخلیه ۷۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد (۲۵۹/۸ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) و همچنین بیش‌ترین فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و پلی‌فنل‌اکسیداز با پیش‌تیمار بذر و محلول‌پاشی

گیاهچه با ملاتونین و با آبیاری در شـرایط ٤٠ درصـد تخلیه ظرفیت زراعی به‌دست آمد (به‌ترتیـب ٢٦٠/٣ و ٧/٠٧ میلی‌گرم پروتئین در دقیقـه). بـه اعتقـاد برخـی محققان با کاربرد ترکیبات پلی‌آمینی، تحمل به تـنش-های محیطی، از طریق بالا رفتن توانایی آنتی‌اکسیدانی گیاه افزایش می‌یابد (٤٠). به عبارت دیگر، پلی‌آمین‌ها تحمل تنش خشکی را با دفاع آنتی اکسیدانی از طریق درگیری در سیستم ترارسانی پراکسید هیدروژن تنظیم می‌کنند (٤١).

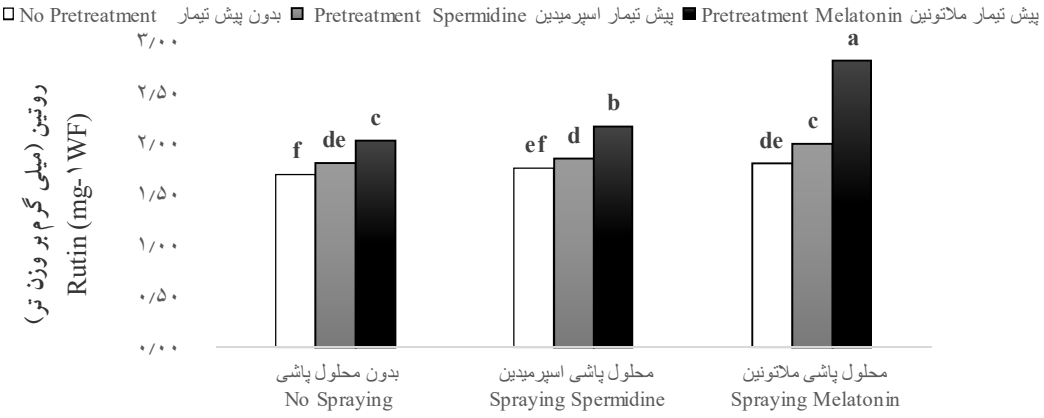
جدول ٤- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنش خشکی در پیش‌تیمار و محلول‌پاشی ملاتونین و اسپرمیدین بر صفات فیزیکوشیمیایی دیلار.

Table 4- Continuation mean comparison of effect of drought stress in pretreatment and spraying spermidine and melatonin on physiochemistry buckwheat.

تنش خشکی Drought stress	پیش‌تیمار Pretreatment	محلول‌پاشی Spraying	پرولین (میکرو گرم بر میلی‌لیتر) Proline (µg/ml)	کاتالاز (میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) Catalase (mg/min)	سوپراکسید دیسموتاز (میلی‌گرم پروتئین) Superoxide dismutase (Unit mg $^{-1}$ protein)	پلی‌فنل اکسیداز (میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) Polyphenol oxidase (Unit/mg protein.min)
آبیاری در ١٠ درصد تخلیه ظرفیت زراعی Irrigation 10 % field capacity	بدون پیش تیمار No- pretreatment	بدون محلول‌پاشی No- Spraying	4.03	122	171.9	5.05
		محلول‌پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	4.25	131.5	172.2	5.32
		محلول‌پاشی با ملاتونین Spraying Melatonin	4.35	135.6	171.6	5.43
	پیش تیمار با اسپرمیدین Pretreatment spermidine	بدون محلول‌پاشی No- Spraying	4.3	132.3	172.4	5.24
		محلول‌پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	4.6	143.1	187.9	5.67
		محلول‌پاشی با ملاتونین Spraying Melatonin	4.8	146.5	188.2	5.51
	پیش تیمار با ملاتونین Pretreatment melatonin	بدون محلول‌پاشی No- spraying	4.44	136.7l	173.1	5.17
		محلول‌پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	4.84	149.4	195.9	5.31
		محلول‌پاشی با ملاتونین Spraying Melatonin	5.02	159.9	201.5	5.32
آبیاری در ٤٠ درصد تخلیه ظرفیت زراعی Irrigation 40 % field capacity	بدون پیش تیمار No- pretreatment	بدون محلول‌پاشی No- Spraying	3.44	187.7	220.3	5.5
		محلول‌پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	3.47	139.7	238.6	6.1
		محلول‌پاشی با ملاتونین Spraying Melatonin	3.43	142.1	239.7	6.27

تنش خشکی Drought stress	پیش‌تیمار Pretreatment	محلول‌پاشی Spraying	پرولین (میکرو گرم بر میلی‌لیتر) Proline (µg/ml)	کاتالاز (میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) Catalase (mg/min)	سوپراکسید دیسموتاز (میلی‌گرم پروتئین) Superoxide dismutase (Unit mg $^{-1}$ protein)	پلی‌فنل اکسیداز (میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) Polyphenol oxidase (Unit/mg protein.min)
آبیاری در ۷۰ درصد تخلیه ظرفیت زراعی Irrigation 40 % field capacity	بدون پیش تیمار No- Pretreatment	بدون محلول‌پاشی No- spraying	4.03	208.2	172.8	5.45
		محلول‌پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	4.29	215.7	176	5.67
		محلول‌پاشی با ملاتونین Spraying melatonin	4.47	220	185.6	5.81
	پیش‌تیمار با اسپرمیدین Pretreatment spermidine	بدون محلول‌پاشی No- spraying	4.4	216.4	175.3	5.2
		محلول‌پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	4.65	231.2	188.5	6.5
		محلول‌پاشی با ملاتونین Spraying melatonin	4.68	238.6	195.2	6.2
	پیش‌تیمار با ملاتونین Pretreatment Melatonin	بدون محلول‌پاشی No- spraying	4.59	221.1	176.6	5.37
		محلول‌پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	4.88	240.6	194.3	5.85
		محلول‌پاشی با ملاتونین Spraying melatonin	5.12	259.8	196.1	5.8
	بدون پیش تیمار No- Pretreatment	بدون محلول‌پاشی No- spraying	3.44	140.5	237.8	6.11
		محلول‌پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	3.85	158.5	249	7.07
		محلول‌پاشی با ملاتونین Spraying melatonin	4.23	158.4	254.4	6.6
	پیش‌تیمار با اسپرمیدین Pretreatment spermidine	بدون محلول‌پاشی No- spraying	3.37	142.5	240.7	6.12
		محلول‌پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	4.04	157.9	256	6.58
		محلول‌پاشی با ملاتونین Spraying melatonin	4.15	162.9	260.3	6.23
	مقادیر LSD (درصد)		0.21	3.49	3.75	0.18

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل پیش‌تیمار بذر و محلول‌پاشی بر میزان ماده موثره روتین در گیاه دیلار با احتمال خطای آماری یک درصد معنی‌دار بودند، اما تنش خشکی تأثیر معنی-داری بر میزان روتین نشان نداد (جدول ٤). تحقیقات گذشته در گیاه دارویی *Thymus vulgaris* نیز نشان داده است که تنش خشکی تأثیری بر میزان روتین نداشته است (۳۱) که با این نتایج هم‌خوانی داشت. با توجه به مقایسه میانگین‌ها مشخص شد که پیش-تیمار بذر و همچنین، محلول‌پاشی گیاهچه با اسپرمیدین و ملاتونین نسبت به بدون پیش‌اندازی بذر و بدون محلول‌پاشی تأثیر معنی‌داری بر افزایش میزان روتین داشتند و به طور کلی، در پیش‌تیمار بذر و همچنین، محلول‌پاشی گیاهچه با ملاتونین بالاترین مقدار روتین در برگ دیلار (۲/۸۱ میلی گرم وزن تر برگ) مشاهده شد (شکل ۱). در خصوص اثر تیمارهای اسپرمیدین و ملاتونین بر میزان روتین تاکنون مطالعه‌ای یافت نشده است، اما با توجه به اینکه پلی‌آمین‌ها نقش حفاظتی قابل ملاحظه‌ای در گیاه دارند، لذا این ترکیبات می‌توانند به‌عنوان اسمولیت عمل نموده و با اتصال به فسفولیپیدهای غشایی، موجب پایداری غشا شده و ترکیبات فنلی مانند روتین را در گیاه افزایش دهند (٤٢). همچنین، مطالعات نشان داده است که ترکیبات پلی‌آمینی مانند اسپرمین از طریق افزایش رونویسی mRNA خاص موجب افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز شده و منجر به بیوسنتز و تجمع ترکیبات فنولی در گیاهان می‌شود (٤٣).



شکل۱- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل پیش‌تیمار در محلول‌پاشی اسپرمیدین و ملاتونین بر میزان ماده موثر روتین در گیاه دیلار. برای هر تیمار، حروف مشترک در ستون‌ها براساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ندارند (P<۰,۰۵).

Figure 1- Means comparison the pretreatment interaction of spermidine and melatonin spraying application on the amount of rutin in dilar for each treatment, the similar letters in the columns based on LSD test did not differ significantly (P <0.05).

نتایج بخش مزرعه (طول دوره رشد گیاه و عملکرد دانه دیلار): نتایج تجزیه واریانس طول دوره رشد و عملکرد دانه نشان داد که اثر متقابل سه‌جانبه تیمارهای آزمایشی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۵). با توجه به جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ٦) مشخص شد که تنش خشکی به صورت قطع آبیاری مزرعه، با کاهش طول دوره رشد گیاه در نهایت عملکرد دانه را کاهش داد. پیش‌تیمار بذر و همچنین، محلول‌پاشی اسپرمیدین و ملاتونین تأثیر معنی‌داری در طولانی شدن دوره رشد و افزایش

عملکـرد دانـه داشـتند، امـا میـزان تـأثیر ملـاتونین در افزایش عملکرد بیش‌تر از تیمار اسـپرمیدین بـود. بـه طور کلی، با آبیاری کامل مزرعـه، پـیش‌تیمـار بـذر و محلول‌پاشی مزرعه با ملاتونین بیش‌تـرین طـول دوره رشد (۸۹ روز) و بالاترین عملکرد دانه بـه‌دسـت آمـد (۵۳۸/۲ کیلوگرم در هکتار). در ایـن راسـتا، افـزایش عملکرد دانه در گیاه گلرنگ با آبیـاری کامـل مزرعـه توسط فتحی امیرخیز و همکاران (۲۰۲۱)، اثرات مثبت محلول‌پاشی ترکیبات پلی‌آمینی در گیاه گلرنگ توسط حشمتی و همکاران (۲۰۲۰) و بهبود رشد و عملکـرد گیاه با پیش‌تیمار بذر در گوجه‌فرنگی توسط نـوروزی و همکاران (۲۰۱۸) گزارش شده است (٤٤، ۲۹، ٤٥). افزایش عملکرد دانه دیلار بـا کـاربرد خـارجی پلـی-آمین‌ها را مـی‌تـوان بـه افـزایش فعالیـت آنـزیم‌هـای آنتی‌اکسیدان و به عبارتی دفاع آنتی‌اکسیدانی که نوعی سازگاری با شرایط تنش است نسبت داد. شواهد نشان است که کاربرد ملاتونین، منجر بـه تـأخیر در فرآینـد پیـری، جمـع‌آوری گونـه‌هـای واکـنش‌گـر اکسـیژن، حفاظت سلولی و افزایش مقاومت گیاه در برابر تـنش خشکی شده و دوره رشد گیاه طولـانی‌تـر و عملکـرد دانه افزایش می‌یابد (٤٦). همچنین، شمس‌الدین سعید و مرادی (۲۰۱۸) نیز گزارش نمودند که محلول‌پاشـی با اسپرمیدین، اثرات بازدارنده تنش بر پارامترهای رشد و نموگیاه و میزان تنظیم‌کننـده‌هـای اسـمزی در دانـه گندم را به طـور چشـم‌گیـری کـاهش داد و افـزایش عملکرد دانه را در پی داشت (٤٧).

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر تنش خشکی، پیش‌تیمار و محلول‌پاشی ملاتونین و اسپرمیدین بر طول دوره رشد و عملکرد دانه در شرایط مزرعه.

Table 5- Analysis of variance of the effect of drought stress, pretreatment and foliar application of melatonin and spermidine on growth period and grain yield under field conditions.

	میانگین مربعات (MS) Mean square		
منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	طول دوره رشد Growth period	عملکرد دانه Grain yield
بلوک Block	2	0.53	93.48
تنش خشکی Drought stress (D.S)	2	1289.79 **	235356.18 **
خطا اصلی Main error	4	1.25	35.96
پیش‌تیمار Pretreatment (P)	2	86.72 **	76376.93 **
تنش خشکی * پیش تیمار (D.S) *(P)	4	1.77 ns	364.20 **
محلول‌پاشی Spraying	2	31.64 **	71090.04 **
تنش خشکی *محلول پاشی (D.S) *(S)	4	6.14 **	329.71 **
پیش‌تیمار * محلول‌پاشی (P)* (S)	4	9.74 **	7535.70 **
تنش خشکی * پیش تیمار* محلول پاشی (D.S) *(P)*(S)	8	1.96**	242.38 **
خطا فرعی Error	48	0.74	75.26
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	1.11	2.60

ns، *و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

ns,* and ** are no,n-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول ٦- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنش خشکی در ملاتونین در اسپرمیدین بر طول دوره رشد و عملکرد دانه دیلار

Table 6- Continuation mean comparison of effect of drought stress in pretreatment and spraying spermidine and melatonin on growth period and grain yield under field conditions buckwheat.

تنش خشکی Drought stress	پیش‌تیمار Pretreatment	محلول‌پاشی Spraying	طول دوره رشد (روز) Growth period (day)	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) Grian yield (kg/ha)
آبیاری نرمال مزرعه Complete irrigation of the farm	بدون پیش‌تیمار No- pretreatment	بدون محلول‌پاشی No- spraying	80.33	348.5
		محلول‌پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	82.67	362.9
		محلول‌پاشی با ملاتونین Spraying melatonin	83.33	386.5
	پیش تیمار با اسپرمیدین Pretreatment spermidine	بدون محلول‌پاشی No- Spraying	80.33	361.8
		محلول‌پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	85[c]	445.1
		محلول‌پاشی با ملاتونین Spraying melatonin	86.67	488.4
	پیش‌تیمار با ملاتونین Pretreatment melatonin	بدون محلول‌پاشی No- spraying	80.67	372.5
		محلول‌پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	85	470.2
		محلول‌پاشی با ملاتونین Spraying melatonin	89	538.2
تناوب ۸ روز آبیاری Day irrigation period-8	بدون پیش‌تیمار No- pretreatment	بدون محلول‌پاشی No- spraying	74	270.0
		محلول‌پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	77	296.9
		محلول‌پاشی با ملاتونین Spraying melatonin	79[h]	305.6
	پیش تیمار با اسپرمیدین Pretreatment spermidine	بدون محلول‌پاشی No- spraying	76	286.1
		محلول‌پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	79.67	384.0
		محلول‌پاشی با ملاتونین Spraying melatonin	82	416.8
	پیش‌تیمار با ملاتونین Pretreatment melatonin	بدون محلول‌پاشی No- spraying	77	307.3
		محلول‌پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	79.33	397.9
		محلول‌پاشی با ملاتونین Spraying melatonin	83.67	454.4
تناوب ١٦ روز آبیاری Day irrigation period-16	بدون پیش‌تیمار No- pretreatment	بدون محلول‌پاشی No- spraying	64.67	170.8
		محلول‌پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	67.33	192.0
		محلول‌پاشی با ملاتونین Spraying melatonin	70.33	206.0
	پیش تیمار با اسپرمیدین Pretreatment spermidine	بدون محلول‌پاشی No- spraying	65	184.0
		محلول‌پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	72.67	255.6
		محلول‌پاشی با ملاتونین	75.33	308.3

تنش خشکی Drought stress	پیش‌تیمار Pretreatment	محلول‌پاشی Spraying	طول دوره رشد (روز) Growth period (day)	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) Grian yield (kg/ha)
		Spraying melatonin		
	پیش تیمار با ملاتونین Pretreatment melatonin	بدون محلول‌پاشی No- spraying	66.33	201.5
		محلول‌پاشی با اسپرمیدین Spraying spermidine	72.67	277.2
		محلول‌پاشی با ملاتونین Spraying melatonin	75.67	311.1
	مقادیر LSD (درصد)		1.4	14.24

نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش پیش‌تیمار بذر با ملاتونین و اسپرمیدین، افزایش ویژگی‌های جوانه‌زنی دیلار را به همراه داشت. در شرایط آزمایشگاه غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اسپرمیدین و ۰/۳۷۵ میلی‌مولار ملاتونین در مقایسه با سایر تیمارها، بیش‌ترین اثر مثبت بر خصوصیات جوانه‌زنی را نشان دادند. در شرایط گلخانه و مزرعه اعمال تنش خشکی، پیش‌تیمار بذر و همچنین، محلول‌پاشی اسپرمیدین و ملاتونین، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و محتوای پرولین، طول دوره رشد و عملکرد دانه را افزایش دادند. میزان روتین در برگ تحت تأثیر تنش خشکی قرار نگرفت، اما تیمارهای اسپرمیدین و ملاتونین موجب افزایش روتین در برگ گیاه شدند. به طور کلی، تیمار آزمایشی برتر در شرایط گلخانه و مزرعه به پیش‌تیمار بذر و محلول‌پاشی ملاتونین با غلظت ۰/۳۷۵ میلی‌مولار اختصاص یافت.

References

1. Azavarari, H., Naeimi., M., Ghalizadeh. A. and Nakhzari Moghaddam, A. 2010. Evaluation of salicylic acid application on the physiological responses of black cumin (*Nigella sativa* L.) under different irrigation conditions. Environ. Stresses Crop Sci. 13:4. 1169 – 1181. (In Persian).
2. Hamidy, A. 2016. Quinoa and its potential to grow under water scarcity and sait stress conditions: promising research findings. Quinoa for Future Food and Nutrition Security in Marginal Environments. International Quinoa conference.
3. Shiranirad, A. and Abbasian, A. 2011. Evaluation of drought tolerance in winter rapeseed cultivars based on tolerance and sensitivity indices. J Agric. 98: 41-48.
4. Soltani E., Hosseinzadeh A.H. and Abbasi,A. 2017. Effects of drought stress on germination and photosynthetic pigments content of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. Ir J. Fild. Crop. Sci. 48: 1. 107-119.
5. Ahmadi, A., Dehaghi, M. A., Fotokian, M.H., Sedghi, M. and Mansourifar, C. 2020. The effect of drought stress on antioxidant enzyme activity and chlorophyll content of some advanced genotypes of lentil (*Lens culinaris* Medik). Environ. Stresses. Crop. Sci. 12: 4. 1105-1116. (In Persian)
6. Groppa, M. D. and Benavides, M. P. 2008. Polyamines and abiotic stress: recent advances. Amino Acids. 34: 1. 35-45.
7. Mustafavi, S.H., Shekari, F., Nasiri, Y. and Hatami-Maleki, H., 2015. Nutritional and biochemical response of water-stressed valerian plants to foliar application of spermidine. Biol. Forum. Int. J. 7: 1. 1811-1815.

8. Bitrián, M., Zarza, X., Altabella, T., Antonio, F. and Alcázar, R. 2012. Polyamines under Abiotic Stress: Metabolic Crossroads and Hormonal Crosstalks in Plants. Metab. 2: 3. 516-528.
9. Kaur-awhney, R., Tiburcio, A., Altabella, T. and Galton, W. 2003. Polyamines in plants: An overview. J. Cell. Mol. Biol. 2: 1. 1-12.
10. Saeidnejad, A., Pouramir, F. and Naghizadeh, M. 2012. Improving chilling tolerance of maize seedlings under cold conditions by spermine application. Not. Sci. Biol. 4: 3. 110 - 117.
11. Shukla, V., Ma, Y. and Merevitz, V. 2015. Creeping Bentgrass responses to drought stress and polyamine application. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 140: 1. 94-101.
12. Liu, J. H., Nada, k., Hond, C., Kitashiba, H., Wen, X. P., Pang, X. M. and Moriguchi, T. 2006. Polyamine biosynthesis of apple callus under salt stress: importance of arginine decarboxylase pathway respons. J. Exp. Bot. 57: 2589-2599.
13. Shi, H., Chen, K., Wei, Y. and He, C. 2016. Fundamental issues of melatonin-mediated stress signaling in plants. Frot. Recent Dev. Plant. Sci. 7: 11-24.
14. Azizi, F., Amiri, H. and Ismaili, A. 2019. Effect of Melatonin on Some Morphophysiological Characteristics of Phaseolus vulgaris cv. Sadri under Salinity Stress. J. of plant Res. (Iran. J. of Biol.). 32: 3. 689-711. (In Persian)
15. Salehi Shanjani, P., Rasoulzadeh, L., Fallah Hosseini, L., Ramezani, M., Javadi, H. and Amirkhani, M. 2020. Response of morphophysiological traits in four species of chamomile in dryland and drought stress conditions in greenhouse. Ir. J. Rang. For. Plant Breed. Genet. Res. 28: 1. 66-51. (In Persian)
16. Lim, J. H., Park, K. J., Kim, B. K., Jeong, J. W. and Kim, H. J. 2012. Effect of salinity stress on phenolic compounds and carotenoids in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) sprout. Food Chem. 135: 1065- 1070.
17. Chen, H. N. and Hsieh, C. L. 2010. Effects of Sophora japonica flowers (Huaihua) on cerebral infarction. Chin. Herb. Med. 5:1. 34.
18. Montgomery, J. 2009. The Potential of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) as a forage for dairy herds in central Alberta. Agriculture and Agri-Food Canada; Agricultural, Food and Nutritional Science. MSc. thesis, Department of Agricultural, Food, and Nutritional Science, University of Alberta, Acharya, Surya. 178p.
19. Aghighi Shahverdi, M., Paravar, A., Ghasemzadeh, M. and Navabi, A. 2018. The study of germination, biochemical and enzymatic characteristics of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) affected by drought and salinity stresses. Ir. J. Seed Sci. Res. 5: 3. 33-46. (In Persian)
20. Paravr, A., Omidi, H., Esanejad, N. and Amirzadeh, M. 2015. Effect hydro priming seed germination and seedling growth coneflower (*Echinaceac prupurea*) under salt stress. J. Seed Ecophysiol. 1: 1. 57- 69. (In Persian)
21. Kalsa, K. K. and Abebie, B. 2012. Influence of seed priming on seed germination and vigour traits of Vicia villosa a sp. dasycarpa (Thn). Af. J. Agric. Res. 7: 21. 3202-3208.
22. Bates, L., Waldren, R. P. and Teare, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant Soil Res. 39: 205-207.
23. Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 105: 121-126.
24. Fu, J. and Huang, B. 2001. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. Environ. Exp. Bot. 45: 105-114.
25. Sairam, R. K., Rao, K .V. and Srivastava, G. C. 2002. Differential response of wheat genotypes to long-term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity, and osmolyte concentration. Plant Sci. 163: 1037-1046.
26. Kreft, S., Štrukelj, B., Gaberščik, A. and Kreft, I. 2002. Rutin in buckwheat herbs grown at different UV-B radiation levels: comparison of two UV spectrophotometric and an HPLC method. J. Exp. Bot. 53: 1801-1804.

27. Rassam, G. A. and Dadkhah, A. 2012. The Effect of drought stress on germination and heterotrophic seedling growth characteristics of lentil (*Lens culinaris* Medik). J. Agric. 6: 9. 13-24.
28. Zhang Y.P., Yang, S.J. and Cheny, Y. 2016. Effects of melatonin on photosynthetic performance and antioxidants in melon during cold and recovery. Biol. Plant. 61: 3. 571-578.
29. Heshmati, S., Akbari, G.A. Soltani, E. and Dehaghi, M.A. 2020. The effect of seed priming at different seed quality by melatonin on seedling emergence and growth characteristic of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under stress combination of salinity and drought. Environ. Strress. Crop. Sci. 12: 4. 1275-1289. (In Persian)
30. Arnao, M. B. and Hernández-Ruiz, J. 2014. Melatonin: plant growth regulator and/or biostimulator during stress. Trends Plant Sci. 19:12. 789-797.
31. Sayadi, A., Ahmadi, J., Bhour, A. and Hosseni, S.M. 2014. Investigation of the effect of drought and salinity stresses on phenolic compounds of *Thymus vulgaris* L. Ecophysiol. J. M.P. 2: 4. 50-61. (In Persian)
32. Ganbari, M., Farzaneh, M. and Eftekharian Jahromi, A. 2018. Effect of spermidine and irrigation period on some physiological characteristics of cucurbit (*Cucurbita pepo* L.). Agric. Plant Breed. 14: 3. 75-87. (In Persian)
33. Wi, S. J., W. Kim, T. and K. Y. Park. 2006. Over expression of carnation s-adenosylmethionine decarboxylase gene generates a broad-spectrum tolerance to a biotic stress in transgenic Tobacco plants. Plant Cell Rep. 25: 111-121.
34. Yiu, J., Juang, L.D., Fang, D., Liu, W. and Wu, J. 2009. Exogenous putrescine reduces floodinginduced oxidative damage by increasing the antioxidant properties of Welsh onion. Sci. Hortic. 120: 306-14.
35. Toupchi Khosrowshahi, Z., Salehi-Lisar, S.Y., Ghassemi-Golezani, K. and Motafakkerazad. R. 2019. Effect of polyamines on antioxidative responses of safflower (*Carthamus tinctorius*) under drought stress. J. Plant Prod. Res. 26: 2. 157-171. (In Persian)
36. Salehi Shanjani, P. 2015. Comparison of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in different wild accessions of *Anthemis tinctoria* and *Tripleurospermum servanes* of Natural Resources Gene Bank of Iran. J. Plant. Res. (Ir. J. Biol.). 28: 1. 126-139. (In Persian)
37. Gao, H., Zhang, Z. K., Chai, H., Cheng, K., Yang, N., Wang, Y., Yang, D.N. and Cao. W. 2016. Melatonin treatment delays postharvest senescence and regulates reactive oxygen species metabolism in peach fruit. Postharvest Biol. Biotechnol. 118: 103- 110.
38. Yang, L.I.U., Hong, X.U., WEN, X.X. and LIAO, Y.C. 2016. Effect of polyamine on seed germination of wheat under drought stress is related to changes in hormones and carbohydrates. J. Integer. Agric. 15: 12. 2759-2774.
39. Ye, J., Wang, S., Deng, X., Yin, L., Xiong, B. and Wang, X. 2016. Melatonin increased maize (*Zea mays* L.) seedling drought tolerance by alleviating drought-induced photosynthetic inhibition and oxidative damage. Acta Physiol. Plant. 38: 2. 48-62.
40. Mahros, K.M., Badawy, E.M., Mahgoub. M.H., Habib, A.M. and El-Sayed, I.M. 2011. Effect of putrescine and uniconazole treatments on flower characters and photosynthetic pigments of *Chrysanthemum indicum* L. Plant. Agric. J. Sci. 7: 399-408.
41. Farhangi-Abriz, S. and Ghassemi- Golezani, K. 2018. How can salicylic acid and jasmonic acid mitigate salt toxicity in soybean plants?. Ecotoxicol. Environ. Saf. 147: 1010-1016.
42. Namvar, A., Hadi, H. and Seyedsharifi, R. 2017. The role of external sources of plant protection in modulating the destructive effects of non-biological stresses. J. Ecophysiol. 48: 103-128.
43. Darvizheh, H., Zahedi, M. and Abbaszadeh, B. 2019. Effects of foliar application of salicylic acid and spermine on the growth and root morphological characteristics of purple coneflower (*Echinacea purpurea* L.) under drought stress. J. plant process.Funct. (Ir. Soc. Plant Ph.). 8: 30. 225-242. (In Persian)
44. Amirkhiz, K.F., Dehaghi, M.A., Sanavy, S.A.M.M. and Rezazadeh, A. 2021. Evaluation of changes in fatty acid profile, grain, and oil yield of *Carthamus tinctorius* L. in response to

foliar application of polyamine compounds under deficit irrigation conditions. Ind. Crop. Prod. 161: 113-231.

45. Norozi ghivi, M., esmaeilpor, B., Mohebadini, M., Khoramdeel, S. and Khorami, S., 2018. The effect of seed pretreatment on germination and seedling growth indicators of tomato. J. Seed Res. 5: 3. 16-27.
46. Fan, B., Wang, C., Song, X., Ding, X., Wu, L., Wu, H. and Borriss, R. 2018. Bacillus velezensis FZB42 in 2018: the gram-positive model strain for plant growth promotion and biocontrol. Front. in microbial. 2485-2491.
47. Shamsaddin Saied, M. and Moradi, R. 2018. Effect of Organic Amendments on some quantitative and qualitative characteristics of fennel (*Foeniculum vulgar* L.) as affected by different irrigation levels. J. Agric. Sci. Sustain Prod. 28: 4. 105-123.